

MECHANIZM ODCINANIA ORGANÓW U ROŚLIN

THE MECHANISM OF ORGAN ABSCISSION IN PLANTS

Emilia WILMOWICZ, Kamil FRANKOWSKI, Agata KUĆKO, Jacek KĘSY,
Magdalena SIDŁOWSKA, Anna STUDZIŃSKA-CZYSZKA,
Katarzyna MARCINIAK, Jan KOPCEWICZ

Katedra Fizjologii Roślin i Biotechnologii,
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
Centrum Nowoczesnych Technologii,
Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu

Streszczenie: Odcinanie niektórych organów od rośliny jest częścią realizacji jej programów rozwojowych. Zjawisko to jest związane przede wszystkim z rozmnażaniem, mechanizmami obronnymi roślin oraz pozbywaniem się organów, które utraciły swoją funkcję. Proces separacji zachodzi w wyspecjalizowanej strefie odcinania wytwarzanej zazwyczaj u podstawy organu już na wczesnych etapach jego morfogenezy. Strefa ta charakteryzuje się brakiem tkanki wzmacniającej oraz krótkimi elementami wiązek przewodzących. Zmiana aktywności genów kodujących czynniki transkrypcyjne oraz enzymy modyfikujące strukturę ściany komórkowej prowadzi do aktywacji komórek strefy odcinania i w konsekwencji dojrzewania w jej dystalnej części pokładu rozdzielającego. W pokładzie rozdzielającym nierozpuszczalne pektyniany wapnia ulegają przemianie w kwas pektynowy i rozpuszczalną pektynę, natomiast enzymy hydrolityczne rozpuszczają blaszkę środkową spajającą z sobą ściany sąsiadujących komórek. Powstała w ten sposób blizna zostaje pokryta tkanką zabezpieczającą. Elementem odpowiedzialnym za koordynowanie przemian anatomiczno-fizjologicznych towarzyszących odcinaniu organów jest zmieniający się poziom hormonów roślinnych. Wyniki badań dowodzą, że najważniejszy w regulacji tego procesu jest wzajemny stosunek ilości auksyn i etylenu w komórkach sąsiadujących ze strefą odcinania. Zanik polarnego transportu auksyn zwiększa wrażliwość komórek na etylen, który stymulując produkcję enzymów hydrolitycznych prowadzi do separacji organów. Proces odcinania organów jest regulowany również na poziomie genetycznym. U rzodkiewnika pospolitego zidentyfikowano liczne geny zaangażowane w powstawanie, aktywację oraz funkcjonowanie strefy odcinania.

Słowa kluczowe: ekspresja genów, fitohormony, odcinanie organów, strefa odcinania

Summary: The abscission of some of a plant's organs is pre-planned in its developmental programs. This phenomenon is first of all connected with plant reproduction, protection mechanisms, and getting rid of organs which have lost their function. The separation process occurs in the specialized

abscission zone usually formed at the basis of the organ already at early stages of its morphogenesis. This zone is characterized by a lack of strengthening tissue and by short vascular bundle elements. A change in the activity of genes coding for cell wall modifying enzymes and for transcription factors leads to the activation of the abscission zone cells and, as a consequence of that, to maturation in its distal part of the separation layer. In the separation layer, insoluble calcium pectinates are transformed into pectic acid and soluble pectin, while hydrolytic enzymes dissolve the middle lamella that binds the cell walls of two adjoining cells together. The scar formed in this way is then covered by protective tissue. The changing levels of phytohormones are a factor responsible for coordinating the anatomical and physiological changes accompanying organ abscission. Research results suggest that the most important role in regulating this process is played by the mutual relationship between the amounts of auxin and ethylene in cells adjacent to the abscission zone. The decrease of polar auxin transport increases cell sensitivity to ethylene which, by stimulating hydrolytic enzymes production, causes organ separation. The organ abscission process is also regulated at the genetic level. In *Arabidopsis thaliana*, numerous genes have been identified which are involved in the formation, activation and functioning of the abscission zone.

Key words: organ abscission, abscission zone, phytohormones, gene expression

WSTĘP

Podczas wzrostu i rozwoju rośliny dochodzi do odcinania (separacji, odpadania, oddzielania) niektórych organów lub ich części. Najczęściej odcinane są organy, które przestały być użyteczne dla rośliny. Najpospolitszym przykładem jest jesienne zrzucanie liści, któremu towarzyszy reutilizacja. Separacji mogą ulegać pąki boczne, trichomy, kolce, okwiat, owoce, dojrzałe nasiona, a także pędy lub ich fragmenty [17]. U roślin o sympodialnym typie wzrostu dochodzi do odcinania wierzchołkowej, merystematycznej części pędu, a proces ten następuje bezpośrednio po rozpoczęciu obumierania merystemu [24]. Separacja organów odgrywa również podstawową rolę w obronie przed infekcjami oraz w procesach reprodukcji [1, 29, 35]. Zrzucanie zainfekowanych bakteriami lub grzybami części rośliny zapobiega rozprzestrzenianiu się chorób, a odcinanie elementów okwiatu po zapyleniu ma na celu pełne wykorzystanie energii do wytworzenia żywotnych nasion.

Aktualny stan wiedzy wyklucza istnienie jednego, uniwersalnego mechanizmu odcinania organów, jednak u różnych gatunków roślin można wyróżnić cztery podstawowe etapy przebiegu tego procesu. Na początku zostaje wytworzona strefa odcinania (ang. *Abscission Zone*), która nabywa kompetencji do odbierania sygnałów aktywujących separację organów. W dalszych etapach dochodzi do dojrzewania pokładu rozdzielającego, w którym zostaje przerwana ciągłość tkanek i ostatecznie wytworzenia tkanki zabezpieczającej powierzchnię powstałej blizny [17, 29] (ryc. 1). Niniejsza praca przedstawia najnowsze informacje dotyczące mechanizmów regulujących odcinanie organów, ze szczególnym uwzględnieniem badań prowadzonych u *Arabidopsis thaliana*.

STREFA ODCINANIA

POWSTAWANIE

Strefa odcinania składa się zazwyczaj z kilku, rzadziej kilkudziesięciu warstw małych, izodiametrycznych o gęstej cytoplazmie komórek i powstaje we wczesnych etapach morfogenezy organów, które ulegają odcięciu w późniejszych fazach rozwoju [39]. W dystalnej lub proksymalnej części organów u niektórych roślin może powstać również dodatkowa strefa odcinania [17, 50]. Miejsce jej różnicowania jest zaprogramowane genetycznie i znajduje się zazwyczaj u podstawy odcinanego organu. W odpadających łodygach strefa ta tworzy się w pogrubionej nasadzie i charakteryzuje się mniejszą ilością lub całkowitym brakiem włókien drewna wtórnego oraz wysoką zawartością miękiszu drzewnego. U większości roślin strefa odcinania liścia powstaje u nasady ogonka liściowego lub pomiędzy ogonkiem a blaszką liściową. Podczas separacji owoców powstaje najczęściej tzw. strefa górna odcinania – między pędem, a szypułką lub strefa dolna odcinania – między szypułką a owocnią. Ilość oraz rozmieszczenie stref odcinania poszczególnych organów jest cechą specyficzną gatunkowo, np. u brzoskwini odcinanie niedojrzałych owoców uzależnione jest od aktywacji aż trzech kolejnych stref odcinania, pierwszej wykształconej między gałęzią a szypułką, drugiej znajdującej się na granicy szypułki i dna kwiatowego oraz trzeciej zlokalizowanej u podstawy owocu i dna kwiatowego [17, 40].

Elementy wiązek przewodzących w strefie odcinania są krótsze niż w pozostałych częściach rośliny. Jednak u większości roślin ciągłość wiązki waskularnej zachowana jest aż do późnych etapów separacji organu. W strefie odcinania brak także tkanki wzmacniającej. W przypadku, gdy nasada np. liścia czy pędu narażona jest na duże naprężenia, brak zdrewniałych pierwotnych i wtórnych włókien zastępowany jest nagromadzeniem tkanki miękiszowej mogącej ulegać korkowaceniowi oraz drewnieniu [24]. U nagozależkowych zgrubienia ścian występujących w peryferycznej części strefy odcinania tworzą tzw. kołnierz sklerenchymatyczny, który zwiększa mechaniczną niestabilność granicy między grubo- i cienkościennymi komórkami tej strefy. W strefie odcinania roślin dwuliściennych występują cienkościennie komórki, które mają zdolność do drewnienia lub korkowacenia. Jeśli procesy te zachodzą jednocześnie, to po bazalnej stronie przyszłego pokładu oddzielającego powstaje pokład lignosuberynowy okalający wiązki przewodzące, który po odcięciu organu pełni funkcję pokładu zabezpieczającego powierzchnię blizny [24].

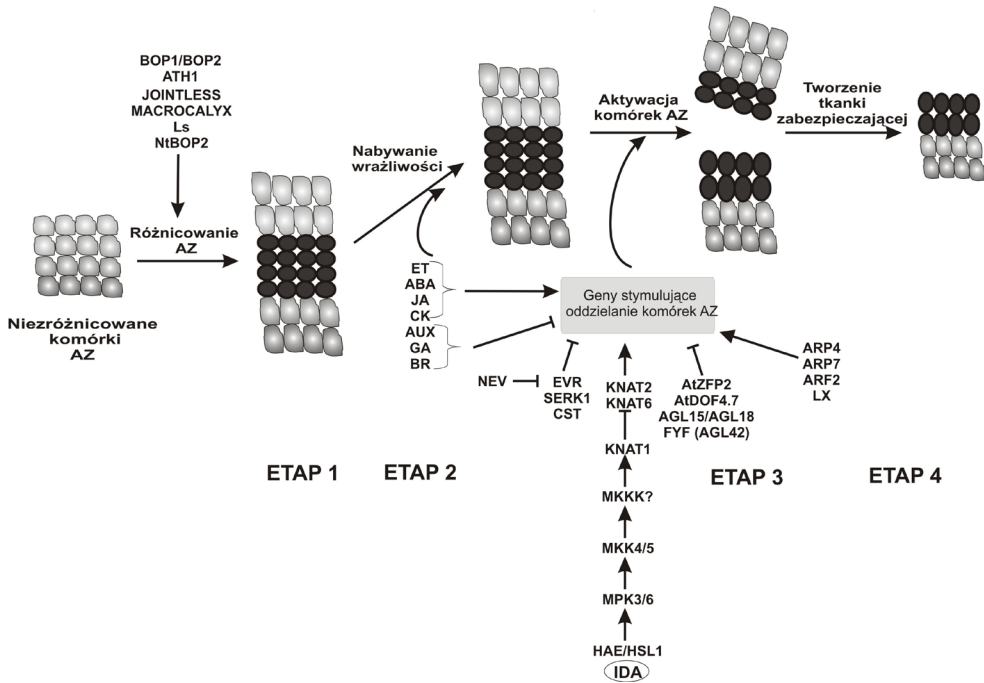
Badania genetyczne wskazują na istnienie licznych sygnałów morfogenetycznych odpowiedzialnych za różnicowanie strefy odcinania w poszczególnych organach. U *Lycopersicon esculentum* zidentyfikowano geny *JOINTLESS* (*JNT1*, *J-2*), *LATERAL SUPPRESSOR* (*LS*) i *MACROCALYX* (*MC*) odpowiedzialne za różnico-

wanie strefy odcinania w szypułce owoców. Mutanty *jnt1, j-2* nie mają wykształconej strefy odcinania, charakteryzują się krótką szypułką owocu a po wytworzeniu jednego, dwóch lub trzech kwiatów ich merystem kwiatostanowy przekształca się ponownie w merystem wegetatywny [44, 45]. Zarówno *JNT*, jak i *MC* kodują czynniki transkrypcyjne zawierające domenę MADS, odpowiedzialną za wiązanie do DNA, zdolność do dimeryzacji i lokalizację jądrową. Białko *JNT* wykazuje dużą homologię do SHORT VEGETATIVE PHASE (SVP) z *A. thaliana*, które jest jednym z czynników transkrypcyjnych kontrolujących indukcję kwitnienia. Natomiast sekwencja czynnika transkrypcyjnego kodowanego przez *MC* jest bardzo podobna do sekwencji białka FRUITFULL (FUL), które u *A. thaliana* odpowiada za rozwój strefy odcinania w łuszczyne [41].

Czynniki transkrypcyjne *MC* i *JNT* poprzez regulację aktywności specyficznych genów zależnych od auksyn, kontrolują czas odcinania szypułki. Wykazano również, że obydwie białka pośredniczą w interakcjach auksyny (NAA) i etylenu (ET) [34, 41, 58]. Gen *LS* koduje białko VHIID wykazujące wysoki stopień homologii z białkami zaangażowanymi w szlak przekazywania sygnału giberelinowego. U mutantów *ls*, podobnie jak u *jnt1, j-2*, liście i kwiaty ulegają odcinaniu, natomiast brak strefy odcinania w szypułkach owocu [41, 47] (ryc. 1).

U *Arabidopsis*, u której nie występuje odcinanie owoców, badania dotyczą głównie separacji elementów okwiatu i pęknięcia łuszczyzny. Istotne znaczenie dla różnicowania strefy odcinania w elementach okwiatu mają białka BLADE-ON-PETIOLE 1 i 2 (BOP1, BOP2), należące do rodziny białek NON-EXPRESSOR OF PR1 (NPR1), które zawierają charakterystyczne sekwencje cystein oraz domeny (BTP/POZ) służące do oddziaływań z innymi białkami [39]. Białko NPR1 jest pozytywnym regulatorem w systemicznej odpowiedzi obronnej roślin (SAR) indukowanej przez patogeny. Niektóre aspekty funkcjonowania białek BOP są podobne jak białka NPR1, ale ostateczne wyjaśnienie ich roli wymaga dalszych badań. Obecnie wiadomo, że BOP1/BOP2 kontrolując aktywność genów homeotycznych w liściach i kwiatostanie odgrywają kluczową rolę w ich różnicowaniu, dodatkowo mutanty *bop* nie wytwarzają strefy odcinania w elementach okwiatu. U tytoniu NtBOP2 z czynnikiem transkrypcyjnym typu TGA, podnosi poziom endogennych giberelin, które regulują wykształcenie strefy odcinania u podstawy płatków korony [52].

W powstawanie strefy odcinania elementów okwiatu u *A. thaliana* zaangażowany jest również gen *ARABIDOPSIS THALIANA HOMEODOMAIN GENE1 (ATH1)* [13, 20]. Białko *ATH1* należące do klasy białek BELL, razem z czynnikami transkrypcyjnymi odpowiedzialnymi za tożsamość komórek merystematycznych KNOX – KNOTTEDLIKE FROM ARABIDOPSIS THALIANA2 i 6 (KNAT2, KNAT6) hamuje wzrost komórek na granicy powstających organów. W dojrzałym kwiecie strefa odcinania zaczyna funkcjonować dopiero po zapłodnieniu, natomiast u mutantu *ath1* we wczesnych etapach zawiązywania owoców zaburzenia w rozwoju tej strefy prowadzą do zrosnięcia elementów okwiatu z owocami.



RYCINA 1. Molekularne mechanizmy kontrolujące odcinanie organów u roślin. Proces separacji zachodzi w wyspecjalizowanej strefie odcinania wytwarzanej zazwyczaj u podstawy organu na wczesnych etapach jego morfogenezy (1). Komórki strefy odcinania nabywają wrażliwości do odbierania sygnałów aktywujących separację organów (2), po zadziałaniu których dochodzi do wytworzenia tkanki rozdzielającej (3). Przerwaniu ciągłości tkanek towarzyszy wytworzenie tkanki zabezpieczającej powierzchnię powstałej blizny (4). *BOP*, *MC*, *JNT*, *Ls*, *ATH1* – geny odpowiedzialne za stymulowanie różnicowania strefy odcinania; *ET* (etylen), *ABA* (kwas abscysynowy), *JA* (jasmoniany), *ACC* (kwas 1-aminocyklopropano-1-karboksyłowy), *CK* (cytokininy), *AUX* (auksyny), *GA* (gibereliny), *BR* (brasinosteroidy) – fitohormony wpływające na wrażliwość komórek strefy odcinania; *NEV*, *EVR*, *SERK1*, *CST*, *KNAT2*, *KNAT6*, *KNAT1*, Kinazy *MAP*, *HAE/HSL1*, *IDA*, *AtZFP2* (ZINC FINGER PROTEIN2), *AtDOF4.7*, *AGL15/AGL18*, *FYF/AGL42*, *ARF*, *LX* czynniki regulujące odcinanie organów (na podstawie [17], zmieniono)

FIGURE 1. Molecular mechanisms controlling plant organ abscission. The separation process occurs in the specialized abscission zone (AZ) usually formed at the basis of the organ at early stages of its morphogenesis (1). AZ cells become sensitive to signals activating gene separation (2); these signals lead to the formation of the separating tissue (3). The breaking up of the tissue is accompanied by the formation of a tissue that protects the surface of the resulting scar (4). *BOP*, *MC*, *JNT*, *Ls*, *ATH1* – genes stimulating the differentiation of the abscission zone; *ET* (ethylene), *ABA* (abscisic acid), *JA* (jasmonates), *ACC* (1-aminocyclopropane-1 carboxylic acid), *CK* (cytokinins), *AUX* (auxins), *GA* (giberellins), *BR* (brassinosteroids) – phytohormones affecting abscission zone cell sensitivity; *NEV*, *EVR*, *SERK1*, *CST*, *KNAT2*, *KNAT6*, *KNAT1*, *MAP*, *HAE/HSL1*, *IDA*, *AtZFP2* (ZINC FINGER PROTEIN2), *AtDOF4.7*, *AGL15/AGL18*, *FYF/AGL42*, *ARF*, *LX* factors regulating organ abscission (based on [17], modified)

Dodatkowo KNAT6 i kompleks białek KNAT2 z ATH1 regulują rozwój szypułki i najprawdopodobniej jedno z nich wchodzi w interakcje z definiującym granice między organami białkiem BELL, uczestnicząc w ten sposób w rozwoju strefy odcinania [36].

AKTYWACJA I FUNKCJONOWANIE

Aktywacja komórek strefy odcinania wymaga zmiany ekspresji genów kodujących enzymy modyfikujące strukturę ściany komórkowej i obecności wielu czynników transkrypcyjnych (tab. 1). Odcinanie organów u roślin jest procesem związanym z przemianami anatomicznymi i fizjologicznymi koordynowanymi również przez zmieniający się poziom endogennych fitohormonów. Hormony roślinne regulując zmiany aktywności enzymów hydrolitycznych decydują o aktywacji komórek pokładu rozdzielającego.

W strefie odcinania szypułek kwiatu pomidora występuje wysoki poziom transkryptu *CELLULASE1*, 2 i 5 (*CEL1*, *CEL2* i *CEL5*) kodujących β -1,4-glukanazy, z których dwie pierwsze odpowiadają za modyfikację struktury ścian komórkowych podczas odcinania kwiatów, natomiast ostatnia jest aktywna w czasie dojrzewania owoców [17]. W proces ten zaangażowane są również poligalakturonazy (TPG1, TPG2, TPG4). U *A. thaliana* wzrost aktywności transkrypcyjnej genu *QRT2* kodującego poligalakturonazę aktywuje odcinanie kwiatów, natomiast *ZINC FINGER PROTEIN2* (*AtZFP2*) jest represorem tego procesu [9, 10]. Aktywność promotora genu *AtZFP2* obserwowano u podstawy odcinanych części okwiatu, a konstytutywna ekspresja tego genu zwiększa ilość utrzymywanych przez roślinę kwiatów. Białko *AtZFP2* w interakcji z czynnikiem transkrypcyjnym *AtDOF4.7* kontroluje ekspresję genów kodujących enzymy hydrolizujące ściany komórkowe, m.in. *PGA-ZAT* [51]. Ponieważ u roślin z nadekspresją *AtDOF4.7* egzogenny etylen (ET) nie przyspiesza żadnego z etapów odcinania elementów kwiatu uważa się, że działa on w szlaku niezależnym od tego hormonu [51].

Aktywność komórek strefy odcinania u *A. thaliana* jest regulowana przez *BREVIPEDICELLUS* (*BP/KNAT1*) należący do klasy I genów *KNOX* [48]. Najprawdopodobniej *BP/KNAT1* aktywny znacznie później niż *BOP1* i *BOP2* funkcjonuje jako negatywny regulator *KNAT2* i *KNAT6*, a to z kolei stymuluje ekspresję genów kodujących enzymy hydrolityczne zaangażowane w separację komórek w strefie odcinania [8]. Kluczowy etap odcinania elementów okwiatu u *A. thaliana* kontrolowany jest przez białko *INFLORESCENCE DEFICIENT IN ABSCISSION* (*IDA*) posiadające na N-końcu peptyd sygnałny a na C-końcu konserwatywny motyw PIP (*EPIP*) [7, 49]. Mutanty *ida* cechują się niezdolnością do odcinania elementów okwiatu, choć warstwa odcinająca wytworzona jest u nich prawidłowo.

TABELA 1. Wybrane enzymy zaangażowane w modyfikację ściany komórkowej w strefie odcinania
TABLE 1. Selected cell wall modifying enzymes in the abscission zone cells

GEN	MIEJSCE EKSPRESJI	GATUNEK	LITERATURA
β-1,4-glukanazy, celulazy			
<i>SIGH9B1 (TomCEL1)</i>	szypułki	<i>S. lycopersicum</i>	[15, 21, 32] [15,
<i>SIGH9B2 (TomCEL2)</i>	szypułki	<i>S. lycopersicum</i>	32]
<i>SIGH9B4 (TomCEL5)</i>	szypułki, liść	<i>S. lycopersicum</i>	[15, 25]
poligalakturonazy			
<i>TAPG1, TAPG2, TAPG4</i>	szypułki, liść	<i>S. lycopersicum</i>	[26]
<i>QRT2</i>	pylniki, okwiat	<i>A. thaliana</i>	[42]
<i>PGAZAT</i>	okwiat	<i>A. thaliana</i>	[23]
transglukozyłazy ksyloglukanu, hydrolazy			
<i>AtXTH7, AtXTH12,</i> <i>AtXTH19, AtXTH28</i>	pręcik	<i>A. thaliana</i>	[31]
β-galaktozydazy, hydrolazy			
<i>AtBGal4</i>	pręcik	<i>A. thaliana</i>	[31]
<i>CsBGal</i>	owoce	<i>C. sinensis</i>	[53]
pektynoesterazy			
<i>At2g45220, At4g02330</i>	pręcik	<i>A. thaliana</i>	[31]
<i>CsPME1</i>	owoce	<i>C. sinensis</i>	[40]
liazy pektynowe			
<i>AtPLL18, AtPLL19, At-</i> <i>PLL23, AtPLL25</i>	pręcik	<i>A. thaliana</i>	[31]
ekspansyny			
<i>AtEXP10</i>	szczątkowa szypułka	<i>A. thaliana</i>	[11]
<i>AtEXP6</i>	pręcik	<i>A. thaliana</i>	[31]
<i>SnEXP2, SnEXP4</i>	przylistki	<i>S. nigra</i>	[4]
<i>RbEXPA1</i>	płatki korony	<i>R. bourboniana</i>	[46]

Przypominają one mutanta rzodkiewnika *constitutive triple response 1 (ctr1)*, który odznacza się fenotypem ciągłej odpowiedzi etylenowej, nie ustępującej nawet po podaniu inhibitorów biosyntezy tego hormonu. Nadekspresja genu *IDA* powoduje zwiększenie podziałów komórkowych w strefie odcinania, wydzielanie dużej ilości arabinogalaktanu i przedwczesne odcinanie elementów okwiatu. Białko *IDA* pełni funkcję liganda, którego receptorem jest kinaza *HAESA/HAESA-LIKE2 (HAE/HSL2)* kodowana przez gen ulegający ekspresji wyłącznie w warstwie odcinającej [8, 12, 48, 49]. U mutanta *hae hsl2* nadekspresja *IDA* nie przywraca normalnego fenotypu roślin. Percepcja *IDA* przez receptor *HAE/HSL2* prowadzi do aktywacji szlaku kinaz *MAP*, w którym uczestniczą *MKK4* i *MKK5*, *MPK3* i *MPK6*

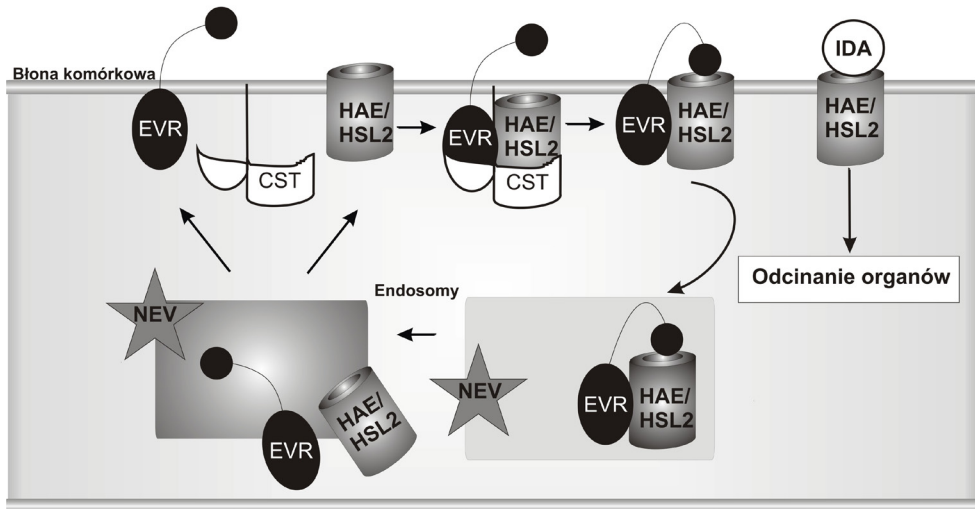
oraz niezidentyfikowana do tej pory kinaza kinaz kinaz MKKK [12]. Rośliny z obniżoną ekspresją *MKK4* i *MKK5* w komórkach strefy odcinania są fenotypowo podobne do *ida*, a zmutowana forma *MKK6* u *mpk3* prowadzi do powstania roślin charakteryzujących się niezdolnością do odcinania elementów okwiatu [12].

U *A. thaliana* gen *NEVERSHED* (*NEV*) koduje białko ARF-GTPase-activating proteins (ARF-GAP), które pełni funkcję regulatora transportu wewnątrzkomórkowego [38]. Utrata funkcji *NEV* prowadzi do zablokowania odcinania organów. Na podstawie analizy mutacji przywracających odcinanie organów u *nev* zidentyfikowano białka *EVERSHED* (*EVR*) i *SOMATIC EMBRIOGENESIS RECEPTOR-LIKE KINASE1* (*SERK1*) zaangażowane w regulację tego procesu [17, 33]. Kodują one dwie, funkcjonujące jak receptory, transmembranowe kinazy będące inhibitorami odcinania organów. Ponieważ mutacja *EVR* nie przywraca odcinania elementów okwiatu u *ida* i *hae/hsl2*, przyjmuje się, że *EVR* oraz *NEV* w szlaku transdukcji sygnału prowadzącego do odcinania organów działają powyżej *IDA* i *HAE/HSL2* lub tworzą równoległy szlak, który zbiega się w miejscu funkcjonowania *HAE/HSL2* [33]. Białko *EVR* zlokalizowane w błonie komórkowej może tworzyć kompleks z receptorem *HAE/HSL2* uniemożliwiając przyłączenie *IDA* [6]. Z kolei *EVR* może być wiązane przez zlokalizowaną w błonie komórkowej kinazę *CAST AWAY* (*CST*). Białko *EVR* przemieszcza się między błoną komórkową, a bliżej nieznanym kompartmentem komórkowym, być może związanym z retikulum endoplazmatycznym. Kompleks *CST-EVR* jest nierównomiernie rozmieszczony w błonie komórkowej, a interakcje między tymi białkami ograniczają przemieszczanie *EVR* i umożliwiają jego późniejsze połączenie z *HAE*. Prowadzi to do usunięcia receptora z błony komórkowej do pęcherzyków endoplazmatycznych, skąd może wrócić do błony lub też ulegać degradacji w proteasomie [6]. Białko *NEV* reguluje proces oddzielenia *EVR* od *HAE/HSL2*. Zaburzenia w funkcjonowaniu *NEV* prowadzą do hiperakumulacji nieaktywnego receptora w endosomach, podczas gdy uszkodzenie *CST* lub *EVR* stabilizuje *HAE/HSL2* w błonie komórkowej. Na tej podstawie utworzono zintegrowany model separacji elementów okwiatu u *A. thaliana*, w którym najpierw dochodzi do wytworzenia warstwy odcinającej z udziałem czynnika transkrypcyjnego *BOP*, następnie zachodzi niezależna od *BOP* i *IDA* liza blaszki środkowej ściany komórkowej i ostatecznie zależna od *IDA* i białek *HAE* separacja organów, w której bogate w leucynę podobne do kinaz receptorowych białka (*LRR-RLK*) regulują powstawanie kompleksu *IDA/HAE/HSL2* (ryc. 2).

Geny kodujące czynniki transkrypcyjne *AGAMOUS like 15* (*AGL15*), *AGL18* i *AGL42* (*FOREVER YOUNG FLOWER*, *FYF*) hamują proces starzenia i aktywację komórek strefy odcinania. Czynniki transkrypcyjne *AGL15* typu *MADS-BOX* gromadzony w rozwijającym się zarodku *A. thaliana* opóźnia odcinanie płatków korony jednak nie zmienia struktury strefy odcinania i jej wrażliwości na ET [17]. Natomiast czynnik *FYF*, jako represor *ETHYLENE RESPONSE DNA BINDING FACTOR 1, 2* (*EDF1* i *EDF2*), blokuje szlak transdukcji sygnału etylenu. Wstępne

wyniki badania aktywności transkrypcyjnej genów wskazują, że FYF może kontrolować ekspresję genów *IDA* i *BOP2*, jednak hipoteza ta wymaga dalszej weryfikacji.

Ważnym czynnikiem regulującym odcinanie organów roślinnych są hormony. Fitohormony, ich prekursorzy i koniugaty mogą przemieszczać się ksylemem i/lub floremem, zapewniając komunikację pomiędzy komórkami strefy odcinania a resztą rośliny [17]. W latach 60. ubiegłego wieku uważano, że za regulację odcinania organów odpowiada wyłącznie kwas abscysynowy (ABA), jednak późniejsze wyniki badań wykazały, że podczas odcinania organów wywołanego starzeniem oraz czynnikami stresowymi, ABA działa jedynie za pośrednictwem ET [17, 58]. Kwas abscysynowy stymulując ekspresję genów kodujących syntazy kwasu 1-aminocyclopropano-1-karboxyowego (*ACS*) podnosi poziom ET, który aktywuje komórki pokładu rozdzielającego. Ponadto podczas stresu suszy ABA hamuje bazypetalny transport auksyny (IAA) przez co zwiększa wrażliwość komórek strefy odcinania na ET.



RYCINA 2. Model funkcjonowania strefy odcinania w elementach okwiatu *A. thaliana*. Białko CST stabilizuje EVR w błonie komórkowej umożliwiając tworzenie kompleksu z HAE/HSL2, który hamuje odcinanie organów. NEV umożliwia recykling kompleksów receptorowych poprzez ich wewnątrzkomórkowy transport: endosomy, strona trans-aparatu Gogiego, plazmalemma. Przyłączenie liganda IDA przez receptor HAE/HSL2 inicjuje szlak kinaz MAP zapoczątkowując oddzielanie komórek w strefie odcinania (za [6], szczegółowy opis w tekście)

FIGURE 2. Model of the functioning of the abscission zone in elements of the *A. thaliana* perianth. CST stabilizes EVR in the cell membrane allowing for the formation of a complex with HAE/HSL2, which inhibits organ abscission. NEV allows for the recycling of receptor complexes by their intracellular transport, using endosomes, plasmalemma, the trans side of the Golgi apparatus. By binding the IDA ligand, HAE/HSL2 initiates the MAP kinase pathway, thus starting cell abscission in the AZ (based on [6], see the detailed description in the text)

Etylen jest kluczowym stymulatorem odcinania owoców [35, 54, 56, 57, 59]. Kontrola produkcji tego hormonu może odbywać się zarówno na poziomie ekspresji ACS oraz oksydaz ACC (ACO), jak i aktywności kodowanych przez nie enzymów. Sygnały aktywujące odcinanie poszczególnych organów stymulują ekspresję tylko wybranych ACS i ACO np. spośród pięciu zidentyfikowanych genów syntaz i czterech oksydaz ACC u jabłoni tylko *MdACO3*, *MdACO4* i *MdACO1* są zaangażowane w odcinanie owoców [5, 14]. Działanie ET polega na aktywacji ekspresji genów kodujących enzymy odpowiedzialne za modyfikację ścian komórkowych [17]. U pomidora zidentyfikowano rybonukleazę ang. *T2/s-like* (LX) zaangażowaną w stymulowane przez ET starzenie oraz odcinanie liści i kwiatów. Wzorzec ekspresji LX w proksymalnej i dystalnej części odcinanych organów jest zgodny z wyższym poziomem genów kodujących celulazy i ACS w części dystalnej oraz odwrotny do niższej ekspresji poligalakturonaz (PG) [2]. Nie wszystkie uzyskane do chwili obecnej wyniki dotyczące roli ET w odcinaniu organów są jednoznaczne. Analizy mutantów *A. thaliana* z uszkodzoną percepcją (ang. *ethylene response1*, *etr1-1*) lub szlakiem przekazywania sygnału (ang. *ethylene insensitive2*, *ein2*) wskazują, że ET determinuje czas odcinania organów [17]. Podobne wyniki dały badania prowadzone u pomidora, u którego pojedyncza mutacja genów *NEVER RIPE* (*Nr*), *ETHYLENE RESPONSE1-1*, *1-2* (*Sletr1-1*, *1-2*) zaburza percepcję oraz wrażliwość roślin na ET, w konsekwencji opóźnia starzenie owoców i proces ich separacji [30, 43]. O ile mutant *nr* jest wrażliwy nawet na niskie stężenia ET, o tyle *Sletr1-1*, podobnie jak *etr1* u *A. thaliana*, nie wykazuje wrażliwości na ten hormon. Wiele mutantów, zarówno u pomidora (*Sletr1-2*), jak i u *A. thaliana* (ang. *delayed abscission*, *dab*) charakteryzujących się normalną wrażliwością na ET nie odcina organów. Na tej podstawie zaproponowano istnienie niezależnego od ET szlaku prowadzącego do separacji organów roślinnych. Ponieważ egzogeny ET stymuluje odcinanie kwiatów u *A. thaliana* nie można jednak wykluczyć, że jego działanie wynika z funkcjonowania innych, niż EIN2 białek pośredniczących w szlaku przekazywania sygnału tego hormonu [17].

Genetyczna analiza mutantów *A. thaliana* z uszkodzonymi czynnikami odpowiedzi na auksynę AUXIN RESPONSIVE FACTOR (ARF) wykazała, że hormony te są zaangażowane w funkcjonowanie strefy odcinania kwiatów [3, 17]. Zgodnie z powszechnie przyjętym modelem auksyny stymulując oddziaływania pomiędzy represorami czynników transkrypcyjnych ARF – białkami Aux/IAA oraz białkami receptorowymi, zwiększają tempo ubikwitynacji i degradacji Aux/IAA w proteasom 26S. Uwolnione z kompleksów Aux/IAA – ARF czynniki transkrypcyjne ARF wiążą się z elementami odpowiedzi na auksynę (AuxRE) obecnymi w promotorach genów docelowych i w zależności od budowy regionu środkowego hamują bądź stymulują ich ekspresję [19]. Białka ARF1 i ARF2 są represorami transkrypcji, natomiast NPH4/ARF7 i ARF19 działają jako aktywatory tego procesu [17]. Utrata funkcji ARF2, ARF1ARF2 i SRF2 NPH4/ARF7 ARF19 opóźnia proces starzenia

i w konsekwencji odcinania okwiatu [16]. U mutantu *arf1* geny *AUX/IAA* nie ulegają ekspresji w komórkach strefy odcinania kwiatów, natomiast w młodych siewkach mutantów *arf2*, pomimo obecności transkryptów *AUX/IAA*, ekspresji ulegają wszystkie geny docelowe dla auksyny. Sugeruje to, że *ARF2* uruchamia dodatkowy mechanizm, różniący się od powszechnie przyjętego, uniwersalnego modelu działania IAA, i przypuszcza się, że może on być związany z ET [17]. U roślin typu dzikiego zapylenie kwiatów stymuluje ekspresję genów kodujących syntazy ACC (*ACS2*, *ACS6* i *ACS8*), natomiast u mutantów *arf2* nie zaobserwowano obecności transkryptów tych genów [55].

W świetle najnowszych wyników badań oraz zgodnie z szeroko akceptowanym modelem, najistotniejszy dla regulacji odcinania organów jest wzajemny stosunek ilości IAA i ET w komórkach w rejonie strefy odcinania [3]. Wykazano, że proces separacji liści zachodzi nie tyle pod wpływem wzrostu produkcji ET, co zwiększenia wrażliwości komórek strefy odcinania na ten hormon spowodowany zanikiem polarnego transportu IAA w ogonku starzejącego się organu. Bazypetalne przemieszczanie się IAA z dystalnych organów zmniejsza wrażliwość komórek strefy odcinania na ET i przeciwdziała odcinaniu liści. Natomiast transport IAA ze strefy odcinania w kierunku dystalnym podnosi wrażliwość tych komórek na ET. Modelową rośliną do badania wrażliwości komórek strefy odcinania na ET są eksplantaty pomidora. Egzogenny ET stymuluje odcinanie kwiatów pomidora, dochodzi do szybkiego, jednak przemijającego wzrostu produkcji tego hormonu i w konsekwencji aktywacji pokładu rozdzielającego strefy odcinania zlokalizowanej w szypułce. Kontrola biosyntezy ET może odbywać się na zasadzie sprzężenia zwrotnego poprzez autokatalityczny lub autoinhibicyjny wpływ na ekspresję genów zaangażowanych w jego biosyntezę [18]. Egzogenny IAA podany eksplantatom pomidora bezpośrednio przed odcięciem kwiatów zapobiega separacji szypulek. Hamujące działanie wynika z blokowania białek Aux/IAA oraz KNOX warunkujących niskie stężenie IAA w organach przeznaczonych do odcięcia. Mechanizm ten pozwala na utrzymanie niezróżnicowanego charakteru komórek w strefie odcinania.

Wyniki badań zarówno fizjologicznych, jak i genetycznych wskazują, że odcinanie organów jest kontrolowane także na wielu płaszczyznach przez sieć hormonalną, w której uczestniczą cytokiny (CK), jasmoniany (JAs) i gibereliny. U *A. thaliana* JAs aktywują ekspresję genów kodujących enzymy zaangażowane w modyfikację ściany komórkowej. Podanie egzogennych JAs przyspiesza proces odcinania organów jednak wydaje się, że nie jest to kierunkowe działanie tych hormonów, a jedynie ogólna reakcja rośliny na stres wywołana wzrastającą produkcją ET [17]. Wysokie stężenie CK hamuje odcinanie organów, natomiast stosowanie ich w niższych dawkach stymuluje ten proces. Właściwość ta znalazła komercyjne zastosowanie CK jako defoliantów. Wydaje się, że podobnie jak w przypadku ABA działanie CK jest pośrednie i zależy od wzrostu produkcji ET [14].

Separacja komórek pokładu rozdzielającego w strefie odcinania jest procesem fizjologicznym i zachodzi w sposób naturalny w dojrzewających oraz starzejących się organach. Jednak często niekorzystne czynniki zewnętrzne, m. in. nadmierna lub zbyt niska wilgotność, skrajna temperatura, niekorzystny fotoperiod, ozon, zranienia i patogeny przyspieszają proces starzenia i generują sygnał, który aktywuje komórki pokładu rozdzielającego [17]. W szczególnych przypadkach, kiedy odcinanie organów wywołane jest czynnikami chemicznymi procesy starzenia i aktywacji komórek pokładu rozdzielającego nie są przesunięte w czasie i zachodzą równocześnie. Po odcięciu organu zachodzą w nim przemiany podobne do tych, które towarzyszą programowanej śmierci komórki (PCD) [2]. Proces ten związany jest ze stymulacją ekspresji genów kodujących nukleazy oraz powstawaniem reaktywnych form tlenu (ROS), które hamują syntezę i zaburzają polarny transport IAA, a w konsekwencji zwiększają czułość komórek strefy odcinania na ET.

Reakcje stresowe roślin na zranienie i atak patogena wiążą się z mechanicznym uszkodzeniem tkanek. W ścianach komórkowych tej strefy odkładana jest kaloza, lignina i bogate w hydroksyprolinę glikoproteiny, które zapobiegają wnikaniu mikroorganizmów. Ponadto dochodzi do syntezy fitoaleksyn oraz inhibitorów proteinaz (PIN) m.in. chitynaz i endo- β -1,3-glukanaz, które powstają również u roślin traktowanych ozonem. Związek ten obniża poziom ekspresji białek zaangażowanych w cykl rybulozo bisfosforanowy, zmniejszając ilość wiązanego CO₂ w procesie fotosyntezy. W końcowym efekcie dochodzi do obniżenia tempa wzrostu, zmian chlorotycznych i przedwczesnego starzenia organów.

POKLAD ROZDZIELAJĄCY

U wszystkich gatunków roślin aktywacja komórek strefy odcinania prowadzi do dojrzewania pokładu rozdzielającego. Pokład rozdzielający to niewielka grupa komórek wytworzona zazwyczaj w dystalnej części strefy odcinania, która dojrzewa tuż przed odcięciem organu i umożliwia jego separację. Strefę tą tworzą zwarte, cienkościenne, małe komórki mięksiszowe, które powiększają swoje rozmiary w miarę dojrzewania. Proces ten zaczyna się od podziałów komórkowych w płaszczyźnie równoległej do powierzchni przyszłej blizny i wzrostu komórek w kierunku prostopadłym do tej powierzchni po zakończeniu podziałów terminalnych [24]. W niektórych przypadkach separacja organów zachodzi bez cytokinezy. Przed podziałami terminalnymi komórki pokładu zwiększają ilość retikulum endoplazmatycznego i pęcherzyków transportowych zaangażowanych w sekrecję enzymów hydrolitycznych, a w komórkach zawierających amyloplasty zanika skrobia. Następnie w jednej lub wielu warstwach komórek pokładu rozdzielającego dochodzi do hydrolizy pektynowej blaszki środkowej lub rozpadu ścian komórkowych [22, 58]. Za depolimeryzację

nierozgałęzionych fragmentów pektyny odpowiadają liazy pektynowe (PL), pektynoesterazy (PE), poligalakturonazy (PG), liazy pektatowe (PGL) oraz polimetylogalakturonazy (PGM), natomiast za odłączenie wszystkich bocznych reszt galaktozy, obecnych w oligosacharydach uwolnionych z rozgałęzionych fragmentów pektyny, odpowiada β -galaktozydaza (tab. 1). Szczególną rolę w odcinaniu organów odgrywają ekspansyny (EXP), białka strukturalne, które w środowisku kwaśnym, niszczą wiązania wodorowe, oddzielają hemicelulozy od mikrofibrylli celulozowych. Za odcinanie szypulek i pręcików u *A. thaliana* odpowiadają AtEXP10 i AtEXP6, za separację listków u bzu SnEXP2 i SnEXP4, natomiast u *Rosa Bourborniana* separacja płatków korony związana jest z aktywnością RbEXPA1 [17].

TWORZENIE TKANKI ZABEZPIECZĄCEJ

Po odcięciu organu w bazalnej części strefy odcinania tworzy się tkanka zabezpieczająca powierzchnię blizny. Powstaje ona na skutek wzmożonych podziałów komórkowych według przestrzennego wzorca charakterystycznego dla określonych gatunków roślin. Warstwa zabezpieczająca charakteryzuje się zwartym układem komórek, których ściany mogą ulegać korkowaceni i lignifikacji, a zwykle poniżej jej tworzy się warstwa miazgi korkorodnej (felogenu), która wytwarza korek na zewnątrz i tkankę miękiszową (feloderme) do wewnątrz. W ten sposób powstaje warstwa perydermy zabezpieczająca bliznę po opadnięciu liścia. W starszych bliznach pod pokładem zabezpieczającym w ciągłości z perydermą łodygi powstaje peryderma nekrofylaktowa. Ponadto blizna po liściu zostaje pokryta zabezpieczającą warstwą suberyny, a niekiedy także kutyną i garbnikami [24].

PODSUMOWANIE

Z uwagi na niekorzystne zjawisko przedwczesnego i nadmiernego odcinania organów generatywnych u roślin o dużym znaczeniu gospodarczym niezmiernie ważne jest poznanie regulacji tych procesów. W niniejszej pracy zaprezentowaliśmy dotychczasowy stan wiedzy na temat czynników stymulujących bądź hamujących ekspresję specyficznych genów zaangażowanych w różnicowanie i aktywację komórek strefy odcinania, dojrzewanie pokładu rozdzielającego oraz tkanki zabezpieczającej bliznę. O ile czas i miejsce różnicowania strefy odcinania są zaprogramowane genetycznie, o tyle samo odcinanie organów jest regulowane przez czynniki transkrypcyjne, enzymy zmieniające strukturę ścian komórkowych, fitohormony, a także bodźce stresowe. Skomplikowane wielopoziomowe interakcje sprawiają, że mechanizmy regulujące ten proces nie są jeszcze w pełni poznane. W chwili obec-

nej wiadomo, że kluczową rolę w hormonalnej kontroli odcinania organów odgrywają etylen i auksyny. Najnowsze wyniki badań wskazują, że ACC znany dotychczas jako prekursor etylenu, może być również samodzielną cząsteczką sygnałową, w związku z tym nie można wykluczyć jego roli w regulacji odcinania organów. Należy się spodziewać, że wiele ośrodków badawczych podejmie problem określenia szlaku transdukcji sygnału uruchamianego przez ACC podczas odcinania organów i jego interakcji z hormonami. Aktualne wyniki badań dotyczących rozwoju poszczególnych elementów okwiatu, jak i przebiegu rozwoju owocu oraz towarzyszącej jemu embriogenezie nie są łączone z funkcjonowaniem warstwy odcinającej. Dlatego w pracy nie ujęto opisu mechanizmów kontrolujących te procesy, chociaż można przypuszczać, że takie związki istnieją. Poznanie tych złożonych współzależności przyczyni się do wyjaśnienia mechanizmów za pomocą których odcinane są organy.

PODZIĘKOWANIA

Praca powstała dzięki wsparciu finansowemu Programu Wieloletniego MRiRW nr 149/2011

LITERATURA

- [1] BAENA-GONZALEZ E, SHEEN J. Convergent energy and stress signaling. *Trends Plant Sci* 2008; **13**: 474-482.
- [2] BAR-DROR T, DERMASTIA M, KLADNIK A, ZNIDARIC MT, NOVAK MP, MEIR S, BURD S, PHILOSOPH-HADAS S, ORI N, SONEGO L, DICKMAN MB, LERS A. Programmed cell death occurs asymmetrically during abscission in tomato. *Plant Cell* 2011; **23**: 4146-4163.
- [3] BASU MM, GONZÁLEZ-CARRANZA ZH, AZAM-ALI S, TANG S, SHAHID AA, ROBERTS JA. The manipulation of auxin in the abscission zone cells of *Arabidopsis* flowers reveals that indoleacetic acid signaling is a prerequisite for organ shedding. *Plant Physiol* 2013; **162**: 96-106.
- [4] BELFIELD EJ, RUPERTI B, ROBERTS JA, MCQUEEN-MASON S. Changes in expansin activity and gene expression during ethylene-promoted leaflet abscission in *Sambucus nigra*. *J Exp Bot* 2005; **56**: 817-823.
- [5] BOTTON A, ECCHER G, FORCATO C, FERRARINI A, BEGHELDO M, ZERMIANI M, MOSCATELLO S, BATTISTELLI A, VELASCO R, RUPERTI B, RAMINA A. Signaling path-ways mediating the induction of apple fruitlet abscission. *Plant Physiol* 2011; **155**: 185-208.
- [6] BURR CA, LESLIE ME, ORLOWSKI SK, CHEN I, WRIGHT CE, DANIELS MJ, LILJEGREN SJ. *CAST AWAY*, a membrane-associated receptor-like kinase, inhibits organ abscission in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 2011; **156**: 1837-1850.
- [7] BUTENKO MA, PATTERSON SE, GRINI PE, STENVIK GE, AMUNDSEN SS, MANDAL A, AALEN RB. Inflorescence deficient in abscission controls floral organ abscission in *Arabidopsis* and identifies a novel family of putative ligands in plants. *Plant Cell* 2003; **15**: 2296-2307.
- [8] BUTENKO MA, SHI CL, AALEN RB. *KNAT1*, *KNAT2* and *KNAT6* act downstream in the IDA-HAE/HSL2 signaling pathway to regulate floral organ abscission. *Plant Signal Behav* 2012; **7**: 135-138.

- [9] CAI S, LASHBROOK CC. Stamen abscission zone transcriptome profiling reveals new candidates for abscission control: enhanced retention of floral organs in transgenic plants overexpressing *Arabidopsis* ZINC FINGER PROTEIN2. *Plant Physiol* 2008; **146**: 1305-1321.
- [10] CAI S, LASHBROOK CC. Stamen abscission zone transcriptome profiling reveals new candidates for abscission control: enhanced retention of floral organs in transgenic plants overexpressing *Arabidopsis* ZINC FINGER PROTEIN2. *Plant Physiol* 2008; **146**: 1305-1321.
- [11] CHO HT, COSGROVE DJ. Altered expression of expansin modulates leaf growth and pedicel abscission in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; **97**: 9783-9788.
- [12] CHO SK, LARUE CT, CHEVALIER D, WANG H, JINN TL, ZHANG S, WALKER JC. Regulation of floral organ abscission in *Arabidopsis thaliana*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; **105**: 15629-15634.
- [13] COLE M, NOLTE C, WERR W. Nuclear import of the transcription factor SHOOT MERISTEMLESS depends on heterodimerization with BLH proteins expressed in discrete sub-domains of the shoot apical meristem of *Arabidopsis thaliana*. *Nucleic Acids Res* 2006; **34**: 1281-1292.
- [14] DAL CIN V, BOSCHETTI A, DORIGONI A, RAMINA A. Benzylaminopurine application on two different apple cultivars (*Malus domestica*) displays new and unexpected fruitlet abscission features. *Ann Bot* 2007; **99**: 1195-1202.
- [15] DEL CAMPILLO E, BENNETT AB. Pedicel breakstrength and cellulase gene expression during tomato flower abscission. *Plant Physiol* 1996; **111**: 813-820.
- [16] ELLIS CM, NAGPAL P, YOUNG JC, HAGEN G, GUILFOYLE TJ, REED JW. AUXIN RESPONSE FACTOR1 and AUXIN RESPONSE FACTOR2 regulate senescence and floral organ abscission in *Arabidopsis thaliana*. *Development* 2005; **132**: 4563-4574.
- [17] ESTORNELL LH, AGUSTI J, MERELO P, TALÓN M, TADEO FR. Elucidating mechanisms underlying organ abscission. *Plant Science* 2013; **199**: 48-60.
- [18] FRANKOWSKI K, KĘSY J, KOPCEWICZ J. Regulacja biosyntezy etylenu u roślin. *Post Bioch* 2007; **53**: 66-73.
- [19] GLAZIŃSKA P, BRACHA J, WILMOWICZ E, KOPCEWICZ J. Udział mikro RNA w rozwoju generatywnym roślin. *Kosmos* 2011; **60**: 141-152.
- [20] GOMEZ-MENA C, SABLÓWSKI R. *ARABIDOPSIS THALIANA HOMEODOMAIN GENE1* establishes the basal boundaries of shoot organs and controls stem growth. *Plant Cell* 2008; **20**: 2059-2072.
- [21] GONZALEZ-BOSCH C, DEL CAMPILLO E, BENNETT AB. Immunodetection and characterization of tomato endo-beta-1,4-galacturonase Cell1 protein in flower abscission zones. *Plant Physiol* 1997; **114**: 1541-1546.
- [22] GONZÁLEZ-CARRANZA ZH, SHAHID AA, ZHANG L, LIU Y, NINSUWAN U, ROBERTS JA. A novel approach to dissect the abscission process in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 2012; **160**: 1342-1356.
- [23] GONZALEZ-CARRANZA ZH, WHITELAW CA, SWARUP R, ROBERTS JA. Temporal and spatial expression of a polygalacturonase during leaf and flower abscission in oilseed rape and *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 2002; **128**: 534-543.
- [24] HEJNOWICZ Z. Anat omiczne podstawy odcinania organów. W: Hejnowicz Z. [red.] Anatomia i histogeneza roślin naczyniowych. Organy wegetatywne. PWN, Warszawa: 2002: 935-948.
- [25] KALAITZIS P, HONG SB, SOLOMOS T, TUCKER ML. Molecular characterization of a tomato endo-beta-1,4-galacturonase gene expressed in mature pistils, abscission zones and fruit. *Plant Cell Physiol* 1999; **40**: 905-908.
- [26] KALAITZIS P, SOLOMOS T, TUCKER ML. Three different polygalacturonases are expressed in tomato leaf and flower abscission, each with a different temporal expression pattern. *Plant Physiol* 1997; **113**: 1303-1308.
- [27] KANDASAMY MK, DEAL RB, MCKINNEY EC, MEAGHER RB. Silencing the nuclear actin-related protein AtARP4 in *Arabidopsis* has multiple effects on plant development, including early flowering and delayed floral senescence. *Plant J* 2005; **41**: 845-858.
- [28] KANDASAMY MK, MCKINNEY EC, DEAL RB, MEAGHER RB. *Arabidopsis* ARP7 is an essential actin-related protein required for normal embryogenesis, plant architecture, and floral organ abscission. *Plant Physiol* 2005; **138**: 2019-2032.

- [29] KIM J, DOTSON B, REY C, LINDLEY J, BLEECKER AB, BINDER BM, PATTERSON SE. Now clothes for the jasmonie acid receptor COI1: delayed abscission, meristem arrest and apical dominance. *PLOS ONE* 2013; **8**: 4 e60505.
- [30] LANAHAN MB, YEN HC, GIOVANNONI JJ, KLEE HJ. The never ripe mutation blocks ethylene perception in tomato. *Plant Cell* 1994; **6**: 521-530.
- [31] LASHBROOK CC, CAI S. Cell wall remodeling in *Arabidopsis* stamen abscission zones: temporal aspects of control inferred from transcriptional profiling. *Plant Signal Behav* 2008; **3**: 733-736.
- [32] LASHBROOK CC, GONZALEZ-BOSCH C, BENNETT AB. Two divergent endo-beta-1,4-gluconase genes exhibit overlapping expression in ripening fruit and abscising flowers. *Plant Cell* 1994; **6**: 1485-1493.
- [33] LESLIE ME, LEWIS MW, YOUN JY, DANIELS MJ, LILJEGREN SJ. The *EVERSHED* receptor-like kinase modulates floral organ shedding in *Arabidopsis*. *Development* 2010; **137**: 467-476.
- [34] LI JG, YUAN RG. NAA and ethylene regulate expression of genes related to ethylene biosynthesis, perception, and cell wall degradation during fruit abscission and ripening in 'Delicious' apples. *J Plant Growth Regul* 2008; **27**: 283-295.
- [35] LI JG, ZHU G, YUAN RG. Profiling the expression of genes related to ethylene biosynthesis, ethylene perception, and cell wall degradation during fruit abscission and fruit ripening in apple. *J Amer Soc Hort Sci* 2010; **35**: 391-401.
- [36] LI Y, PI L, HUANG H, XU L. ATH1 and KNAT2 proteins act together in regulation of plant inflorescence architecture. *J Exp Bot* 2012; **63**: 1423-1433.
- [37] LILJEGREN SJ. Organ abscission: exit strategies require signals and moving traffic. *Curr Opin Plant Biol* 2012; **15**: 670-676.
- [38] LILJEGREN SJ, LESLIE ME, DARNIELLE L, LEWIS MW, TAYLOR SM, LUO R, GELD-NER N, CHORY J, RANDAZZO PA, YANOFSKY MF, ECKER JR. Regulation of membrane trafficking and organ separation by the NEVERSHED ARF-GAP protein. *Development* 2009; **136**: 1909-1918.
- [39] MCKIM SM, STENVIK GE, BUTENKO MA, KRISTIANSEN W, CHO SK, HEPWORTH SR, AALEN RB, HAUGHN GW. The *BLADE-ON-PETIOLE* genes are essential for abscission zone formation in *Arabidopsis*. *Development* 2008; **135**: 1537-1546.
- [40] NAIRN CJ, LEWANDOWSKI DJ, BURNS JK. Genetics and expression of two pectinesterase genes in Valencia orange. *Physiol Plant* 1998; **102**: 226-235.
- [41] NAKANO T, KIMBARA J, FUJISAWA M, KITAGAWA M, IHASHI N, MAEDA H, KASUMI T, ITO Y. *MACRO-CALYX* and *JOINTLESS* interact in the transcriptional regulation of tomato fruit abscission zone development. *Plant Physiol* 2012; **158**: 439-450.
- [42] OGAWA M, KAY P, WILSON S, SWAIN SM. ARABIDOPSIS DEHISCENCE ZONE POLYGALACTURONASE1 (ADPG1), ADPG2, and QUARTET2 are Polygalacturonases required for cell separation during reproductive development in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2009; **21**: 216-233.
- [43] OKABE Y, ASAMIZU E, SAITO T, MATSUKURA C, ARIIZUMI T, BRES C, ROTHAN C, MIZOGUCHI T, EZURA H. Tomato TILLING technology: development of a reverse genetics tool for the efficient isolation of mutants from Micro-Tom mutant libraries. *Plant Cell Physiol* 2011; **52**: 1994-2005.
- [44] ROBERTS JA, ELLIOTT KA, GONZÁLEZ-CARRANZA ZH. Abscission, dehiscence, and other cell separation processes. *Annu Rev Plant Biol* 2002; **53**: 131-158.
- [45] ROBERTS JA, WHITELAW CA, GONZALEZ-CARRANZA ZH, MCMANUS MT. Cell separation processes in plants – models, mechanisms and manipulation. *Ann Bot* 2000; **86**: 223-235.
- [46] SANE AP, TRIPATHI SK, NATH P. Petal abscission in rose (*Rosa bourboniana* var *Gruss an Teplitz*) is associated with the enhanced expression of an alpha expansin gene, *RbEXPA1*. *Plant Sci* 2007; **172**: 481-487.
- [47] SCHUMACHER K, SCHMITT T, ROSSBERG M, SCHMITZ G, THERES K. The *Lateral suppressor (Ls)* gene of tomato encodes a new member of the VHIID protein family. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; **96**: 290-295.

- [48] SHI CL, STENVIK GE, VIE AK, BONES AM, PAUTOT V, PROVENIERS M, AALEN RB, BUTENKO MA. *Arabidopsis* class I KNOTTED-like homeobox proteins act downstream in the IDA-HAE/HSL2 floral abscission signaling pathway. *Plant Cell* 2011; **23**: 2553-2567.
- [49] STENVIK GE, BUTENKO MA, AALEN RB. Identification of a putative receptor ligand pair controlling cell separation in plants. *Plant Signal Behav* 2008; **3**: 1109-1110.
- [50] TADEO FR, CERCÓS M, COLMENERO-FLORES JM, IGLESIAS DJ, NARANJO MA, RÍOS G, CARRERA E, RUIZ-RIVERO O, LLISO I, MORILLON R, OLLITRAULT P, TALON M. Molecular physiology of development and quality of citrus, W: KADER J, DELSENY M [red.] *Advances in Botanical Research*. Elsevier Ltd., Amsterdam: 2008, 147-223.
- [51] WEI PC, TAN F, GAO XQ, ZHANG XQ, WANG GQ, XU H, LI LJ, CHEN J, WANG XC. Overexpression of *AtDOF4.7*, an *Arabidopsis* DOF family transcription factor, induces floral organ abscission deficiency in *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 2010; **153**: 1031-1045.
- [52] WU X, YU Y, HAN L, LI C, WANG H, ZHONG N, YAO Y, XIA G. The Tobacco *BLADE-ON-PETIOLE 2* gene mediates differentiation of the corolla abscission zone by controlling longitudinal cell expansion. *Plant Physiol* 2012; **159**: 835-850.
- [53] WU Z, BURNS JK. A beta-galactosidase gene is expressed during mature fruit abscission of 'Valencia' orange (*Citrus sinensis*). *J Exp Bot* 2004; **55**: 1483-1490.
- [54] XIE RJ, DENG L, JING L, HE SL, MA YT, YI SL, ZHENG YQ, ZHENG L. Recent advances in molecular events of fruit abscission. *Biol Plant* 2013; **57**: 201-209.
- [55] YAMAGAMI T, TSUCHISAKA A, YAMADA K, HADDON WF, HARDEN LA, THEOLOGIS A. Biochemical diversity among the 1-amino-cyclopropane-1-carboxylate synthase isozymes encoded by the *Arabidopsis* gene family. *J Biol Chem* 2003; **278**: 49102-49112.
- [56] YUAN RG, LI JG. Effect of sprayable 1-MCP, AVG, and NAA on ethylene biosynthesis, preharvest fruit drop, fruit maturity, and quality of 'Delicious' apple. *Hort Science* 2008; **43**: 1454-1460.
- [57] ZHU H, BEERS EP, YUAN RC. Aminoethoxyvinylglycine inhibits fruit abscission induced by naphthaleneacetic acid and associated relationships with expression of genes for ethylene biosynthesis, perception, and cell wall degradation in 'Delicious' apple. *J Amer Soc Hort Sci* 2008; **133**: 727-734.
- [58] ZHU H, DARDICK CD, BEERS EP, CALLANHAN AM, XIA R, YUAN RC. Transcriptomics of shading-induced and NAA induced abscission in apple (*Malus domestica*) reveals a shared pathway involving reduced photosynthesis, alterations in carbohydrate transport and signaling and hormone crosstalk. *BMC Plant Biol* 2011; **11**: 138-157.
- [59] ZHU H, YUAN RG. Effects of 1-methylcyclopropene and naphthaleneacetic acid on fruit set and expression of genes related to ethylene biosynthesis and perception and cell wall degradation in apple. *J Amer Soc Hort Sci* 2010; **135**: 402-409.

Redaktor prowadzący – Andrzej K. Kononowicz

Otrzymano: 10.06.2014

Przyjęto: 08.09.2014

Emilia Wilmowicz

Katedra Fizjologii Roślin i Biotechnologii

Uniwersytet Mikołaja Kopernika

ul. Lwowska 1, 87- 100 Toruń

tel.: 0 56 6114461

fax: 0 56 6114772

e-mail: emwil@umk.pl

