

KWASY FENOLOWE W NASIONACH ŁUBINU ŻÓŁTEGO KIELKUJĄCYCH W ROZTWORACH JASMONIANU METYLU*

BARTOSZ NITKIEWICZ¹, KAZIMIERZ ZALEWSKI¹, SYLWESTER CZAPLICKI²

¹Katedra Biochemii, ²Katedra Przetwórstwa i Chemii Surowców Roślinnych
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie

b.nitkiewicz@uwm.edu.pl

Synopsis. Analizowano wolne kwasy fenolowe występujące w kielkujących nasionach łubinu żółtego (5 dni, 20°C). W doświadczeniu zastosowano jasmonian metylu w stężeniach od 10⁻³ do 10⁻⁶ M. Kontrolę stanowiły nasiona kielkowane wobec wody. Analizie poddano oddzielnie wyizolowane z siewek łubinu korzenie zarodkowe oraz hypokotyle z liścieniami. W wyniku rozdziałów chromatograficznych (HPLC) w siewkach łubinu zidentyfikowano pięć kwasów fenolowych: kwas protokatechowy, kwas *p*-OH-benzoesowy, kwas wanilinowy, kwas *p*-kumarowy oraz kwas ferulowy. W zależności od analizowanej tkanki siewek łubinu oraz stężenia zastosowanego JA-Me otrzymano wyniki, które jednoznacznie potwierdzają wpływ badanego hormonu na zawartość kwasów fenolowych. Obecność kwasu protokatechowego oraz wzrost zawartości kwasu *p*-OH-benzoesowego w ekstraktach korzeniowych otrzymanych z nasion kielkujących wobec jasmonianu metylu wskazuje na udział tych związków w procesie lignifikacji. Przy jednoczesnym wzroście zawartości wspomnianych wcześniej kwasów fenolowych obniżyła się zawartość kwasu wanilinowego, co może być związane z jego przekształceniem się do pochodnych kwasu benzoesowego, w tym kwasu protokatechowego. Zmiany zawartości kwasów ferulowego i *p*-kumarowego w ekstraktach metanolowych otrzymanych z korzeni oraz hypokotyli z liścieniami siewek łubinu traktowanych JA-Me były nieregularne.

Słowa kluczowe – *key words*: jasmonian metylu – *methyl jasmonate*, kwasy fenolowe – *phenolic acids*, łubin żółty – *yellow lupin*, kielkowanie nasion – *seeds germination*

WSTĘP

Jasmoniany odgrywają istotną rolę we wszystkich procesach fizjologicznych roślin, a ich wpływ uwidacznia się w procesach kielkowania nasion, wzrostu i rozwoju roślin, tuberyzacji, starzenia się czy opadania liści. Efektywność działania jasmonianów jest zależna od stanu fizjologicznego organów poddanych traktowaniu tym fitohormonem. Z opublikowanych prac wynika, że istnieje ścisła zależność pomiędzy działaniem związków jasmonowych na kielkowanie nasion a rodzajem materiału zapasowego zgromadzonego w nasionach. W doświadczeniach przeprowadzonych z wykorzystaniem nasion *Triticum durum*, *Avena sativa* oraz *Lactuca sativa* stwierdzono, że egzogenny JA hamował kielkowanie nasion, w których materiałem zapasowym była skrobia [Białecka i Kępczyński 1998, Ranian i Lewak 1992]. Stwierdzono jednak, że kwas jasmonowy nie wpływał na kielkowanie nasion oleistych *Linum usitatissimum*. Dopiero zastosowanie нефizjologicznie dużego stężenia jasmonianu (2x10⁻³M) osłabiało kielkowanie, ale tylko w niewielkim stopniu [Deletskaya i Sembdner 1989, Yamane i in. 1981]. Oprócz wpływu na kielkowanie nasion jasmoniany wywierają bardzo istotny wpływ na zahamowanie wzrostu

* Praca finansowana z tematu badawczego 0209.806.

korzeni siewek w sposób nie związany z działaniem etylenu [Berger i in. 1996]. JA hamuje również wydłużanie koleoptyli, które jest stymulowane przez kwas indoliloctowy (IAA), prawdopodobnie ograniczając włączanie się glukozy w polisacharydową ścianę komórkową [Ueda i in. 1995].

Kwas jasmonowy może wpływać na syntezę wtórnych metabolitów występujących w roślinach, takich jak związki fenolowe [Gundlach i in., 1992]. Egzogenna aplikacja JA powoduje akumulację taksanów u cisowatych (*Taxus*) [Yukimune i in. 1996], alkaloidów u *Catharanthus* i *Cinchona* [Aerts i in. 1994], antocyjanów u soi [Franceschi i Grimes 1991] oraz kwasu rozmarynowego u roślin z gatunku *Lithospermum* [Mizukami i in. 1993].

Istotną funkcją związków jasmonowych jest ich udział w odpowiedzi obronnej roślin na patogeny, insekty oraz uszkodzenia mechaniczne. Kwas jasmonowy gromadzi się w uszkodzonych tkankach oraz roślinach poddanych działaniu elicytorów (substancji wytwarzanych przez patogeny, które wywołują odpowiedź obronną roślin). JA aktywuje również geny inhibitorów proteinaz oraz specyficznych białek antygrzybiczych, takich jak tionina i osmotyna, co pozwala roślinom skutecznie chronić się przed insektami i grzybami [Johnson i in. 1998]. Wpływa również na ekspresję genów kodujących białka ściany komórkowej, które są zaangażowane w wytwarzanie bariery mającej na celu opóźnienie bądź zahamowanie infekcji [Creelman i in. 1992]. Dowodów na udział jasmonianów w reakcjach obronnych dostarczyli Farmer i Ryan [1992], którzy wykazali, że kwas jasmonowy lub jego ester metylowy stanowią sygnał indukujący biosyntezę inhibitorów proteinaz. Sygnał ten powstaje na skutek gwałtownego wzrostu stężenia kwasu jasionowego w skutek uszkodzenia rośliny, po czym następuje jego szybki metabolizm [Czapski 1997]. Inhibitory proteinaz mają duże znaczenie w systemie obronnym roślin, ponieważ działają toksycznie przez blokowanie aktywności proteinaz na owady, uniemożliwiając im trawienie białek [Jankiewicz 1997]. Po uszkodzeniu jednej rośliny dochodzi do biosyntezy jasmonianów u innych roślin, które z nią sąsiadują. Zjawisko to zachodzi dzięki temu, że JA-Me jest związkiem gazowym o charakterze lotnym.

Związki fenolowe należą do licznej grupy metabolitów wtórnych, szeroko rozpowszechnionych w świecie roślin. Początkowo metabolity wtórne uważane były za zbędne produkty przemiany materii, składowane w niektórych częściach roślin. Dopiero niedawno zauważono, że odgrywają one ważną rolę w kontaktach roślin z otoczeniem, stanowiąc obronę przed infekcjami i zwierzętami roślinożernymi. Nowe badania podkreślają właściwości prozdrowotne związków fenolowych. Właściwości antyoksydacyjne oraz antyrodnikowe związków fenolowych są intensywnie badane [Peterson 2001]. Substancje fenolowe mają również charakter czynników bakteriobójczych, dodatkowo działają jako związki obniżające poziom cholesterolu, mogą również zapobiegać powstawaniu nowotworów [Hanczkowski 2004]. Fenole wpływają ponadto na system autoimmunologiczny zwierząt oraz człowieka.

Zawartość fenoli w roślinach jest zróżnicowana i nie zależy tylko od gatunku lub jego odmiany, ale również od dojrzałości fizjologicznej, czasu oraz warunków przechowywania nasion [Lampart-Szczapa i in. 2003]. W warunkach naturalnych związki fenolowe, a ściślej kwasy fenolowe, odgrywają rolę fungicydów i bakteriostatyków, które chronią rośliny przed różnymi chorobami wywołanymi przez patogeny [Lampart-Szczapa i in. 2003].

Problemy z uprawą łubinu żółtego, polegające na powszechnym występowaniu chorób grzybiczych począwszy od siewki aż do plonowania, uzasadniają badania wpływu JA-Me na syntezę kwasów fenolowych w siewkach łubinu są w pełni uzasadnione. Możliwe, że w najbliższej przyszłości JA-Me będzie stosowany do ochrony upraw motylkowatych jako naturalny związek występujący w roślinach, a jego użycie nie będzie szkodliwe dla środowiska.

MATERIAŁ I METODY

Materiał badawczy stanowiły nasiona łubinu żółtego odmiany Polo (uzyskano z OLZNAS-CN Sp. Z O.O.). W trakcie badań nasiona były przechowywane w szklanym słoju ze szlifem, w atmosferze azotu, w temperaturze 4°C. Wszystkie analizy przeprowadzono w trzech powtórzeniach w laboratorium Katedry Biochemii na Wydziale Biologii Uniwersytetu Warmińsko-Mazurskiego w Olsztynie w latach 2007–2008. Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej w programie GraphPad 5.

Nasiona przed kiełkowaniem (5 dni) dezynfekowano 1,5% roztworem Natamycyny (antybiotyk) przez 15 minut, następnie przemywano wodą destylowaną. Kiełkowanie prowadzono na szalkach Petriego z podwójną warstwą bibuły filtracyjnej zwilżonej wodą destylowaną (kontrola) lub wodnymi roztworami estru metylowego kwasu jasmonowego (JA-Me) o stężeniach 10^{-6} M, 10^{-5} M 10^{-4} M oraz 10^{-3} M. Szalki umieszczano w cieplarni o kontrolowanej wilgotności i stałej temperaturze 21°C.

Rozdział wolnych kwasów fenolowych dokonano według metody opisanej przez Weidnera i in. [2000]. Do ekstrakcji wolnych kwasów fenolowych użyto naważkę 500 mg ekstraktu rozpuszczonego w 10 mL wody dejonizowanej zakwaszonej do pH=2 kwasem solnym. Mieszanicę przenoszono do cylindrów miarowych ze szlifem. W celu całkowitego rozpuszczenia ekstraktów, cylindry umieszczono na 5 minut w łaźni ultradźwiękowej. Następnie do roztworów dodawano 10 mL eteru dietylowego i całość wytrząsano unikając wytworzenia emulsji. Po rozdzieleniu się warstw, górną fazę eterową zbierano do kolb, natomiast dolną warstwę ponownie traktowano porcją eteru. Ekstrakcję eterem według powyższej procedury przeprowadzono pięciokrotnie. Eter odparowywano w rotacyjnej wyparce próżniowej w temp. 35°C. Suchą pozostałość rozpuszczano w 2 mL metanolu po czym przesączano przez filtr 0,45 mm. Tak przygotowane próby poddawano analizie HPLC.

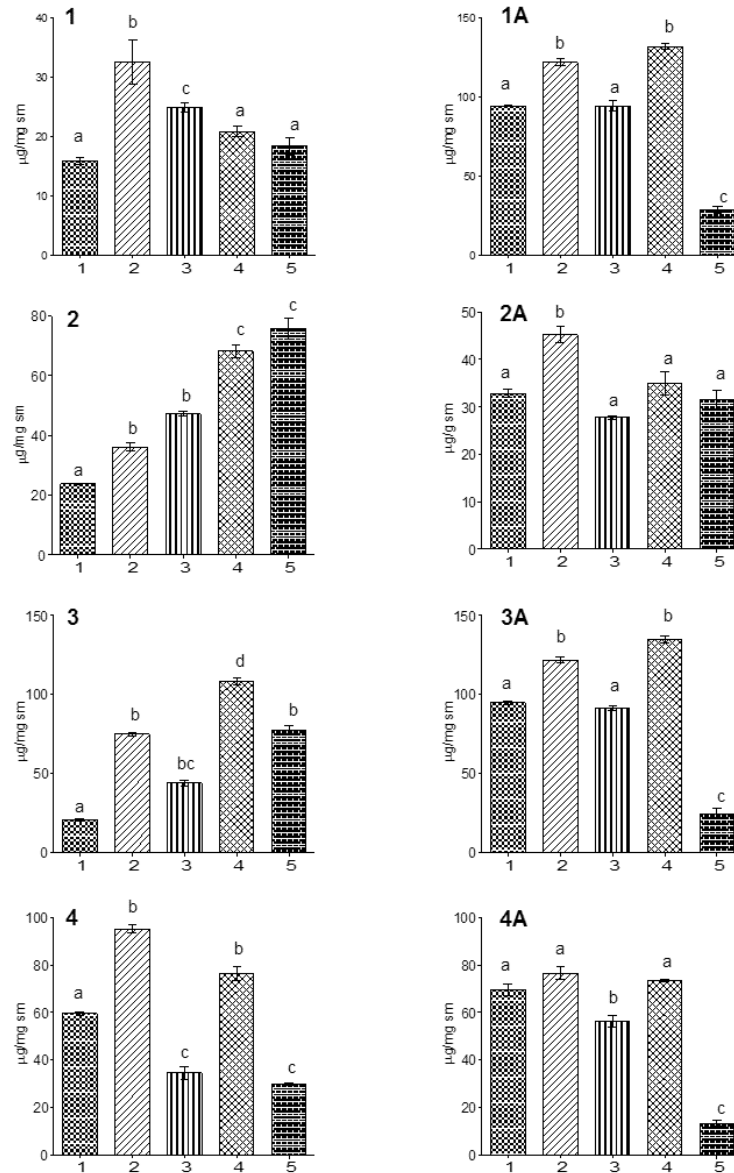
Do rozdziału kwasów fenolowych występujących w badanych ekstraktach łubinowych zastosowano wysokosprawną chromatografię cieczową w układzie odwróconych faz (RP-HPLC). Ekstrakty kwasów fenolowych nanoszono na kolumnę chromatograficzną wypełnioną żelam RP-18 (20-43 μ m, Merck). Kwasy fenolowe eluowano 200 cm^3 metanolu. Wodę z eluatu usuwano w rotacyjnej wyparce próżniowej. W celu jakościowej analizy rozdział fenolokwasów przeprowadzono metodą HPLC za pomocą systemu chromatograficznego Shimadzu, wyposażonego w kolumnę C18 Merck (5 μ m; 4,6 x 250 mm). Jako fazę ruchomą wykorzystano roztwór woda – acetonitryl – kwas octowy (w stosunku 88:10:2, v/v/v) [Weidner i in. 2001]. Jednorazowo na kolumnę nanoszono 20 μ L próby, a szybkość przepływu wynosiła 1 $\text{cm}^3 \cdot \text{min}^{-1}$. Odczytów dokonywano przy długości fali 280 i 320 nm.

WYNIKI I DYSKUSJA

Nasiona inkubowane w wodzie (kontrola) wyróżniały się wyższą szybkością i zdolnością kiełkowania (tab. 1). Statystycznie istotne ($p < 0,001$) zmniejszenie szybkości i zdolności kiełkowania nastąpiło po zastosowaniu JA-Me w dwóch najwyższych stężeniach. Jasmonian we wszystkich stosowanych kombinacjach ograniczał wzrost korzenia zarodkowego i elongację hypokotyli. W wyższych stężeniach ograniczał przyrosty świeżej masy analizowanych tkanek siewki. W oparciu o niniejsze badania i analizy wcześniejsze [Zalewski i in. 2010], spowodowane to było ograniczonym pobieraniem wody przez korzenie wskutek zmian wtórnych powodowanych przez JA-Me, które w nim nastąpiły.

Tabela 1. Żywotność i vigor nasion tubinu żółtego traktowanego JA-Me w czasie kiełkowania
 Table 1. *Vitality and vigor of seeds of yellow lupine treated by JA-Me during germination*

Rodzaj próby <i>Treatment</i>	Energia kiełkowania (5 dni, 21°C) <i>Germination rate (5 days, 21°C) (%)</i>	Zdolność kiełkowania (14 dni, 21°C) <i>Germination capacity (14 days, 21°C) (%)</i>	Kiełkowanie (5 dni, 21°C) <i>Germination (5 days, 21°C)</i>		Kiełkowanie (7 dni, 21°C) <i>Germination (7 days, 21°C)</i>	
			Długość korzeni zarodkowych <i>Primary root length (mm)</i>	Długość hypokotyła <i>Hypocotyl length (mm)</i>	Świeża masa korzenia <i>Fresh weight of root (g)</i>	Świeża masa hypokotyła <i>Fresh weight of hypocotyl (g)</i>
Kontrola - <i>Control</i>	83,2 ± 1,1 a	97,5 ± 0,8 a	54,3 ± 2,6 a	36,2 ± 2,7 a	1,70 ± 0,24 a	5,91 ± 0,15 a
JA-Me x 10 ⁻⁶	80,8 ± 1,0 a	96,5 ± 0,5 a	32,6 ± 1,8 b	34,7 ± 2,0 ab	1,60 ± 0,17 ab	5,80 ± 0,09 a
JA-Me x 10 ⁻⁵	80,1 ± 0,8 a	92,8 ± 0,5 a	25,6 ± 2,8 bc	27,6 ± 2,4 ab	1,56 ± 0,15 ab	5,77 ± 0,05 ab
JA-Me x 10 ⁻⁴	63,3 ± 1,2 b	85,3 ± 0,4 b	24,7 ± 1,9 cd	21,1 ± 1,4 cd	1,50 ± 0,10 b	5,46 ± 0,10 b
JA-Me x 10 ⁻³	42,8 ± 1,0 c	59,0 ± 0,4 c	11,0 ± 0,9 d	14,9 ± 2,1 d	1,24 ± 0,18 c	3,32 ± 0,09 c



1 – kontrola – control; 2 – JA-Me 10-6M; 3 – JA-Me 10-5M; 4 – JA-Me 10-4M; 5 – JA-Me 10-3M
 Litery oznaczają różnice istotne statystycznie w obrębie grupy, $p < 0,05$; Symbols: a, b, bc, c – significant differences between means in group, $p < 0,05$

Rys. 1. Wpływ JA-Me na zawartość wolnych kwasów fenolowych w korzeniach siewek łubinu żółtego (5 dni, 21°C): 1 – wanilinowego, 2 – p-OH-benzoesowego, 3 – p-kumarowego, 4 – ferulowego oraz kwasów fenolowych w hypocotyloch z liścieniami: 1A – wanilinowego, 2A – p-OH-benzoesowego, 3A – p-kumarowego, 4A – ferulowego

Fig. 1. Effect of JA-Me on the content of phenolic acids in the roots of yellow lupin seedlings (5 days, 21°C): 1 – vanillic, 2 – p-OH-benzoic, 3 – p-coumaric, 4 – ferulic and phenolic acids in hypocotyls with cotyledons: 1A – vanillic, 2A – p-OH-benzoic, 3A – p-coumaric, 4A – ferulic

W wyniku rozdzielów metodą RP-HPLC w siewkach łubinu zidentyfikowano pięć kwasów fenolowych. Były to trzy kwasy z grupy kwasów hydroksybenzoesowych (protokatechowy, *p*-hydroksybenzoesowy, wanilinowy) oraz dwa kwasy z grupy kwasów fenylopropenowych (*p*-kumarowy i ferulowy).

Kwas protokatechowy zidentyfikowano tylko w ekstraktach otrzymanych z tkanek korzeni. Kwas ten występował tylko w próbach inkubowanych z jasmonianem, nie stwierdzono jego obecności w próbie kontrolnej (kontrola – 0; JA-Me 10^{-6} M – 2,5; JA-Me 10^{-5} M – 4,9; JA-Me 10^{-4} M – 24,3; JA-Me 10^{-3} M – 15,7 μ g/mg s.m. korzenia). Stymulacja biosyntezy kwasu protokatechowego w korzeniach była tym silniejsza, im wyższa była koncentracja jasmonianu w mieszaninie inkubacyjnej. Bardzo podobne wyniki uzyskano badając zawartość kwasu *p*-hydroksybenzoesowego w korzeniach (rys. 1.2). Wpływ JA-Me na zawartość kwasu wanilinowego w korzeniach 5-cio dniowych siewek łubinu żółtego był odwrotnie proporcjonalny, im mniejsze stężenie hormonu, tym stymulacja biosyntezy kwasu fenolowego była większa (rys. 1.1). Nie stwierdzono regularnych zmian w ilości kwasów *p*-kumarowego i ferulowego w siewkach łubinu na skutek stosowania JA-Me (rys. 1.3, 1.4).

Pojawienie się kwasu protokatechowego oraz wzrost zawartości kwasu *p*-OH-benzoesowego w ekstraktach z korzeni otrzymanych z nasion kiełkujących wobec jasmonianu metylu wskazuje na udział tego związku w procesie lignifikacji. Uszczelnieniu ulegają ściany komórkowe tkanek korzeni, co prowadzi do ograniczenia pobierania wody i zahamowania metabolizmu komórkowego [Zalewski i in. 2010]. Kovacik i Klejdus [2008] odnotowali wzrost zawartości kwasów fenolowych w korzeniach rumianka pospolitego (*Matricaria chamomilla*) traktowanych metalami ciężkimi. Podczas stresu wywołanego wysokim stężeniem Cu i Cd zauważono brązowienie badanych korzeni, redukcję biomasy oraz ograniczenie pobierania wody. Podobny efekt jest zauważalny w przypadku siewek łubinu, gdzie wraz ze wzrastającym stężeniem JA-Me obserwowano bardziej intensywną brązową barwę korzeni, jak również ograniczenie ich masy i długości w czasie wzrostu. Jednocześnie ze wzrostem zawartości kwasów protokatechowego i *p*-OH-benzoesowego zmniejszała się zawartość kwasu wanilinowego. Związane jest to z przekształcaniem się kwasu wanilinowego do innych pochodnych kwasu benzoowego, w tym do kwasu protokatechowego [Nord 1964, Omori i in. 1988]. Z dostępnego piśmiennictwa i uzyskanych danych doświadczalnych w naszej pracowni wynika, że siewki łubinu traktowane egzogennym JA-Me odpowiadają identycznie jak na atak patogenów, wytwarzając więcej wolnych kwasów fenolowych, szczególnie w korzeniu.

WNIOSKI

1. Egzogennie stosowany jasmonian metylu wpływał na zmniejszenie parametrów fizycznych siewek wyrosłych z nasion łubinu żółtego. Jednocześnie powodował ograniczenie szybkości i zdolności kiełkowania nasion, działając jak typowy inhibitor wzrostu i rozwoju roślin.
2. Stres indukowany jasmonianem zwiększał odporność siewek łubinu, która wyrażała się wyższą zawartością kwasów fenolowych w korzeniach i hypokotylach.
3. JA-Me indukował syntezę kwasu protokatechowego w korzeniach siewek łubinu żółtego.
4. Większą wrażliwość tkanek korzenia na egzogeny JA-Me potwierdzono we wszystkich przeprowadzonych analizach.

PIŚMIENNICTWO

- Aerts R.J., Gisi D., Carolis E.D., Luca V.D., Baumann T.W. 1994. Methyl jasmonate vapor increases the developmentally controlled synthesis of alkaloids in *Catharantus* and *Cinchona* seedlings. *Plant J.* 5: 635–643.
- Berger S., Bell E., Mullet J.E. 1996. Two methyl jasmonate-insensitive mutants show altered expression of *Atvsp* in response to methyl jasmonate and wounding. *Plant Physiol.* 111: 523–531.
- Białecka B., Kępczyński J. 1998. Rola kwasu jasmonowego i jego estru metylowego we wzroście i rozwoju roślin. *Wiad. Bot.* 42: 61–78.
- Creelman R.A., Tierney M.L., Mullet J.E. 1992. Jasmonic acid/methyl jasmonate accumulate in wounded soybean hypocotyls and modulate wound gene expression. *Proceed. Nat. Acad. Sci. USA* 89: 4938–4941.
- Czapski J. 1997. Rola kwasu jasmonowego i jego estru metylowego w indukowaniu mechanizmów obronnych przeciwko owadom. *Prog. Plant Protection/Post. Ochr. Roślin* 37(1): 317–321.
- Deleteskaya T.V., Sembdner G. 1989. Effect of jasmonic acid on germination of non-dormant and dormant seeds. *Fizjol. Rast.* 36: 1118–1123.
- Farmer E.E., Ryan C.A. 1992. Octadecanoid precursors of jasmonic acid activate the synthesis of wound-inducible proteinase inhibitors. *Plant Cell* 4: 129–134.
- Franceschi V.R., Grimes H.D. 1991. Induction of soybean vegetative storage proteins and anthocyanins by low-level atmospheric methyl jasmonate. *Proceed. Nat. Acad. Sci. USA* 83: 6745–6749.
- Gundlach H., Müller M.J., Kutchan T.M., Zenk M.H. 1992. Jasmonic acid is a signal transducer in elicitor-induced plant cell cultures. *Proceed. Nat. Acad. Sci. USA* 89: 2389–2393.
- Hanczakowski P. 2004. Działania biologiczne wybranych związków fenolowych. *Post. Nauk Rol.* 51(4): 121–129.
- Jankiewicz L.S. (red.) 1997. *Regulatory wzrostu i rozwoju roślin. Cz. I. Właściwości i działanie.* PWN Warszawa: ss. 281.
- Johnson R., Narváez J., An G., Ryan C. 1998. Expression of proteinase inhibitors I and II in transgenic tobacco plants: Effects on natural defence against *Manduca sexta* larvae. *Proceed. Nat. Acad. Sci. USA* 86: 9871–9875.
- Kovacic J., Klejduš B. 2008. Dynamics of phenolic acid lignin accumulation in metal-treated *Matricaria chamomilla* roots. *Plant Cell Rep* 27: 605–615.
- Lampart-Szczapa E., Łoza A. 2007. Funkcjonalne składniki łubinu - korzyści i potencjalne zagrożenia. *Zesz. Probl. Post. Nauk Rol.* 522: 387–392.
- Mizukami H., Tabira Y., Ellis B.E. 1993. Methyl jasmonate-induced rosmarinic acid biosynthesis in *Lithospermum eryrorhizon* cell suspension cultures. *Plant Cell Reprod.* 12: 706–709.
- Nord F.F. 1964. The formation of lignin and its biochemical degradation. *Geochim. Cosmochim. Acta* 28: 1507–1522.
- Omori T., Hatakeyama K., Kodama T. 1988. Protocatechuic acid production from trans-ferulic acid by *Pseudomonas* sp. HF-1 mutants defective in protocatechuic acid catabolism. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 29: 497–500.
- Peterson D. 2001. Oat antioxidants. *J. Cereal Sci.* 33: 115–129.
- Ranjan R., Lewak S. 1992. Jasmonic acid promotes germination and lipase activity in non-stratified apple embryos. *Physiol. Plant.* 86: 335–339.
- Ueda J., Miyamoto K., Kamisaka S. 1995. Inhibition of the synthesis of cell wall polysaccharides in oat coleoptile segments by jasmonic acid: Relevance of its growth inhibition. *J. Plant Growth Regul.* 14: 69–76.
- Weidner S., Amarowicz R., Karamać M., Frączek E. 2000. Changes in endogenous phenolic acids during development of *Secale cereale* caryopses and after dehydration treatment of unripe rye grains. *Plant Physiol. Biochem.* 38: 595–602.
- Weidner S., Frączek E., Amarowicz R., Abe S. 2001. Alternations in phenolic acids content in developing rye grains in normal environment and during enforced dehydration. *Acta Physiol. Plant.* 23: 475–482.
- Yamane H., Takagi H., Abe T., Yokata T., Takahashi N. 1981. Identification of jasmonic acid in three species of higher plants and its biological activities. *Plant Cell Physiol.* 22: 689–697.

- Yukimune Y., Tabata H., Higashi Y., Hara Y. 1996. Methyl jasmonate-induced overproduction of paclitaxel and baccatin III in *Taxus* cell suspension cultures. *Nature Biotech.* 14: 1129–1132.
- Zalewski K., Nitkiewicz B., Lahuta L.B., Głowacka K., Socha A., Amarowicz R. 2010. Effect of jasmonic acid methyl ester on the composition of carbohydrates and germination of yellow lupine (*Lupinus luteus* L.) seeds. *J. Plant Physiol.* 167: 967–973.

B. NITKIEWICZ, K. ZALEWSKI, S. CZAPLICKI

PHENOLIC ACIDS IN YELLOW LUPIN SEEDS GERMINATING IN METHYL JASMONATE SOLUTIONS

Summary

Free phenolic acids present in germinating yellow lupin seeds (5 days, 20°C) were analysed. Methyl jasmonate at concentrations range from 10^{-3} to 10^{-6} M were used for the experiments. Seeds germinated in water were used as control. Roots and isolated from lupin seedlings were analyzed separately. Chromatographic analysis (HPLC) showed five phenolic acids (protocatechuic acid, *p*-OH-benzoic acid, vanillic acid, *p*-coumaric and ferulic acid) present in lupin seedlings. Depending on the analyzed lupine seedlings and tissue concentrations of applied JA-Me clearly confirm the influence of a hormone test to the content of phenolic acids. The presence of protocatechuic acid and increased content of *p*-OH-benzoic acid in root extracts obtained from seeds germinated in various solution of jasmonic acid methyl ester indicates the participation of these compounds in lignification. While increasing the content of the previously mentioned phenolic acids decreased vanillic acid content, which may be associated with its conversion to benzoic acid derivatives, including protocatechuic acid. Changes in the content of ferulic and *p*-coumaric acids in the methanol extracts obtained from roots and hypocotyls with cotyledons of lupine seedlings treated with JA-Me were irregular.