

ANNA JANECZKO

*Instytut Fizjologii Roślin im. Franciszka Górskiego PAN
Niezapominajek 21, 30-239 Kraków
e-mail: ania@belanna.strefa.pl*

BRASINOSTEROIDY W ROLNICTWIE, OGRODNICTWIE I KULTURACH *IN VITRO*

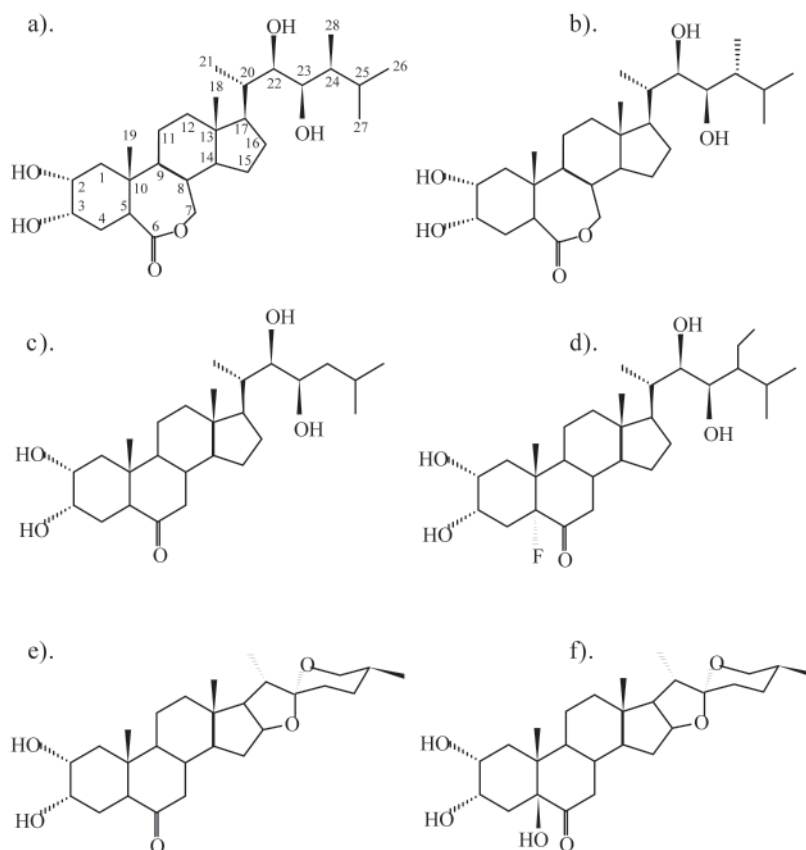
WSTĘP

W latach 70. ubiegłego wieku, we frakcji lipidowej uzyskanej z pyłku rzepaku, stwierdzono bliżej nieznanne związki o silnym działaniu pobudzającym wzrost roślin (MITCHELL i współaut. 1970, WORLEY i MITCHELL 1971). Związki te nazwano ogólnie brasinami. W kilka lat później, w wyniku szczegółowych badań ekstraktów pyłkowych wspomnianej rośliny, dokładnie poznano i opisano strukturę chemiczną brasinolidu (BR_1). Jak się okazało, był to pierwszy odkryty w królestwie roślin związek o charakterze regulatora wzrostu należący do grupy steroidów (GROVE i współaut. 1979) (Ryc. 1). Obecnie znanych jest kilkadziesiąt regulatorów o budowie opartej o szkielet (22R,23R)-5 α -cholestan-22,23-diolu. Przy węglach C2 i C3 najczęściej występują grupy hydroksylowe, a w pozycji C17 kilkuwęglowy łańcuch boczny, przeważnie z grupami -OH przy C22 i C23 (ZULLO i współaut. 2003). Związki te przyjęto określać mianem brasinosteroidów i oznaczono symbolem BR_n lub BR (MANDAVA 1988, ZULLO i KOHOUT 2004) (Tabela 1). Do naturalnych BR należą m.in. 24-epibrasinolid (BR_{27}) i 28-homobrasinolid (BR_{17}) (Ryc. 1), jednakże na drodze syntezy chemicznej uzyskano brasinosteroidy syntetyczne lub ich analogi, nie występujące w warunkach naturalnych, ale posiadające aktywność biologiczną zbliżoną lub identyczną z naturalnymi BR (ZULLO i ADAM 2002, ZULLO i współaut. 2003). Przykładami analogów są: TS303 (ZULLO i współaut. 2003), 5F-HCTS (SCHAEFER i współaut. 2002), a także kubański BIOBRAS-6 i MH5 (MAZORRA i współaut. 2004) (Ryc. 1). W roślinach występuje także wiele nieaktywnych fizjologicznie prekursoro-

rów lub pochodnych naturalnych brasinosteroidów, które pojawiają się na szlaku biosyntezy lub inaktywacji i rozkładu BR (NOGUCHI i współaut. 2000, BISHOP i YOKOTA 2001) (Ryc. 1). Brasinosteroidy występują u roślin nago- i okrytozalążkowych w łodygach, korzeniach, pyłku kwiatowym, nasionach, pąkach kwiatowych, znaleziono je także u glonów (BAJGUZ i TRETYN 2003). Naturalna zawartość BR w roślinach jest bardzo niska, np. w 1 kg nasion *Arabidopsis thaliana* znajduje się 220ng 24-epibrasinolidu i 360 ng kastasteronu (SCHMIDT i współaut. 1997). Do oznaczeń tak niewielkich ilości wykorzystuje się precyzyjne metody analityczne takie jak wysokosprawna chromatografia cieczowa z detekcją masową (DINAN i współaut. 2001) lub metoda immunoenzymatyczna (SWACZYNOVÁ i współaut. 2004). W obecnej chwili brasinosteroidy uznaje się za nową grupę

Tabela 1. Nazwy zwyczajowe wybranych brasinosteroidów i symbole proponowane przez MANDAVA (1988) oraz ZULLO i KOHOUT (2004).

Nazwa zwyczajowa	Symbol
brasinolid	BR_1
kastasteron	BR_2
dolicholid	BR_3
teasteron	BR_8
28-norbrasinolid	BR_{14}
28-homobrasinolid	BR_{17}
24-epibrasinolid	BR_{27}
sekasteron	BR_{38}
28-nortyfasterol	BR_{49}
sekasterol	BR_{53}



Ryc. 1. Struktura chemiczna wybranych brasinosteroidów.

(a) brasinolid – pierwszy odkryty brasinosteroid; (b) 24-epibrasinolid; (c) kastasteron – prekursor na szlaku biosyntezy brasinosteroidów; (d-f) analogi brasinosteroidów (5F-HCTS, BIOBRAS-6, MH5) (wg ZULLO i współaut. 2003, SCHAEFER i współaut. 2002, MAZORRA i współaut. 2004).

hormonów roślinnych (KHRIPACH i współaut. 2000). Cechą charakterystyczną BR jest fakt, że wykazują one aktywność fizjologiczną w stężeniach około 1000 razy mniejszych niż inne dotychczas znane roślinne hormony (JANKIEWICZ 1997, 2003).

W artykułach publikowanych na łamach Kosmosu (BAJGUZ i CZERPAK 1995, 1997; BAJGUZ 1999) czytelnicy mieli okazję przeczytać o właściwościach fizjologicznych brasinosteroidów, ich wpływie na metabolizm, wzrost i rozwój roślin, a także o biosyntezie tych związków. Od tej pory wiedza dotycząca w szczególności molekularnych podstaw działania BR w komórkach roślinnych poszerzyła się. Zastosowanie technik biologii molekularnej (m.in. klonowania cDNA, technik miarray) pozwoliło na identyfikację genów, które są aktywowane lub dezaktywowane przez BR czy też w różny sposób ulegają ekspresji u mutantów BR, w porównaniu z normalnymi roślinami tzw. dzikiego typu (MÜSSIG i ALTMANN 2003). Opisano produkty

genów, regulowanych przez BR, których występowanie i działanie wiąże się przykładowo z modyfikacją ścian komórkowych (białko BRU1 u soi, KOR u *Arabidopsis*), podziałami komórek (białko CycD3 u *Arabidopsis*), ochroną przed stresem (białka sHsps, Hsp70, Hsp90, Hsp101 u rzepaku), różnicowaniem elementów przewodzących itp. (MÜSSIG i ALTMANN 2003). Znalaziono także liczne mutanty karłowe wykazujące przykładowo zaburzenia w biosyntezie brasinosteroidów (mutanty *dwf7/ste1*, *dwf5* i *dim/dwf1* u *Arabidopsis*) (MÜSSIG i ALTMANN 2003). Właśnie badania na mutantach *Arabidopsis*, ale także fasoli, ryżu, pomidora dostarczają wiedzy na temat mechanizmów działania brasinosteroidów ich biosyntezy i transdukcji sygnału w komórce (BISHOP 2003). W błonach komórkowych roślin stwierdzono także receptory brasinosteroidów i dość dobrze poznana jest ich budowa (BISHOP i YOKOTA 2001, KINOSHITA i współaut. 2005). Opisano ponadto niektóre podstawy protekcyjnego działania

BR u roślin w warunkach stresu. Hormony te przeciwdziałają utracie barwników fotosyntetycznych w przypadku stresu solnego i chłodowego (ANURADHA i RAO 2003, KRISHNA 2003), sprzyjają produkcji ochronnych białek szoku cieplnego (DHAUBHADEL i współaut. 1999, 2002), ograniczają akumulację metali ciężkich u roślin i wzmagają produkcję ochronnych fitochelatyn oraz chronią kompleks rozkładu wody przed uszkodzeniami spowodowanymi kadmem (BAJGUZ 2000, 2002; JANEZKO i współaut. 2005). Brasinosteroidy podtrzymują także wydajność transportu energii w obrębie fotosystemu II, w przy-

padku stresu spowodowanego kadmem oraz wysoką temperaturą (JANEZKO i współaut. 2005, MIKULEC 2005). BR zwiększają ponadto w warunkach stresu aktywność enzymów antyoksydacyjnych u roślin (MAZORRA i współaut. 2002).

Brasinosteroidy stymulują zatem wzrost roślin (SASSE 2003), podnoszą efektywność fotosyntezy (YU i współaut. 2004) i chronią roślinę w warunkach stresu (KRISHNA 2003), nic więc dziwnego, że ich działanie prowadzi do poprawy plonowania, a także może spowodować poprawę jakości plonu roślin uprawnych.

WYKORZYSTANIE BRASINOSTEROIDÓW W ROLNICTWIE I OGRODNICTWIE

Badania nad stymulacją plonowania upraw pod wpływem BR prowadzi się m.in. w Indiach, Chinach i na Kubie. W latach 1989–1995 w Indiach wykonano testy polowe z zastosowaniem opryskiwania 28-homobrasinolidem na polach pszenicy, ryżu, bawełny, orzeszków ziemnych i ziemniaka. BR₁₇ stosowano w stężeniu od 0,25 do 1 mg·dm⁻¹ roztworu (RAMRAJ i współaut. 1997). Oprysk stosowany w fazie krzewienia i kłoszenia pszenicy odmiany Lok-1 powodował wzrost plonu średnio do 6,7 t·ha⁻¹, podczas gdy na poletkach kontrolnych uzyskiwano 5,7 t·ha⁻¹. Opryskiwanie pól ryżowych BR₁₇ w czasie krzewienia roślin i formowania wiech, spowodowało wzrost plonu ziarna z 4,9 t·ha⁻¹ do 6,3 t·ha⁻¹. Traktowanie 28-homobrasinolidem zwiększało także plony ziemniaków odmiany Kufri Jyoti (średnio o około 4 t·ha⁻¹) i plon nasion gorczycy odmiany T-59. Na plantacjach bawełny (odmiana NH 101) zastosowanie BR₁₇ stymulowało wzrost roślin i podniosło plon nasion z hektara z 1,7 t·ha⁻¹ do 2,5 t·ha⁻¹. Na polach orzeszków ziemnych 28-homobrasinolid powodował wzrost plonu o kilkanaście procent. Także ZULLO i ADAM (2002) podają, że u pszenicy, soi i fasoli, m.in. pod wpływem BR₂₇, wzrastał plon ziarna. Z dobrym skutkiem badane są także analogi brasinosteroidów. Stwierdzono, że BIOBRAS-16 podawany w początkach kwitnienia pomidorów zwiększa plon owoców przy zmniejszonym nawożeniu azotem (TERRY i współaut. 2001). Obecnie w wielu krajach większy nacisk kładzie się nie tyle na wzrost plonowania, co na jakość plonu i tutaj zastosowanie brasinosteroidów wpływa na poprawę wartości odżywczych zbiorów. W przypadku orze-

cha ziemnego brasinolid i 24-epibrasinolid zwiększały od kilku do kilkunastu procent zawartość białek i węglowodanów (VARDHINI i RAO 1998). W orzeszkach ziemnych stwierdzono wzrost ilości tłuszczu z 40% do nawet 58,5% dla nasion pochodzących z roślin opryskanych BR₂₇. 28-homobrasinolid i 24-epibrasinolid stymulował m.in. produkcję likopenu i węglowodanów w owocu pomidora (VARDHINI i RAO 2002). U różnych odmian *Cicer arietinum* L. traktowanie 24-epibrasinolidem w fazie kwitnienia przyczyniło się do wzrostu zawartości cukrów rozpuszczalnych i białka w nasionach (ZULLO i ADAM 2002). Wiele badań dotyczących aktywności BR w rolnictwie i ogrodnictwie pochodzi z Chin, Japonii lub Kuby i publikowane jest w narodowych językach, co utrudnia swobodny przepływ informacji. Jednakże na konferencji American Society of Plant Biologists „Plant Biology 2000” przedstawiono stan badań nad wdrażeniem brasinosteroidów do produkcji rolniczej w Chinach (ZHAO 2000). Z danych tych wynika m.in., że 24-epibrasinolid zwiększał w burakach cukrowych zawartość cukru, poprawiał jakość owoców (arbuza i winogron), a także warzyw, zwłaszcza rosnących w niesprzyjających warunkach. U pszenicy powodował zawiązywanie większej liczby ziarniaków w kłosie, zwiększając masę 1000 ziaren, a u kukurydzy sprzyjał lepszemu wypełnieniu kolb ziarnem. Pozytywny wpływ na uprawy wywiera także analog BR o symbolu TNZ303, przyspieszając kiełkowanie nasion i podnosząc o około 10% plon u jęczmienia i rzepaku; należy podkreślić, że związek ten aplikowany był przez namaczanie nasion, co jest szczególnie istotne, gdyż zawartość sub-

stancji pochodzącej z traktowania nasion jest potem w roślinie znikomo mała. Wiele praktycznych metod dotyczących wykorzystania BR zostało opatentowanych, przykładowo – US Patent 4,959,093 dotyczy stymulacji plonowania cebuli pod wpływem analogów BR. Produkcja bawełny o lepszych cechach włókna uzyskiwanej poprzez podawanie brasinosteroidów także została zastrzeżona patentem (US Patent 6,225,536). Opatentowano zastosowanie BR dla poprawy plonu owoców cytrusowych i walorów smakowych ich soku oraz dla obniżenia ilości opadających przedwcześnie zawiązków owocowych (US Patent 5,071, 466).

W Instytucie Fizjologii Roślin PAN w Krakowie od niedawna prowadzone są badania w ramach projektu badawczego (nr 2P06A-01928) nad możliwością poprawy plonu odmian roślin rolniczych, uprawianych w Polsce, przy zastosowaniu związków pochodzenia naturalnego, w tym także i brasinosteroidów, w warunkach klimatycznych naszego kraju. Wpływ BR na funkcje fizjologiczne ro-

ślin i w związku z tym możliwości praktycznego wykorzystania, nie jest jeszcze w pełni znany i nie ogranicza się jedynie do wpływu na plonowanie. BR mogą być także stosowane jako ukorzeniace sadzonek drzew, np. świerka (RÖNSCH i współaut. 1993), związki zapobiegające przedwczesnemu opadaniu zawiązków owocowych, a, jak wzmiankują ZULLO i ADAM (2002), mogą nawet ochraniać rośliny uprawne przed niekorzystnym działaniem herbicydów. W przypadku działania na rośliny uprawne różnego typu związków przy stosowaniu oprysków, pojawia się często pytanie o bezpieczeństwo konsumenta. Brasinosteroidy są związkami naturalnie występującymi w roślinach stąd, nawet podawane egzogennie poprzez opryskiwanie, nie powinny stanowić zagrożenia dla zdrowia człowieka, ze względu na niskie dawki polowe oraz przemiany jakim podlegają w roślinach po włączeniu w metabolizm (ZULLO i ADAM 2002). Niemniej jednak kwestia ta wymaga jeszcze badań.

BRASINOSTEROIDY W KULTURACH *IN VITRO*

Techniki kultur *in vitro* znalazły zastosowanie zarówno w badaniach podstawowych zjawisk biologicznych zachodzących na poziomie komórkowym (np. przez wykorzystanie zawiesin komórkowych), jak i w praktyce. W tym drugim przypadku chodzi głównie o mikrorozmnażanie odmian trudno rozmnażających się na drodze generatywnej dla potrzeb handlowych, a także namnażanie gatunków zagrożonych wyginięciem. Ze względu na różnicowane wymagania gatunków i odmian co do składu pożywek w kulturach *in vitro* istnieje zapotrzebowanie na poszukiwanie nowych regulatorów wzrostu i rozwoju. Dotychczas najczęściej stosowane były cytokininy oraz auksyny i ich pochodne, bądź analogi. Obecnie brasinosteroidy znajdują na tym polu coraz szersze zastosowanie, ponieważ jak stwierdzono, BR sprzyjają wzrostowi kalusa oraz stymulują embriogenezę i organogenezę u wielu gatunków roślin, w tym także uprawnych. W kulturach zawiesinowych *Arabidopsis thaliana* 24-epibrasinolid zastępował działanie cytokininy w pożywkach stosowanych do namnażania kultury komórek (HU i współaut. 2000). Zawiesina rosnąca na płynnej pożywce z BR₂₇ (5 μM) w połączeniu z 2.4 D wykazywała większy przyrost niż na pożywce z zeatyną i 2.4D. Także w kul-

turze kalusa tego gatunku brasinosteroidy mogą zastępować cytokininy (HU i współaut. 2000). Jak podaje HU i współaut. (2000), regulacja podziałów komórkowych przez BR odbywa się tak, jak w przypadku cytokinin, czyli poprzez aktywację genów dla cyklin typu D (*CycD3*). W zawieszynie komórkowej marchwi 24-epibrasinolid stymulował powiększanie się komórek, lecz nie wpływał na intensywność ich namnażania (BELLINCAMPI i MORPURGO 1988). W kulturze protoplastów *Petunia hybrida*, w zależności od zawartości auksyn i cytokinin, brasinolid (10–100 nM) skracał czas do pierwszego podziału komórkowego i zwiększał częstotliwość podziałową (OH i CLOUSE 1998, OH 2003). W przypadku kultur zawiesinowych pojawiły się także pierwsze próby wykorzystania BR do produkcji metabolitów wtórnych dla potrzeb medycyny i farmacji. Brasinolid w stężeniu 17 ng·dm⁻³ w pożywce zawiesinowej kultury cisa [*Taxus chinensis* (Pilger) Rehder] wzmacniał produkcję paclitakselu – związku pochodzenia naturalnego, stosowanego w chemioterapii nowotworów. Kultura komórek cisa, do której dodano brasinolid, produkowała dwukrotnie więcej tego związku (ZANG i współaut. 2001). Dodatek BR do pożywek istotnie stymuluje wzrost kalusa oraz procesy

bezpośredniej i pośredniej organogenezy, np. regenerację pędów i wzrost łodyg. U kalafiora (*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.) stwierdzono pod wpływem brasinolidu (0,1–10 μM) silną stymulację regeneracji pędów na eksplantach stanowiących segmenty hypokotyli (SASAKI 2002). U *Spartina patens* (Ait.) Muhl., jednoliściennej rośliny z rodziny wiechlinowatych, stwierdzono stymulację wzrostu kalusa i regenerację pędów pod wpływem BR₁ w stężeniu 0,03 mg·dm⁻³, natomiast w stężeniu 0,005 mg·dm⁻³ BR₁ stymulował wzrost zregenerowanych pędów tej rośliny (LU i współaut. 2003). Także w kulturach *in vitro* papryki pod wpływem BR₂₇ zanotowano stymulację wzrostu zregenerowanych pędów (FRANCK-DUCHENNE i współaut. 1998). Analogi, BIOBRAS-6 i MH-5, wraz z cytokininą sprzyjały formowaniu kalusa i tworzeniu pędów na eksplantach jakimi były liście sałaty (NÚÑEZ i współaut. 2004). BR pobudza także proces embriogenezy w kulturach *in vitro*. Badacze z Instytutu Nauki i Technologii Papieru (Atlanta, USA) stwierdzili u świerka, sosny i jodły stymulację embriogenezy na pożywkach zawierających brasinolid obok innych regulatorów (PULLMAN i współ-

aut. 2003). Na tej podstawie opracowano protokół do szybkiego namnażania wspomnianych drzew. Także u ryżu występuje stymulacja embriogenezy pod działaniem BR₁ (PULLMAN i współaut. 2003). Jak podają AZPEITIA i współaut. (2003) dotychczas do mikropropagacji palmy kokosowej stosowano metodę z wykorzystaniem somatycznej embriogenezy, lecz jej efektywność była dość niska. Wzbogacenie pożywek dodatkiem 22(S),23(S)-homobrasinolidu (0,01 i 0,1 μM) spowodowało wzrost liczby zarodków somatycznych zregenerowanych z jednego eksplantu, jakim był pęd zarodkowy (plumula) z 3,8 na 10,8. Do produkcji zarodków na drodze embriogenezy somatycznej u ziemniaka (*Solanum tuberosum* L.) zastosowano analog BIOBRAS-16 (0,5 mg·dm⁻³) wraz z oligopektem (PECTIMORF) w stężeniu 3,2 mg·dm⁻³. Związki te, wyprodukowane na Kubie, użyte łącznie zastępowały cytokininę wraz z auksyną, które stosowano dotychczas (<http://www.nutrar.com>).

Jak wynika z przedstawionych prac, zastosowanie brasinosteroidów w praktyce rolniczej i ogrodniczej, a być może także w farmacji i medycynie ma przed sobą przyszłość.

BRASSINOSTEROIDS IN AGRICULTURE, HORTICULTURE AND *IN VITRO* CULTURES

Summary

Brassinosteroids (BR) were found in rape pollen in 1979. These compounds, such as brassinolide, 24-epibrassinolide, castasterone are considered to be a new class of phytohormones. BR belong to steroids, a group of compounds, which have a basic sterane carbon skeleton. BR exhibit a multitude of physiological activities. Application of BR cause higher production of plant biomass, an increase in the quality and yield of different economically important crops, such as wheat, potato, rice, etc. Brassinosteroids

are natural plant constituents which makes them environmental friendly regulators in agricultural and horticultural production. In *in vitro* culture, BR stimulate callus formation, plant regeneration and processes of embryogenesis, their application makes protocols of micropropagation of plants more efficient. The physiological activity of BR is still a field of intensive investigations and the most interesting results of which are patented.

LITERATURA

- ANURADHA S., RAO S. S. R., 2003. *Application of brassinosteroids to rice seeds (Oryza sativa L.) reduced the impact of salt stress on growth, prevented photosynthetic pigment loss and increased nitrate reductase activity.* Plant Growth Reg. 40, 29–32.
- AZPEITIA A., CHAN J. L., SAENZ L., OROPEZA C., 2003. *Effect of 22(S),23(S)-homobrasinolide on somatic embryogenesis in plumule explants of Cocos nucifera (L.) cultured in vitro.* J. Hort. Sci. Biotechnol. 78, 591–596.
- BAJGUZ A., 1999. *Działanie brasinosteroidów na wzrost i rozwój roślin.* Kosmos 48, 75–85.
- BAJGUZ A., 2000. *Blockade of heavy metals accumulation in Chlorella vulgaris cells by 24-epibrassinolide.* Plant Physiol. Biochem. 38, 797–801.
- BAJGUZ A., 2002. *Brassinosteroids and lead as stimulators of phytochelatin synthesis in Chlorella vulgaris.* J. Plant Physiol. 159, 321–324.
- BAJGUZ A., CZERPAK R., 1995. *Występowanie i aktywność biologiczna brasinosteroidów – nowych hormonów roślinnych.* Kosmos 44, 129–144.
- BAJGUZ A., CZERPAK R., 1997. *Biosynteza i przemiany metaboliczne brasinosteroidów.* Kosmos 46, 259–268.
- BAJGUZ A., TRETYN A., 2003. *Brasinosteroidy – hormony roślinne.* Wydawnictwo Uniwersytetu Mikołaja Kopernika, Toruń.
- BELLINCAMPI D., MORPURGO G., 1988. *Stimulation of growth in Daucus carota L. cell cultures by brassinosteroids.* Plant Sci. (Shannon) 54, 153–156.

- BISHOP G. J., 2003. *Brassinosteroid mutants of crops*. J. Plant Growth Regul. 22, 325–335.
- BISHOP G. J., YOKOTA T., 2001. *Plants steroid hormones, brassinosteroids: current highlights of molecular aspects on their synthesis/metabolism, transport, perception and response*. Plant Cell Physiol. 42, 114–120.
- DHAUBHADEL S., CHAUDHARY S., DOBINSON K. F., KRISHNA P., 1999. *Treatment with 24-epibrassinolide, a brassinosteroid, increases the basic thermotolerance of Brassica napus and tomato seedlings*. Plant Mol Biol. 40, 333–342.
- DHAUBHADEL S., BROWNING K. S., GALLIE D. R., KRISHNA P., 2002. *Brassinosteroid functions to protect the translational machinery and heat-shock protein synthesis following thermal stress*. Plant J. 29, 681–691.
- DINAN L., HARMATHA J., LAFONT R., 2001. *Chromatographic procedures for the isolation of plant steroids*. J. Chromatogr. A 935, 105–123.
- FRANCK-DUCHENNE M., WANG Y. W., BEN TAHAR S., BEACHY R. N., 1998. *In vitro stem elongation of sweet pepper in media containing 24-epibrassinolide*. Plant Cell Tissue Organ Culture 53, 79–84.
- GROVE M. D., SPENCER G. F., ROHWEDDER W. K., MANDAWA N., WORLEY J. F., WARTHEN J. D., STEFFENS G. L., FLIPPEN-ANDERSON J. L., COOK J. C., 1979. *Brassinolide, a plant growth-promoting steroid isolated from Brassica napus pollen*. Nature 281, 216–217.
- HU Y. X., BAO F., LI J. Y., 2000. *Promotive effect of brassinosteroids on cell division involves a distinct CycD3-induction pathway in Arabidopsis*. Plant J. 24, 693–701.
- JANECKO A., KOŚCIELNIAK J., PILIPOWICZ M., SZAREK-LUKASZEWSKA G., SKOCZOWSKI A., 2005. *Protection of winter rape photosystem 2 by 24-epibrassinolide under cadmium stress*. Photosynthetica (w druku).
- JANKIEWICZ L. S., 1997. *Regulatory wzrostu i rozwoju roślin*. Tom 1 i 2. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- JANKIEWICZ L. S., 2003. *Reguladores del crecimiento desarrollo y resistencia en plantas. Volumen I. Propiedades y acción*. Universidad Autónoma Chapingo Departamento De Fitotecnia Instituto de Horticultura. Ediciones Mundi-Prensa. Mexico, D. F. Madrid. Bracelona.
- KHRIPACH V., ZHABINSKII V., DE GROOT A., 2000. *Twenty years of brassinosteroids: steroidal plant hormones warrant better crops for the XXI century*. Ann. Botan. 86, 441–447.
- KINOSHITA T., CAÑO-DELGADO A., SETO H., HIRANUMA S., FUJIOKA S., YOSHIDA S., CHORY J., 2005. *Binding of brassinosteroids to the extracellular domain of plant receptor kinase BRI1*. Nature 433, 167–171.
- KRISHNA P., 2003. *Brassinosteroid-mediated stress responses*. J. Plant Growth Regul. 22, 289–297.
- LU Z., HUANG M., GE D. P., YANG Y. H., CAO X. N., QIN P., SHE J. M., 2003. *Effect of brassinolide on callus growth and regeneration in Spartina patens (Poaceae)*. Plant Cell Tissue Organ Culture 73, 87–89.
- MANDAVA N. B., 1988. *Plant growth-promoting brassinosteroids*. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 39, 23–52.
- MAZORRA L. M., NÚÑEZ M., HECHAVARRIA M., COLL F., SANCHEZ-BLANCO M. J., 2002. *Influence of brassinosteroids on antioxidant enzymes activity in tomato under different temperatures*. Biologia Plantarum 45, 593–596.
- MAZORRA L. M., NÚÑEZ M., NÁPOLES M. C., YOSHIDA S., ROBAINA C., COLL F., ASAMI T., 2004. *Effects of structural analogs of brassinosteroids on the recovery of growth inhibition by a specific brassinosteroids biosynthesis inhibitor*. Plant Growth Regul. 44, 183–185.
- MIKULEC M., 2005. *Ocena działania 24-epibrasinolidu na rośliny jęczmienia jarego w warunkach stresu wysokotemperaturowego*. Praca magisterska, Akademia Rolnicza, Kraków.
- MITCHELL J. W., MANDAVA N. B., WORLEY J. F., PLIMMER J. R., SMITH M. V., 1970. *Brassins – a new family of plant hormones from rape pollen*. Nature 225, 1065–1066.
- MÜSSIG C., ALTMANN T., 2003. *Genomic brassinosteroid effects*. J. Plant Growth Regul. 22, 313–324.
- NOGUCHI T., FUJIOKA S., CHOE S., TAKATSUTO S., TAX F. E., YOSHIDA S., FELDMANN K. A., 2000. *Biosynthetic pathways of brassinolide in Arabidopsis*. Plant Physiol. 124, 201–209.
- NÚÑEZ M., SIQUEIRA W. J., HERNÁNDEZ M., ZULLO M. A. T., ROBAINA C., COLL F., 2004. *Effect of spirostane analogues of brassinosteroids on callus formation and plant regeneration in lettuce (Lactuca sativa)*. Plant Cell, Tissue Organ Culture 78, 97–99.
- OH M. H., CLOUSE S. D., 1998. *Brassinolide affects the rate of cell division in isolated leaf protoplasts of Petunia hybrida*. Plant Cell Rep 17, 921–924.
- OH M. H., CLOUSE S. D., 2003. *Brassinosteroids accelerate the rate of cell division in isolated petal protoplasts of Petunia hybrida*. J. Plant Biotechnol. 5, 63–67.
- PULLMAN G. S., ZHANG Y., PHAN B. H., 2003. *Brassinolide improves embryogenic tissue initiation in conifers and rice*. Plant Cell Rep. 22, 96–104.
- RAMRAJ V. M., VYAS B. N., GODREJ N. B., MISTRY K. B., SWAMI B. N., SINGH N., 1997. *Effects of 28-homobrassinolide on yields of wheat, rice, groundnut, mustard, potato and cotton*. J. Agric. Sci. 128, 405–413.
- RÖNSCH H., ADAM G., MATSCHKE J., 1993. *Influence of (22S,23S)-homobrassinolide on rooting capacity and survival of adult Norway spruce cuttings*. Tree Physiol. 12, 71–80.
- SASAKI H., 2002. *Brassinolide promotes adventitious shoot regeneration from cauliflower hypocotyl segments*. Plant Cell Tissue Organ Culture 71, 111–116.
- SASSE J. M., 2003. *Physiological actions of brassinosteroids: an update*. J. Plant Growth Regul. 22, 276–288.
- SCHAEFER S., MEDEIRO S. A., RAMIREZ J. A., GALAGOVSKY L. R., PEREIRA-NETTO A. B., 2002. *Brassinosteroid-driven enhancement of the in vitro multiplication rate for the marubakaido apple rootstock [Malus prunifolia (Willd.) Borkh.]*. Plant Cell Rep. 20, 1093–1097.
- SCHMIDT J., ALTMANN T., ADAM G., 1997. *Brassinosteroids from seeds of Arabidopsis thaliana*. Phytochemistry 45, 1325–1327.
- SWACZYNOVÁ J., KOHOUT L., STRNAD M., 2004. *Adaptation of enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) to the determination of brassinosteroids in plant tissue*. Acta Physiol. Plant. 24, 28.
- TERRY E., NÚÑEZ M., PINO M., MEDINA N., 2001. *Efectividad de la combinación biofertilizantes análogo de brasinosteroides en la nutrición del tomate (Lycopersicon esculentum Mill)*. Cultivos Tropical. 22, 59–65.
- VARDHINI B. V., RAO S. S. R., 1998. *Effect of brassinosteroids on growth, metabolite content and yield of Arachis hypogaea*. Phytochemistry 48, 927–930.
- VARDHINI B. V., RAO S. S. R., 2002. *Acceleration of ripening of tomato pericarp discs by brassinosteroids*. Phytochemistry 61, 843–847.

- WORLEY J. F., MITCHELL J. W., 1971. *Growth responses induced by brassins (fatty plant hormones) in bean plants*. J. Am Soc Hortic. Sci. 96, 270-273.
- YU J. Q., HUANG L. F., HU W. H., ZHOU Y. H., MAO W. H., YE S. F., NOGUES S., 2004. *A role for brassinosteroids in the regulation of photosynthesis in Cucumis sativus*. J. Exp Bot 55, 1135-1143.
- ZANG X., MEI X. G., ZHANG C. H., LU C. T., KE T., 2001. *Improved paclitaxel accumulation in cell suspension cultures of Taxus chinensis by brassinolide*. Biotechnol. Lett. 23, 1047-1049.
- ZHAO Y., 2000. *Application of 24-epibrassinolide and TNZ303 in Agriculture in China*. Conference of American Society of Plant Biologists „Plant Biology 2000” 15 -19 July. San Diego CA USA <http://abstracts.aspb.org/aspp2000/public/P40/0120.html>
- ZULLO M. A. T., ADAM G., 2002. *Brassinosteroid phytohormones – structure, bioactivity and applications*. Braz. J. Plant Physiol. 14, 83-121.
- ZULLO M. A. T., ADAM G., 2002. *Brassinosteroid phytohormones – structure, bioactivity and applications*. Braz. J. Plant Physiol. 14, 83-121.
- ZULLO M. A. T., KOHOUT L., 2004. *Semisystematic nomenclature of brassinosteroids*. Plant Growth Regul. 42, 15-28.
- ZULLO M. A. T., KOHOUT L., DE AZEVEDO M. B. M., 2003. *Some notes on the terminology of brassinosteroids*. Plant Growth Regul. 39, 1-11.
- ZULLO M. A. T., KOHOUT L., DE AZEVEDO M. B. M., 2003. *Some notes on the terminology of brassinosteroids*. Plant Growth Regul. 39, 1-11.