

ANDRZEJ BAJGUZ

Zakład Biochemii, Instytut Biologii, Uniwersytet w Białymstoku,
ul. Świerkowa 20 B, 15-950 Białystok
e-mail: abajguz@noc.uwb.edu.pl

DZIAŁANIE BRASSINOSTEROIDÓW NA WZROST I ROZWÓJ ROŚLIN

WSTĘP

Hormony roślinne (fitohormony) odgrywają kluczową rolę w regulacji i kontrolowaniu procesów wzrostu i rozwoju roślin. Regulują szybkość wzrostu i intensywność procesów metabolicznych poszczególnych komórek i integrują te komórki w tkanki oraz narządy tworzące całość. Związki te pełnią także kontrolującą rolę w procesach reprodukcji roślin (DAVIES 1995).

Koncepcja istnienia hormonów roślinnych pochodzi od Karola Darwina, którego doświadczenia nad fototropizmem koleoptyli owsa zwyczajnego (*Avena sativa*) zostały opublikowane w roku 1880 w dziele „The power of movement in plants”. Kontynuowanie tego typu doświadczeń doprowadziło do wyodrębnienia i otrzymania przez Wenta w 1928 r. w czystej postaci kwasu indolilo-3-octowego (IAA) — pierwszego hormonu roślinnego, zwanego auksyną. Dwudziesty wiek przyniósł odkrycie kilku kolejnych typów fitohormonów, to jest giberelin, cytokinin, kwasu abscysynowego i etylenu. Ostatnio do miana hormonów roślinnych pretendują również poliaminy, jasmonidy, kwas salicylowy i brassinosteroidy (SASSE 1991c, BAJGUZ i CZERPAK 1995, DAVIES 1995, LEWAK 1995, SANIEWSKI 1997, CZERPAK i BAJGUZ 1998).

Substancje należące do fitohormonów charakteryzują się następującymi cechami: (1) powszechnym występowaniem w tkankach roślinnych, (2) występowaniem i aktywnością biologiczną w submikromolarnych stężeniach, (3) często odrębnym miejscem syntezy od miejsca ich docelowego działania. Wykazano, że hormony roślinne cechuje zależność pomiędzy wielkością stężenia a ich efektem biologicznej odpowiedzi. W pewnym zakresie optymalnych stężeń zależność ta jest liniowa lub wykładnicza. Często jednak zależność ta jest złożona, a efekt zamiast być wprost proporcjonalny do stężenia, staje się odwrotnie proporcjonalny. Zaobserwowano również, że pewne procesy fizjologiczno-biochemiczne kontrolowane są przez więcej niż jeden hormon. Jednakże poszczególne fitohormony mogą wywoływać efekty przeciwstawne, addytywne lub synergistyczne (LEWAK 1995).

Niniejszy artykuł ma na celu przedstawić fizjologiczną rolę brassinosteroidów (BR) we wzroście i rozwoju roślin. Występowanie, budowę chemiczną, biosyntezę BR i ich przemiany metaboliczne traktują dwa inne artykuły zamieszczone na łamach Kosmosu (BAJGUZ i CZERPAK 1995, 1997) i tam zainteresowany Czytelnik może znaleźć wiele szczegółowych informacji.

EFEKT BRASSINOSTEROIDÓW NA WZROST ELONGACYJNY

Brassinosteroidy (BR) wywierają indukujący wpływ na wydłużanie epikotyłu w kiełkujących nasionach grochu zwyczajnego (*Pisum sativum*), fasoli zwykłej (*Phaseolus vulgaris*), ogórka (*Cucumis sativus*) i słonecznika zwyczajnego (*Helianthus annuus*) (MANDAVA 1988) oraz na wydłużanie hypokotyłu ogórka (KATSUMI 1985, 1991). Prawdopodobnie efekt elongacyjny wy-

wołany przez BR odbywa się za pośrednictwem auksyn. Ponadto wykazano, że brassinolid (BL) może działać niezależnie od auksyn jako mediator w inicjowaniu wzrostu młodych tkanek, a także może współdziałać w sposób kompleksowy z auksynami. W czasie wzrostu elongacyjnego u większości tkanek roślinnych BR przyspiesza działanie auksyn oraz zwiększają wrażli-

wość rosnących tkanek na endogenne auksyny (SASSE 1990, 1991b, TOMINAGA i współaut. 1994, TOMINAGA i SAKURAI 1995).

Intensywny proces wydłużania komórek związany jest ze zwiększaniem się wydzielania protonów do ściany komórkowej, co prowadzi do zakwaszenia środowiska. Zjawisko to nosi nazwę kwasowego wzrostu roślin. Wzrost objętościowy komórek indukowany jest przez auksyny, przypuszczalnie również przy współudziale BR, bądź niezależnie od siebie przez oba hormony. Polega on na aktywowaniu przez te hormony pompy protonowej zlokalizowanej w plazmolemie, która wykorzystuje energię metaboliczną (ATP) do przemieszczania jonów wodorowych z komórki do apoplastu, powodując zakwaszenie ściany komórkowej. Mechanizm ten jest wspomagany przez indukowaną, również przy udziale auksyn, egzocytosę pęcherzyków o kwaśnej zawartości. Zakwaszenie ściany komórkowej powoduje rozluźnienie jej struktury, między innymi rozerwanie wiązań wodorowych, zmniejszenie ciśnienia turgorowego, a w efekcie wzrost komórki (CERANA i współaut. 1983, 1984, 1985; ROMANI i współaut. 1983, DE MICHELIS i LADO 1986, BAJGUZ i CZERPAK 1996b).

BR stymulują wzrost wydłużeniowy łodyg przy jednoczesnym zahamowaniu wydłużania się systemu korzeniowego u licznych gatunków roślin. Zahamowanie wzrostu systemu korze-

niowego przez BR sugeruje, że mogą one działać w tym przypadku niezależnie od wpływu auksyn i ich analogów chemicznych, na przykład kwasu 2,4-dichlorofenoksyoctowego (2,4-D) (RODDICK i GUAN 1991, RODDICK i IKEKAWA 1992, CLOUSE i współaut. 1993, RODDICK i współaut. 1993, RODDICK 1994).

Stwierdzono, że stymulacja wydłużania się pędów pod wpływem BR występuje tylko na świetle, zaś w ciemności nie zaobserwowano tego działania (MANDAVA 1988). KAMURO i INADA (1991) zbadali wpływ światła o różnych długościach fal na inicjowanie przez BR wzrostu epikotyli garbipłata (*Vigna radiata*). Wykazali, że wydłużanie pędów następuje pod wpływem monochromatycznego światła niebieskiego (452 nm) i dalekiej czerwieni (722 nm). Jednocześnie w tych warunkach świetlnych BL nie wykazywał żadnego działania. Stwierdzono również, że wzrost epikotyli był opóźniany przez światło białe (400–700 nm) i monochromatyczne światło czerwone (660 nm). Wzrost epikotyli wykazano dopiero pod wpływem BL, który niwelował hamujący wpływ w/w rodzajów światła. Wiadomo, że światło o odpowiednich długościach fal jest selektywnie pochłaniane przez specyficzne receptory komórkowe. Prawdopodobnie pod ich wpływem wzrasta biosynteza BR oraz pozostałych fitohormonów, głównie auksyn i giberelin (GA).

WPLYW BRASSINOSTEROIDÓW NA MORFOGENEZĘ ROŚLIN

Wyniki badań wykazały, że BL stymuluje tworzenie się ksylemu w zawieszinach komórkowych bulw topinambura (*Helianthus tuberosus*). W warunkach normalnego rozwoju ksylem różnicuje się w ciągu 3–4 dni, zaś po dodaniu BL w stężeniu 6.8×10^{-9} M następuje pojawienie się ksylemu już po 24 godzinach. Przypuszcza się, że BR wpływają indukująco poprzez aparat genetyczny na różnicowanie się komórek roślinnych podczas rozwoju ontogenetycznego (CLOUSE i ZUREK 1991).

Unikonazol — syntetyczny retardant wzrostu roślin charakteryzuje się hamującym wpływem na różnicowanie się elementów trachealnych komórek mezofilu cynii wytwornej (*Zinnia elegans*). Jak stwierdzono unikonazol redukuje endogenne poziomy BR w komórkach poprzez inhibicję biosyntezy BR. Egzogennie podane hormony przeciwdziałają hamującemu działaniu unikonazolu na tkanki roślin, stymulując w nich różnicowanie się elementów trachealnych. Elementy trachealne wraz z ksylemem stanowią drogi długodystansowego transportu

apoplastowego wody i soli mineralnych. Stymulowane przez BR wykształcenie się elementów trachealnych minimalizuje opory przepływu wody w roślinie. Umożliwia im funkcjonowanie jako segmentów kapilar przewodzących wodę. BR działają więc jako regulatory różnicowania elementów trachealnych w komórkach cynii wytwornej (IWASAKI i SHIBAOKA 1991, YAMAMOTO i współaut. 1997).

Hormonalna regulacja orientacji mikrotubul określa sposób odkładania się mikrofibryli celulozowych w ścianie komórkowej. Z kolei orientacja mikrofibryli determinuje kierunek wzrostu komórek, a tym samym nadaje kształt roślinie. Stwierdzono w tym procesie udział, obok auksyn, cytokinin, giberelin i etylenu, również kwasu jasmonowego i BR, w określaniu pozycji mikrotubul, ich stabilności, a zwłaszcza asocjacji z plazmolemą. BL, w stężeniu 10^{-8} M lub większym, zwiększa w sadzonkach *Vigna angularis* wydłużanie epikotyli, który powoduje rozerwanie w komórkach epidermalnych mikrotubul. Podobny efekt otrzymuje się w obe-

cności 2,6-dichlorobenzonitrylu, w stężeniu 10^{-6} M, inhibitora syntezy celulozy. BL dodany z IAA zwiększa wydajność tego procesu, włącznie z przekształceniem orientacji mikrotubul. W efekcie następuje stymulacja rozmieszczania się mikrotubul wzdłuż ich osi. Równocześnie dochodzi do zahamowania bocznego rozszerzania się komórek epikotyli. Następuje to poprzez reorganizację przekształceń mikrotubularnych w obrębie osi komórki. Skutkiem tego jest podobieństwo w położeniu mikrofibryli celulozy.

BL działa więc stymulująco na rozszerzanie się komórek poprzez dwa procesy, jeden zależny do mikrotubul, drugi od nich niezależny. Ponadto stwierdzono, że najwyższą stymulację wydajności procesu organizacji mikrotubul w elongacji komórek osiąga się w mieszaninie BL z IAA i GA. W związku z tym wykazano, że BL pełni podwójną rolę, działając samodzielnie lub też współdziałając z IAA i GA, w reorganizacji mikrotubul komórek epidermalnych epikotyli *Vigna angularis* (MAYUMI i SHIBAOKA 1995).

WPLYW BRASSINOSTEROIDÓW NA ROZMNAŻANIE SIĘ ROŚLIN

U niektórych roślin występuje zjawisko formowania się nowych organizmów bez uprzedniego zapłodnienia komórki jajowej w tak zwanej partenogenezie, w konsekwencji dochodzi do rozmnażania bezpłciowego. Powstaje zarodek z niezapłodnionego jaja, które może być haploidalne lub diploidalne. Badania KITANI (1994) wskazują, że BL bierze udział w indukcji partenogenetycznego pokolenia haploidalnych nasion zarówno roślin jedno- i dwuliściennych. BL traktowano ucięte znamiona pączków kwiatowych rzodkiewnika pospolitego (*Arabidopsis thaliana*), kapusty sitowej (*Brassica juncea*) i trzykrotki (*Tradescantia paludosa*). W dwóch zbadanych gatunkach roślin, to jest rzodkiewniku pospolitym i kapuście sitowej haploidalne nasiona otrzymuje się w wyniku rozwoju z haploidalnych roślin. W przypadku trzykrotki haploidalne nasiona po kiełkowaniu stają się naj-

pierw haplo-diploidalne, a następnie diploidalne. Niestety mechanizm partenogenetycznego rozwoju haploidalnych gatunków roślin indukowanych przez BL nie został, pomimo upływu kilku lat, wyjaśniony.

BR, w zakresie stężeń 10^{-12} – 10^{-8} M, 2–3-krotnie zwiększają intensywność podziału komórek glonu *Chlorella vulgaris* w ciągu 24–48 godzin hodowli. Tylko pomiędzy 24 a 36 godziną trwania hodowli, a więc w ciągu 12 godzin działania BR namnaża się około 50% więcej komórek w porównaniu do hodowli kontrolnej. Interesującym jest, że po 48 godzinach od momentu potraktowania glonów BR następuje niemal całkowita faza stagnacji w rozwoju *Chlorella vulgaris*. Po tym okresie około 90% komórek przechodzi w formy przetrwalnikowe, zaś pozostałe z nich powoli, choć sukcesywnie namnażają się (BAJGUZ i CZERPAK 1998).

WSPÓLDZIAŁANIE BRASSINOSTEROIDÓW Z INNYMI HORMONAMI ROŚLINNYMI

BR współdziałają z innymi fitohormonami w regulacji i kontroli procesów wzrostu i rozwoju roślin. Prawdopodobnie BR wpływają na metabolizm auksyn i ich transport w obrębie roślin (COHEN i MEUDT 1983). Podczas wzrostu tkanek roślinnych BR przyspieszają działanie auksyn, zwiększając ich endogenne poziomy (TAKENO i PHARIS 1982, EUN i współaut. 1989, SASSE 1985, 1990, 1991a, b; SAKURAI i współaut. 1991).

BR efektywniej stymulują wydłużanie epikotyli grochu i hypokotyli fasoli, aniżeli analogi chemiczne auksyn, np. 2,4-D, który bardziej zwiększa zawartość świeżej masy u badanych roślin aniżeli BR (YOPP i współaut. 1981). Ponadto elongacja hypokotyli ogórka wywołana przez BR i GA była mniej intensywna niż pod wpływem IAA (KATSUMI 1991). Stwierdzono także, że BR, podobnie jak GA, osłabiają akumulację betacyjaniny w nasionach szarłat (*Amaranthus* sp.) (MANDAVA i współaut. 1981). W przeciwieństwie do IAA, BR nie współdziałają

synergistycznie z GA. Dotychczasowe badania wykazały, że BR są aktywniejsze w inicjacji wydłużania łodyg u roślin bardziej wrażliwych na IAA niż GA (GREGORY i MANDAVA 1982, SASSE 1985). Wydłużanie komórek hypokotyli ogórka indukowanych przez BR jest zahamowane w obecności kwasu *p*-chlorofenoksyizomastłowego (PCIB), posiadającego właściwości antyauksynowe. Podobnie do PCIB działa kinetyna, która hamuje wydłużanie się komórek potraktowanych mieszaniną IAA z BR. Przedstawione fakty sugerują, że obecność auksyn jest jednak niezbędna do procesu elongacji komórek stymulowanych przez BR. Stwierdzono, że w młodych tkankach roślinnych wzrasta zawartość BR, a w raz z nimi auksyn. Prawdopodobnie wskazuje to na pewną zależność w procesie biosyntezy obu hormonów (MANDAVA i współaut. 1981, YOPP i współaut. 1981, KATSUMI 1985, 1991). Tabela 1 przedstawia na przykładzie ogórka, współdziałanie BR z auksynami i gibe-

relinami w oddziaływaniu na procesy fizjologiczne roślin.

lub stanach spoczynkowych niektórych ich organów, zwłaszcza przetrwalnikowych lub służą-

Tabela 1. Porównanie działania i interakcji BL, IAA i GA₄ na procesy fizjologiczne ogórka (*Cucumis sativus*) (KATSUMI 1985, 1991).

Oddziaływanie	BL	IAA	GA ₄
Sadzonka ogórka			
wzrost hypokotylu	inicjujące	inicjujące	intensywnie inicjujące
rozszerzenie liści	inicjujące	nieznacznie hamujące	intensywnie inicjujące
boczne formowanie korzeni	hamujące	inicjujące	hamujące
Hypokotyl ogórka			
zakres efektywnych stężeń	0.1 nM–10 nM	100 nM–100 μM	> 100 nM
optymalne stężenie	100 nM	10 μM	> 100 μM
dominacja wiekowa tkanek	młode > stare	stare > młode	młode > stare
interakcje BR z:	---	synergistyczne	addytywne
interakcje IAA z:	synergistyczne	---	synergistyczne
pertraktowanie IAA	synergistyczne	---	synergistyczne
pertraktowanie BL/GA ₄	---	nieznacznie hamujące	---
antyauksyna (PCIB) ¹	hamujące	antagonistyczne	hamujące
kinetyna ²	hamujące	hamujące	hamujące
sacharoza na świetle	inicjujące	hamujące	inicjujące
DCCD ³	hamujące	hamujące	brak efektu

¹ PCIB — kwas *p*-chlorofenoksyizomasłowy;

² kinetyna — hamuje wydłużanie komórek indukowanych przez IAA i BR;

³ DCCD — N,N-dicykloheksylokarboimid — inhibitor wbudowywania ATPaz w błony komórkowe.

W etiolowanych hypokotylach dyni olbrzymiej (*Cucurbita maxima*) stwierdzono, że BR zwiększają poziom endogennej IAA, a zmniejszają kwasu abscysynowego (ABA). Prawdopodobnie BR modulują endogenne poziomy auksyn poprzez regulację aktywności genów szlaku biosyntezy, bądź przez interferencję w katabolizmie IAA (EUN i współaut. 1989, KULAEVA i współaut. 1991). Z kolei BL niweluje indukujący wpływ ABA na zrzućanie liści oraz dojrzalych owoców pomarańczy chińskiej (*Citrus sinensis*) i dyni olbrzymiej (IWAHORI i współaut. 1990, KURAISHI i współaut. 1991).

Auksyny i cytokiny, działając niezależnie od siebie, biorą udział w stymulacji syntezy etylenu, przy czym cytokiny odznaczają się jego niewielką stymulacją. Jednakże cytokiny w połączeniu z IAA wykazują synergistyczny wpływ na produkcję etylenu. Etylen powstaje z metioniny w wyniku jej kolejnych przemian w tak zwanym cyklu metioninowym, w którym pośrednimi produktami przemian są S-adenozylometionina i kwas 1-aminocyklopropano-1-karboksylowy (ACC) (FUCHS i LIEBERMAN 1968, IMASEKI i współaut. 1975, FLUHR i MATTOO 1996). Jak wiadomo związek ten współdziała z ABA, głównie w procesach starzenia się roślin

cych do rozmnażania. Etylen, podobnie jak ABA, niekorzystnie oddziałuje na strukturę chemiczną błon cytoplazmatycznych, zwłaszcza na ich przepuszczalność oraz transport aktywnych metabolitów. Badania wykonane na etiolowanych siewkach fasoli wskazują na stymulację syntezy etylenu przez BR (COHEN i MEUDT 1983, ARTECA i współaut. 1988). Z kolei współdziałanie BR z cytokinami powoduje 2-3-krotny wzrost syntezy etylenu. Jednocześnie zaobserwowano stymulację biosyntezy endogennej IAA. Współdziałanie pomiędzy BR a auksynami i cytokinami świadczy o indukcji biosyntezy etylenu, to znaczy:

— BR i cytokiny wpływają na zwiększenie endogennej IAA, który wzmacnia produkcję etylenu poprzez stymulację aktywności syntazy ACC;

— rośliny potraktowane mieszaniną BR i cytokin, prawdopodobnie na zasadzie synergizmu, stymulują syntazę ACC;

— BR i auksyny współdziałają w tworzeniu etylenu w tkankach roślinnych (SCHLAGNHAUFER i współaut. 1984, ARTECA i współaut. 1988, CAO i CHEN 1995).

Indukujący wpływ BR na syntezę etylenu zależy od obecności światła. Okazało się, że

promieniowanie rzędu $3.7 \mu\text{mola m}^{-2}\text{s}^{-1}$, w ciągu 15 minut, powoduje redukcję (do 35%) syntezy etylenu w komórkach fasoli pod wpływem BR. Wydłużenie czasu ekspozycji roślin na światło do 60 minut, przy tym samym natężeniu promieniowania, hamuje syntezę etylenu aż do 75 %. Zarówno wpływ indukcyjny IAA na biosyntezę etylenu, jak również synergistyczny wpływ BR i IAA odznaczają się niewielkim wzajemnym oddziaływaniem. Produkcja etylenu indukowana przez BR uzależniona jest od warunków

światlnych, podczas gdy IAA w podobnych warunkach oddziałuje nieznacznie hamująco. Zmniejszenie indukcyjnego wpływu BR na syntezę etylenu w roślinach eksponowanych na światło można tłumaczyć spadkiem endogennego poziomu IAA, które jest spowodowane niekorzystnym dla niego działaniem światła. Prawdopodobnie redukowana jest jednocześnie aktywność metaboliczna BR (ARTECA i współaut. 1983, 1988; ARTECA i BACHMAN 1987, EUN i współaut. 1989).

INHIBITORY DZIAŁANIA BRASSINOSTEROIDÓW

Dotychczas stwierdzono, że kilkadziesiąt różnych chemicznie substancji może spowodować zahamowanie indukcyjnego działania BR. Tabela 2 przedstawia wpływ kilku różnorodnych inhibitorów działających wspólnie z BR na

prawdopodobnie może przyczynić się do wyjaśnienia rzeczywistej roli tych hormonów we wzroście i rozwoju roślin (KIM i współaut. 1995).

Badania przeprowadzone z użyciem unikonazolu wykazały hamujące działanie na różni-

Tabela 2. Porównanie właściwości inhibicyjnych związków działających wspólnie z brassinosteroidami na niektóre procesy fizjologiczno-metaboliczne roślin.

Nazwa związku	Efekt działania	Oddziaływanie z BR	Piśmiennictwo
2,6-Dichlorobenzonitryl	inhibitor syntezy celulozy	hamuje wydłużanie pędów	SASSE 1990
Kwas aminooctowy (AOA) Cykloheksimid Chlorek kobaltu (CoCl ₂)	inhibitory syntezy etylenu	hamuje syntezę etylenu	ARTECA i współaut. 1988
Kinetyna	inhibitor wydłużania komórek indukowanych przez IAA i BR	hamuje wydłużanie hypokotyli	KATSUMI 1985, 1991
N,N'-Dicykloheksylokarboimid (DCCD)	inhibitor wbudowywania ATPaz w błony komórkowe		
Kwas 2,3,5-trijodobenzoesowy (TIBA)	inhibitor transportu IAA		CAO i CHEN 1995
Kwas p-chlorofenoksyizomasłowy (PCIB)	antyauksyna	hamuje wzrost roślin	TAKENO i PHARIS 1982
Unikonazol	inhibitor różnicowania się elementów trachealnych	stymulacja	IWASAKI i SHIBAOKA 1991

kształtowanie procesów fizjologiczno-metabolicznych roślin.

Z grzyba *Drechslera avenae* wyizolowano metabolit oznaczony symbolem KM-01, którego struktura chemiczna określona została jako połączenie estrowe kwasu (S)-6-metylo-2,4-(E,E)-oktadienoinowego z bipolaroksyną. Używając mieszaniny KM-01 i BR przeprowadzono biotesty dotyczące wygięcia blaszki liściowej ryżu (*Oryza sativa*) oraz wydłużania hypokotyli rzodkwi zwyczajnej (*Raphanus sativus*). Oba biotesty określające aktywność biologiczną BR wykazały całkowitą inhibicję inicjującego działania BR. KM-01 jest więc substancją całkowicie znoszącą stymulującą aktywność BR. Sugeruje to, że użycie KM-01 jako inhibitora BR

stawia problem różnicowania się elementów trachealnych z komórek mezofilu cynii wytwornej. Równocześnie stwierdzono, że unikonazol redukuje endogenny poziom BR w komórkach roślin poprzez inhibicję jego biosyntezy. Jednakże hamujące działanie unikonazolu jest zniesione przez egzogennie podane BR. Następuje zatem wzmożona stymulacja różnicowania się tkanek przewodzących wodę i sole mineralne. Jak wykazano na przykładzie cynii wytwornej BR mogą więc stanowić regulatory różnicowania się elementów trachealnych w komórkach (IWASAKI i SHIBAOKA 1991, YAMAMOTO i współaut. 1997).

BR znoszą hamujące działanie inhibitorów biosyntezy RNA, takich jak: aktynomycyna D, 6-metylopuryna, 2,6-diaminopuryna, 8-azagu-

anina, 2-azauracyl, 2-tiouracyl, 5-fluorouracyl oraz inhibitorów syntezy białek, na przykład: cykloheksimidu, puromycyny i chloramfenikolu. Prawdopodobnie mechanizm działania BR odbywa się na jednej z możliwych dróg: konkurencji z w/w inhibitorami w miejscu ich działania, poprzez blokadę ich efektu hamującego, bądź zwiększaniu aktywności polimerazy RNA i

DNA. Wskazuje to na ich analogiczne działanie do auksyn i giberelin, które także znoszą hamujący wpływ stosowanych inhibitorów. Jednakże rośliny najpierw potraktowane samymi BR, a następnie BR w połączeniu z w/w inhibitorami charakteryzują się zahamowaniem wzrostu elongacyjnego (MANDAVA i współaut. 1987).

UDZIAŁ BRASSINOSTEROIDÓW W REGULACJI METABOLIZMU

Różnorodne inhibitory biosyntezy RNA i białek (wymienione w powyższym rozdziale) powodują osłabienie bądź całkowite zahamowanie tych procesów. BR współzawodniczą z w/w inhibitorami blokując ich działanie poprzez zwiększanie aktywności polimerazy RNA i DNA w epikotyli fasoli złotej (*Phaseolus aureus*). BR znoszą więc hamujący wpływ inhibitorów biosyntezy RNA i białek. Wyniki badań wykazały, że BR uczestniczą w regulacji procesów transkrypcji i translacji, czyli ekspresji genów podczas wzrostu tkanek roślinnych. Stymulacja wzrostu roślin połączona ze zwiększeniem poziomu polimerazy RNA i DNA objawia się wzrostem zawartości kwasów nukleinowych i białek (KALINICH i współaut. 1986, MANDAVA i współaut. 1987).

Doświadczenia IWAMURY i MYERSA (1959) oraz IWAMURY (1960) wykazały powolne tempo procesów transkrypcji i translacji w ciągu 36 godzin hodowli glonu *Chlorella vulgaris*. Dopiero w około 60 godzinie trwania hodowli stwierdzono wzrost zawartości kwasów nukleinowych, który jest proporcjonalny do wzrostu liczby komórek glonu. Z kolei komórki glonu *Chlorella vulgaris* potraktowane BR wykazują znaczny wzrost zawartości kwasów nukleinowych oraz białek. Skrócenie cyklu rozwojowego oraz 2–3-krotne przyspieszenie jego wydajności w ciągu 36-godzinnej hodowli glonu sugeruje, że następuje niezwykle zwiększenie tempa procesu transkrypcji i translacji (BAJGUZ i CZERPAK 1996a, 1998).

BR wzmagają także aktywność procesu fotosyntezy, w którym zwiększają wiązanie CO₂ poprzez wzrost aktywności rybulozo 1,5-bisfosforanu w liściach pszenicy zwyczajnej (*Triticum aestivum*) i gorczycy jasnej (*Sinapis alba*). W roślinach potraktowanych BR stwierdzono, że przeciętnie 2-krotnie większą zawartość chlorofilu *a* i *b* oraz cukrów redukujących. Stwierdzono, że wraz ze stymulacją parametrów fotosyntetycznych wzrastała zawartość świeżej i suchej masy roślin. Wyniki tych badań przedstawiają aktywujący wpływ BR na wydajność fotosyntetyczną oraz produkcję biomasy roślin-

nej (KRIZEK i MANDAVA 1983, BRAUN i WILD 1984, BAJGUZ i CZERPAK 1998).

W komórkach glonów przy niedoborze CO₂ funkcjonuje mechanizm wzrostu wewnątrzkomórkowego stężenia CO₂, a synteza i metabolizm kwasu glikolowego są hamowane. Z kolei przy wysokim stężeniu CO₂ glony nie posiadają tego mechanizmu. W rezultacie intensywnej fotosyntezy podnosi się wewnątrzchloroplastowe stężenie tlenu, wskutek czego może wzrosnąć szybkość syntezy i wydzielania pozakomórkowego glikolanu (TOLBERT 1997). Dodatkowym czynnikiem, który stymuluje pozakomórkową sekrecję kwasu glikolowego z komórek glonu *Chlorella vulgaris* jest zakwaszenie środowiska. Wykazano, że w rezultacie działania BR następuje wzmożone wydzielanie protonów przez ścianę komórkową glonów do środowiska. Zmiana poziomu pH z 6.8 do 6.3 (BAJGUZ i CZERPAK 1996b) sprzyja syntezie i wydzielaniu kwasu glikolowego przez komórki glonu. Efekt stymulacji sekrecji pozakomórkowej kwasu glikolowego jest odwrotnie proporcjonalny do zmniejszającego się pH środowiska (BAJGUZ i CZERPAK 1998). Wiadomo, że wartość pH 5.5 i mniejsza powoduje zahamowanie syntezy glikolanu oraz jego wydzielanie. Natomiast alkalizacja środowiska odznacza się zwiększającą się, stopniowo w miarę wzrostu pH, stymulacją wydzielania glikolanu przez komórki glonu *Chlorella vulgaris* (TOLBERT i ZILL 1956). Zwiększona synteza oraz sekrecja kwasu glikolowego pod wpływem BR w komórkach *Chlorella vulgaris* prowadzi do szybszej regeneracji ortofosforanu nieorganicznego, którego zawartość w komórkach glonu wzrasta wraz ze wzrostem stężenia BR i czasu hodowli glonów (BAJGUZ i CZERPAK 1998). Ortofosforan jest jednym z czynników regulujących przebieg ciemnej fazy fotosyntezy poprzez aktywację szeregu enzymów cyklu Calvina, w tym rubisco. Również ortofosforan jest wykorzystywany jako substrat w reakcjach wytwarzania większości związków pośrednich w procesie fotosyntezy. Odtwarzanie tego substratu odbywa się przy syntezie końcowych wtórnych produktów fotosyntezy, takich jak:

skrobia i sacharoza. Nieorganiczny ortofosforan jest odtwarzany także w reakcjach rozkładu

fosfoglikolanu zlokalizowanych w chloroplastach (FURBANK i TAYLOR 1995).

BRASSINOSTEROIDY A STRESY ŚRODOWISKOWE

W naturalnym środowisku na rośliny działa mnóstwo różnych czynników stresowych o charakterze biotycznym i abiotycznym, które mogą powodować zakłócenia w ich wzroście, rozwoju, procesach fizjologicznych i metabolicznych. Działanie stresu wywołuje określoną reakcję rośliny, polegającą na zmianie wzrostu i metabolizmu. Od natężenia i czasu trwania lub działania czynnika stresowego zależy, czy zmiany te będą miały charakter odwracalny, czy też nieodwracalny. W wyniku skrajnie wysokiego nasilenia stresu dochodzi do nieodwracalnego uszkodzenia komórek i śmierci rośliny. Stres może zostać wywołany, nie tylko przez nadmiar, ale i niedobór niektórych czynników środowiska, takich jak sole mineralne, woda, światło i tlen. Przystosowanie się roślin do skrajnych warunków środowiska polega przede wszystkim na tolerancji i adaptacji do warunków stresowych. Jedną z pierwszych odpowiedzi rośliny na działania czynnika stresowego są zmiany w zawartości hormonów, powodujące zakłócenia w ich równowadze fizjologicznej. Dochodzi często do zwiększenia endogennego poziomu jakiegoś hormonu, bądź też obniżenia poziomu innych hormonów (KACPERSKA 1995, GWÓZDŹ 1996).

BR oddziałują na rośliny przystosowane do życia w różnorodnych, często ekstremalnych warunkach środowiska. Pod wpływem stresu hamujące oddziaływanie BR na wzrost systemu korzeniowego, zachodzące w normalnych warunkach środowiskowych, jest niwelowane. Na przykład stwierdzono, że w warunkach suszy rośliny potraktowane homoBL zwiększały swą masę korzeniową oraz zawartość w niej sacharozy oraz enzymu syntetazy sacharozy (SCHILLING i współaut. 1991).

Podczas kiełkowania nasion oraz w pierwszych fazach wzrostu rośliny są bardzo wrażliwe na spadek temperatury. Przeprowadzone badania wykazały, że w warunkach niskich temperatur (0–3°C) BL podnosi odporność roślin na ochłodzenie, wynikiem czego jest 2-krotny wzrost koleoptylu i mezofilu kukurydzy (*Zea mays*) w stosunku do hodowli kontrolnych (HE i współaut. 1991). Z kolei stokłosa bezostna (*Bromus inermis*), rosnąca w podobnych warunkach temperaturowych, potraktowana 24-epi-BL zwiększa tolerancję na niską temperaturę, jednakże nie zauważa się stymulacji wzrostu. Ograniczenie wzrostu stokłosa bezostnej jest

porównywalne do efektów uzyskiwanych po potraktowaniu rośliny ABA (WILEN i współaut. 1995).

Kwas 5-aminolewulinowy (ALA) — prekursor biosyntezy porfiryn, na przykład chlorofilu w niskich stężeniach (< 1.8 nM) stymuluje wzrost i rozwój roślin. Rośliny poddane działaniu niskich temperatur zmniejszyły 5-krotnie syntezę ALA, a w konsekwencji chlorofilu. Jednakże potraktowanie ALA powodowało wzrost odporności roślin na stres temperaturowy. Podobny, choć nieco mniejszy efekt uzyskano podając egzogenne BR. Z kolei traktowanie ABA roślin eksponowanych w niskich temperaturach prowadziło do uruchomienia mechanizmów odpornościowych, jednak reakcja ta była 2-krotnie wolniejsza niż przy zastosowaniu BR i ALA (HOTTA i współaut. 1998).

U roślin w warunkach podwyższonej temperatury (40–42.5°C), powodującej szok termiczny wykazano, że BR zwiększają przeżywalność sadzonek fasoli i stokłosa bezostnej. W rezultacie BR stymulują syntezę odpowiednich polipeptydów (65–46, 36–30 kDa) oraz białek szoku termicznego (*hsp*), które chronią pozostałe białka komórkowe przed denaturacją. *Hsp* pełnią więc rolę tak zwanych białek opiekuńczych (czaperonów) zapewniając innym białkom utrzymanie lub uzyskanie właściwej, funkcjonalnej konfiguracji przestrzennej nie tylko w warunkach stresu termicznego, ale i normalnych. BR nieznacznie zwiększają syntezę białka *hsp90* w normalnej temperaturze. Stwierdzono również, że poziom białka *hsp90* zazwyczaj zwiększa się w cytosolu pod wpływem niskiej, jak i wysokiej temperatury. Nie jest jednak do końca wyjaśnione, czy *hsp90* lub inne *hsp* jest stymulowane przez BR. Podobną rolę — hormonu antystresowego — pełni ABA, z tą różnicą, że związek ten zmniejsza ekspresję genu *hsp90* (KULAEVA i współaut. 1991, WILEN i współaut. 1995).

Stymulacja przez BR syntezę etylenu (ARTECA i współaut. 1988, CAO i CHEN 1995) — gazowego regulatora wzrostu — prawdopodobnie decyduje o nabyciu przez rośliny odporności na infekcje w celach obronnych przed patogenami i owadami. Wskazuje na to zwiększenie wydzielania etylenu przez tkanki zainfekowane wirusem, jak i przez komórki w kulturze potraktowane elicitorem grzybowym. Zwiększona synteza etylenu ma miejsce również po zranieniu

roślin przez owady. Prawdopodobnie może być on przekaznikiem bodźców związanych z uszkodzeniem tkanki niezależnie od przyczyny. W związku z tym etylen powoduje zmiany w strukturze ściany komórkowej zwiększając jej usztywnienie przez lignifikację. Ponadto następuje indukcja syntezy enzymów typu glukonazy i chitynazy. Etylen może być przenoszony przez powietrze, wywołując systemową reakcję obronną. Indukują syntezy metabolitów flawonoidów, na przykład tanin roślinnych zaliczanych do pokarmowych substancji odstraszających, zapobiega nadmiernemu zjadaniu roślin przez zwierzęta. Etylen współdziała z innymi fitohormonami, między innymi BR, w regulacji morfogenetycznych i fizjologicznych odpowiedzi roślin na czynniki stresowe. Prowadzi to do zwiększonej odporności organizmu roślinnego na stres (KACPERSKA 1995, KOMBRINK i SOMSSICH 1995).

BR charakteryzują się również antyekdysonową aktywnością u owadów, gdyż zahamowują właściwe działanie steroidowego hormonu linienia — ekdysonu oraz hormonu młodzieńczego — juwenilnego. Jednocześnie BR osłabiają aktywność metaboliczną ekdysonu, który odznacza się między innymi stymulacją biosyntezy kwasów nukleinowych, szczególnie mRNA, białek oraz przemian katabolicznych tłuszczowców (LEHMANN i współaut. 1988, RICHTER i KOOLMAN 1991, LUU i WERNER 1996).

Stężenie różnych soli mineralnych w roztworze glebowym lub wodach słodkich jest na ogół niskie. Istnieją jednak siedliska roślin, gdzie występuje duże zasolenie. Nagromadzona w komórkach sól może spowodować nadmierne zwiększenie ciśnienia osmotycznego, hamowanie procesów różnorodnych syntez oraz zatrucie protoplastu, co w efekcie doprowadza do śmierci rośliny. Występowanie roślin słonolubnych w Australii oraz glonów morskich jest szeroko rozpowszechnione w przyrodzie. Rośliny lądowe rosnące na terenach o dużym zasoleniu przystosowały się między innymi dzięki głęboko wni-

kającym w glebę korzeniom. Jednakże kiełkujące w tych warunkach nasiona mają niską tolerancję do zasolenia. Skutkiem tego jest bardzo powolny wzrost i rozwój młodej kiełkującej rośliny. Interesujące wydają się badania dotyczące wpływu 24-epiBL na zdolność kiełkowania nasion *Eucalyptus camaldulensis* w różnych stanach zasolenia wody (75, 100 i 150 mM NaCl). Wykonane doświadczenia wykazały, że 24-epiBL przyspiesza kiełkowanie i rozwój nasion w zakresie stosowanych stężeń NaCl. BR działają w efektywny sposób na rośliny w warunkach solnego stresu środowiskowego. Efekt działania BR jest jednak nieco mniej stymulujący w porównaniu do normalnych warunków, w których ich aktywność biologiczna jest znacznie większa (SASSE i współaut. 1995).

Porównując oddziaływania BR na różnorodne stresse środowiskowe interesująco przedstawia się współdziałanie pomiędzy BR a pasożytniczym grzybem *Phytophthora infestans* wywołującym chorobę — zarazę ziemniaczaną. Okazało się, że 24-epiBL i homoBL w zakresie stężeń 10^{-16} – 10^{-8} M zwiększały podatność bulw ziemniaka (*Solanum tuberosum*) na zarażenie się grzybem *Phytophthora infestans*. BR stymulują wzrost strzępek oraz intensywność formowania się spor pasożyta. Ponadto hormony te osłabiają procesy immunologiczne tkanek ziemniaka. W związku z tym kiełkowanie zarodni było znacznie efektywniejsze, co oznaczało rozpowszechnianie się grzyba, a także miało charakter długoterminowy. Reasumując, BR działają niezwykle stymulująco na rozwój pasożytniczego grzyba *Phytophthora infestans* powodując w końcu obumarcie całej rośliny (VASYUKOVA i współaut. 1994).

Rola światła, jako czynnika stresowego, bądź pozytywnego, w kształtowaniu wzrostu i rozwoju roślin przy współdziałaniu BR została omówiona wcześniej w podrozdziałach: „Efekt brassinosteroidów na wzrost elongacyjny” i „Współdziałanie brassinosteroidów z innymi hormonami roślinnymi”.

THE ACTION OF BRASSINOSTEROIDS ON THE GROWTH AND DEVELOPMENT OF PLANTS

Summary

Brassinosteroids (BR) represent a new class of phytohormones. They have been detected in many higher plants and therefore appear to be of ubiquitous occurrence. A wide spectrum of physiological responses are elicited by exogenous application of low doses of these compounds to intact plants or to explants, stimulation of cell growth being the most prominent effect. The high biological activity of BR suggests their important role in the regulation of physiological processes in plants, accompanied by antistress activity. BR show a wide activity spectrum, stimulating xylem

differentiation and cell elongation in the hypocotyl, but inhibiting root elongation, radial stem expansion and anthocyanin biosynthesis. BR also show an astonishing effect on the green alga *Chlorella vulgaris* where they stimulate two- to threefold the growth and division of cells. Physiological data suggest that nearly all BR-stimulated growth responses could be explained by the overlapping activity of the classical plant hormones (auxin, cytokinin, ethylene, gibberellin and abscisic acid).

LITERATURA

- ARTECA R. N., BACHMAN J. M., 1987. *Light inhibition of brassinosteroid-induced ethylene production*. J. Plant Physiol. 129, 13–18.
- ARTECA R. N., TSAI D. -S., SCHLAGNHAUFER C., MANDAVA N. B., 1983. *The effect of brassinosteroid on auxin-induced ethylene production by etiolated mung bean segments*. Physiol. Plant. 59, 539–544.
- ARTECA R. N., BACHMAN J. M., MANDAVA N. B., 1988. *Effects of indole-3-acetic acid and brassinosteroid on ethylene biosynthesis in etiolated mung bean hypocotyl segments*. J. Plant Physiol. 133, 430–435.
- BAJGUZ A., CZERPAK R., 1995. *Występowanie i aktywność biologiczna brassinosteroidów — nowych hormonów roślin*. Kosmos 44, 129–144.
- BAJGUZ A., CZERPAK R., 1996a. *Brassinosteroids and changes of the protein contents in the green alga Chlorella vulgaris Beijerinck*. Plant Physiol. Biochem., Special Issue, 10th FESPP Congress, Florence, Italy, September 9–13, str. 307–308.
- BAJGUZ A., CZERPAK R., 1996 b. *Effect of brassinosteroids on growth and proton extrusion in the alga Chlorella vulgaris Beijerinck (Chlorophyceae)*. J. Plant Growth Regul. 15, 153–156.
- BAJGUZ A., CZERPAK R., 1997. *Biosynteza i przemiany brassinosteroidów*. Kosmos 46, 259–268.
- BAJGUZ A., CZERPAK R., 1998. *Physiological and biochemical role of brassinosteroids and their structure-activity relationship in the green alga Chlorella vulgaris Beijerinck (Chlorophyceae)*. J. Plant Growth Regul. 17, 131–139.
- BRAUN P., WILD A., 1984. *The influence of brassinosteroid on growth and parameters of photosynthesis of wheat and mustard plants*. J. Plant Physiol. 116, 189–196.
- CAO H., CHEN S., 1995. *Brassinosteroid-induced rice lamina joint inclination and its relation to indole-3-acetic acid and ethylene*. Plant Growth Regul. 16, 189–196.
- CERANA R., BONETTI A., MARRE M. T., ROMANI G., MARRE E., 1983. *Effects of a brassinosteroid on growth and electrogenic proton extrusion in Azuki bean epicotyls*. Physiol. Plant. 59, 23–27.
- CERANA R., LADO P., ANASTASIA M., CIUFFREDA P., ALLEVI P., 1984. *Regulating effects of brassinosteroids and of sterols on growth and H⁺ secretion in maize roots*. Z. Pflanzenphysiol. Bd. 114, 221–225.
- CERANA R., SPELTA M., BONETTI A., LADO P., 1985. *On the effects of cholesterol on H⁺ extrusion and on growth in maize root segments: comparison with brassinosteroid*. Plant Science 38, 99–105.
- CLOUSE S. D., HALL A. F., LANGFORD M., McMORRIS T. C., BAKER M. E., 1993. *Physiological and molecular effects of brassinosteroids on Arabidopsis thaliana*. J. Plant Growth Regul. 12, 61–66.
- CLOUSE S. D., ZUREK D., 1991. *Molecular analysis of brassinolide action in plant growth and development*. [W:] *Brassinosteroids: Chemistry, Bioactivity and Applications*. CUTLER H. G., YOKOTA T., ADAM G. (red.), American Chemical Society, Washington, DC, 122–140.
- COHEN J. D., MEUDT W. J., 1983. *Investigations on the mechanisms of the brassinosteroid response. I. Indole-3-acetic acid metabolism and transport*. Plant Physiol. 72, 691–694.
- CZERPAK R., BAJGUZ A., 1998. *Aktywność fizjologiczna i metaboliczna kwasu salicylowego u roślin*. Kosmos 47, 83–93.
- DAVIES P. J. (red.), 1995. *Plant hormones. Physiology, biochemistry and molecular biology*. Kluwer Academic Publishers.
- DE MICHELIS M. I., LADO P., 1986. *Effects of a brassinosteroid on growth and on H⁺ extrusion in isolated radish cotyledons: comparison with the effects of benzyladenine*. Physiol. Plant. 68, 603–607.
- EUN J. S., KURAISHI S., SAKURAI A., 1989. *Changes in levels of auxin and abscisic acid and the evolution of ethylene in squash hypocotyls after treatment with brassinolide*. Plant Cell Physiol. 30, 807–810.
- FLUHR R., MATTOO A. K., 1996. *Ethylene — biosynthesis and perception*. Cri. Rev. Plant Sci. 15, 479–523.
- FUCHS Y., LIEBERMAN M., 1968. *Effect of kinetin, IAA, and gibberellin on ethylene production, and their interactions in growth of seedling*. Planta 43, 2029–2039.
- FURBANK R. T., TAYLOR W. C., 1995. *Regulation of photosynthesis in C₃ and C₄ plants: a molecular approach*. Plant Cell 7, 797–807.
- GREGORY L. E., MANDAVA N. B., 1982. *The activity and interaction of brassinolide and gibberellic acid in mung bean epicotyls*. Physiol. Plant. 54, 239–243.
- GWÓZDZ E. A., 1996. *Molekularne podstawy odpowiedzi roślin na stresy środowiskowe*. [W:] *Nowe tendencje w biologii molekularnej i inżynierii genetycznej oraz medycynie*. BARCISZEWSKI J., ŁASTOWSKI K., TWARDOWSKI T. (red.), Wyd. Sorus, Poznań 2, 469–492.
- HE R. -Y., WANG G. -J., WANG X. -S., 1991. *Effect of brassinolide on growth and chilling resistance of maize seedlings*. [W:] *Brassinosteroids: Chemistry, Bioactivity and Applications*, CUTLER H. G., YOKOTA T., ADAM G. (red.), American Chemical Society, Washington, DC, str. 220–230.
- HOTTA Y., TANAKA T., BINGSHAW L., TAKEUCHI Y., KONNAI M., 1998. *Improvement of cold resistance in rice seedlings by 5-aminolevulinic acid*. J. Pesticide Sci. 23, 29–33.
- IMASEKI H., KONDO K., WATANABE A., 1975. *Mechanism of cytokinin action on auxin-induced ethylene production*. Plant Cell Physiol. 16, 777–787.
- IWAHORI S., TOMINAGA S., HIGUCHI S., 1990. *Retardation of abscission of citrus leaf and fruitlet explants by brassinolide*. Plant Growth Regul. 9, 119–125.
- IWAMURA T., 1960. *Distribution of nucleic acids among sub-cellular fractions of Chlorella*. Biochim. Biophys. Acta 42, 161–163.
- IWAMURA T., MYERS J., 1959. *Changes in the content and distribution of the nucleic acid bases in Chlorella during the life cycle*. Arch. Biochem. Biophys. 84, 267–277.
- IWASAKI T., SHIBAOKA H., 1991. *Brassinosteroids act as regulators of tracheary-element differentiation in isolated Zinnia mesophyll cells*. Plant Cell Physiol. 32, 1007–1014.
- KACPERSKA A., 1995. *Udział hormonów roślinnych w odpowiedzi roślin na stresowe czynniki środowiska*. Kosmos 44, 623–637.
- KALINICH J. F., MANDAVA N. B., TODHUNTER J. A., 1986. *Relationship of nucleic acid metabolism to brassinolide-induced responses in beans*. J. Plant Physiol. 125, 345–353.
- KAMURO Y., INADA K., 1991. *The effect of brassinolide on the light-induced growth inhibition in mung bean epicotyl*. Plant Growth Regul. 10, 37–43.
- KATSUMI M., 1985. *Interaction of a brassinosteroid with IAA and GA₃ in the elongation of cucumber hypocotyl sections*. Plant Cell Physiol. 26, 615–625.

- KATSUMI M., 1991. *Physiological modes of brassinolide action in cucumber hypocotyl growth*. [W:] *Brassinosteroids: Chemistry, Bioactivity and Applications*. CUTLER H. G., YOKOTA T., ADAM G. (red.), American Chemical Society, Washington, DC, str. 246–254.
- KIM S. K., ASANO T., MARUMO S., 1995. *Biological activity of brassinosteroid inhibitor KM-01 produced by a fungus Drechslera avenae*. *Biosci. Biotech. Biochem.* 59, 1394–1397.
- KITANI Y., 1994. *Induction of parthenogenetic haploid plants with brassinolide*. *Jpn. J. Genet.* 69, 35–39.
- KOMBRINK E., SOMSSICH I. E., 1995. *Defense responses of plants to pathogens*. *Adv. Bot. Res.* 21, 1–34.
- KRIZEK D. T., MANDAVA N. B., 1983. *Influence of spectral quality on the growth response of intact bean plants to brassinosteroid, a growth-promoting steroidal lactone. II. Chlorophyll content and partitioning of assimilate*. *Physiol. Plant.* 57, 324–329.
- KULAEVA O. N., BURKHANOVA E. A., FEDINA A. B., KHOKHLOVA V. A., BOKEBAYEVA G. A., VORBRODT H. M., ADAM G., 1991. *Effect of brassinosteroids on protein synthesis and plant-cell ultrastructure under stress conditions*. [W:] *Brassinosteroids: Chemistry, Bioactivity and Applications*. CUTLER H. G., YOKOTA T., ADAM G. (red.), American Chemical Society, Washington, DC, str. 141–157.
- KURAIISHI S., SAKURAI N., EUN J. -S., SUGIYAMA K., 1991. *Effect of brassinolide on levels of indoleacetic acid and abscisic acid in squash hypocotyls: possible application for preventing fruit abortion*. [W:] *Brassinosteroids: Chemistry, Bioactivity and Applications*. CUTLER H. G., YOKOTA T., ADAM G. (red.), American Chemical Society, Washington, DC, str. 312–319.
- LEHMANN M., VORBRODT H. -M., ADAM G., KOOLMAN J., 1988. *Anticdysteroid activity of brassinosteroids*. *Experientia* 44, 355–356.
- LEWAK S., 1995. *Hormony roślinne — kierunki badań ostatniego dziesięciolecia*. *Kosmos* 44, 601–622.
- LIU B., WERNER F., 1996. *Sterols and modify moulting in insects*. *Pestic. Sci.* 46, 49–53.
- MANDAVA N. B., 1988. *Plant growth-promoting brassinosteroids*. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 39, 23–52.
- MANDAVA N. B., SASSE J. M., YOPP J. H., 1981. *Brassinolide, a growth-promoting steroidal lactone. II. Activity in selected gibberellin and cytokinin bioassays*. *Physiol. Plant.* 53, 453–461.
- MANDAVA N. B., THOMPSON M., YOPP J. H., 1987. *Effects of selected inhibitors of RNA and protein synthesis on brassinosteroid-induced responses in mung bean epicotyls*. *J. Plant Physiol.* 128, 53–56.
- MAYUMI K., SHIBAOKA H., 1995. *A possible double role for brassinolide in the reorientation of cortical microtubules in the epidermal cells of Azuki bean epicotyls*. *Plant Cell Physiol.* 36, 173–181.
- RICHTER K., KOOLMAN J., 1991. *Anticdysteroid effects of brassinosteroids in insects*. [W:] *Brassinosteroids: Chemistry, Bioactivity and Applications*. CUTLER H. G., YOKOTA T., ADAM G. (red.), American Chemical Society, Washington, DC, str. 265–279.
- RODDICK J. G., 1994. *Comparative root growth inhibitory activity of four brassinosteroids*. *Phytochemistry* 37, 1277–1281.
- RODDICK J. G., GUAN M., 1991. *Brassinosteroids and root development*. [W:] *Brassinosteroids: Chemistry, Bioactivity and Applications*. CUTLER H. G., YOKOTA T., ADAM G. (red.), American Chemical Society, Washington, DC, str. 231–245.
- RODDICK J. G., IKEKAWA N., 1992. *Modification of root and shoot development in monocotyledon and dicotyledon seedlings by 24-epibrassinolide*. *J. Plant Physiol.* 140, 70–74.
- RODDICK J. G., RIJNENBERG A. L., IKEKAWA N., 1993. *Development effects of 24-epibrassinolide in excised roots of tomato grown in vitro*. *Physiol. Plant.* 87, 453–458.
- ROMANI G., MARRE M. T., BONETTI A., CERANA R., LADO P., MARRE E., 1983. *Effects of a brassinosteroid on growth and electrogenic proton extrusion in maize segments*. *Physiol. Plant.* 59, 528–532.
- SAKURAI A., FUJIOKA S., SAIMOTO H., 1991. *Production of brassinosteroids in plant-cell cultures*. [W:] *Brassinosteroids: Chemistry, Bioactivity and Applications*. CUTLER H. G., YOKOTA T., ADAM G. (red.), American Chemical Society, Washington, DC, str. 97–106.
- SANIEWSKI M., 1997. *Kwas jasmonowy i związki pokrewne*. [W:] *Regulatory wzrostu i rozwoju roślin. Właściwości i działanie*, JANKIEWICZ L. S. (red.). PWN Warszawa, str. 103–107.
- SASSE J. M., 1985. *The place of brassinolide in the sequential response to plant growth regulators in elongating tissue*. *Physiol. Plant.* 63, 303–308.
- SASSE J. M., 1990. *Brassinolide-induced elongation and auxin*. *Physiol. Plant.* 80, 401–408.
- SASSE J. M., 1991a. *The case for brassinosteroids as endogenous plant hormones*. [W:] *Brassinosteroids: Chemistry, Bioactivity and Applications*. CUTLER H. G., YOKOTA T., ADAM G. (red.), American Chemical Society, Washington, DC, str. 158–166.
- SASSE J. M., 1991 b. *Brassinolide-induced elongation*. [W:] *Brassinosteroids: Chemistry, Bioactivity and Applications*. CUTLER H. G., YOKOTA T., ADAM G. (red.), American Chemical Society, Washington, DC, str. 255–264.
- SASSE J. M., 1991 c. *Brassinosteroids — are they endogenous plant hormones?* *PGRSA Quarterly*, 19, 1–18.
- SASSE J. M., SMITH R., HUDSON I., 1995. *Effect of 24-epibrassinolide on germination of seed of Eucalyptus camaldulensis in saline conditions*. *Proc. Plant Growth Regul. Soc. Am.* 22, 136–141.
- SCHILLING G., SCHILLER C., OTTO S., 1991. *Influence of brassinosteroids on organ relations and enzyme activities of sugar-beet plants*. [W:] *Brassinosteroids: Chemistry, Bioactivity and Applications*. CUTLER H. G., YOKOTA T., ADAM G. (red.), American Chemical Society, Washington, DC, str. 208–219.
- SCHLAGNHAUFER C., ARTECA R. N., YOPP J. H., 1984. *A brassinosteroid-cytokinin interaction on ethylene production by etiolated mung bean segments*. *Physiol. Plant.* 60, 347–350.
- TAKENO K., PHARIS R. P., 1982. *Brassinosteroid-induced bending of the leaf lamina of dwarf rice seedlings: an auxin-mediated phenomenon*. *Plant Cell Physiol.* 23, 1275–1281.
- TOLBERT N. E., 1997. *The C₂ oxidative photosynthetic carbon cycle*. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48, 1–25.
- TOLBERT N. E., ZILL L. P., 1956. *Excretion of glycolic acid by algae during photosynthesis*. *J. Biol. Chem.* 222, 895–906.
- TOMINAGA R., SAKURAI N., 1995. *Brassinolide-induced stem elongation*. 15th International Conference on Plant Growth Substances. July 14–18. Minneapolis, Minnesota USA. Abstract No. 331.
- TOMINAGA R., SAKURAI N., KURAIISHI S., 1994. *Brassinolide-induced elongation of inner tissues of segments of squash (Cucurbita maxima Duch.) hypocotyls*. *Plant Cell Physiol.* 35, 1103–1106.
- VASYUKOVA N. J., CHALENKO G. I., KANEVA I. M., KHRIPACH V. A., OZERETSKOVSKAYA O. L., 1994. *Brassinosteroids and potato late blight*. *Applied Biochem. Microbiol.* 30, 464–470.
- WILEN R. W., SACCO M., GUSTA L. V., KRISHNA P., 1995. *Effects of 24-epibrassinolide on freezing and thermotolerance*

- of bromegrass (*Bromus inermis*) cell cultures. *Physiol. Plant.* 95, 195–202.
- YAMAMOTO R., DEMURA T., FUKUDA H., 1997. *Brassinosteroids induce entry into the final stage of tracheary element differentiation in cultured Zinnia cells.* *Plant Cell Physiol.* 38, 980–983.
- YOPP J. H., MANDAVA N. B., SASSE J. M., 1981. *Brassinolide, a growth-promoting steroidal lactone. I. Activity in selected auxin bioassays.* *Physiol. Plant.* 53, 445–452.