



ISSN 2719-4299  
Nr 2(16) Lipiec-Sierpień 2021

 **PWN** N a u k a

**O kulturze nadmiaru.  
Raport z badań  
etnograficznych NCK**

Dr hab. Rafał Wiśniewski,  
prof. ucz.

**NCN Winners: dwa  
projekty Iwony Sadury  
z IFR PAN oraz  
Ewy Mrówczyńskiej  
z UWyr wyróżnione  
przez jury konkursu  
KRD**

**Dlaczego osoby 40+  
wracają na uczelnię?  
Przykład Uniwersytetu  
Zielonogórskiego**

dr Lilla Młodzik, UZ



**Jaka filozofia po końcu  
antropocenu?**

## NCN WINNERS: BRASINOSTEROIDY – HORMONY ROŚLINNE XXI WIEKU

Mgr Iwona Sadura, Instytut Fizjologii Roślin im. Franciszka Górskiego PAN

**Brasinosteroidy, steroidowe hormony roślinne, określane są mianem regulatorów XXI wieku (Hayat i wsp. 2003), ponieważ wykazują wielokierunkową aktywność fizjologiczną. Pełnią regulacyjną funkcję we wzroście i rozwoju roślin, ale także sterują wieloma procesami metabolicznymi przystosowującymi rośliny do coraz powszechniej występujących stresów środowiskowych, takich jak niskie lub wysokie temperatury, promieniowanie UV, deficyt wody w glebie czy zasolenie podłoża.**

Hormony te zostały wyizolowane po raz pierwszy w latach 70 XX w. z pyłku rzepaku *Brassica napus*. Zidentyfikowano wtedy pierwszy brasinosteroid zwany brasinolidem (Grove i wsp. 1979). Obecnie grupę tę stanowi 81 związków (Liu i wsp. 2017) różniących się strukturą oraz związaną z nią aktywnością fizjologiczną (Bajguz i Trętyń 2003). Brasinosteroidy obecne są w komórkach wszystkich tkanek roślin wyższych w ilościach rzędu nano- i pikogramów na gram świeżej masy.

W warunkach naturalnych na rośliny oddziałuje wiele czynników stresowych z grupy abiotycznych (skrajne temperatury, niedobór lub nadmiar wody, zbyt słabe lub zbyt intensywne światło) i biotycznych (patogeny, pasożyty). Rośliny opracowały wobec nich różne strategie przystosowawcze zarówno na poziomie całych organizmów (morfologiczne), jak i na poziomie komórkowym. W tym drugim przypadku błona komórkowa, oddzielająca wnętrze komórki od środowiska zewnętrznego, odgrywa ważną rolę. Podczas aklimacji roślin np. do zmieniających się warunków temperaturowych (jak wystąpienie chłodu) zachodzą zmiany struktury błony komórkowej związane ze zmianami proporcji budujących ją nienasyconych kwasów tłuszczowych, co powoduje zmianę jej płynności i właściwości fizykochemicznych.



**Hormony te zostały wyizolowane po raz pierwszy w latach 70 XX w. z pyłku rzepaku.**

Właściwości błon mogą również zmienić się poprzez wbudowanie do niej różnych komponentów, na przykład tokoferoli lub steroli. Procesy metaboliczne w komórkach wynikają z wielokierunkowego działania hormonów, co jest również podstawą przystosowania organizmów do funkcjonowania w zmieniających się warunkach środowiskowych. U roślin ważnymi pod tym względem hormonami są właśnie brasinosteroidy (steroidowe hormony roślinne), które wykazują podobieństwo strukturalne do hormonów steroidowych występujących u zwierząt (kortykosteroidów, estrogenów, androgenów, progesteronu) i owadów (ekdysteroidów). Wszystkie te związki odgrywają podstawową rolę w regulacji metabolizmu wymienionych organizmów.

Pomimo, że już w latach 70-tych ubiegłego wieku stwierdzono, iż egzogenne podawanie tych fitohormonów stymuluje wydłużanie łodyg i podziały komórkowe w roślinach (Mitchell i wsp. 1970; Grove i wsp. 1979), związki te uznano za nową klasę hormonów roślinnych dopiero w latach 90-tych XX wieku. Obecnie wiadomo, że działanie brasinosteroidów jest wielokierunkowe także jako regulatorów koniecznych do prawidłowego rozwoju roślin. Badania przeprowadzone na roślinach wyższych sugerują, że brasinosteroidy regulują proces kwitnienia

(Yang i wsp. 2011; Janeczko i wsp. 2015) oraz rozwój kwiatów i owoców (Castle i wsp. 2003; Symons i wsp. 2006; Chai i wsp. 2013; Castorina i Consonni 2020; Hu i wsp. 2020; Lin 2020). Za szczególnie interesującą właściwość brasinosteroidów należy uznać ich zdolność do przeciwdziałania negatywnym skutkom stresów środowiskowych u roślin (Castle i wsp. 2003; Krishna 2003; Bajguz i Hayat 2009; Vardhini i Anjum 2015; Anwar i wsp. 2018; Ahammed i wsp. 2020; Bartwal i Arora 2020). W pracy przeglądowej mojego współautorstwa (Sadura i Janeczko 2018) przedyskutowano szczegółowo, na podstawie dostępnej literatury, temat roli brasinosteroidów w odpowiadzi roślin na stres temperaturowy.

Jako że błony komórkowe roślin są jednym z pierwszych elementów reagujących na zmieniającą się temperaturę otoczenia, celem realizowanego przeze mnie projektu Preludium, pt. „**Brasinosteroidy jako czynniki modyfikujące dynamikę molekularną membran modelowych i membran izolowanych z roślin jęczmienia**” (nr projektu 2018/31/N/NZ9/02430) jest poszerzenie wiedzy na temat zmian właściwości fizykochemicznych błon komórkowych podczas aklimacji roślin do niskiej i wysokiej temperatury oraz wpływu brasinosteroidów na te właściwości. Celem projektu było także zbadanie zawartości brasinosteroidów w błonach chloroplastów wyizolowanych z roślin jęczmienia.

W badaniach wykorzystano odmianę jęczmienia Delisa i jej mutant 522DK z zaburzeniami w szlaku biosyntezy brasinosteroidów, skutkującymi ich zmniejszoną zawartością w porównaniu do odmiany referencyjnej (Delisa). Rośliny poddano działaniu różnych temperatur w celu zbadania, jak w takich warunkach zmieniają się ich właściwości (tj. zawartość brasinosteroidów, skład kwasów tłuszczowych, właściwości fizykochemiczne membran). Rośliny po fazie wzrostu w 20°C podzielono na dwie grupy: pierwszą poddano działaniu obniżonej temperatury 5°C przez 21 dni (aklimacja do chłodu), a na drugą działano podwyższoną temperaturą 27°C przez 7 dni (aklimacja do wysokiej

temperatury). Po okresie wzrostu w 20°C i po aklimacji przeprowadzono izolację chloroplastów z roślin jęczmienia. Następnie przeprowadzono analizę zawartości brasinosteroidów w chloroplastach oraz zbadano, jak zmieniają się właściwości fizykochemiczne błon chloroplastowych, a dokładniej ich dynamikę molekularną (stopień uporządkowania, płynność) u mutant 522DK, w porównaniu do odmiany Delisa.

Analiza zawartości brasinosteroidów w chloroplastach izolowanych z roślin jęczmienia pozwoliła stwierdzić występowanie w nich ośmiu brasinosteroidów, tj. brasinolidu, kastasteronu, homokastasteronu, 24-epibrasinolidu oraz rzadziej spotykanych 28-norkastasteronu oraz dolicholidu, homodolicholidu i homodolichosteronu (Sadura i wsp. 2021). Oznacza to, że w chloroplastach wykryto więcej brasinosteroidów niż w badaniach przeprowadzonych wcześniej na liściach jęczmienia (Sadura et al. 2019). Wynika to jednak najprawdopodobniej z racji użycia znacznie większej ilości materiału liściowego potrzebnego do uzyskania chloroplastów w porównaniu

do ilości tkanki wykorzystanej do analiz zawartości brasinosteroidów w liściach. Warto podkreślić, że akumulację brasinosteroidów na poziomie komórkowym, tj. w chloroplastach, grupa badawcza Instytutu Fizjologii Roślin PAN w Krakowie udowodniła jako pierwsza na świecie (Filek i wsp. 2019; Sadura i wsp. 2021).

Co ciekawe, mimo że te wcześniejsze badania wykazały, iż mutant 522DK charakteryzował się niższą zawartością brasinolidu i kastasteronu w liściach w porównaniu do odmiany referencyjnej (Sadura i wsp. 2019), w badaniach na wyizolowanych chloroplastach takiej prawidłowości nie stwierdzono, a zawartość kastasteronu u odmiany Delisa i mutant 522DK była na podobnym poziomie (Sadura i wsp. 2021). Można zatem przypuszczać, że w chloroplastach występują nieznane mechanizmy akumulacji brasinosteroidów, pozwalające na utrzymanie ich niezbędnego poziomu niezależnie od poziomu ogólnego w tkance i zaburzeń biosyntezy. Dodatkowo, występowanie brasinosteroidów w chloroplastach w pewien sposób potwierdza możliwość



**Obecnie wiadomo, że działanie brasinosteroidów jest wielokierunkowe także jako regulatorów koniecznych do prawidłowego rozwoju roślin. Badania przeprowadzone na roślinach wyższych sugerują, że brasinosteroidy regulują proces kwitnienia (Yang i wsp. 2011; Janeczko i wsp. 2015) oraz rozwój kwiatów i owoców**



pełnienia przez te związki funkcji fizjologicznych, takich jak np. regulacja transkrypcji genów chloroplastowych, co sugerowały wcześniejsze prace (Efimova i wsp. 2012).

Warto także podkreślić, że podczas gdy w liściach mutantu 522DK zaobserwowano wyraźnie większą zawartość homokastasteronu (nawet ok. 7000 pg-g-1ś.m. po aklimacji w 5°C) niż kastasteronu (ok. 500 pg-g-1ś.m. po aklimacji w 5°C) (Sadura i wsp. 2019), w chloroplastach zaobserwowano odwrotną tendencję, tj. zawartość kastasteronu znacznie wzrastała (ok. 5000 pg-g-1ś.m. po aklimacji w 5°C) i przewyższała zawartość homokastasteronu (ok. 1000 pg-g-1ś.m. po aklimacji w 5°C), tak jak i pozostałych wykrytych brasinosteroidów (Sadura i wsp. 2021). Można zatem podejrzewać, że większa akumulacja kastasteronu w chloroplastach jest bardziej pożądana i może się wiązać z funkcją fizjologiczną, którą ten brasinosteroid pełni w tych organellach w czasie aklimacji w chłodzie, jednak jej poznanie wymaga dalszych badań.

Poznanie zawartości brasinosteroidów w chloroplastach dało możliwość badania, jak zmiany obserwowane w ich zawartości w chloroplastach odmiany Delisa i mutantu 522DK wpływały na dynamikę molekularną błon chloroplastowych tych roślin. Dla uzyskania pełnego obrazu struktury błon, a co za tym idzie wykluczenia innych czynników mogących wpływać na ich płynność, dodatkowo wykonano analizę składu lipidowego oraz zawartości chlorofilu i karotenoidów membran chloroplastowych. Nie zaobserwowano jednak wyraźnych różnic pomiędzy odmianą Delisa i jej mutantem 522DK (Sadura i wsp. 2021).

Analizę dynamiki molekularnej membran izolowanych z chloroplastów przeprowadzono z wykorzystaniem Elektro-nowego Rezonansu Paramagnetycznego (EPR). Jest to technika pomiarowa pozwalająca badać bezpośrednio układy (w tym układy biologiczne) zawierające wolne rodniki. Właśnie w takich układach zachodzi zjawisko rezonansu paramagnetycznego. W metodzie tej w błony komórkowe wbudowywane są tzw. znaczniki spinowe, znane też jako sondy spinowe, będące cząsteczkami posiadającymi trwałe centra paramagnetyczne, najczęściej w postaci ugrupowań nitroksylowych. Zależnie od tego, w którym miejscu (np. przy którym atomie węgla) znacznik posiada centrum paramagnetyczne, po jego wbudowaniu w błonę komórkową możliwe jest wnioskowanie o jej dynamice molekularnej na danej głębokości.

Przeprowadzając analizy wpływu brasinosteroidów na dynamikę molekularną membran (Sadura i wsp. 2021), weryfikowano hipotezę, że brasinosteroidy oddziałują z membranami i je stabilizują. Do badań wybrano właściwy obiekt (mutant z deficytem brasinosteroidów oraz jego odmianę referencyjną), jednak – jak się okazało – w odróżnieniu od tego, co zaobserwowano w liściach, całkowita zawartość brasinosteroidów w izolowanych chloroplastach odmiany Delisa i jej mutantu występowała na porównywalnym poziomie zwłaszcza w temperaturze 5°C i 27°C. Należy to uznać za przyczynę stosunkowo niedużych różnic (dotyczących głównie roślin poddanych aklimacji w 5°C) w dynamice molekularnej membran chloroplastów pomiędzy Delisą i 522DK.

W ramach projektu zaplanowano także wykonanie badań z wykorzystaniem błon modelowych utworzonych z lecytyny jaja kurzego, w które wbudowane zostaną brasinosteroidy, tj. brasinolid i jego prekursor – kastasteron. Badania te pozwolą dodatkowo sprawdzić, czy i w jaki sposób brasinosteroidy oddziałują na dynamikę molekularną membran, gdyż na obecnym etapie nie można tego jednoznacznie stwierdzić.

Zagadnienie oddziaływania brasinosteroidów na dynamikę molekularną membran będzie wymagało dalszych pogłębionych badań, prawdopodobnie także z użyciem membran modelowych o składzie bardziej zbliżonym do naturalnych membran obecnych w komórkach roślinnych.

Na podstawie dotychczas przeprowadzonych badań z wykorzystaniem roślin jęczmienia z zaburzeniami w biosyntezie/percepcji brasinosteroidów można stwierdzić, że związki te są ważnymi regulatorami metabolizmu o szerokim spektrum działania u tego gatunku. Brasinosteroidy należy zakwalifikować jako regulatory istotne z punktu widzenia kształtowania tolerancji na stres temperaturowy i warte dalszych pogłębionych badań zwłaszcza w dobie zmian klimatycznych.

#### Bibliografia:

- Ahmed GJ, Li X, Liu A, Chen S (2020) Brassinosteroids in Plant Tolerance to Abiotic Stress. *J Plant Growth Regul* 39:1451–1464.
- Anwar A, Liu Y, Dong R, et al (2018) The physiological and molecular mechanism of brassinosteroid in response to stress: A review. *Biol Res* 51:1–15.
- Bajguz A, Hayat S (2009) Effects of brassinosteroids on the plant responses to environmental stresses. *Plant Physiol Biochem* 47:1–8.
- Bajguz A, Tietys A (2003) The chemical characteristic and distribution of brassinosteroids in plants. *Phytochemistry* 62:1027–1046.
- Bartwal A, Arora S (2020) Brassinosteroids: Molecules with Myriad Roles. In: Merillon J-M, Rattanawit KG (eds) Co-evolution of secondary metabolites. Reference series in Phytochemistry. Springer, Cham, pp 869–895.
- Castle J, Montoya T, Bishop GJ (2003) Selected physiological responses of brassinosteroids: A historical approach. In: Hayat S, Ahmad A (eds) Brassinosteroids: Bioactivity and crop productivity. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp 45–68.
- Castorina G, Consonni G (2020) The role of brassinosteroids in controlling plant height in poaceae: A genetic perspective. *Int J Mol Sci* 21:1191.
- Chai Y, Zhang Q, Tian L, et al (2013) Brassinosteroid is involved in strawberry fruit ripening. *Plant Growth Regul* 69:63–69.
- Efimova MV, Kusnetsov VV, Kravtsov AK, et al (2012) Regulation of the transcription of plastid genes in plants by brassinosteroids. *Dokl Biol Sci* 445:272–275.
- Filek M, Sieprawska A, Kościelniak J, et al (2019) The role of chloroplast in the oxidative stress that is induced by zearalenone in wheat plants – The functions of 24-epibrassinolide and selenium in the protective mechanisms. *Plant Physiol Biochem* 137:84–92.
- Grove MD, Spencer GF, Rohwedder WK, et al (1979) Brassinolide, a plant growth-promoting steroid isolated from *Brassica napus* pollen. *Nature* 281:216–217.
- Hayat S, Ahmad A, Fariduddin Q (2003) Brassinosteroids a regulator of 21st century. In: Hayat S, Ahmad A (eds) Brassinosteroids. Kluwer Academic Publishers, pp 231–246.
- Hu S, Liu L, Li S, et al (2020) Regulation of fruit ripening by the brassinosteroid biosynthetic gene *SlCYP90B3* via an ethylene-dependent pathway in tomato. *Hortic Res* 7:163.
- Janezko A, Oldenkova J, Novak O, et al (2015) Disturbances in production of progesterone and their implications in plant studies. *Steroids* 96:153–163.
- Krishna P (2003) Brassinosteroid-mediated stress responses. *J Plant Growth Regul* 22:289–297.
- Lin WH (2020) Designed Manipulation of the Brassinosteroid Signal to Enhance Crop Yield. *Front Plant Sci* 11:1–8.
- Liu J, Zhang D, Sun X, et al (2017) Structure-activity relationship of brassinosteroids and their agricultural practical usages. *Steroids* 124:1–17.
- Mitchell JW, Mandava N, Worsley JF, et al (1970) Brassinolide – a new family of plant hormones from rape pollen. *Nature* 225:1065–1066.
- Sadura I, Janezko A (2018) Physiological and molecular mechanisms of brassinosteroid-induced tolerance to high and low temperature in plants. *Biol Plant* 64:601–616.
- Sadura I, Latoski D, Oldenkova J, et al (2021) Molecular dynamics of chloroplast membranes isolated from wild-type barley and a brassinosteroid-deficient mutant acclimated to low and high temperatures. *Biomolecules* 11:27.
- Sadura I, Pocięcha E, Dziurka M, et al (2019) Mutations in the *HvDWARF*, *HvCPD* and *HvBR1* genes involved in brassinosteroid biosynthesis/signaling: altered photosynthetic efficiency, hormonal homeostasis and tolerance to high/low temperatures in barley. *J Plant Growth Regul* 38:1062–1081.
- Symons GM, Davies C, Shavrikov Y, et al (2006) Grapes on Steroids. Brassinosteroids are involved in grape berry ripening. *Plant Physiol* 140:150–158.
- Vandhini BV, Anjum NA (2015) Brassinosteroids make plant life easier under abiotic stresses mainly by modulating major components of antioxidant defense system. *Front Environ Sci* 2:67.
- Yang CJ, Zhang C, Lu YN, et al (2011) The mechanisms of brassinosteroids' action: From signal transduction to plant development. *Mol Plant* 4:588–600.

#### mgr Iwona Sadura



Doktorantka w Instytucie Fizjologii Roslin im. E. Górskiego PAN w Krakowie, przygotowująca pracę doktorską w dziedzinie nauk rolniczych, w dyscyplinie rolnictwo i ogrodnictwo. Studentka w Studium Doktoranckim Nauk Przyrodniczych PAN w Krakowie. Jest kierownikiem projektu NCN Preludium pt. Brasinosteroidy jako czynniki modyfikujące dynamikę molekularną membran modelowych i membran izolowanych z roślin jęczmienia. Jej zainteresowania badawcze dotyczą roli brasinosteroidów w procesach przystosowawczych roślin do stresu temperaturowego.