

KRYSTYNA M. JANAS, KATARZYNA SZAFRAŃSKA,
MAŁGORZATA POSMYK

*Katedra Ekofizjologii i Rozwoju Roślin, Uniwersytet Łódzki
Banacha 12/16, 90-237 Łódź
e-mail: kjanas@biol.uni.lodz.pl*

MELATONINA W ROŚLINACH

WSTĘP

Melatonina (N-acetylo-5-metoksytryptamina) jest pochodną indolową, która została po raz pierwszy wyizolowana w 1958 r. z szyszynki wołu przez LERNERA i współpracowników z Yale University (New Haven, Connecticut). Początkowo Lerner zamierzał nazwać wyizolowany związek 'yalin', od nazwy prestiżowego uniwersytetu. Jednak nazwa ta nie spodobała się jego współpracownikom i po dyskusji nazwano ją melatoniną (MEL), od barwnika melaniny występującego w komórkach barwnikowych, tzw. melanoforach skóry płazów) i komórek wrażliwych na jego działanie (LERNER i współaut. 1958). MEL jest związkiem konserwatywnym, jej obecność wykryto u odległych ewolucyjnie gatunków od bakterii, jedno- i wielokomórkowych glonów, po rośliny wyższe, zwierzęta bezstrunowe i strunowce (MACIAS i współaut. 1999, MEYER-ROCHOW i WAKKURI 2002, MURCH i SAXENA 2002, HARDELAND i POEGGELER 2003). U ssaków jest wytwarzana głównie w szyszynce. Wykazuje ona wielokierunkowe działanie. U zwierząt jest hormonem uczestniczącym w regulacji dobowego bądź okołodobowego rytmu biologicznego wytwarzanego przez endogenne zegary biologiczne

(REITER 1991). MEL jest syntetyzowana w nocy, na świetle zaś jej ilość obniża się (CARDINALI i PÉVET 1998). Wytwarzanie MEL u ludzi zmienia się w zależności od wieku, niższy jej poziom występuje u osób w podeszłym wieku, wyższy – u młodszych. MEL wzmacnia odporność organizmu wpływając korzystnie na układ immunologiczny.

Działając jako antyoksydant usuwa reaktywne formy tlenu skuteczniej niż wit. E oraz glutation. Reguluje też aktywność enzymów systemu antyoksydacyjnego, szczególnie peroksydazy i reduktazy glutationowej, ale również dysmutazy nadadtlenkowej i katalazy (CARDINALI i PÉVET 1998, TEIXEIRA i współaut. 2003, RODRIGUEZ i współaut. 2004). W 1991 r. w *Science* ukazał się artykuł o występowaniu i roli indoloamin u bruzdnicy *Gonyaulax polyedra* (BALZER i HARDELAND 1996) i to stało się inspiracją dla poszukiwania MEL również w innych organizmach autotroficznych, w tym i u roślin wyższych. Konsekwencją tych poszukiwań było jej wykrycie w różnych gatunkach roślin (HATTORI i współaut. 1995). Pomimo tego, iż wykryto ją u większości roślin i w różnych ich częściach, to rola jej jest nadal bardzo słabo poznana.

WYSTĘPOWANIE U ROŚLIN

MEL została wyizolowana z glonów, roślin nago- i okrytonasiennych (jedno- i dwuliściennych). Tabela 1 przedstawia wykaz niektórych roślin i ich organów, w których

zidentyfikowano MEL. Znalaziono ją w różnych częściach roślin: w korzeniach, łodygach, liściach, owocach, kwiatach oraz nasionach (HATTORI i współaut. 1995, VAN TASSEL i

Tabela 1. Występowanie melatoniny w roślinach

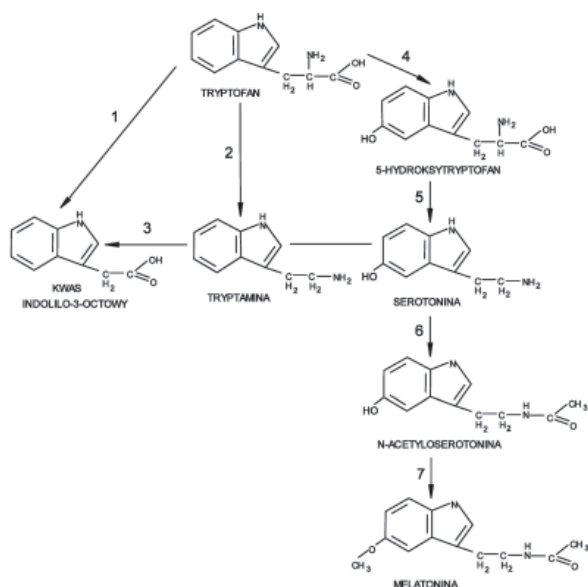
Gatunek	Nazwa łacińska	Organ/ Część rośliny	Stężenie	Literatura
Ananas właściwy	<i>Ananas comosus</i> (Stickm.) Merrill.	owoc	36,2 pg g ⁻¹	HATTORI i współaut. 1995
Banan zwyczajny	<i>Musa paradisiaca</i> (L.)	owoc	1,6 pg g ⁻¹	DUBBELS i współaut. 1995
Burak zwyczajny	<i>Beta vulgaris</i> (L.)	korzeń	0,86 pg g ⁻¹	DUBBELS i współaut. 1995
Cebula zwyczajna	<i>Allium cepa</i> (L.)	bulwa	31,5 pg g ⁻¹	HATTORI i współaut. 1995
Imbir lekarski	<i>Zingiber officinale</i> (Rosacea)	korzeń	583,7 pg g ⁻¹	HATTORI i współaut. 1995
Jabłoń domowa	<i>Malus domestica</i> (Borkh.)	owoc	47,6 pg g ⁻¹	HATTORI i współaut. 1995
Kapusta chińska	<i>Brassica chinensis</i> (Juslen)	liście	112,5 pg g ⁻¹	HATTORI i współaut. 1995
Kapusta polna (rzepa)	<i>Brassica campestris</i> (L.)	korzeń	657,2 pg g ⁻¹	HATTORI i współaut. 1995
Kapusta warzywna	<i>Brassica oleracea</i> (L.)	liście	107,4 pg g ⁻¹	HATTORI i współaut. 1995
Kolokazja jadalna	<i>Colocasia esculenta</i> (L.)	korzeń	54,6 pg g ⁻¹	HATTORI i współaut. 1995
Marchew siewna	<i>Daucus carota</i> (L.)	korzeń	55,3 pg g ⁻¹	HATTORI i współaut. 1995
Ogórek siewny	<i>Cucumis sativus</i> (L.)	owoc	24,6 pg g ⁻¹	HATTORI i współaut. 1995
Pomidor zwyczajny	<i>Lycopersicon esculentum</i> (Mill.)	owoc	0–15 pg g ⁻¹	VAN TASSEL i współaut. 2001
Poziomka ananasowa	<i>Fragaria ananassa</i> (Duch.)	owoc	12,4 pg g ⁻¹	HATTORI i współaut. 1995
Szparag lekarski	<i>Asparagus officinalis</i> (L.)	pędy	9,5 pg g ⁻¹	HATTORI i współaut. 1995
Biedrzyk anyż	<i>Pimpinella anisum</i> (L.)	nasiona	7 ng g ⁻¹	MANCHESTER i współaut. 2000
Gorczyca biała	<i>Sinapis alba</i> (L.)	nasiona	189 ng g ⁻¹	MANCHESTER i współaut. 2000
Gorczyca czarna	<i>Brassica nigra</i> (L.)	nasiona	129 ng g ⁻¹	MANCHESTER i współaut. 2000
Jęczmień zwyczajny	<i>Hordeum vulgare</i> (L.)	nasiona	378,1 pg g ⁻¹	HATTORI i współaut. 1995
Kardamon malabarSKI	<i>Elettaria cardamomum</i> (White et Maton)	nasiona	15 ng g ⁻¹	MANCHESTER i współaut. 2000
Kolendra siewna	<i>Coriandrum sativum</i> (L.)	nasiona	7 ng g ⁻¹	MANCHESTER i współaut. 2000
Koper włoski	<i>Foeniculum capillaceum</i> (Gilib.)	nasiona	28 ng g ⁻¹	MANCHESTER i współaut. 2000
Kostrzewa trzcinowa	<i>Festuca arundinacea</i>	nasiona	5288,1 pg g ⁻¹	HATTORI i współaut. 1995
Kozieradka błękitna	<i>Trigonella coerulea</i> (L.)	nasiona	43 ng g ⁻¹	MANCHESTER i współaut. 2000
Kukurydza zwyczajna	<i>Zea mays</i> (L.)	nasiona	1366,1 pg g ⁻¹	HATTORI i współaut. 1995
Len zwyczajny	<i>Linum usitatissimum</i> (L.)	nasiona	12 ng g ⁻¹	MANCHESTER i współaut. 2000
Lucerna siewna	<i>Medicago sativa</i> (L.)	nasiona	16 ng g ⁻¹	MANCHESTER i współaut. 2000
Mak lekarski	<i>Papaver somniferum</i> (L.)	nasiona	6 ng g ⁻¹	MANCHESTER i współaut. 2000
Migdałowiec zwyczajny	<i>Prunus amygdalus</i> (Batsch)	nasiona	39 ng g ⁻¹	MANCHESTER i współaut. 2000
Ostropest plamisty	<i>Silybum marianum</i> (L.)	nasiona	2 ng g ⁻¹	MANCHESTER i współaut. 2000
Owies zwyczajny	<i>Avena sativa</i> (L.)	nasiona	1796,1 pg g ⁻¹	HATTORI i współaut. 1995
Ryż siewny	<i>Oryza sativa japonica</i> (L.)	nasiona	1006 pg g ⁻¹	HATTORI i współaut. 1995
Seler zwyczajny	<i>Apium graveolens</i> (L.)	nasiona	7 ng g ⁻¹	MANCHESTER i współaut. 2000
Słonecznik zwyczajny	<i>Helianthus annuus</i> (L.)	nasiona	29 ng g ⁻¹	MANCHESTER i współaut. 2000
Komosa czerwona	<i>Chenopodium rubrum</i> (L.)	pędy	240 pg g ⁻¹	KOLÁR i współaut. 1997
Wilec wielkokwiatowy	<i>Pharbitis nil</i> Choisy	korzenie	3,5 pg g ⁻¹	VAN TASSEL i współaut. 2001

Wilec wielkokwiatowy	<i>Pharbitis nil</i> Choisy	lodygi	3,5 pg g ⁻¹	VAN TASSEL i współaut. 2001
Wilec wielkokwiatowy	<i>Pharbitis nil</i> Choisy	liście	0,5 pg g ⁻¹	VAN TASSEL i współaut. 2001
Złocien maruna	<i>Tanacetum parthenium</i> (L.)	liście (ziel.)	2,45 µg g ⁻¹	MURCH i współaut. 1997
Złocien maruna	<i>Tanacetum parthenium</i> (L.)	liście (złote)	1,92 µg g ⁻¹	MURCH i współaut. 1997
Dziurawiec zwyczajny	<i>Hypericum perforatum</i> (L.)	liście	1,8 µg g ⁻¹	MURCH i współaut. 1997, 2000
Dziurawiec zwyczajny	<i>Hypericum perforatum</i> (L.)	kwiaty	4,4 µg g ⁻¹	MURCH i współaut. 1997

O'NEIL 2001). Najwyższe stężenie MEL występuje w organach reprodukcyjnych, szczególnie w kwiatach oraz nasionach, co może być związane z dużą wrażliwością tych organów na stresy środowiskowe. Zawartość tej indoloaminy znacznie różni się nie tylko między poszczególnymi organami roślin, ich gatunkami, ale też pomiędzy odmianami tego samego gatunku (DUBBELS i współaut. 1995, HATTORI i współaut. 1995, POEGGELER i współaut. 1991, KOLÁŘ i współaut. 1997) (Tabela 1). Różnice w zawartości MEL są znaczne w różnych częściach rośliny, lecz szczególnie duże zaobserwowano w nasionach. Przeciętna zawartość MEL w nasionach różnych gatunków roślin waha się od 2 do 190 ng g⁻¹ s. m. (MURCH i SAXENA 2002). Według MANCHESTER i współaut. (2000) różnice zawartości MEL mogą być spowodowane działaniem odmiennych czynników środowiskowych w czasie wzrostu i rozwoju rośliny oraz w poszcze-

gólnych fazach rozwoju morfologicznego nasion. MEL znaleziono w różnych gatunkach ziół stosowanych w chińskiej medycynie (CHEN i współaut. 2003). W większości spośród przebadanych 108 gatunków roślin stwierdzono jej występowanie. W 64 gatunkach ilość tego związku określono na ponad 10 ng g⁻¹ s. m., ale wśród nich 39 gatunków posiadało więcej niż 100 ng g⁻¹ s. m., natomiast 10 z nich zawierało więcej niż 1000 ng g⁻¹ s. m. (CHEN i współaut. 2003). Interesującym wydaje się fakt, iż najwyższy poziom MEL występował w tych ziołach, które są stosowane w chorobach związanych ze stresem oksydacyjnym (m.in. chorobach neurologicznych, a także w czasie starzenia się organizmu), jak np. *Hypericum perforatum* L., *Epimedium brevicornum maxim* (1110 ng g⁻¹ s. m.) oraz *Mori albae corte* (1105 ng g⁻¹ s. m.).

BIOSYNTETA MELATONINY



U ssaków, drożdży i bakterii MEL powstaje z L-tryptofanu (Ryc. 1), który jest przekształcany do 5-hydroksytryptofanu przy udziale enzymu 5-hydroksylazy tryptofanu (4). Następnie 5-hydroksytryptamina (serotonina) powstaje poprzez dekarboksylację 5-hydroksytryptofanu przy udziale dekarboksylazy 5-hydroksytryptofanu (5). N-acetylowanie serotoniny, w której uczestniczy N-acetylotransferaza serotoniny (6) prowadzi do powstania

Ryc. 1. Szlak biosyntezy melatoniny.

(1) transaminaza i dekarboksylaza L-tryptofanu EC 1.4.1.19, 4.1.1.43, 1.2.3.7; (2) dekarboksylaza L-tryptofanu EC 4.1.1.27; (3) deaminaza tryptaminowa EC 1.13.11.11; (4) 5-hydroksylaza tryptofanu EC 1.14.16.4; (5) dekarboksylaza 5-hydroksytryptofanu EC 4.1.1.28; (6) N-acetylotransferaza serotoniny EC 2.3.1.5; (7) N-metylotransferaza acetyloserotoniny EC 2.3.1.4 (wg MURCHA i SAXENY 2002, zmodyfikowany).

N-acetyloserotoniny. Następnie grupa metylowa S-adenozylometioniny jest przenoszona na grupę 5-hydroksylową N-acetyloserotoniny w reakcji katalizowanej przez N-metylotransferazę acetyloserotoniny, prowadząc do powstania N-acetylo-5-metoksytryptaminy (MEL) (CARDINALI i PÉVET 1998, MURCH i SAXENA 2002). O podobnej drodze biosyntezy MEL u roślin, jak u ssaków, drożdży i bakterii może świadczyć obecność serotonininy (5-hydroksytryptamina), którą już ponad 30 lat temu znaleziono w owocach i warzywach. Badania wykonane na kulturach *in vitro* dziurawca zwyczajnego (*Hypericum perforatum* L.) z zastosowaniem ^{14}C -tryptofanu pokazały, iż L-tryptofan jest prekursorem MEL, ale również kwasu indolilo-3-octowego (IAA) oraz innych auksyn, jak np. kwasów indoli-

lo-3-masłowego i *p*-hydroksyfenylooctowego (MURCH i współaut. 2000, MÜLLER i COHEN 2002). IAA może być bezpośrednio syntetyzowany z L-tryptofanu przy udziale transaminazy i dekarboksylazy L-tryptofanu (1), bądź na drodze alternatywnej z tryptaminy, w której uczestniczy deaminaza tryptaminowa (3) (Ryc. 1) (MURCH i SAXENA 2002). Biosynteza MEL u roślin jest słabo poznana. Przypuszczalny szlak biosyntezy MEL przedstawiony jest na Ryc. 1. Niewiele jest danych dotyczących enzymów zaangażowanych w syntezę MEL w roślinach. Do tej pory w różnych gatunkach roślin scharakteryzowano i sekwencjonowano dekarboksylazę tryptofanu, oraz 5-hydroksylazę tryptaminy w nasionach orzecha włoskiego (FACCHINI i współaut. 2000, MURCH i SAXENA 2002).

ROLA MELATONINY W ROŚLINACH

ROLA W REGULACJI CYKLU OKOŁODOBOWEGO U ROŚLIN

MEL uczestniczy w regulacji rytmu okołodobowego u zwierząt, została nazwana hormonem ciemności. Biosynteza jej u ssaków zachodzi rytmicznie. Najwyższą zawartość MEL obserwuje się w nocy, po czym ilość jej obniża się na świetle do poziomu prawie niewykrywalnego. Podobny wzór biosyntezy MEL występuje u niektórych przedstawicieli Dinoflagellates, a także niektórych gatunków roślin fotosyntetyzujących (MURCH i SAXENA 2002). U podstaw odpowiedzi roślin na fotoperiod leży zjawisko „zegara biologicznego”, polegające na cyklicznym występowaniu rytmicznych zmian różnych procesów zgodnie z cyklem dobowym dnia i nocy. Wydaje się, że MEL może regulować procesy fizjologiczne w roślinach, które przebiegają w sposób rytmiczny (BALZER i HARDELAND 1996). Na udział MEL w regulacji endogennego dobowego rytmu biologicznego u jednokomórkowej bruzdnicy *Gonyaulax polyedra* wskazują prace POEGGELERA i współaut. (1991). Klasycznym przykładem rytmiki dobowej może być indukowana bioluminescencja u *Gonyaulax polyedra*. U organizmu tego obserwuje się silną luminescencję w nocy, której intensywność obniża się wraz z nastaniem dnia. Wykazano też, iż podobne rytmiczne zmiany zawartości MEL występują w dobowym cyklu światła i ciemności, z maksimum w ciem-

ności, a minimum w czasie dnia (POEGGELERA i współaut. 1991). *G. polyedra* wytwarza cysty, gdy znajduje się w warunkach krótkiego dnia (6 godz./18 godz.) i obniżonej temperatury (15°C), podczas gdy w temperaturze 20° w tych samych warunkach światła i ciemności, cysty nie powstają (BALZER i HARDELAND 1996). Jeżeli okres ciemności zostanie przerwany 2 godz. naświetleniem, to powstawanie cyst jest zahamowane. Reakcja jest więc podobna do odpowiedzi roślin krótkiego dnia na fotoperiod i jest ona związana z czasem trwania nieprzerwanej ciemności. Dodanie MEL do podłoża hodowlanego *G. polyedra*, 1 godz. przed rozpoczęciem nocy, gdy kultury znajdują się w warunkach nieindukujących, czyli długiego dnia (11 godz./13 godz.) i w obniżonej temperaturze (15°C) powoduje, iż wszystkie komórki tej bruzdnicy w ciągu 3 dni tworzą cysty. Zatem, MEL naśladuje w tym przypadku krótki dzień, a obniżenie temperatury hodowli umożliwia komórkom *Gonyaulax* odpowiedź fotoperiodyczną (BALZER i HARDELAND 1996). Podobne zmiany obserwowano u rośliny dnia krótkiego, komosy czerwonej (*Chenopodium rubrum* L.) (KOLÁŘ i współaut. 1997), a także u pomidora zwyczajnego (*Lycopersicon esculentum* Mill.) (CANIATO i współaut. 2003). Bodziec fotoperiodyczny indukuje w liściach roślin czynnik chemiczny, który przemieszcza się do stożka wzrostu i pobudza procesy związane z kwitnieniem. W reakcjach foto-

periodycznych pośredniczy fitochrom, który reguluje aktywność genów odpowiedzialnych za zmiany metabolizmu prowadzące do kwitnienia. Jak wcześniej wspomniano, odpowiedź roślin na fotoperiod związana jest z czasem trwania nieprzerwanej ciemności. Można więc wywołać kwitnienie rośliny krótkiego dnia jeśli zastosować po dniach krótkich odpowiednio długie noce. Błysk światła przerywa noc u tych roślin i hamuje kwitnienie. Błysk światła powoduje też zahamowanie syntezy MEL (CARDINALI i PÉVET 1998). W 15-dniowych siewkach *C. rubrum*, rosnących w dobowym cyklu światła i ciemności (12 godz./12 godz.), zawartość MEL pozostaje niska lub prawie niewykrywalna w czasie wzrostu rośliny na świetle, najwyższą wartość osiągając po 4-6 godz. wzrostu w ciemności (KOLÁŘ i współaut. 1997). Czas pojawienia się maksymalnego stężenia MEL zależy od długości okresu ciemności (WOLF i współaut. 2001). Im okres ciemności jest dłuższy, tym maksymalna zawartość tej indoloaminy pojawia się później (MACHÁČKOVÁ i KREKULE 2002). Jest to reakcja inna niż w przypadku kręgowców, gdzie maksymalną zawartość MEL obserwuje się w nocy i nie zmienia się ona wraz ze zmianą jej długości. Podanie MEL *C. rubrum*, w różnych okresach długiej, indukcyjnej nocy, powoduje, że związek ten jest aktywny tylko do 6 godz. ciemności, zastosowany później słabo stymuluje kwitnienie (MACHÁČKOVÁ i KREKULE 2002). Wydaje się więc, że MEL uczestniczy w reakcji fotoperiodycznej *C. rubrum*, ale mechanizm tego działania nie jest do tej pory poznany. Zawartość MEL w młodszych, reprodukcyjnych tkankach roślin jest wyższa, a obniża się w czasie ich starzenia się, podobnie jak u ssaków. Również w młodych, 2-dniowych, jeszcze znajdujących się pod ziemią, siewkach wilca wielokwiatowego (*Pharbitis nil*) zawartość MEL jest 6-krotnie wyższa niż w siewkach starszych (VAN TASSEL i współaut. 2001). W etiolowanych hipokotylach siewek dziurawca zwyczajnego (*Hypericum perforatum* L.) zawartość MEL jest 15-20 razy wyższa w porównaniu z hipokotylami siewek rosnących na świetle (MURCH i SAXENA 2002).

Wydaje się więc, że wzrost zawartości MEL w młodych, rosnących w ciemności siewkach może być sumarycznym wynikiem zarówno warunków wzrostu siewek (ciemność), jak i ich wieku. Jak przypuszcza się, MEL może pośredniczyć w odpowiedzi fotoperiodycznej roślin wyższych, łącznie z indukcją fotoperiodyczną, ale mechanizm jej działania jest dotąd nieznany (MACHÁČKOVÁ i KREKULE 2002, MURCH i SAXENA 2002).

ROLA MELATONINY W REGULACJI WZROSTU I ROZWOJU U ROŚLIN

O roli MEL jako regulatora wzrostu i rozwoju roślin świadczą badania wykonane przez MURCHA i współaut. (1997), w których, stosując inhibitory metabolizmu auksyn, serotonininy i MEL, wykazali, że wzrost stężenia endogennej MEL indukuje pojawienie się korzeni w kulturach *in vitro* *H. perforatum*, natomiast akumulacja serotonininy, bezpośredniego prekursora MEL, sprzyja formowaniu zawiązków pędów. W pracach tych wykazano ponadto, że organogeneza korzeni indukowana przez auksynę jest hamowana przez inhibitory transportu serotonininy i MEL. Natomiast tworzenie pędów indukowane przez cytokininę jest pobudzane przez związki hamujące przekształcenie serotonininy do MEL (MURCH i SAXENA 2002). Wydaje się więc, iż zdolność morfogenetyczna kultur *H. perforatum* L. może zależeć od odpowiedniego stosunku serotonininy do MEL, podobnie jak w przypadku zmian wzrostu roślin spowodowanego zmianą stosunku auksyn do innych fitohormonów, m. in. cytokinin (MURCH i SAXENA 2002). Ostatnio doniesiono, że MEL pobudza wzrost elongacyjny etiolowanych siewek łubinu (*Lupinus albus* L.) w sposób analogiczny do działania IAA (HERNANDEZ-RUIZ i współaut. 2004). W stężeniach wysokich związek ten działa jak inhibitor (prawdopodobnie osiąga toksyczne stężenie w tkance), zaś w niższych pobudza wzrost segmentów hipokotyli łubinu, ale słabiej niż IAA. Optymalne stężenie MEL pobudzające wzrost określono na 10 μ M (HERNANDEZ-RUIZ i współaut. 2004).

MELATONINA ANTYUTLENIACZEM

MEL wykazuje silne własności antyutleniające (TERRÓN i współaut. 2001). Niektórzy badacze uważają, że związek ten jest uniwersalnym antyoksydantem. Sugestię po-

wyższą opierają między innymi na obserwacji, że występuje ona powszechnie w różnych oddalonych od siebie filogenetycznie organizmach, jak bakterie, zwierzęta, glony,

rośliny (REITER i współaut. 1995). MEL w niskich stężeniach jest rozpuszczalna w roztworach wodnych oraz lipidach, może więc pełnić rolę antyutleniacza hydrofilowego oraz hydrofobowego. Ta cecha oraz jej niewielka cząsteczka powoduje, że może łatwo przemieszczać się pomiędzy poszczególnymi kompartmentami komórki, chroniąc je przed nadmiarem reaktywnych form tlenu. Wydaje się, że u roślin pełni ona rolę antyutleniacza podobnie, jak IAA i inne indoloaminy m. in. kwasy indolilo-3-masłowy i indolilo-3-propionowy, a także tryptofan (CANO i współaut. 2003). MEL chroni tkanki roślinne przed stresem oksydacyjnym wywołanym stresami środowiskowymi, takimi jak: zmiany stężenia ozonu, wysoka i niska temperatura, UV, zanieczyszczenia (TAN i wsp. 2000, VAN TASSEL i współaut. 2001). W dojrzałych owocach dzikiej odmiany pomidora (*Lycopersicon pimpinellifolium*) oraz pomidora zwyczajnego (*L. esculentum* Mill.) stwierdzono występowanie MEL. Jednak, w owocach pomidora *L. esculentum* odporniejszego na ozon, zawartość MEL jest 5-krotnie wyższa niż u *L. pimpinellifolium*, który jest gatunkiem wrażliwym (DUBBELS i współaut. 1995). Również u dwóch odmian tytoniu *Nicotia-*

na tabacum L., różniących się wrażliwością na ozon, stwierdzono różnice w zawartości MEL (DUBBELS i współaut. 1995). Wydaje się, że ta lipofilowa indoloamina dzięki swojej aktywności antyoksydacyjnej może zabezpieczać przed utlenianiem tłuszcze zmagazynowane w nasionach, wpływając tym samym na podniesienie ich żywotności (MANCHESTER i współaut. 2000, VAN TASSEL i O'NEILL 2001). W owocach dojrzałych pomidorów zawartość MEL jest znacznie wyższa w porównaniu z zielonymi, co prawdopodobnie jest związane z ochroną owoców przed nadmierną produkcją reaktywnych form tlenu w czasie ich dojrzewania (DUBBELS i współaut. 1995). Według VAN TASSEL i współaut. (2001) MEL prawdopodobnie bierze udział w utrzymaniu odpowiedniego stanu redoks organów również w czasie dojrzewania owoców. Stwierdzono też, iż serotonina gromadząca się w nasionach orzecha włoskiego uczestniczy w detoksyfikacji nadmiaru amoniaku, który gromadzi się w nich w czasie odwodnienia (MURCH i SAXENA 2002). Istnieją też doniesienia o udziale MEL w regulowaniu spoczynku nasion (BALZER i HARDELAND 1996), jednak mechanizm tej regulacji nie jest znany.

MECHANIZM DZIAŁANIA

Niewiele jak dotąd wiadomo o mechanizmie działania MEL u roślin. W odpowiedzi komórek na działanie czynników środowiskowych biorą udział szlaki przekazywania sygnałów, w których uczestniczą białka związane z GTP, zwane białkami G, przekazujące stan wzbudzenia na enzym fosfolipazę C. Enzym ten uczestniczy w przemianach fosfolipidów inozytolu, które wpływając na kanały i pompy wapniowe prowadzą do uwolnienia Ca^{+2} z wewnątrzkomórkowych magazynów (wakuoli, mitochondriów, siateczki śródplazmatycznej) do cytosolu. Czynniki środowiska mogą też prowadzić do aktywacji innych niż Ca^{+2} wewnątrzkomórkowych sygnałów, takich jak cAMP i cGMP. Wykazano, że MEL wbudowuje się do wewnątrzkomórkowych białkowych receptorów połączonych z GTP, zlokalizowanych w błonach wakuol *G. polyedra*, prowadząc do wzrostu wypływu protonów. Pierwszą wykrywalną zmianą na wzrost stężenia MEL w podłożu hodowlanym *Gonyaulax* jest 90-krotne podwyższenie bioluminescencji związanej z uwalnianiem protonów do cytoplazmy (HARDELAND 1993). Zmiany

wewnątrzkomórkowego stężenia Ca^{+2} i obniżenie wewnątrzkomórkowego pH są kluczowe dla formowania się cyst. Badania wykonane na *G. polyedra* wykazały, że w powstawaniu cyst biorą też udział fosfatydyloinozytole. Postuluje się, że powstawanie cyst indukowane MEL jest spowodowane przemianą MEL do 5-metoksytryptaminy (silniej wpływa na powstawanie cyst niż MEL), która to stymulując aktywność wakuolarnego enzymu H^{+} -ATPazy, prowadzi do obniżenia wewnątrzkomórkowego pH i indukcji powstania cyst (HARDELAND i współaut. 1995, TSIM i współaut. 1997). Wydaje się zatem, że rytmiczny wzrost zawartości MEL może być związany ze szlakami sygnałowymi, zależnym od cAMP i od Ca^{+2} . Ostatnio opublikowane dane potwierdziły, że MEL jest regulatorem wzrostu i rozwoju roślin, o działaniu zbliżonym do auksyn (HERNÁNDEZ-RUIZ i współaut. 2004). Jednak mechanizm jej działania u roślin jest nieznany. Konieczne jest wznowienie badań na klasycznych modelach stosowanych w fizjologii roślin, które pomogą wyjaśnić rolę i mechanizm działania MEL (i) jako niezależ-

nego regulatora wzrostu roślin, (ii) regulatora mogącego pośredniczyć w działaniu innych substancji wpływających na wzrost roślin lub (iii) związku, który uczestniczy w regulacji

wzrostu, ale jego działanie jest obecnie przypisywane innym związkom (MURCH i SAXENA 2002).

PODSUMOWANIE

MEL jest związkiem konserwatywnym, występującym w daleko od siebie oddalonych ewolucyjnie organizmach. Chociaż funkcja MEL w roślinach jest jeszcze słabo poznana, to można już sugerować, że jest regulatorem wzrostu i rozwoju roślin, o podobnym działaniu do IAA. Pełni ona rolę regulatora pro-

cesów zależnych od rytmu okołodobowego, pośredniczy w odpowiedzi fotoperiodycznej roślin z indukcją zakwitania zależną od fotoperiodu. Działając jako antyutleniacz stabilizuje komórki roślinne chroniąc je przed szkodliwymi czynnikami środowiska.

MELATONIN IN PLANTS

S u m m a r y

Widespread occurrence of melatonin (MEL) in plant kingdom has been reported. MEL is a conservative compound occurring in evolutionarily distant organisms. Although MEL's function in plants is not well known yet a hypothesis can be put forward that it is a plant growth and development regulator

that promotes vegetative growth in a similar way as indolilo-3-acetic acid (IAA). It acts as a chemical mediator of darkness, coordinating responses to diurnal and photoperiodic environmental cues. It may also be an antioxidant stabilizing the cells and protecting them against harmful environmental influence.

LITERATURA

- BALZER I. R., HARDELAND R., 1996. *Melatonin in algae and higher plants – possible new roles as a phytohormone and antioxidant*. Botanica Acta 109, 180–183.
- CANIATO R., FILIPPINI R., PIOVAN A., PURICELLI L., BOR-SARINI A., CAPPELLETTI E. M., 2003. *Melatonin in plants. [W:] Developments in Tryptophan and Serotonin Metabolism*. ALLEGRI G., COSTA C. V. L., RAGAZZI E., STEINHART H., VARESI L. (red.). Kulver Academic/Plenum Publishers, 593–597.
- CANO A., ALCARAZ O., ARNAO M. B., 2003. *Free radical-scavenging activity of indolic compounds in aqueous and ethanolic media*. Anal. Bioanal. Chem. 376, 33–37.
- CARDINALI D. P., PÉVET P., 1998. *Basic aspects of melatonin action*. Sleep Med. Rev. 2, 175–190.
- CHEN G., HUO Y., D-X., LIANG Z., ZHANG W., ZHANG Y., 2003. *Melatonin in Chinese medicinal herbs*. Life Sci. 73, 19–26.
- DUBBELS R., REITER R. J., KLENKE E., GOEBEL A., SCHNACKENBERG E., EHLERS C., SCHIWARA H. W., CHLOOT W., 1995. *Melatonin in edible plants identified by radioimmunoassay and by high performance liquid chromatography-mass spectrometry*. J. Pineal Res. 18, 28–31.
- FACCHINI P. J., HUBER-ALLANACH K. L., TARI L. W., 2000. *Plant aromatic L-amino acid decarboxylases: evolution, biochemistry, regulation and metabolic engineering applications*. Phytochemistry 54, 121–138.
- HARDELAND R., 1993. *The presence and function of melatonin and structurally related indoleamines in a dinoflagellate, and a hypothesis on the evolutionary significance of these tryptophan metabolites in unicellular*. Experientia 49, 614–622.
- HARDELAND R., POEGGELER B., 2003. *Non-vertebrate melatonin*. J. Pineal Res. 34, 233–241.
- HARDELAND R., BALZER I., POEGGELER B., FUHRBERG B., URIA H., BEHRMANN G., WOLF R., MEYER J., REITER R. J., 1995. *On the primary functions of melatonin in evolution: Mediation of photoperiodic signals in a unicell, photooxidation, and scavenging of free radicals*. J. Pineal Res. 18, 104–111.
- HATTORI A., MIGITAKA H., MASAYAKI I., ITOH M., YAMAMOTO K., OHTANI-KANEKO R., HARA M., SUZUKI T., REITER R. J., 1995. *Identification of melatonin in plant seed its effects on plasma melatonin levels and binding to melatonin receptors in vertebrates*. Biochem. Mol. Biol. Int. 35, 627–634.
- HERNÁNDEZ-RUIZ J., CANO A., ARNAO M. B., 2004. *Melatonin: a growth stimulating compound present in lupin tissue*. Planta 220, 140–144.
- KOLÁR J., MACHÁČKOVÁ I., EDER J., PRINSEN E., PRINSEN E., VAN DONGEN W., VAN ONCKELEN H., ILLE-ROVÁ H., 1997. *Melatonin: Occurrence and daily rhythm in Chenopodium rubrum*. Phytochemistry 44, 1407–1413.
- LERNER A. B., CASE J. D., TAKAHASHI Y., 1958. *Isolation of melatonin, a pineal factor that lightness melanocytes*. J. Am. Soc. 80, 2587.
- MACHÁČKOVÁ I., KREKULE J., 2002. *Sixty-five years of searching for the signals that trigger flowering*. Russ. J. Plant Physiol. 49, 451–459.
- MACIAS M., RODRIGUEZ-CABEZAS M. N., REITER R. J., OSUNA A., ACUN A-CASTROVIEJO D., 1999. *Presence and effects of melatonin in Trypanosoma cruzi*. J. Pineal Res. 27, 86–94.
- MANCHESTER L. C., TAN D-X., REITER R. J. PARK W., MONIS K., QI W. B., 2000. *High levels of melatonin in the seeds of edible plants – possible*

- function in germ tissue protection.* Life Sci. 67, 3023-3029.
- MEYER-ROCHOW V. B., WAKKURI O., 2002. *Head and abdominal melatonin in summer and winter bees.* J. Pineal Res. 32, 275-276.
- MÜLLER J. L., COHEN J. D., 2002. *Identification and quantification of three active auxins in different tissues of Tropaeolum majus.* Physiol. Plant. 115, 320-329.
- MURCH S. J., SAXENA P. K., 2002. *Melatonin: a potential regulator of plant growth and development? In vitro Cell. Dev. Biol.-Plant* 38, 531-536.
- MURCH S. J., KRISHNARAJ S., SAXENA P. K., 2000. *Tryptophan is a precursor for melatonin and serotonin biosynthesis in in vitro regenerated St. John's wort (Hypericum perforatum L. cv. Anthos) plants.* Plant Cell Rep. 19, 698-704.
- MURCH S. J., SIMMONS C. B., SAXENA P. K., 1997. *Melatonin in feverfew and other medicinal plants.* The Lancet 350, 1598-1599.
- POEGGELER B., BALZER I., HARDELAND R., LERCHI A., 1991. *Pineal hormone melatonin oscillates also in the dinoflagellate Gonyaulax polyedra.* Naturwissenschaften 78, 268-269.
- REITER R. J., 1991. *Pineal melatonin: cell biology of its physiological interactions.* Endo. Rev. 12, 151-181.
- REITER R. J., MELCHIORRI D., SEWERYNEK E., POEGGELER B., BARLOW-WALDEN L., CHUANG J.-I., ORTIZ G. G., ACUNA-CASTROVIEJO D., 1995. *A review of the evidence supporting melatonin's role as an antioxidant.* J. Pineal Res. 18, 1-18.
- RODRIGUEZ C., MAYO J. C., SAINZ R. M., ANTOLIN I., HERRERA F., MARTIN V., REITER R. J., 2004. *Regulation of antioxidant enzymes: a significant role for melatonin.* J. Pineal Res. 36, 1-9.
- TAN D. X., MANCHESTER L. C., REITER R. J., QI W., KARBOWNIK M., CALVO J. R., 2000. *Significance of melatonin in antioxidative defence system: reactions and products.* Biol. Signals Recept. 9, 137-159.
- TEIXEIRA A., MORFIM M. P., DE CORDOVA C. A. S., CHARA O. C. T., DE LIMA V. R., CRECZYNSKI-PASA T. B., 2003. *Melatonin protects against pro-oxidant enzymes and reduces lipid peroxidation in distinct membranes induced by the hydroxyl and ascorbyl radicals and by peroxynitrite.* Pineal Res. 35, 262-268.
- TERRÓN M. P., MA MARCGENA J., SHADI F., HARVEY S., LEA R. W., RODRIGUEZ A. B., 2001. *Melatonin: an antioxidant at physiological concentrations.* J. Pineal Res. 31, 95-96.
- TIAN Q., REED J. W., 1999. *Control of auxin-regulated root development by the Arabidopsis thaliana SHY2/IAA3 gene.* Development 126, 711-721.
- TSIM S.T., WONG J. T. Y., WONG Y. H., 1997. *Calcium ion dependency and the role of inositol phosphates in melatonin-induced encystment of dinoflagellates.* J. Cell Sci. 110, 1387-1393.
- WOLF K., KOLÁŘ J., WITTERS E., VAN DONGEN W., VAN ONCKELEEN H., MACHÁČKOVÁ I., 2001. *Daily profile of melatonin levels in Chenopodium rubrum L. depends on photoperiod.* J. Plant Physiol. 158, 1491-1493.
- VAN TASSEL D. L., O'NEIL S. D., 2001. *Putative regulatory molecules in plants: evaluating melatonin.* J. Pineal Res. 31, 1-7.
- VAN TASSEL D. L., ROBERTS N., LEWY A., O'NEIL S. D., 2001. *Melatonin in plant organs.* J. Pineal Res. 31, 8-15.