

## AKTYWNOŚĆ AMONIAKOLIAZY L-FENYLOALANINY I ZAWARTOŚĆ FENOLI ROZPUSZCZALNYCH U DWÓCH ODMIAN SOI RÓŻNIĄCYCH SIĘ WRAŻLIWOŚCIĄ NA CHŁÓD

*Katarzyna Szafrąńska, Małgorzata M. Posmyk, Krystyna M. Janas*

Katedra Regulacji Wzrostu Roślin, Uniwersytet Łódzki w Łodzi

### Wstęp

Rośliny rosnące w niekorzystnych warunkach środowiska wykształciły szereg mechanizmów dostosowawczych pozwalających na ich funkcjonowanie w tym środowisku.

Odpowiedzią roślin na chłód jest m.in. wzmożona synteza fenylopropanoidów [JANAS i in. 2000]. Uważa się, że estry kwasów hydroksycynamonowych oraz antocyjany mogą chronić je przed stresem oksydacyjnym, wywołanym niską temperaturą [SOLECKA i in. 1999; JANAS i in. 2000]. Pochodne kwasu *trans*-cynamonowego są prekursorami suberyny i ligniny, które z kolei zabezpieczają komórkę przed nadmierną utratą wody [GRIFFITH i in. 1985]. Zmiany w ilości i składzie związków fenylopropanowych wpływają na stopień przylegania błony do ściany komórkowej, co może znacząco obniżać ryzyko uszkodzenia błon przez niską temperaturę [BARTOLLO, WALLNER 1986].

Kluczowym enzymem szlaku biosyntezy związków fenylopropanowych jest amoniakoliza L-fenyloalaniny (PAL, EC 4.3.1.5). Wzrost aktywności tego enzymu zaobserwowano, m.in. w jabłkach, liściach kukurydzy [CHRISTIE i in. 1994], liściach rzepaku [SOLECKA, KACPERSKA 1995] i korzeniach soi [JANAS i in. 2000] poddanych działaniu chłodu.

Celem badań było porównanie aktywności PAL oraz zawartości fenoli rozpuszczalnych w korzeniach dwóch odmian soi (Essor i Aldana) różniących się wrażliwością na chłód.

### Materiały i metody

Do doświadczeń użyto nasion soi (*Glycine max* (L.) MERR.) odmian: Eссор i Aldana.

Materiał wyjściowy: 3-dniowe, etiolowane siewki – uzyskano kiełkując nasiona w 25°C w plastikowych pojemnikach wyłożonych warstwą bawełnianej waty nasączonej wodą destylowaną. Wszystkie eksperymenty prowadzono w ciemności.

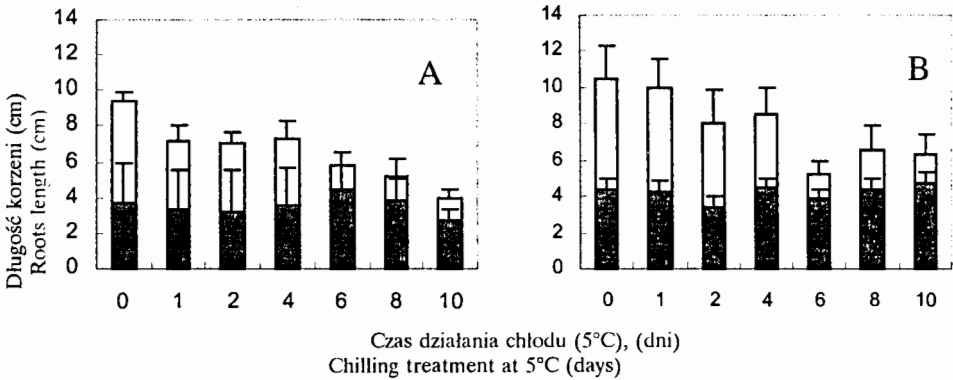
W celu określenia wpływu czasu ekspozycji w chłodzie (5°C) na późniejszy wzrost siewek w warunkach optymalnych, rośliny chłodzono od 1 do 10 dni, a następnie przenoszono na 3 dni do 25°C. Długość korzeni mierzono: (1) po 3

dniach wzrostu w 25°C w ciemności ( $t_0$ ); (2) po okresie działania chłodu 5°C i 3-dniowej regeneracji w 25°C.

W tych samych warunkach doświadczenia oznaczano aktywność PAL metodą spektrofotometryczną [ZUCKER 1965] oraz zawartość fenoli rozpuszczalnych [JOHANSON, SHALL 1957; SINGELTON, ROSSI 1965] w korzeniach soi.

## Wyniki i dyskusja

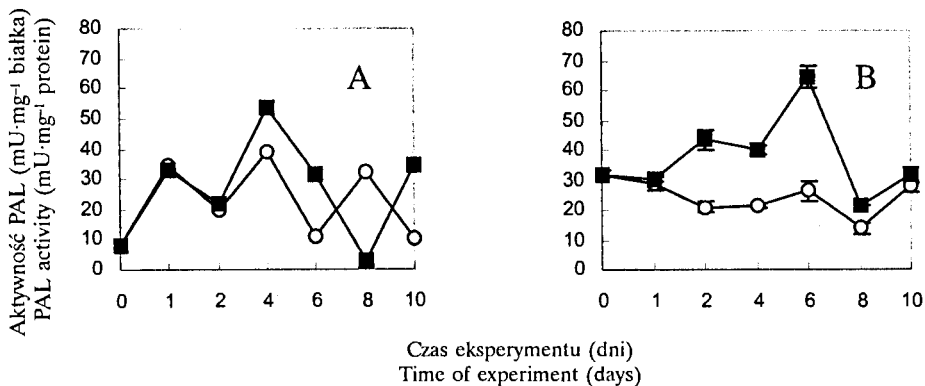
Badano wpływ niskiej temperatury (5°C) i 3-dniowej regeneracji w 25°C po stresie chłodu, na wzrost elongacyjny korzeni. Stwierdzono zahamowanie wzrostu elongacyjnego korzeni w 5°C u obu odmian soi (rys. 1A, B). Wzrost wydłużeniowy korzeni odm. Essor był mocniej zahamowany niż odm Aldana w czasie hodowli w chłodzie. Efekt hamowania wzrostu utrzymywał się po przeniesieniu roślin do warunków optymalnych (25°C), (rys. 1).



Rys. 1. Wpływ chłodu 5°C na wzrost elongacyjny korzeni dwóch odmian siewek soi: Essor (A) i Aldana (B). Długość 3-dniowych etiolowanych siewek w momencie rozpoczęcia eksperymentu (■). Przyrosty długości po różnym czasie ekspozycji w chłodzie (5°C) i 3 dniach regeneracji w 25°C (□). Wartości średnie z 30 pomiarów ± SD

Fig. 1. Effects of chilling 5°C on elongation of roots of two variety of soybean seedlings: Essor (A) and Aldana (B). Length of 3-days old, etiolated, seedlings at the beginning (■). Length of seedlings after different time of chilling treatment (5°C) and subsequent 3 days of regeneration at 25°C (□). Means of 30 measurements ± SD

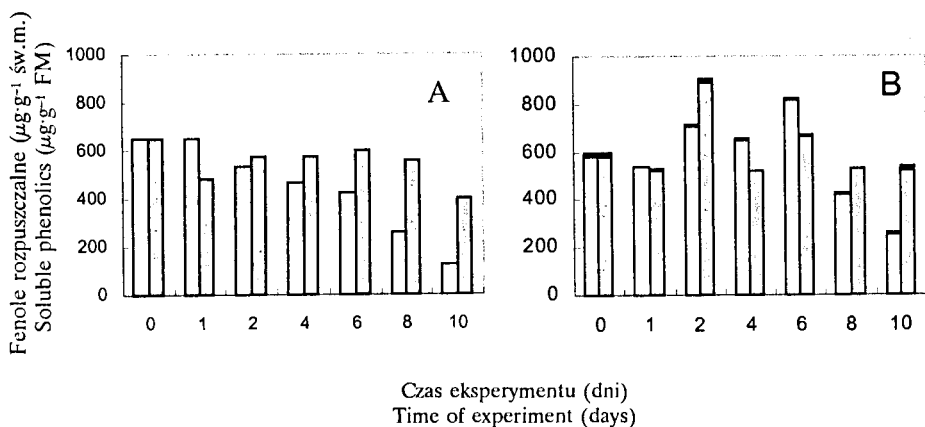
Zawartość białka nie zmieniała się w ekstraktach z korzeni siewek hodowanych w chłodzie (5°C) w porównaniu z kontrolnymi (dane nieprzedstawione). Dlatego w pracy przedstawiono zmiany aktywności PAL w przeliczeniu na jednostkę białka. Aktywność PAL w korzeniach 3-dniowych siewek (czas 0) odm. Essor była znacznie niższa niż u odm. Aldana. Obserwowano fluktuacje zmian aktywności tego enzymu zarówno w kontroli, jak i w czasie hodowli w 5°C. Wzrost aktywności PAL w korzeniach siewek odm. Essor po przeniesieniu do chłodu był znacznie niższy niż u odm. Aldana (rys. 2). U odm. Essor znaczący wzrost aktywności obserwowano od 4 dnia eksperymentu natomiast u Aldana wcześniej, 2 dnia działania chłodu (rys. 2). Podobne zmiany aktywności PAL obserwowano w korzeniach siewek odmiany Aldana rosnących w 10°C [JANAS i in. 2000].



Rys. 2. Wpływ niskiej temperatury (5°C) na aktywność PAL w korzeniach siewek dwóch odmian soi: Essor (A) i Aldana (B). Aktywność PAL w siewkach hodowanych w 25°C (○-) oraz chłodzonych w 5°C (■-). Średnie z 3-4 pomiarów ±SD

Fig. 2. Effect of low temperature (5°C) on PAL activity in roots of two variety of soybean seedlings: Essor (A) and Aldana (B). PAL activity in seedlings cultivated at 25°C (○-) and chilled at 5°C (■-). Means of 3-4 measurements ±SD

O wzroście aktywności PAL, zmianach właściwości katalitycznych enzymu, a także kumulacji rozpuszczalnych związków fenolowych podczas aklimatyzacji roślin do niskiej temperatury donieśli SOLECKA i KACPERSKA [1995], SOLECKA i in. [1999] oraz JANAS i in. [1999, 2000]. Aktywność tego enzymu jest regulowana zarówno na poziomie transkrypcji oraz postranskrypcyjnie [DIXON, PAIVA 1995].



Rys. 3. Wpływ temperatury 5°C na zawartość fenoli rozpuszczalnych w korzeniach siewek dwóch odmian soi: Essor (A) i Aldana (B). Zawartość fenoli w siewkach hodowanych w 25°C (□) oraz chłodzonych w 5°C (■). Średnie z 3-4 pomiarów ±SD

Fig. 3. Effect of temperature 5°C on soluble phenolic compounds content in roots of two variety of soybean seedlings: Essor (A) and Aldana (B). Level of phenolic compounds in seedlings cultivated at 25°C (□) and chilled at 5°C (■). Means of 3-4 measurements ±SD

Zawartość fenoli rozpuszczalnych w korzeniach siewek kontrolnych odm. Aldana była wyższa w porównaniu z odm. Eссор. Po 24 godz. od przeniesienia siewek do chłodu w korzeniach odm. Eссор zawartość fenoli rozpuszczalnych obniżyła się, a od 2-go dnia chłodu rosła do końca doświadczenia (rys. 3A). Natomiast, u odm. Aldana zawartość fenoli 2-go dnia wzrosła, po 4 i 6 dniach chłodu była niższa niż w kontroli (25°C), po czym od dnia 8 ponownie rosła osiągając wartość wyższą niż kontrola (rys. 3B).

W obecnej pracy wykazano, że w czasie stresu chłodu w korzeniach roślin aktywność PAL i gromadzą się rozpuszczalne fenole w obu odmianach soi. Zawartość fenoli po 2 dniach działania chłodu u odm. Aldana jest znacznie wyższa w porównaniu z odm. Eссор. Szybszą reakcją korzeni na stres przejawiającą się szybszą akumulacją rozpuszczalnych fenoli można, jak się wydaje, częściowo wyjaśnić różnicę wrażliwości obu odmian na stres.

### Wnioski

Wyniki przedstawione w tej pracy wskazują, że korzenie siewek soi odm. Eссор są bardziej wrażliwe niż odm. Aldana na stres chłodu. Świadczy o tym silniejsze zahamowanie ich wzrostu elongacyjnego w czasie stresu, które utrzymywało się po przeniesieniu roślin do 25°C.

Wydaje się, że o różnicy w reakcji korzeni na niską temperaturę może częściowo decydować szybkość, z jaką gromadzone są związki fenolowe. U odm. Aldana szybciej gromadzą się fenole w porównaniu z odm. Eссор w odpowiedzi na chłód. Jednak wydaje się, że o odporności korzeni soi na stres chłodu decyduje zespół różnych czynników pomagających przetrwać niekorzystne warunki, a tylko jednym z nich jest synteza fenoli.

### Literatura

- BARTOLLO M.E., WALLNER S.J. 1986. *Cold hardness and cellulase resistance induced by wounding*. Plant Physiol. Suppl. 80 (Abstr.): 122.
- CHRISTIE P.J., ALFENITO M.R., WALBOT V. 1994. *Impact of low-temperature stress on general phenylpropanoid and anthocyanin pathways: enhancement of transcript abundance and anthocyanin pigmentation in maize seedlings*. Planta 194: 541–549.
- DIXON R.A., PAIVA N.L. 1995. *Stress-induced phenylpropanoid metabolism*. Plant Cell 7: 1085–1097.
- GRIFFITH M., HUNER N.P.A., ESSPELIE K.E., KOLATTUKUDY P.E. 1985. *Lipid polymers accumulate in the epidermis and mesophyll cell walls during low temperature development of winter rye leaves*. Protoplasma 125: 53–59.
- JANAS K.M., CVIKROVÁ M., SZAFRŃSKA K., PAŁĄGIEWICZ A., EDER J. 1999. *Effect of 2-aminoindan-2-phosphonic acid on phenolics in soybean roots after short-term exposure to low-temperature*. Zesz. Probl. Post. Nauk Rol. 469: 97–102.
- JANAS K.M., CVIKROVÁ M., PAŁĄGIEWICZ A., EDER J. 2000. *Alteration in phenyl-propanoid content in soybean roots during low temperature acclimation*. Plant. Physiol. Biochem. 38: 587–593.

- JOHANSON G., SHAAL L. A. 1957. *Accumulation of phenolic substances and ascorbic acid in potato tuber tissue upon injury and their possible role in disease and resistance* Amer. Potato J. 34: 200–202.
- SINGELTON Y.L., ROSSI J.R. 1965. *Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents*. Am. J. Enol. Vitic. 16: 144–158.
- SOLECKA D., KACPERSKA A. 1995. *Phenylalanine ammonia-lyase activity in leaves of winter oilseed rape plants as affected by acclimation of plants to low temperature*. Plant Physiol. Biochem. 33: 585–591.
- SOLECKA D., BOUDET A.-M., KACPERSKA A. 1999. *Phenylpropanoid and anthocyanin changes in low-temperature treated winter oilseed rape leaves*. Plant Physiol. Biochem. 37: 491–496.
- ZUCKER M. 1965. *Induction of phenylamine deaminase by light and its reaction to chlorogenic acid synthesis in potato tuber tissue*. Plant Physiol. 40: 779–784.

**Słowa kluczowe:** chłód, soja, PAL, związki fenolowe

### Streszczenie

W pracy porównywano wrażliwość na chłód (5°C) dwóch odmian soi (*Glycine max* (L.) MERR.): Essor i Aldana. Stwierdzono znaczne zahamowanie wzrostu elongacyjnego korzeni w 5°C. Efekt hamowania wzrostu utrzymywał się również po przeniesieniu roślin do warunków optymalnych 25°C i był tym silniejszy im dłużej rośliny eksponowano na działanie chłodu. Odmiana Essor jest bardziej wrażliwa, reaguje gwałtowniejszym zahamowaniem wzrostu korzeni w porównaniu do odm. Aldana.

Pod wpływem niskiej temperatury (5°C) wzrasta aktywność amoniakolizy L-fenylalaniny (PAL, EC 4.3.1.5) i gromadzą się rozpuszczalne fenole w korzeniach obu odmian soi, w porównaniu z roślinami kontrolnymi rosnącymi w 25°C. W korzeniach odm. Essor różnica zmian aktywności PAL między korzeniami stresowanymi i kontrolnymi jest znacznie mniejsza niż u odm. Aldana. W korzeniach odm. Aldana w odpowiedzi na stres chłodu szybciej gromadzą się związki fenolowe w porównaniu z odm. Essor. Zmiany w poziomie fenoli mogą częściowo wyjaśnić różnicę w odporności na chłód.

### L-PHENYLALANINE AMMONIALYASE ACTIVITY AND SOLUBLE PHENOLICS LEVEL IN SEEDLINGS OF TWO SOYBEAN CULTIVARS OF DIFFERENT CHILLING SENSITIVITY

*Katarzyna Szafrńska, Małgorzata M. Posmyk, Krystyna M. Janas*  
Department Plant Growth Regulation, University of Lodz, Łódź

**Key words:** chilling, soybean, PAL, phenolic compounds

### Summary

In the presented study sensitivity to chilling (5°C) of two soybean (*Glycine max* (L.) MERR.) cultivars: Eссор and Aldana, was compared. A significant inhibition of root elongation was observed at 5°C. This disadvantageous effect persisted even after seedling transfer to optimal (25°C) conditions, and increased with duration of the chilling treatment. Growth inhibition in Eссор seedlings was stronger than in Aldana ones and it means that Eссор cultivar was more susceptible to chilling injury at 5°C.

PAL activity increased and soluble phenolics accumulated in both varieties of soybean at low temperature in comparison to the control grown at 25°C. The difference in PAL activity between stressed roots and control ones was smaller in cv. Eссор than in cv. Aldana. In roots of cv. Aldana grown at chilling, phenolics accumulated faster than in cv. Eссор. We suppose that changes in phenolic levels can partially explain difference in tolerance to chilling.

Mgr Katarzyna **Szafrńska**  
Katedra Regulacji Wzrostu Roślin  
Uniwersytet Łódzki  
ul. Banacha 12/16  
90-237 ŁÓDŹ