

Spotkanie na szlakach sygnałowych – czy poliaminy indukują syntezę tlenu azotu i modyfikują poziom nadtlenu wodoru u roślin?

Jan KUBIŚ

KUBIŚ J. 2008. **Polyamines signal, meeting on the pathways: does PA induce nitric oxide synthesis and modify hydrogen peroxide level?** *Wiadomości Botaniczne* 52(3/4): 55–62.

Polyamines are ubiquitous polycationic compounds that are produced by almost all living organisms, including plants, animals, fungi and bacteria. These multifunctional compounds are able to interact with polyanionic biomolecules such as DNA, phospholipids or proteins e.g. enzymes. The precise mode of polyamines action still remained unknown. Plants do not seem to have specific receptors for polyamines, it is particularly interesting to investigate how polyamines perform diverse function in plant cells. Authors recently reported a possible linkage between polyamine-dependent signal transduction and nitric oxide (NO) another signalling molecule.

The other results suggest that PAs can also act directly as stress-protecting compounds. They are able to moderate the activities of reactive oxygen species synthesis and scavenging system enzymes and thus influence the ROS level. These molecules could be components of the repertoire of signals, which lately – in contrast to the negative connotation of the term ‘oxidative stress’ – are more usefully described as ‘oxidative signalling’, by which plant cells sense the environment and in this way appropriately adjust gene expression, metabolism and physiology to stress conditions.

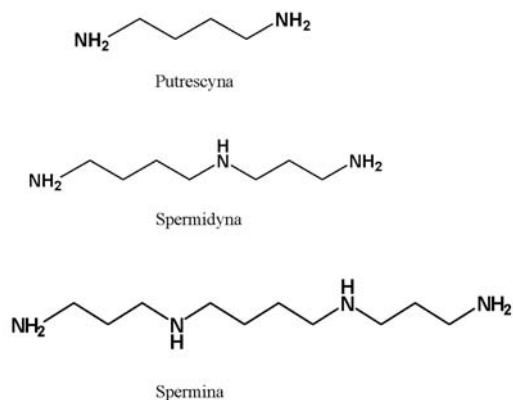
KEY WORDS: nitrate reductase, nitric oxide, NO-synthase, oxidative stress, polyamine, reactive oxygen species, scavenging system

Jan Kubiś, Katedra Fizjologii Roślin, Uniwersytet Przyrodniczy im. A. Cieszkowskiego, ul. Wołyńska 35, 60-637 Poznań, e-mail: jkubis@jay.au.poznan.pl

WSTĘP

Poliaminy, do których należą putrescyna, spermidyna i spermina (Ryc. 1), są powszechnie występującymi alifatycznymi aminami. Syntetyzowane są przez prawie wszystkie żywe organizmy, w tym rośliny, zwierzęta, grzyby i bakterie. Budzą one nieustannie zainteresowanie badaczy, gdyż spektrum ich fizjologicznego oddziaływania jest bardzo szerokie. Jak

dotąd nie stwierdzono specyficznych receptorów dla poliamin, stąd też szczególnie interesujące jest, w jaki sposób poliaminy odgrywają tak różnorodne funkcje w komórkach roślin (Cohen 1998, Bouchereau et al. 1999). Według Bagni i Torrigiani (1992) oraz Galston i Kaur-Sawhney (1995) poliaminy są uważane za nową klasę regulatorów wzrostu. Przy fizjologicznym pH mają charakter polikationowy i mogą łączyć się biomolekułami o charakterze polianionowym,



Ryc. 1. Budowa powszechnie występujących poliamin alifatycznych.

Fig. 1. The molecular structure of common aliphatic polyamines.

takimi jak kwasy nukleinowe, fosfolipidy i wiele rodzajów białek łącznie z enzymami, których aktywność jest bezpośrednio modyfikowana przez połączenie z poliaminami (Bouchereau et al. 1999). Jednakże, oprócz działania bezpośredniego tych związków, ostatnio postulowano zależny od poliamin system transdukcji sygnału. Ciekawym aspektem w tym względzie, jest możliwe współdziałanie pomiędzy poliaminami, a innymi molekułami sygnałowymi, np. tlenkiem azotu – NO (Yamasaki, Cohen 2006, Arasimowicz, Floryszak-Wieczorek 2007) oraz nadtlenkiem wodoru – H₂O₂ (Martin-Tanguy 2001, Neill et al. 2002). W ten sposób znane od dawna związki – poliaminy, stają się ponownie substancjami, które są w centrum zainteresowania badaczy, a nowe, nieznane dotąd mechanizmy działania poliamin wyjaśniają tak szerokie spektrum ich fizjologicznego oddziaływania. Zadaniem tej pracy jest przedstawienie aktualnego poglądu badaczy na działanie pośrednie poliamin, polegające na ich współdziałaniu z innymi molekułami sygnałowymi: tlenkiem azotu i nadtlenkiem wodoru.

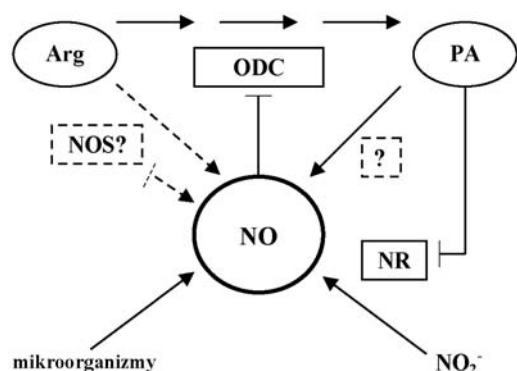
TLENEK AZOTU

Tlenek azotu (NO) jest łatwo podlegającym dyfuzji gazowym wolnym rodnikiem, który

odgrywa kluczową rolę jako wewnątrz- i międzykomórkowy przekaźnik sygnału u zwierząt. U tych organizmów syntetyzowany jest głównie dzięki aktywności syntazy tlenku azotu (NOS), która katalizuje powstawanie tlenku azotu i aminokwasu cytruliny, a substratami tej reakcji są tlen i arginina (Nathan, Xie 1994, Arasimowicz, Floryszak-Wieczorek 2007). Natomiast w syntezie tlenku azotu u roślin może brać przypuszczalnie udział syntaza tlenku azotu oraz reduktaza azotanowa (Cueto et al. 1996, Barroso et al. 1999, Bethke et al. 2004, Crawford, Guo 2005). Istnieją także doniesienia o syntezie NO u roślin z argininy przez enzym homologiczny do NOS ślimaków (Neill et al. 2003), jednak udział tego enzymu budzi wiele kontrowersji (Yamasaki, Cohen 2006). Natomiast Tun et al. (2006) wskazują na jeszcze jedną przypuszczalną drogę syntezy NO bezpośrednio z poliamin dzięki aktywności nieznanego enzymu. Możliwy jest też udział oksydazy ksantyny (Neill et al. 2003), jak i nieenzymatyczne uwalnianie NO w obecności azotynu, przy silnym oświetleniu liści, w kwaśnym pH oraz w obecności karotenoidów (Rockel et al. 2002).

Tlenek azotu – reaktywna forma azotu może powodować u roślin zarówno reakcje obronne, jak i efekty potencjalnie szkodliwe dla organizmu roślinnego (Neill et al. 2003, Gniazdowska 2004, Lamotte et al. 2004, Arasimowicz, Floryszak-Wieczorek 2007). NO bierze udział w wielu procesach wzrostowych i rozwojowych, m.in. takich jak programowana śmierć komórki, zamykanie aparatów szparkowych, kiełkowanie nasion i rozwój korzeni (Lamattina 2003, Neill et al. 2003, Lamotte et al. 2004). NO uczestniczy w odpowiedziach roślin na warunki stresowe środowiska, warunkuje ekspresję genów związanych z obroną organizmu roślinnego zarówno przed biotycznymi, jak i abiotycznymi czynnikami stresowymi (Lamattina et al. 2003).

U roślin, pewnym i nie budzącym wątpliwości enzymem zaangażowanym w syntezę NO wydaje się być reduktaza azotanowa (NR), będąca jedynym białkiem, którego udział w syntezie NO został potwierdzony. Z kolei, jak dotąd, nie stwierdzono obecności ani transkryptu, ani



Ryc. 2. Wpływ poliamin na syntezę tlenku azotu. NO może powstawać w komórkach roślin dzięki aktywności zależnej od azotynów reduktazy azotanowej (wyjaśnienie str. 57), oraz nieznanego mechanizmu z argininy, czy też syntazy tlenku azotu przez enzym(y) homologiczny(e) do NOS ślimaków. Przypuszczalnie istnieje też negatywny wpływ NO na syntezę PA poprzez hamowanie aktywności ODC – enzymu cyklu ornitynowego. Skróty: Arg – arginina, PA – poliaminy, NO – tlenek azotu, ODC – dekarboksylaza ornityny, NR – reduktaza azotanowa, NOS – syntaza NO (Yamasaki, Cohen 2006).

Fig. 2. Polyamines in relations to NO production. NO can be produced in plant cells by nitrite-dependent nitrate reductase (for explanation see p. 57), and by unknown arginine-dependent mechanisms or homologous to snail NOS. Abbreviations: Arg – arginine, PA – polyamine, NO – nitric oxide, ODC – ornithine decarboxylase, NR – nitrate reductase, NOS – NO synthase (Yamasaki, Cohen 2006).

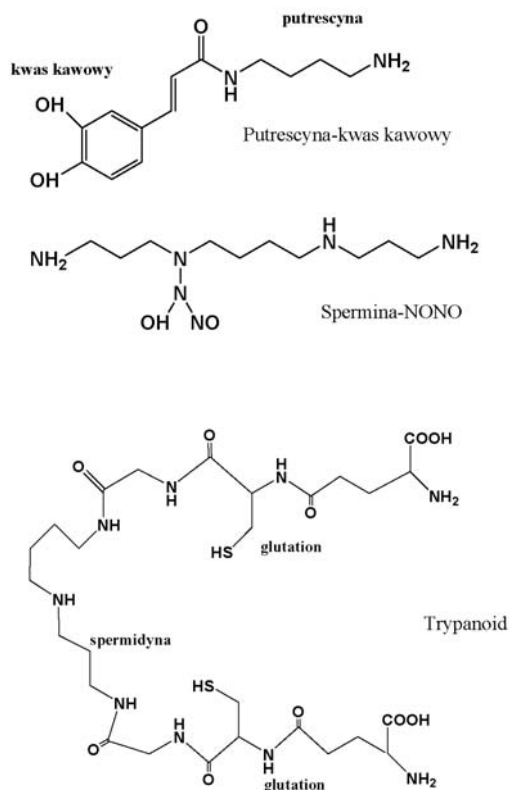
białka homologicznego do zwierzęcej syntazy NO u roślin (Zemojtel et al. 2006). Jak należy domniemywać NR nie jest jedynym źródłem NO, gdyż nawet przy dostatecznej obecności substratu produkcja NO stanowi tylko 1% zdolności redukcyjnej azotanu NR. Synteza NO wymaga obecności azotynu, natomiast azotan nie jest bezpośrednim substratem, a wręcz hamuje reakcję katalizowaną przez NR (Rockel et al. 2002).

Co do biochemicznego aspektu oddziaływania PAs na NR, to nieoczekiwanie okazało się, że poliaminy (Ryc. 2) hamowały redukcję azotanu jak i azotynu do NO (Yamasaki, Cohen 2006). Działanie to polega przypuszczalnie na interakcji poliamin z białkiem 14-3-3 (Yamasaki, Cohen 2006). Białko to normalnie stymuluje aktywność enzymu (Kaiser, Huber 2001), a w obecności poliaminy wywoływało efekt przeciwny,

tj. hamowało aktywność NR. Efekt ten był silniejszy w przypadku egzogennej sperminy niż pozostałych poliamin. Istnienie po-translacyjnej modulacji NR przez połączenie z dimerem 14-3-3 powodowało obniżenie syntezy NO przez NR, co zostało potwierdzone eksperymentalnie zarówno w warunkach *in vivo* jak i *in vitro* (Kaiser, Huber 1997, Rockel et al. 2002).

Z kolei badania Tun et al. (2006) wskazują na to, że egzogenne poliaminy stymulowały syntezę NO. Autorzy podają, że poliaminy indukowały syntezę NO w niektórych tkankach siewek *Arabidopsis thaliana*. Podane roślinie spermina i spermidyna indukowały syntezę NO w merystemie wierzchołkowym, jak również w strefie elongacyjnej korzenia oraz w pierwszych liściach – szczególnie intensywnie w systemie tkanek przewodzących. Nie stwierdzono natomiast generowania NO w liścieniach. Najsilniejsze uwalnianie NO powodowały spermidyna i spermina, natomiast arginina i putrescyna wywoływały dużo słabszy efekt. Ponadto, reakcja była hamowana zarówno poprzez dodanie inhibitora zwierzęcej syntazy tlenku azotu, jak i inhibitora biosyntezy NO u roślin, oraz zmiatacza NO, co sugeruje przypuszczalny udział właśnie syntazy tlenku azotu (NOS) w stymulowanej przez poliaminy syntezie NO (Tun et al. 2006).

Według Tun et al. (2006) istnieje wiele potencjalnych powiązań pomiędzy PA i NO, co znajduje swoje odzwierciedlenie w wielu procesach fizjologicznych roślin, np. w odpowiedzi roślin na abiotyczne i biotyczne czynniki stresowe oraz w opóźnianiu procesów starzenia. Zwłaszcza dobrze udokumentowany jest wpływ PA poprzez NO na ekspresję genów odporności. Przykładowo spermina stymulowała po 6 godzinach aktywność dwóch kinaz białkowych (WIPK i SIPK) zaangażowanych w ekspresję genów obronnych (Takahashi et al. 2004). Znacznie krótszego czasu wymagała, indukowana przez egzogenne poliaminy, biosynteza NO (Tun et al. 2006), co może wskazywać na to, że NO uczestniczy w sekwencji reakcji obronnych poprzez aktywowanie MAP-kinaz. Stymulacja ekspresji genów odporności przez NO była wykazana



Ryc. 3. Struktura koniugatów poliamin potencjalnych donorów tlenu azotu (Yamasaki, Cohen 2006).

Fig. 3. The molecular structures of polyamine conjugates, possible NO donors (Yamasaki, Cohen 2006).

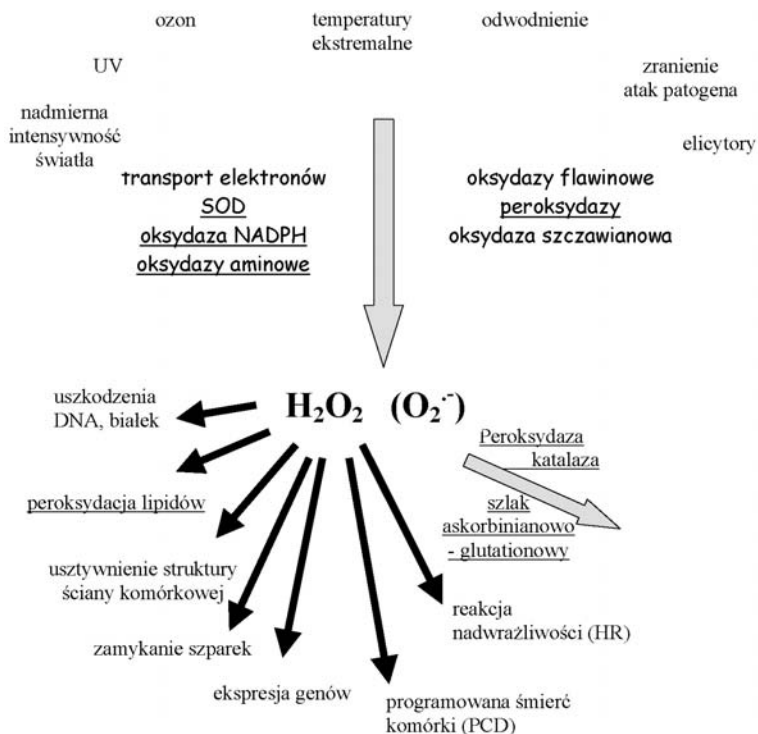
już wcześniej (Polverari et al. 2003). Ogólnie wiadomo, że różnego rodzaju stresy abiotyczne zwiększają biosyntezę PAs w celu łagodzenia ujemnych skutków stresu (Bouchereau et al. 1999). Wzrost zawartości poliamin w następstwie stresu wodnego i osmotycznego stwierdzono u wielu gatunków roślin, m.in. u zbóż (Flores, Galston 1984). Ponadto wykazano, że akumulowany w warunkach deficytu wody kwas abscysynowy (ABA) działa również poprzez wtórny przekaznik (ang. *second messenger*), jakim jest NO (Neill et al. 2003). Stwierdzono, że zarówno ABA, jak i H_2O_2 , syntetyzowany w warunkach stresu wodnego indukuje generowanie NO i pośredniczy w zamykaniu szparek (Zhang et al. 2007), a także odgrywa istotną rolę w łagodzeniu ujemnych skutków deficytu

wody w mezofilu liści (Neill 2007). Stymulowane przez PAs generowanie NO może także pośredniczyć w opóźniającym starzenie działaniu PAs (Bregoli et al. 2002), czemu towarzyszy hamowanie syntezy etylenu (Leshem et al. 1998). Na potwierdzenie powyższego oddziaływania, również egzogenne cytokiny hamują procesy starzenia odciętych organów (Li et al. 2000), powodując gwałtowne uwalnianie endogennego NO (Tun et al. 2001). Do stymulacji biosyntezy NO pod wpływem cytokiny (zeatyny) dochodziło nie tylko u typu dzikiego *Arabidopsis*, ale także u mutantu (nia1, 2) pozbawionego aktywności NR, co wskazuje na to, że NR nie uczestniczy w szybkiej indukcji generowania NO poprzez cytokinę. Ostatnio Tun et al. (2008) zakładają, że gwałtowna synteza NO pod wpływem poliamin może podlegać podobnej regulacji aktywności enzymu(ów) biosyntezy NO, jak to ma miejsce w przypadku cytokinin.

Wykazano również, że NO może bezpośrednio reagować z poliaminami i tworzyć połączenia typu poliamina-NONO (Ryc. 3) w warunkach stresu anoksji. Połączenie spermina-NONO mogłoby służyć jako donor NO. Jak dotąd, w innych układach doświadczalnych ten bezpośredni związek pomiędzy PA i NO, nie został eksperymentalnie potwierdzony. W związku z powyższym zasadne wydają się dalsze badania tych przemian, mające na celu wyjaśnienia istoty tego „spotkania na szlakach” transdukcji sygnału dwóch molekuł, tj. poliamin i tlenu azotu (Yamasaki 2005).

NADTLENEK WODORU

Reaktywne formy tlenu (RFT) są źródłem potencjalnych uszkodzeń, jak i należą do ważnych molekuł sygnałowych (Halliwell, Gutteridge 1989, Neill et al. 2002). Ostatnio, w przeciwieństwie do negatywnego terminu „stres oksydacyjny” (Mittler 2002) sugeruje się używanie bardziej adekwatnego określenia „sygnał oksydacyjny” (Foyer, Noctor 2005), dzięki któremu komórki roślin odbierają sygnały ze środowiska i w ten sposób odpowiednio dostosowują



Ryc. 4. Sygnał H_2O_2 u roślin. Szare strzałki – potencjalne drogi syntezy i rozkładu, czarne strzałki – potencjalne efekty działania H_2O_2 . Podkreślenia wskazują na związek pomiędzy H_2O_2 a poliaminami (wg Neill et al. 2002, zmodyfikowane).

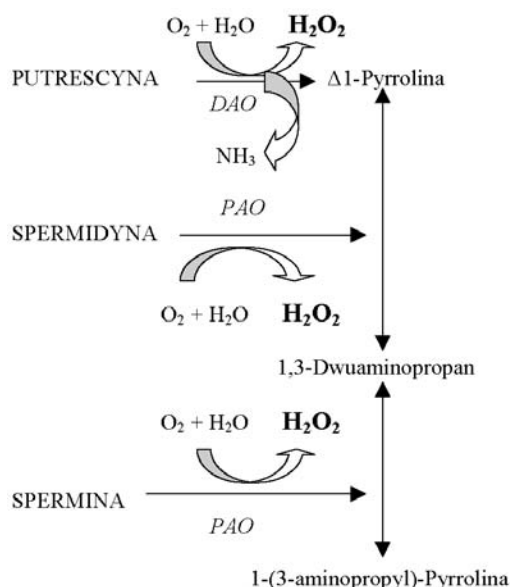
Fig. 4. H_2O_2 signalling in plants. Grey arrows represent potential synthesis and degradation, black arrows represent potential cellular effects of H_2O_2 . Underlines indicate a link between H_2O_2 and polyamines (by Neill et al. 2002, modified).

ekspresję genów, metabolizm i fizjologię do warunków stresowych.

Nadtlenek wodoru (H_2O_2) jest RFT generowaną w zwiększonych ilościach szczególnie w warunkach stresu oksydacyjnego. Ze stresem oksydacyjnym mamy do czynienia wówczas, gdy następuje zachwianie równowagi pomiędzy generowaniem RFT a ich rozkładem. H_2O_2 powstaje głównie wskutek dysmutacji anionorodnika ponadtlenkowego ($O_2^{\bullet -}$) dzięki aktywności dysmutazy ponadtlenkowej (SOD; EC 1.15.1.1). Generowanie RFT ma również miejsce podczas transportu elektronów (Ryc. 4), odbywającego się głównie w takich procesach jak fotosynteza, czy oddychanie mitochondrialne. W komórce roślinnej (aktywnej fotosyntetycznie) ważnym źródłem H_2O_2 jest również proces fotooddychania. Niepełna redukcja tlenu przez elektrony

transportowane przy udziale odpowiednich przekaźników prowadzi do powstania anionorodnika ponadtlenkowego ($O_2^{\bullet -}$). Generowanie RFT jest indukowane w roślinach narażonych na działanie szerokiego rodzaju abiotycznych i biotycznych czynników stresowych. Należą do nich ekstremalne temperatury, promieniowanie UV, nadmierna energia świetlna, działanie ozonu, fitohormony takie jak ABA, odwodnienie, zranienie, elicytory i patogeny (Elstner 1982, Smirnoff 2002, Bolkhina et al. 2003, Foyer, Noctor 2003).

Enzymatycznymi źródłami generującymi powstawanie H_2O_2 mogą być także oksydazy aminowe (Bartosz 1997, Bolwell et al. 2002), w tym oksydazy dwuaminowa (DAO) i poliaiminowa (PAO, Ryc. 5), co wskazuje na jedną z możliwych dróg działania poliamin (Smith



Ryc. 5. Schemat syntezy H_2O_2 podczas degradacji putrescyny, spermidyny i sperminy przez oksydazę dwuaminową (DAO) i oksydazę poliaminową (PAO) (wg Bouchereau et al. 1999).

Fig. 5. Pathways H_2O_2 synthesis under putrescine, spermidine and spermine degradation by diamine oxidase (DAO) and polyamine oxidase (PAO) (by Bouchereau et al. 1999).

1985). Syntetyzowany tą drogą H_2O_2 może działać w obronie komórki roślinnej przed atakiem patogena (Cona 2006). Jednakże szersze działanie ma H_2O_2 jako cząsteczka sygnałowa, która może wyzwać reakcje nadwrażliwości (HR), czy programowaną śmierć komórki (PCD) (Foyer, Noctor 2005). Spermina poprzez H_2O_2 może występować jako induktor białek PR (ang. *pathogen related proteins*) związanych z patogenezą. Dochodzi wówczas zarówno do wyzwalania aktywności enzymatycznej istniejących białek PR (także kaspaz), jak i do uruchomienia odpowiednich genów i indukcji ich biosyntezy. Konieczne są jednak dalsze precyzyjne informacje dotyczące działania poliamin związanego z odpornością (Walters 2003, Tang, Newton 2005). W warunkach stresu chłodu dochodzi do wzmożonej syntezy RFT wskutek zwiększonej aktywności oksydazy NADPH (Shen et al. 2000). U odmiany ogórka tolerancyjnej na ten stres stwierdzono znacznie niższy poziom RFT

i aktywności oksydazy NADPH, czemu towarzyszył wyższy poziom spermidyny i mniejsze uszkodzenia spowodowane chłodem. W badaniach z zastosowaniem egzogennej poliaminy i inhibitora syntezy poliamin wykazano, że spermidyna obniżała spowodowaną stresem chłodu indukcję aktywności oksydazy NADPH i w ten sposób obniżała zawartość RFT w roślinach ogórka. Wykazano, że w warunkach stresu wodnego poliaminy mają także wpływ na aktywność enzymów antyoksydacyjnych zaangażowanych w usuwanie RFT (Kubiś 2006). Egzogenne spermidyna, poprzez wpływ na aktywność enzymów uczestniczących w usuwaniu RFT, dysmutazy ponadtlenkowej (Kubiś 2005, 2008), peroksydazy i katalazy (Kubiś 2003, 2008) oraz enzymów szlaku askorbinianowo-glutationowego – reduktazy glutationowej, peroksydazy askorbinianowej i reduktazy monodehydroaskorbinianu (Kubiś 2001), umożliwiała obniżenie poziomu wysoce reaktywnych form tlenu – nadtlenu wodoru i anionorodnika ponadtlenkowego (Kubiś 2005, 2008). Poliaminy modyfikowały także aktywność innych enzymów, takich jak: kinazy białkowe, fosfatazy i ATPazy (Tassoni et al. 1998, 2002). Można przypuszczać, że wpływ poliamin na aktywność innych enzymów zaangażowanych w powstawanie RFT mógł być także przyczyną obserwowanego niższego poziomu nadtlenu wodoru i anionorodnika ponadtlenkowego.

PODSUMOWANIE

Dotychczas u roślin nie stwierdzono występowania specyficznych receptorów poliamin. Współdziałanie poliamin z innymi molekułami sygnałowymi, takimi jak nadtlenek wodoru i tlenek azotu, wskazuje na powiązanie szlaków transdukcji sygnału poliaminowego ze szlakami przekazu sygnału dla reaktywnych form tlenu i azotu u roślin (Yamasaki, Cohen 2006). Odpowiadając na pytanie postawione w tytule pracy, można powiedzieć, że dotychczasowe badania nie pozwalają na jednoznaczne stwierdzenie, że poliaminy wpływają na poziom RFT. Więcej wyników badań dotyczy współdziałania poliamin

i H_2O_2 . Jednakże, w przypadku współdziałania PAs z NO opublikowano jak dotąd wyniki pojedynczych prac badawczych i wymagają one kontynuacji.

LITERATURA

- ARASIMOWICZ M., FLORYSZAK-WIECZOREK J. 2007. Nitric oxide as bioactive signalling molecule in plant stress responses. *Plant Sci.* **172**: 876–997.
- BAGNI N., TORRIGIANI P. 1992. Polyamines: a new class of growth substances. W: C. M. KARSEN, L. C. VAN LOON, D. VREUGHENIL (red.), *Progress in plant growth regulation*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, s. 264–275.
- BARROSO J. B., CORPAS F. J., CARRERAS A., SANDALIO L. M., VALDERRAMA R., PALMA J. M., LUPÍÁÑEZ J. A., DEL RIO L. A. 1999. Localization of nitric oxide synthase in plant peroxisomes. *J. Biol. Chem.* **274**: 36729–36733.
- BARTOSZ G. 1997. Oxidative stress in plants. *Acta Physiol. Plant.* **19**: 47–64.
- BETHKE P. C., BADGER M. R., JONES R. L. 2004. Apoplastic synthesis of nitric oxide by plant tissue. *Plant Cell* **16**: 332–341.
- BOLKHINA O., VIROLAINEN E., FAGERSTEDT K. V. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Ann. Bot.* **91**: 179–194.
- BOLWELL G. P., BINDSCHEDLER L. V., BLEE K. A., BUTT V. S., DAVIES D. R., GARDNER S. L., GERRISH C., MINIBAYEVA F. 2002. The apoplastic oxidative burst in response to biotic stress in plants: a three-component system. *J. Exp. Bot.* **53**: 1367–1373.
- BOUCHEREAU A., AZIZ A., LARHER F., MARTIN-TANGUY J. 1999. Polyamines and environmental challenges: recent development. *Plant Sci.* **140**: 103–125.
- BREGOLI A. M., SCARAMAGLI S., COSTA G., SABATINI E., ZIOSI V., BIONDI S., TORRIGIANI P. 2002. Peach (*Prunus persica*) fruit ripening: aminoethoxyvinylglycine (AVG) and exogenous polyamines affect ethylene emission and flesh firmness. *Physiol. Plant.* **114**: 472–481.
- COHEN S. S. 1998. A guide to the polyamine metabolism. Oxford University Press, New York, Oxford.
- CONA A. 2006. Functions of amine oxidase in plant development and defence. *Trends Plant Sci.* **11**: 80–88.
- CRAWFORD N. M., GUO F. Q. 2005. New insights into nitric oxide metabolism and regulatory function. *Trends Plant Sci.* **10**: 195–200.
- CUETO M., HERMANDEZ-PERERA O., MARTIN R., BENTURA M. L., RODRIGO J., LAMAS S., GOLVANO M. P. 1996. Presence of nitric oxide synthase activity in root and nodules of *Lupinus albus*. *FEBS Lett.* **398**: 159–164.
- ELSTNER E. F. 1982. Oxygen activation and oxygen toxicity. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **33**: 73–96.
- FLORES H. E., GALSTON A. W. 1984. Osmotic stress-induced polyamine content in cereal leaves. I. Physiological parameters of the response. *Plant Physiol.* **75**: 102–109.
- FOYER C. H., NOCTOR G. 2003. Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. *Physiol. Plant.* **119**: 355–364.
- FOYER C. H., NOCTOR G. 2005. Oxidant and antioxidant signalling in plants: re-evaluation of the concept of oxidative stress in physiological context. *Plant Cell Environ.* **28**: 1056–1071.
- GALSTON A. W., KAUR-SAWHNEY R. 1995. Polyamines as endogenous growth regulators. W: P. J. DAVIES (red.), *Plant hormones: physiology, biochemistry and molecular Biology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, s. 158–178.
- GNIAZDOWSKA A. 2004. Rola tlenku azotu w metabolizmie komórki roślinnej. *Kosmos* **53**: 434–445.
- HALLIWELL B., GUTTERIDGE J. M. C. 1989. Free radicals in biology and medicine. Clarendon Press, Oxford UK.
- KAISER W. M., HUBER S. C. 1997. Correlation between apparent activation state of nitrate reductase (NR), NR hysteresis and degradation of NR protein. *J. Exp. Bot.* **48**: 1367–1374.
- KAISER W. M., HUBER S. C. 2001. Post-translational regulation of nitrate reductase: mechanism, physiological relevance and environmental triggers. *J. Exp. Bot.* **52**: 1981–1989.
- KUBIŚ J. 2001. Polyamines and ‘scavenging system’: influence of exogenous spermidine on Halliwell-Asada pathway enzyme activity in barley leaves under water deficit. *Acta Physiol. Plant.* **23**: 335–341.
- KUBIŚ J. 2003. Polyamines and ‘scavenging system’: influence of exogenous spermidine on catalase and guaiacol peroxidase activities, and free polyamines level in barley leaves under water deficit. *Acta Physiol. Plant.* **25**: 337–343.
- KUBIŚ J. 2005. The effect of exogenous spermidine on superoxide dismutase activity, H_2O_2 and superoxide radical level in barley leaves under water deficit conditions. *Acta Physiol. Plant.* **27**: 289–295.
- KUBIŚ J. 2006. Poliaminy i ich udział w reakcji roślin na warunki stresowe środowiska. *Kosmos* **55**: 209–215.
- KUBIŚ J. 2008. Exogenous spermidine alters in different ways activities of some scavenging system enzymes, H_2O_2 and superoxide radical levels in water stressed cucumber leaves. *J. Plant Physiol.* **165**: 397–406.
- LAMATTINA L., GARCIA-MATA C., GRAZIANO M., PAGNUSSAT G. 2003. Nitric oxide: the versatility of an

- extensive signal molecule. *Ann. Rev. Plant Biol.* **54**: 109–136.
- LAMOTTE O., GOULD K., LECOURIEUX D., SEQUEIRA-LEGRAND A., LEBRUN-GARCIA A., DURNER J., PUGIN A., WENDEHENNE D. 2004. Analysis of nitric oxide signalling function in tobacco cells challenged by the elicitor cryptogein. *Plant Physiol.* **135**: 516–529.
- LESHEM Y. Y., WILS R. B. H., KU V. V. V. 1998. Evidence for the function of the free radical gas - nitric oxide (NO&unknown;-) - as an endogenous maturation and senescence regulating factor in higher plant. *Plant Physiol. Biochem.* **36**: 825–833.
- LI Q., BETTANY A. J., DONNISON I., GRIFFITHS C. M., THOMAS H., SCOTT I. M. 2000. Characterization of a cysteine protease cDNA from *Lolium multiflorum* leaves and its expression during senescence and cytokinin treatment. *Biochim. Biophys. Acta* **1492**: 233–236.
- MARTIN-TANGUY J. 2001. Metabolism and function of polyamines in plants: recent development (new approaches). *Plant Growth Reg.* **34**: 135–148.
- MITTLER R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci.* **9**: 405–410.
- NEILL S. J. 2007. Interaction between abscisic acid, hydrogen peroxide and nitric oxide mediate survival responses during water stress. *New Phytol.* **175**: 4–6.
- NEILL S. J., DESIKAN R., HANCOCK J. 2003. Nitric oxide signalling in plants. *New Phytol.* **159**: 11–35.
- NEILL S. J., DESIKAN R., CLARKE A., HURST R. D., HANCOCK J. 2002. Hydrogen peroxide and nitric oxide as signalling molecules in plants. *J. Exp. Bot.* **53**: 1237–1247.
- NATHAN C., XIE Q. W. 1994. Nitric oxide synthetases: roles, tools and controls. *Cell* **78**: 915–918.
- POLVERARI A., MOLESINI B., PEZZOTTI M., BUONOAURIO R., MARTE M., DELLEDONE M. 2003 Nitric oxide-mediated transcriptional changes in *Arabidopsis thaliana*. *Mol. Plant-Microbe Interact.* **16**: 1094–1105.
- ROCKEL P., STRUBE F., ROCKEL A., WILDT J., KEISER W. M. 2002. Regulation of nitric oxide (NO) production by plant nitrate reductase *in vivo* and *in vitro*. *J. Exp. Bot.* **53**: 103–110.
- SHEN W., NADA K., TACHIBANA S. 2000. Involvement of polyamines in the chilling tolerance of cucumber cultivars. *Plant Physiol.* **124**: 431–439.
- SMIRNOFF N. 2002. Preface to number 375. *J. Exp. Bot.* **53**: 0.
- SMITH T. A. 1985. The di- and polyamine oxidases of higher plants. *Biochem. Soc. Trans.* **13**: 319–322.
- TAKAHASI Y., UEHARA Y., BERBERICH T., ITO A., SAITOH H., MIYAZAKI A., TERAUCHI R., KUSANO T. 2004. A subset of hypersensitive response markers genes, including HSR203J, is the downstream target of spermine signal transduction pathway in tobacco. *Plant J.* **40**: 586–595.
- TANG W., NEWTON J. N. 2005. Polyamines reduce salt-induced salt oxidative damage by increasing the activities of antioxidant enzymes and decreasing lipid peroxidation in Virginia pine. *Plant Growth Reg.* **46**: 31–43.
- TASSONI A., ANTAGNONI F., BATTISTINI M. L., SANVIDO O., BAGNI N. 1998. Characterization of spermidine binding to solubilized plasma membrane proteins from zucchini hypocotyls. *Plant Physiol.* **117**: 971–977.
- TASSONI A., NAPIER R. M., FRANCESCHETTI M., VENIS M. A., BAGNI N. 2002. Spermidine-binding proteins. Purification and expression analysis in maize. *Plant Physiol.* **128**: 1303–1312.
- TUN N. N., HOLK A., SCHERER G. F. E. 2001. Rapid increase of NO release in plant cell cultures induced by cytokinin. *FEBS Lett.* **509**: 174–176.
- TUN N. N., SANTA-CATARINA C., BEGUM T., SIVEIRA V., HANDRO W., FLOH E. I. S., SCHERER G. 2006. Polyamines induce rapid biosynthesis of nitric oxide (NO) in *Arabidopsis thaliana* seedlings. *Plant Cell Physiol.* **47**: 346–354.
- TUN N. N., LIVAJA M., KIEBER J. J., SCHERER G. F. E. 2008. Zeatin-induced nitric oxide (NO) biosynthesis in *Arabidopsis thaliana* mutants of NO biosynthesis and of two-component signalling genes. *New Phytol.* **178**: 515–531.
- WALTERS D. R. 2003. Resistance to plant pathogens: possible role for polyamines and polyamine catabolism. *New Phytol.* **159**: 109–115.
- YAMASAKI H. 2005. The NO world for plants: achieving balance in an open system. *Plant Cell Environ.* **28**: 78–84.
- YAMASAKI H., COHEN M. F. 2006. NO signal at crossroads: polyamine induced nitric oxide synthesis in plants. *Trends Plant Sci.* **11**: 522–524.
- ZHANG A., JIANG M., ZHANG J., DING H., XU S., HU X., TAN M. 2007. Nitric oxide induced by hydrogen peroxide mediates abscisic acid-induced activation of the mitogen-activated protein kinase cascade involved in antioxidant defense in maize plants. *New Phytol.* **175**: 36–50.
- ZEMOJTEL T., FRÖLICH A., PALMIERI M. C., KOLANCZYK M., MIKULA I., WYRWICZ L. S., WANKER E. E., MUNDLOS S., VINGRON M., MARTASEK P., DURNER J. 2006. Plant nitric oxide synthase: never-ending story? *Trends Plant Sci.* **11**: 524–525.