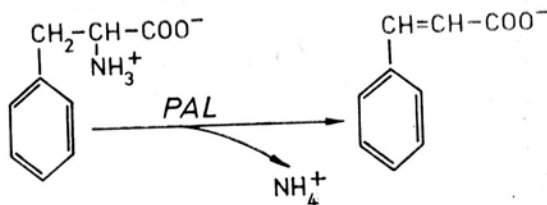


KRYSTYNA SZKUTNICKA

## AMONIAKO-LIAZA L-FENYLOALANINY (PAL). I. CHARAKTERYSTYKA, WYSTĘPOWANIE, ZMIANY AKTYWNOŚCI I ROLA FIZJOLOGICZNA ENZYMU W ROŚLINACH

Amoniako-liaza L-feniloalaniny (E.C.4.3.1.5.), dla której przyjęto skrót PAL (ang. L-Phenylalanine Ammonia-Lyase), należy do enzymów występujących powszechnie w roślinach. Dezaminacja L-feniloalaniny do kwasu trans-cynamonowego katalizowana przy udziale PAL (ryc. 1) zapoczątkowuje ciąg przemian prowadzących od L-feniloalaniny do związków fenolowych o szkieletcie fenylpropanowym C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> (Chu i Widholm 1972, Koukol i Conn 1961, Neish 1964, Yoshida 1969).



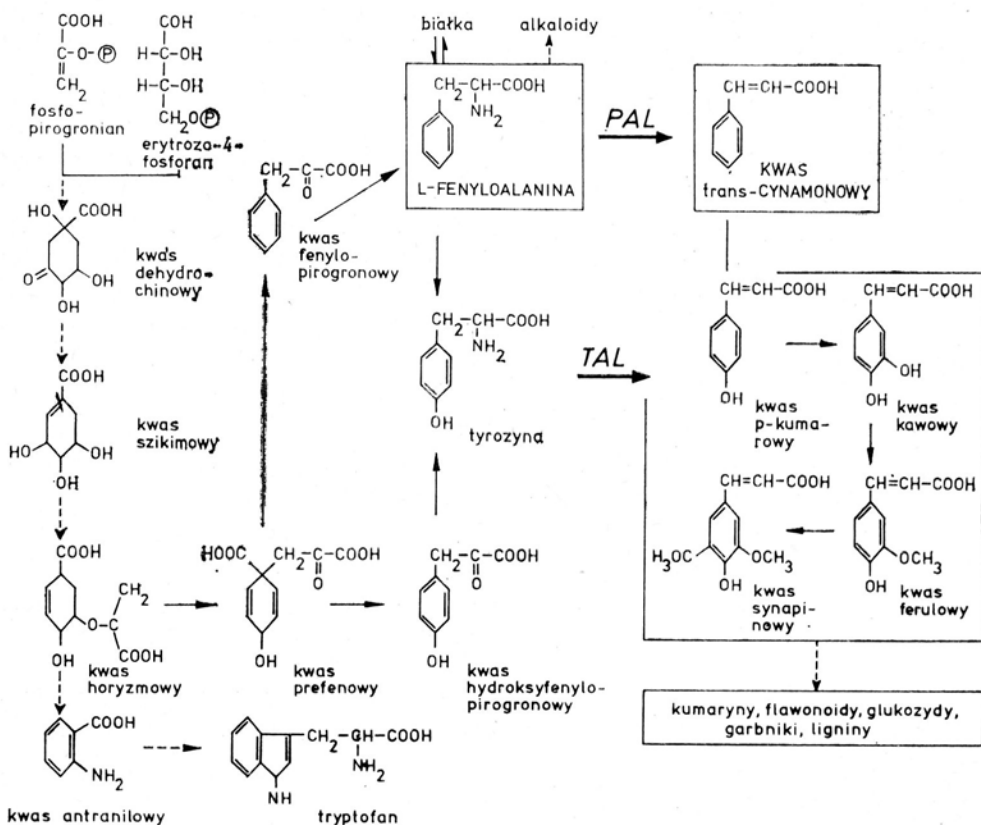
Ryc. 1. Reakcja przekształcenia L-feniloalaniny do kwasu trans-cynamonowego przy udziale amoniako-liazy L-feniloalaniny (PAL)

Podstawowe drogi metaboliczne prowadzące od węglowodanów do związków fenolowych przedstawia schemat 1. Główną drogą syntezy L-feniloalaniny w tkance roślinnej jest szlak kwasu szikimowego. Wyniki badań z zastosowaniem <sup>14</sup>C-feniloalaniny i <sup>14</sup>C-kwasu trans-cynamonowego wykazały, że kwas trans-cynamonowy jest prekursorem prostych związków fenolowych, glukozydów, ligniny, garbników i flawonoidów (Fisher 1968, Hasegawa i Maier 1972, Kojima i Uritani 1972, Majak 1973, Rother i Schwarting 1972, Sato i Hasegawa 1972, Zapromietow i Szpiłowa 1972).

### Występowanie amoniako-liazy L-feniloalaniny

Wykrycie PAL w siewkach jęczmienia przez Koukola i Conna (1961) zapoczątkowało intensywne badania nad tym enzymem. W ciągu ostatnich piętnastu lat wyizolowano, oczyszczono i scharakteryzowano PAL z wielu organów różnych

gatunków roślin wyższych (Boudet i inni 1971, Havir i Hanson 1968, 1968a, Hanson i Havir 1970, Havir i inni 1971, Hyodo 1971, Jangaard 1974, Marsh i inni 1968, Minamikawa i Uritani 1965, Nari i inni 1972, O'Neal i Keller 1970, Sacher i inni 1972, Schopfer 1971, Szkutnicka 1975, Zimmermann i Hahlbrock 1975, Zucker 1969) z paproci (Young 1966, Young i Neish 1966) oraz z grzybów (Bandoni i inni 1968, Camm i Towers 1969, Hodgins 1971, 1972, Kalghatgi i Subba Rao 1975, Ogata i inni 1967, Parakhurst i Hodgins 1971, 1972, Power i inni 1965, Subba Rao i inni 1967, Vance i inni 1975) i bakterii (Bezanson i inni 1970, Emes i Vinning 1970).



Schemat 1. Synteza związków fenolowych w roślinach. PAL — amoniako-liaza L-fenylalaniny; TAL — amoniako-liaza L-tyrozyny

Wykazano, że PAL występuje przede wszystkim w cytosolu (Amrhein i Zenk 1971, Camm i Towers 1973, Ruis i Kindl 1970, 1971, Ruis 1972, Russel 1971). Jednak według niektórych autorów (Camm i Towers 1973, Ruis i Kindl 1970, 1971, Ruis 1972, Alibert i inni 1972, 1972a, Löffelhardt i inni 1973, Saito 1974, Saunders i McClure 1972), enzymy uczestniczące w syntezie fenoli  $C_6-C_3$  mogą występować także w organellach komórkowych (głównie w mikrosomach, peroksysomach, glioksysomach i chloroplastach).

## Charakterystyka enzymu

Ciężar cząsteczkowy PAL wynosi od 300 000 do 330 000 w roślinach wyższych (Havir i Hanson 1968, Marsh i inni 1968, Nari i inni 1972, Schopfer 1971) i od 226 000 do 275 000 w mikroorganizmach (Emes i Vinning 1970, Hodgins 1971).

PAL wyizolowana z pszenicy (Nari i inni 1972, Young 1966), kukurydzy (Havir i inni 1971, Havir i Hanson 1973, 1975, Reid i inni 1972), ziemniaka (Havir i Hanson 1968, 1973, 1975) i *Rhodotorula glutinis* (Hodgins 1968) jest tetramerem. Białko enzymu wyizolowane z pszenicy (Nari i inni 1972) zawiera dwa różne typy łańcuchów polipeptydowych o ciężarach cząsteczkowych 75 000 i 85 000. Cząsteczka enzymu zawiera po dwa łańcuchy każdego rodzaju. Natomiast tetramer wyizolowany z kukurydzy, ziemniaka i *Rhodotorula glutinis* (Havir i Hanson 1973, 1975) zbudowany jest z czterech identycznych łańcuchów polipeptydowych o ciężarze cząsteczkowym 83 000. W aktywnym tetramerze znajdują się dwa centra aktywne enzymu (Havir i Hanson 1975). Centrum aktywne zawiera elektrofilową resztę dehydroalaniny (Hanson i Havir 1970, Havir i Hanson 1968a, Havir i inni 1971, Hodgins 1968, O'Neal i Keller 1970, Zucker 1972). Stwierdzono również, że PAL może zawierać allosteryczne miejsce wiązania substratu (Zucker 1972).

Optimum pH PAL oznaczane w preparatach różnego pochodzenia wynosi od 8 do 9 (Bezanson i inni 1970, Camm i Towers 1969, Emes i Vinning 1970, Hanson i inni 1971, Hanson i Havir 1970, Havir i Hanson 1968, 1968a, Havir i inni 1971, Koukol i Conn 1961, Marsh i inni 1968, Minamikawa i Uritani 1965, Nari i inni 1972, O'Neal i Keller 1970, Ogata i inni 1967, Parkhurst i Hodgins 1972, Szkutnicka 1975).

Wartość stałej Michaelisa ( $K_m$ ) PAL wynosi od  $2,7 \times 10^{-5}$  M do  $1,5 \times 10^{-2}$  M w zależności od rodzaju badanego materiału roślinnego (Attridge i inni 1971, Havir i Hanson 1968a, Havir i inni 1971, Jangaard 1974, Koukol i Conn 1961, Marsh i inni 1968, Szkutnicka 1975, Zimmermann i Hahlbrock 1975). W niektórych przypadkach kinetyka reakcji enzymatycznej wykazuje odchylenia od równania Michaelisa-Menten (Attridge i inni 1971, Havir i Hanson 1968, 1968a, Havir i inni 1971, Marsh i inni 1968).  $K_m$  może mieć inną wartość przy małym stężeniu substratu i inną w warunkach nasycenia substratem (Havir i Hanson 1968, Marsh i inni 1968, Nari i inni 1972).

Wielu autorów wykazało wysoką stereospecyficzność substratową PAL (Ellis i inni 1973, Hanson 1972, Havir i Hanson 1968, 1968a, Havir i inni 1971, Hopkins i Orkwiszewski 1971, Szkutnicka i Lewak 1975, Walton 1968, Wightman i inni 1972). Reakcja dezaminacji L-feniloalaniny katalizowana przez PAL hamowana jest kompetycyjnie przez D-izomer substratu, który nie jest przekształcany przez ten enzym *in vitro* (Havir i Hanson 1968a, Szkutnicka i Lewak 1975, Walton 1968). D-feniloalanina może się również wiązać w centrum allosterycznym enzymu *in vivo* niezależnie od działania kompetycyjnego (Havir i Hanson 1968a).

Oczyszczone preparaty enzymatyczne wyizolowane z roślin jednoliściennych wykazują aktywność wobec L-fenylalaniny (amoniako-liaza L-fenylalaniny (PAL)) i dodatkowo wobec L-tyrozyny (amoniako-liaza L-tyrozyny (TAL)) (Havir i inni 1971, Havir i Hanson 1973, Nari i inni 1972, Reid i inni 1972, Young 1966). Stwierdzono, że w niektórych przypadkach w dezaminacji L-fenylalaniny i L-tyrozyny bierze udział to samo centrum aktywne enzymu (Havir i inni 1971, Reid i inni 1972). Enzym nie wykazujący specyficzności substratowej wyizolowanego również z grzybów (Havir i Hanson 1975, Ogata i inni 1967, Parakhurst i Hodgins 1971, Uchiyama i inni 1968). PAL z roślin dwuliściennych nie wykazuje aktywności wobec L-tyrozyny (Havir i Hanson 1968, 1973, 1975). W pszenicy (Young 1966), batacie (Minamikawa i Uritani 1965) i drożdżach (Camm i Towers 1969) występują dwa różne enzymy katalizujące dezaminację L-fenylalaniny i L-tyrozyny.

W większości badanych roślin występuje jedna postać PAL (Amrhein i Zenk 1971, Attridge i Smith 1973, Blondel i inni 1973, Hahlbrock i inni 1971, Havir i Hanson 1973, Reid i inni 1972, Imaseki i inni 1968, Nari i inni 1972, Sacher i inni 1972, Schopfer 1971, Szkutnicka 1975). Stwierdzono również obecność dwóch form PAL w niektórych roślinach (Ahmed i Swain 1971, Alibert i inni 1972, 1972a, Boudet i inni 1971, Charriere-Ladreix 1975). Stafford (1974) w pracy przeglądowej na temat metabolizmu związków aromatycznych interpretuje obecność dwóch form PAL, wykazaną przez wielu autorów, jako wynik modyfikacji cząsteczki białkowej w czasie preparatyki i oczyszczania enzymu.

### **Rola biologiczna amoniako-liazy L-fenylalaniny**

Jak już wspomniano wcześniej, PAL jest kluczowym enzymem w biosyntezie związków fenolowych. Badania roli związków fenolowych w regulacji wzrostu i rozwoju roślin wykazały, że mogą one wpływać na przebieg następujących procesów fizjologicznych:

Kielkowanie nasion — hamowanie kiełkowania nasion (kwasy — ferulowy, wanilinowy, p-hydroksybenzoesowy) (Van Sumere 1960); przełamywanie stanu spoczynku nasion (synergistyczne współdziałanie florydzyiny z gibereliną  $A_4$  i  $A_7$  (Kamiński i Pieniążek 1968)).

Wzrost roślin — ograniczanie wzrostu na skutek rozsprzęgania oksydacyjnej fosforylacji, co prowadzi do obniżenia intensywności syntezy związków wysokoenergetycznych (florydzyina (Sarapuu 1964, 1965), kumaryna, katechiny, glukozydy (Kefeli i Turetskaja 1965, 1967, Sarapuu i Kefeli 1967, Stenlid 1968, Williams 1960), flawonoidy (Stenlid 1968)); stymulacja wzrostu roślin (leukoantocyjany (Miller 1955), kwas floretynowy, florydzyina (Sarapuu 1964, 1965)); modyfikacja aktywności systemu oksydaz IAA — regulacja poziomu auksyny (Hopkins i Orkwiszewski 1971, Stenlid 1968).

Kwitnienie roślin — regulacja zawiązywania się pąków kwiatowych i inicjacja kwitnienia (florydzyjna (Grochowska 1963, 1964)); regulacja kwitnienia (leukoantocyjany (Lewak i inni 1970)).

Lignifikacja tkanek (Bland i Logan 1967, Higuchi 1966, Lehninger i Schneider 1958, Rubery i Northcote 1968).

Zwiększa nie odporności roślin na warunki stressowe — deficyt azotowy (Armstrong i inni 1970); deficyt wodny (Tome i Bellini 1974); zranienie rośliny (Tome i Bellini 1974, Goldstein i inni 1972); infekcja wirusowa (Legrand i inni 1976, Conti i inni 1974).

Wielokrotnie stwierdzono, że zmiany aktywności PAL akorelowane są z zawartością związków fenolowych w tkance (Cheng i Marsh 1968, Maier i Hasegawa 1970, McClure 1974a, Melin i inni 1977, Kefeli i Turetskaja 1965, 1967, Rhodes i Woollorton 1973, Sarapuu i Kefeli 1967, Saunders i McClure 1973, Stenlid 1968, Weissenbock 1972, 1975, Woodhead i Swann 1974, Zapromietow i Szpiłowa 1972, Zucker 1965). Jednocześnie powszechność występowania i udział związków fenolowych w regulacji wymienionych powyżej procesów wskazuje na ważną rolę fizjologiczną PAL.

### **Wpływ związków fenolowych na aktywność amoniako-liazy L-fenyloalaniny**

Istotną rolę w regulacji aktywności PAL pełnią końcowe produkty szlaku kwasu szikimowego takie jak L-fenyloalanina, kwas trans-cynamonowy, kwas p-kumarowy, kwas ferulowy, kwas kawowy (Creasy 1968, Engelsma 1968, 1974, Goldstein i inni 1972, Szkutnicka 1975, Szkutnicka i Lewak 1975, Thorpe i inni 1971, Walton 1968, Zucker 1965) (tabela I). We wszystkich badanych roślinach stwierdzono hamujący wpływ tych substancji na aktywność PAL.

Stwierdzono, że w tkankach o dużej zawartości kwasów hydroksycynamonowych obserwuje się niską aktywność PAL (Durst 1976, Engelsma 1968, 1970, Engelsma i Maijer 1965). Wykazano również, że  $Mn^{2+}$  zwiększa aktywność tego enzymu (Durst 1976, Engelsma 1972, 1974). Autorzy tych badań sugerują powstawanie kompleksu  $Mn^{2+}$  z kwasami trans-hydroksycynamonowymi. Prowadzi to do zmniejszenia się puli wolnych kwasów hydroksycynamonowych, a tym samym możliwy jest wzrost aktywności PAL w obecności  $Mn^{2+}$ .

Stwierdzono, że podanie D-fenyloalaniny — stereoizomeru substratu PAL, stymuluje aktywność tego enzymu w kielkujących nasionach (tabela II) (Szkutnicka 1975, Szkutnicka i Lewak 1975, 1978). Biorąc pod uwagę fakt, że D-fenyloalanina jest inhibitorem kompetycyjnym PAL *in vitro* (por. rozdz. 2) można sądzić, że substancja ta pełni również rolę inhibitora kompetycyjnego *in vivo*. Obserwowany wzrost aktywności enzymu można tłumaczyć niskim poziomem kwasu trans-cynamonowego w wyniku jego ograniczonej syntezy w obecności D-fenyloalaniny.

TABELA I

Wpływ L-fenylalaniny oraz kwasu trans-cynamonowego i jego hydroksypochodnych na aktywność amoniakolizacji L-fenylalaniny (PAL)

Materiał roślinny	Badana substancja	Czas inkubacji	Aktywność PAL (% kontroli)	Literatura
Zarodki jabłoni	L-fenylalanina ( $1.2 \times 10^{-2}$ M)	7 dni	49	Szkutnicka i Lewak, 1975
Zarodki jabłoni	kwas trans-cynamonowy ( $5 \times 10^{-4}$ M)	7 dni	29	Szkutnicka, 1975
Nasiona gorczyczy	L-fenylalanina ( $1.2 \times 10^{-2}$ M)	24 godz.	50	Szkutnicka, 1975
Nasiona rzepaku	L-fenylalanina ( $1.2 \times 10^{-2}$ M)	16 godz.	66	Szkutnicka, 1975
Ziarniak owsa	L-fenylalanina ( $1.2 \times 10^{-2}$ M)	24 godz.	66	Szkutnicka, 1975
Siewki ogórka	kwas p-kumarowy ( $10^{-5}$ M)	6 godz.	38	Havir i Hanson, 1975
Siewki ogórka	kwas p-kumarowy ( $2 \times 10^{-4}$ M)	16 godz.	39	Havir i Hanson, 1975
Siewki ogórka	kwas p-kumarowy ( $5 \times 10^{-4}$ M)	24 godz.	17	Havir i Hanson, 1975
Kalus grejpfruta	L-fenylalanina ( $10^{-2}$ M)	7 dni	23	Thorpe i inni, 1971
Kalus grejpfruta	kwas trans-cynamonowy ( $10^{-4}$ M)	4 dni	73	Thorpe i inni, 1971
Kalus grejpfruta	kwas p-kumarowy ( $10^{-4}$ M)	4 dni	77	Thorpe i inni, 1971
Bulwy ziemniaka	L-fenylalanina ( $5 \times 10^{-2}$ M)	24 godz.	42	Zucker, 1965
Bulwy ziemniaka	kwas trans-cynamonowy ( $10^{-3}$ M)	24 godz.	66	Zucker, 1965
Zarodki fasoli	L-fenylalanina ( $5 \times 10^{-4}$ M)		71	Walton, 1968
Zarodki fasoli	L-fenylalanina ( $10^{-3}$ M)		52	Walton, 1968
Zarodki fasoli	kwas trans-cynamonowy ( $10^{-4}$ M)		65	Walton, 1968
Zarodki fasoli	kwas p-kumarowy ( $5 \times 10^{-4}$ M)		38	Walton, 1968
Zarodki fasoli	kwas kawowy ( $5 \times 10^{-4}$ M)		40	Walton, 1968
Zarodki fasoli	kwas ferulowy ( $5 \times 10^{-4}$ M)		62	Walton, 1968

TABELA II

Wpływ D-fenylalaniny na aktywność amoniako-liazy L-Fenylalaniny (PAL) wg Szkutnickiej i Lewaka (1975)

Materiał roślinny	Czas inkubacji w roztworze D-fenylalaniny ( $1.2 \times 10^{-2}$ M) w ciemności	Aktywność PAL (% kontroli)
Zarodki jabłoni	7 dni	182
Zarodki jabłoni	24 godz.	372
Nasiona gorczycy	24 godz.	262
Nasiona rzepaku	16 godz.	160
Ziarniak owsa	24 godz.	145

TABELA III

Wpływ niektórych regulatorów wzrostu i rozwoju roślin na aktywność amoniako-liazy L-fenylalaniny (PAL)

Badany hormon roślinny	Materiał roślinny	Wpływ na aktywność PAL	Literatura
Gibereliny	siewki kukurydzy	+	Reid, 1970, Reid i Marsh 1969, Reid i inni 1972
	bulwy ziemniaka	-	Reid, 1970
	siewki fasoli	+	Reid, 1970
	siewki pomidora	+	Reid, 1970
	liście bluszczu	+	Reid, 1970
	kalus tytoniu	+	Li i inni, 1970
	siewki grochu	+ (światło)	Cheng i Marsh, 1968
	siewki grochu	- (ciemność)	Cheng i Marsh, 1968
	kalus grejfruta	+	Thorpe i inni, 1971
	zarodki jabłoni	+ (światło)	Szkutnicka, 1975
Kwas abscyzynowy	zarodki jabłoni	+ (ciemność)	Szkutnicka, 1975
	kalus tytoniu	-	Li i inni, 1970
	kalus grejfruta	-	Thorpe i inni, 1970
	siewki lebiody	-	Jangaard, 1974a
	siewki wyczyńca	+	Jangaard, 1974a
Benzyloadenina	zarodki fasoli	+	Walton i Sondheimer, 1968
	zarodki jabłoni	+ (światło)	Szkutnicka, 1975
	zarodki jabłoni	+ (ciemność)	Szkutnicka, 1975
Kinetyna	zarodki jabłoni	0 (światło)	Szkutnicka, 1975
	zarodki jabłoni	+ (ciemność)	Szkutnicka, 1975
	liścienie rzodkiewki	0 (światło)	Tome i Bellini, 1974
	kalus grejfruta	0 (światło)	Thorpe i inni, 1971
	kalus grejfruta	+ (światło)	
	siewki kapusty	(dłuższy czas) + (ciemność)	Thorpe i inni, 1971 Pecket i Bassim, 1974

+ — stymulacja; - — hamowanie; 0 — brak wpływu

## Wpływ regulatorów wzrostu i rozwoju roślin na aktywność amoniako-liazy L-fenyloalaniny

Liczne roślinne regulatory wzrostu i rozwoju uczestniczą w regulacji aktywności PAL. Wpływ hormonów roślinnych z grupy giberelin, cytokinin i kwasu abscyzynowego na aktywność PAL przedstawiono w tabeli III.

Giberelina, poza nielicznymi wyjątkami, stymuluje aktywność tego enzymu (Cheng i Marsh 1968, Reid 1970). Wzrost aktywności PAL w tkankach roślin potraktowanych gibereliną obserwowano po 24-godzinnym okresie zwłoki (Reid i inni 1972). Inhibitory biosyntezy białek (Cheng i Marsh 1968, Reid 1970, Reid i inni 1972, Thorpe i inni 1971) i kwasów nukleinowych (Cheng i Marsh 1968) zapobiegają zwiększaniu się aktywności enzymu pod wpływem gibereliny.

Kwas abscyzynowy hamuje aktywność PAL w większości badanych roślin (tabela III). Łączne podanie gibereliny  $A_3$  i kwasu abscyzynowego znosi hamujący wpływ tego inhibitora, jeżeli stężenie gibereliny jest wyższe niż 0,1 mg/l (Li i inni 1970). Te wyniki, jak również dane innych autorów (Mercer i Pughe 1969) pozwalają sądzić, że kwas abscyzynowy ogranicza syntezę gibereliny niezbędnej do indukcji PAL. W konsekwencji obserwuje się spadek aktywności enzymu w obecności kwasu abscyzynowego. Stwierdzenie, że aktywność PAL skorelowana jest z poziomem endogennej gibereliny w siewkach kukurydzy, popiera tę sugestię (Reid 1970).

Kwas abscyzynowy może również stymulować aktywność PAL w niektórych roślinach (Jangaard 1974a, Walton i Sondheimer 1968). Autorzy tych prac przypuszczają, że kwas abscyzynowy hamuje przede wszystkim syntezę systemu inaktywującego PAL i na tej drodze powoduje wzrost aktywności enzymu.

Wydaje się, że brak zgodności wyników uzyskanych przez różnych autorów na różnym materiale roślinnym może być spowodowany odmienną wrażliwością różnych tkanek na działanie tej samej substancji wzrostowej. Ponadto w różnych pracowniach stosowano różne warunki świetlne, stężenie badanego hormonu i czas traktowania rośliny.

Benzyloadenina stymuluje aktywność PAL na świetle i w ciemności (Tabela III). Brak wpływu kinetyny na świetle oraz wyraźna stymulacja aktywności enzymu w ciemności mogą być związane ze stwierdzoną wcześniej, zwiększoną zdolnością nasion do kiełkowania w ciemności w obecności kinetyny (Lewak i Bryzek 1974). W rezultacie aktywność PAL w roślinach hodowanych w ciemności jest wyższa w obecności kinetyny niż w kontroli. Kinetyna stymuluje też w ciemności syntezę antocyjanów w siewkach czerwonej kapusty (Peckett i Bassim 1974) i amarantyny w siewkach szarłatu (Piatelli i in. 1971). Wzrost ten może być również wynikiem stymulacji enzymu w ciemności na skutek obniżania przez kinetynę wrażliwości tkanki roślinnej na światło.

Badania nad wpływem auksyn na aktywność PAL (Davies 1972, 1972a, Innerarity i inni 1972, Jangaard 1974a, Thorpe i inni 1971) wykazały, że kwas 3-indoliloctowy i jego prekursor — tryptofan, a także syntetyczna auksyna — 2,4-D podane w stężeniu powyżej 1,2 mM obniżają aktywność enzymu *in vivo*.



Auksyny w niskich stężeniach nie mają wpływu na aktywność PAL, bądź powodują niewielki jej wzrost (Abeles 1968). Światło znosi hamujący wpływ 2,4-D na aktywność PAL; ponadto substancja ta zwiększa efektywność działania światła na aktywność tego enzymu (Davies 1972, 1972a, Abeles 1968). Brak jest danych na temat sposobu działania auksyn na aktywność PAL.

Inny regulator endogenny — etylen również stymuluje aktywność PAL i syntezę związków fenolowych (Abeles 1968, Chalutz 1973, Engelsma i Van Brugen 1971, Hyodo i Yang 1971, Imaseki i inni 1968, Rhodes i Woollorton 1971, 1973, Sarkar i Phan 1974). Stwierdzono, że zranienie lub infekcja rośliny prowadzi do wzmożonej syntezy etylenu, przy równoczesnym zwiększaniu się aktywności PAL (Riov i inni 1969, Stahman i inni 1966). Usunięcie etylenu powoduje gwałtowny spadek aktywności tego enzymu w tkance (Riov i inni 1969).

Badania nad udziałem etylenu w regulacji aktywności PAL wykazały występowanie 6-godzinne go okresu zwłoki po podaniu etylenu (Hyodo 1971). Inhibitory biosyntezy białek i kwasów nukleinowych takie jak cykloheksimid i aktynomycyna D hamują wzrost aktywności enzymu pod wpływem etylenu (Abeles 1968, Hyodo 1971, Riov i inni 1969). Wydaje się zatem, że etylen reguluje aktywność PAL na poziomie syntezy białka. Podobne wyniki uzyskano w badaniach nad wpływem etylenu na aktywność oksydazy polifenolowej (Stahman i in. 1966) i peroksydazy (Imaseki i in. 1968, Stahman i inni 1966) w batacie.

Biorąc pod uwagę powyższe dane jak również fakt, że hormony roślinne nie mają wpływu na aktywność PAL *in vitro* (Jangaard 1974a, Reid i Marsh 1969, Reid 1970, Szkutnicka 1975) można przyjąć, że substancje te stymulują syntezę *de novo* PAL.

### Wpływ światła na aktywność amoniako-liazy L-fenyloalaniny

Stwierdzenie Zuckera w 1965 roku, że światło stymuluje aktywność PAL w bulwach ziemniaka, zapoczątkowało badania nad fotoregulacją syntezy związków fenolowych w wielu roślinach. W ciągu ostatnich lat wykazano stymulujący wpływ światła na aktywność tego enzymu w etiolowanych tkankach roślinnych (Ahmed i Swain 1971, Creasy 1968, 1971, Amrhein i Zenk 1970, 1970a, Duke i Naylor 1974, Hahlbrock i Wellman 1970, Hahlbrock i inni 1971, Lamb i Rubery 1976, Podstolski i Brown 1974, Sacher i inni 1972, Scherf i Zenk 1967, 1967a, Smith i Attridge 1970, Smith i Harper 1970, Szkutnicka 1975, Thorpe i inni 1971, Weissenbock 1971, 1972, Zucker 1969, 1970, 1971). Stwierdzono również brak wpływu światła na aktywność PAL w niektórych zielonych roślinach (Amrhein i Zenk 1970, 1971, Bellini i Van Poucke 1970, Engelsma i Van Brugen 1971, Nitsch i Nitsch 1966, Riov i inni 1969, Szkutnicka 1975, Vance i inni 1975, Walton 1968, Walton i Sondheimer 1968).

Według wielu autorów aktywność PAL w zawierających chlorofil tkankach roślinnych jest regulowana przy udziale produktów fotosyntezy (Amrhein i Zenk 1971, Creasy 1968, Engelsma 1967, Rissland i Mohr 1967, Wong i inni 1974, Zucker

1969). Za udziałem produktów fotosyntezy w regulacji aktywności PAL przemawia fakt, że szybki wzrost aktywności enzymu w zarodkach jabłoni hodowanych na świetle jest skorelowany w czasie z pojawieniem się chlorofilu i zdolności do włączenia  $^{14}\text{CO}_2$  (Maciejewska i inni 1974, Szkutnicka 1975).

Sacharoza stymuluje aktywność PAL w liściach truskawki w ciemności, a inhibitor fotosyntezy — DCMU — redukuje stymulujący wpływ światła. Sacharoza zastępuje efekt światła w obecności DCMU, a najbardziej skuteczne w stymulacji aktywności PAL jest światło o długości fali 475 i 625 nm, a więc w zakresach optymalnych dla fotosyntezy (Wong i inni 1974).

Można zatem sądzić, że brak wpływu światła na aktywność PAL, obserwowany w niektórych roślinach, wynika z endogennej stymulacji syntezy enzymu przy udziale energii powstającej w wyniku katabolizmu węglowodanów zapasowych. Potwierdzeniem tej hipotezy wydają się być doniesienia o braku wpływu światła na aktywność PAL w czasie kiełkowania nasion o dużej zawartości węglowodanów (Walton 1968, Walton i Sondheimer 1968). Zawartość węglowodanów nie może być jedynym (głównym) czynnikiem regulującym aktywność PAL i warunkującym udział światła w tej regulacji. Stwierdzono bowiem, że aktywność tego enzymu wzrasta pod wpływem światła również w tkankach o wysokim poziomie węglowodanów np. w bulwach ziemniaka (Sacher i inni 1972, Zucker 1965) i w siewkach jęczmienia (McClure 1974, 1974a).

Brak proporcjonalności między czasem naświetlania zarodków jabłoni światłem białym a efektem działania światła na aktywność PAL wskazuje, że regulacja aktywności tego enzymu nie jest uwarunkowana wyłącznie procesem fotosyntezy. Już krótkie okresy naświetlania (30 min. i 1 godz. na dobę) prowadzą do wysokiej stymulacji aktywności enzymu pomimo, że zarodki tak traktowane nie zawierają jeszcze lub zawierają bardzo mało chlorofilu (Szkutnicka 1975).

Badania nad regulacją aktywności amoniako-liazy L-fenylalaniny prowadzone są w wielu ośrodkach na różnym materiale roślinnym. Przegląd danych literatury dotyczących mechanizmu regulacji aktywności tego enzymu przy udziale wymienionych powyżej endogennych i egzogennych czynników znajdzie czytelnik w oddzielnym artykule na ten temat drukowanym równoległe w *Wiadomościach Botanicznych* (Szkutnicka 1979a).

#### LITERATURA

- Abeles F. B., 1968. *Plant Physiol.*, **43**, 1577—1581.  
 Alibert G., Ranjeva R., Boudet A., 1972. *Biochim. Biophys. Acta*, **279**, 282—289.  
 Alibert G., Ranjeva R., Boudet A., 1972a. *Physiol. Plant.*, **27**, 240—243.  
 Ahmed S. I., Swain T., 1971. *Phytochem.*, **9**, 2287—2290.  
 Amrhein N., Zenk M., 1970. *Naturwissenschaften*, **57**, 312—313.  
 Amrhein N., Zenk M., 1970a. *Z. Pflanzenphysiol.*, **63**, 384—388.  
 Amrhein N., Zenk M., 1971. *Z. Pflanzenphysiol.*, **64**, 145—168.  
 Armstrong G. M., Rohrbaugh L. M., Rice E. L., Wender S. H., 1970. *Phytochem.*, **9**, 945—948.  
 Attridge T. H., Steward G. H., Smith H., 1971. *FEBS Letters*, **17**, 84—86.  
 Attridge T. H., Smith H., 1973. *Plant Sci. Letters*, **1**, 247—252.

- Bandoni R. J., Moore K., Subba Rao P. V., Towers G. H. N., 1968. *Phytochem.*, **7**, 205—207.
- Bellini E., Van Poucke M., 1970. *Planta*, **93**, 60—70.
- Bezanson G. S., Desaty D., Emes A. V., Vinning L. C., 1970. *Can. J. Microbiol.*, **16**, 147—151.
- Bland D. E., Logan A. F., 1967. *Phytochem.*, **6**, 1075—1083.
- Blondel J. D., Huault C., Faye L., Rollin P., Cohen P., 1973. *FEBS Letters*, **36**, 239—244.
- Boudet A., Ranjeva R., Gadal P., 1971. *Phytochem.*, **10**, 997—1005.
- Camm E. L., Towers G. H. N., 1969. *Phytochem.*, **8**, 1407—1413.
- Camm E. L., Towers G. H. N., 1973. *Phytochem.*, **12**, 1575—1580.
- Chalutz E., 1973. *Plant Physiol.*, **51**, 1033—1036.
- Chu M., Widholm J. M., 1972. *Physiol. Plant.*, **26**, 24—28.
- Charriere-Ladreix Y., 1975. *Phytochem.*, **14**, 1727—1735.
- Cheng Ch. K. G., Marsh Jr. H. V., 1968. *Plant Physiol.*, **43**, 1755—1759.
- Conti G. G., Bellini E., Vegetti G., Favalli M. A., 1974. *Riv. Patol. Veg.*, **X**, 177—193.
- Creasy L. L., 1968. *Phytochem.*, **7**, 441—446.
- Creasy L. L., 1971. *Phytochem.*, **10**, 2705—2711.
- Davies M. E., 1972. *Planta*, **104**, 50—65.
- Davies M. E., 1972a. *Planta*, **104**, 66—77.
- Duke S. O., Naylor A. W., 1974. *Plant Sci. Letters*, **2**, 289—293.
- Durst F., 1976. *Planta*, **132**, 221—227.
- Ellis B. E., Zenk M. H., Kirby G. W., Michael J., Floss H. G., 1973. *Phytochem.*, **12**, 1057—1058.
- Emes A. V., Vinning L. C., 1970. *Can. J. Biochem.*, **48**, 613—622.
- Engelsma G., 1967. *Planta*, **75**, 207—219.
- Engelsma G., 1968. *Planta*, **82**, 355—368.
- Engelsma G., 1970. *Planta*, **90**, 133—141.
- Engelsma G., 1972. *Plant Physiol.*, **50**, 599—602.
- Engelsma G., 1974. *Plant Physiol.*, **54**, 702—705.
- Engelsma G., Maijer G., 1965. *Acta Bot. Neer.*, **14**, 54—72.
- Engelsma G., Van Bregen J. M. H., 1971. *Plant Physiol.*, **43**, 94—96.
- Fisher J. F., 1968. *Phytochem.*, **7**, 769—773.
- Goldstein L. D., Jennings P. H., Marsh Jr. H. V., 1972. *Plant Cell Physiol.*, **13**, 783—793.
- Grochowska M. J., 1963. *Bull. Acad. Polon. Sci. Ser. Sci. Biol.*, **11**, 585—588.
- Grochowska M. J., 1964. *Bull. Acad. Polon. Sci. CL. V.*, **12**, 379—383.
- Hahlbrock K., Wellman E., 1970. *Planta*, **94**, 236—239.
- Hahlbrock K., Kuhlén E., Lindl T., 1971. *Planta*, **99**, 311—318.
- Hanson K. R., 1972. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **23**, 335—366.
- Hanson K. R., Havir E. A., 1970. *Arch. Biochem. Biophys.*, **141**, 1—17.
- Hanson K. R., Wightman R. H., Staunton L., Battersby A. R., 1971. *Chem. Commun.*, 185—186.
- Hasegawa S., Maier V. P., 1972. *Phytochem.*, **11**, 1365—1370.
- Havir E. A., Hanson K. R., 1968. *Biochem.*, **7**, 1896—1903.
- Havir E. A., Hanson K. R., 1968a. *Biochem.*, **7**, 1904—1914.
- Havir E. A., Hanson K. R., 1973. *Biochem.*, **12**, 1583—1591.
- Havir E. A., Hanson K. R., 1975. *Biochem.*, **14**, 1620—1626.
- Havir E. A., Reid P. D., Marsh Jr. H. V., 1971. *Plant Physiol.*, **48**, 130—136.
- Higuchi T., 1966. *Agr. Biol. Chem.*, **30**, 667—673.
- Hodgins D. S., 1968. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **32**, 246—253.
- Hodgins D. S., 1971. *J. Biol. Chem.*, **246**, 2977—2979.
- Hodgins D. S., 1972. *Archiv. Biochem. Biophys.*, **149**, 91—96.
- Hopkins W. G., Orkwiszewski J. A. J., *Can. J. Bot.*, **49**, 129—135.
- Hyodo H., 1971. *Plant Cell Physiol.*, **12**, 989—991.
- Hyodo H., Yang S. F., 1971. *Plant Physiol.*, **47**, 765—770.
- Imaseki H., Uchiyama M., Uritani J., 1968. *Agr. Biol. Chem.*, **32**, 387—389.

- Innerarity L. T., Smith H., Wender H. S., 1972. *Phytochem.*, **11**, 83—88.
- Jangaard N. O., 1974. *Phytochem.*, **13**, 1765—1768.
- Jangaard N. O., 1974a. *Phytochem.*, **13**, 1769—1775.
- Kalghatgi K. K., Subba Rao P. V., 1975. *Biochem. J.*, **149**, 65—72.
- Kamiński W., Pieniżek J., 1968. *Bull. Acad. Polon. Aci. Ser. Sci. Biol.*, **16**, 719—723.
- Kefeli V. J., Turetskaja R. A., 1965. *Fizjol. Rast.*, **12**, 638—645.
- Kefeli V. J., Turetskaja R. A., 1967. *Fizjol. Rast.*, **14**, 796—803.
- Koijma M., Uritani J., 1972. *Plant Cell Physiol.*, **13**, 311—319.
- Koukol J., Conn E. E., 1961. *J. Biol. Chem.*, **236**, 2692—2698.
- Lamb C. J., Rubery P. H., 1976. *Phytochem.*, **15**, 665—668.
- Legrand M., Fritig B., Hirth L., 1976. *Phytochem.*, **15**, 1353—1359.
- Lehninger A. L., Schneider M., 1958. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, **313**, 138—141.
- Lewak St., Grochowska M. J., Kurył T., Wyzińska D., 1970. *Acta Soc. Bot. Polon.*, **39**, 141—150.
- Lewak St., Bryzek B., 1974. *Biol. Plant.*, **16**, 334—340.
- Li H. G., Rice E. L., Rohrbaugh L. M., Wender S. H., 1970. *Physiol. Plant.*, **23**, 928—936.
- Löffelhardt W., Ludwig B., Kindl H., 1973. *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.*, **354**, 1006—1012.
- Maciejewska U., Ryc M., Maleszewski St., Lewak St., 1974. *Physiol. Vég.*, **12**, 115—122.
- Maier V. P., Hasegawa S., 1970. *Phytochem.*, **9**, 139—144.
- Majak W., 1973. *Phytochem.*, **12**, 2189—2195.
- Marsh Jr. H. V., Havir E. A., Hanson K. R., 1968. *Biochem.*, **7**, 1915—1918.
- McClure J. W., 1974. *Phytochem.*, **13**, 1065—1069.
- McClure J. W., 1974a. *Phytochem.*, **13**, 1071—1073.
- Melin Ch., Monlet A. M., Dupin J. F., Hartmann C., 1977. *Phytochem.*, **16**, 75—78.
- Mercer E. J., Pughe J. E., 1969. *Phytochem.*, **8**, 115—122.
- Miller C. J., 1955. *J. Amer. Chem. Soc.*, **77**, 2662—2667.
- Minamikawa T., Uritani J., 1965. *J. Biochem.*, **57**, 678—688.
- Nari J., Mouttet Ch., Pinna M. H., Ricard J., 1972. *FEBS Letters*, **23**, 220—224.
- Neish A. C., 1964. w *Biochemistry of phenolic compounds*, red. Harborne J. B., str. 295—360, Acad. Press, London—New York.
- Nitsch C., Nitsch J. P., 1966. *Compt. Rend. 262 D*, 1102—1104.
- Ogata K., Uchiyama K., Yamada H., Tochikura T., 1967. *Agr. Biol. Chem.*, **31**, 600—606.
- O'Neal D., Keller C. J., 1970. *Phytochem.*, **9**, 1373—1383.
- Parkhurst R. J., Hodgins D. S., 1971. *Phytochem.*, **10**, 2997—3000.
- Parkhurst R. J., Hodgins D. S., 1972. *Arch. Biochem. Biophys.*, **152**, 597—605.
- Pecket R. C., Bassim T. A. H., 1974. *Phytochem.*, **13**, 1395—1399.
- Piatelli M., Giudicide N. M., Cactrogiovani C., 1971. *Phytochem.*, **10**, 289—293.
- Podstolski A., Brown G. N., 1974. *Plant Physiol.*, **54**, 41—43.
- Power D. M., Towers G. H. N., Neish A. C., 1965. *Can. J. Biochem.*, **43**, 1397—1402.
- Reid P. D., 1970. Ph. D. Thesis, Reprint from Dissertation Abstracts International University of Massachusetts, XXXI.
- Reid P. D., Marsh Jr. H. V., 1969. *Z. Pflanzenphysiol.*, **61**, 170—172.
- Reid P. D., Havir E. A., Marsh Jr. H. V., 1972. *Plant Physiol.*, **50**, 480—484.
- Rhodes M. J. C., Wooltorton L. S. C., 1971. *Phytochem.*, **10**, 1989—1998.
- Rhodes M. J. C., Wooltorton L. S. C., 1973. *Phytochem.*, **12**, 107—118.
- Riov J., Monselise S. P., Kahn R. S., 1969. *Plant Physiol.*, **44**, 631—635.
- Rissland J., Mohr H., 1967. *Planta*, **77**, 239—249.
- Rother A., Schwarting A. E., 1972. *Phytochem.*, **11**, 2475—2480.
- Rubery P. H., Northcote D. H., 1968. *Nature*, **219**, 1230—1234.
- Ruis H., 1972. *Phytochem.*, **11**, 53—58.
- Ruis H., Kindl H., 1970. *Z. Physiol. Chem.*, **351**, 1425—1428.
- Ruis H., Kindl H., 1971. *Phytochem.*, **10**, 2627—2631.
- Russel D. W., 1971. *J. Biol. Chem.*, **246**, 3870—3875.

- Sacher J. A., Towers G. H. N., Davies D. D., 1972. *Phytochem.*, **11**, 2383—2391.
- Saito K., 1974. *Biochem. J.*, **144**, 431—432.
- Sarkar S. K., Phan C. T., 1974. *Physiol. Plant.*, **32**, 318—321.
- Sarapuu L., 1964. *Fizjol. Rast.*, **11**, 607—614.
- Sarapuu L., 1965. *Fizjol. Rast.*, **12**, 134—145.
- Sarapuu L., Kefeli V. J., 1967. *Matieriały I-go Wsiesojuz Simp. po Fienolnym Sojedini.*, 14—17, XII, str. 129, Moskwa.
- Sato M., Hasegawa S., 1972. *Phytochem.*, **11**, 657—662.
- Saunders J. A., McClure J. W., 1972. *Amer. J. Bot.*, **59**, 673—676.
- Saunders J. A., McClure J. W., 1973. *Plant Physiol.*, **51**, 407—408.
- Scherf H., Zenk M. H., 1967. *Z. Pflanzenphysiol.*, **57**, 401—418.
- Scherf H., Zenk M. H., 1967a. *Z. Pflanzenphysiol.*, **56**, 203—206.
- Schopfer P., 1971. *Planta*, **99**, 339—346.
- Smith H., Attridge T. H., 1970. *Phytochem.*, **9**, 487—495.
- Smith H., Harper D. B., 1970. *Phytochem.*, **9**, 477—485.
- Stafford H. A., 1974. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **25**, 459—486.
- Stahman M. A., Clare B. G., Woodbury W., 1966. *Plant Physiol.*, **41**, 1505—1512.
- Stenlid G., 1968. *Physiol. Plant*, **21**, 882—894.
- Subba Rao P. V., Moore K., Towers G. H. N., 1967. *Can. J. Biochem.*, **45**, 1863—1872.
- Szkutnicka K., 1975. *Praca doktorska*, Wyd. Biologii UW.
- Szkutnicka K., Lewak St., 1975. *Plant Sci. Letters*, **5**, 147—156.
- Szkutnicka K., Lewak St., 1978. *Phytochem.*
- Szkutnicka K., Lewak St., 1979. *Wiadomości Botaniczne*, 23,3.
- Taylor A. O., Zucker M., 1966. *Plant Physiol.*, **41**, 1350—1359.
- Thorpe T. A., Maier V. P., Hasegawa S., 1971. *Phytochem.*, **10**, 711—718.
- Tome F., Bellini E., 1974. *Plant Sci. Letters*, **3**, 413—418.
- Uchiyama K., Yamada H., Tochikura T., Ogata K., 1968. *Agr. Biol. Chem.*, **32**, 764—768.
- Van Sumere C. F., 1960. w *Phenolics in plants health and disease*, red. Pridham J. B., str. 25—33, Pergamon Press, Oxford—London—New York—Paris.
- Vance C. P., Bandoni R. J., Towers G. H. N., 1975. *Phytochem.*, **14**, 1513—1514.
- Walton D. C., 1968. *Plant Physiol.*, **43**, 1120—1124.
- Walton D. C., Sondheimer E., 1968. *Plant Physiol.*, **43**, 467—469.
- Weissenbock G., 1971. *Z. Pflanzenphysiol.*, **66**, 73—81.
- Weissenbock G., 1972. *Z. Pflanzenphysiol.*, **66**, 243—250.
- Weissenbock G., 1975. *Z. Pflanzenphysiol.*, **74**, 226—254.
- Wightman R. H., Staunton J., Battersby A. R., Hanson K. R., 1972. *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I.*, 2355—2364.
- Williams A. H., 1960. w *Phenolics in plants in health and disease*, red. Pridham J. B., str. 3—7, Pergamon Press, Oxford—London—New York—Paris.
- Wong P. P., Zucker M., Creasy L. L., 1974. *Plant Physiol.*, **54**, 659—665.
- Woodhead S., Swain T., 1974. *Phytochem.*, **13**, 953—956.
- Yoshida S., 1969. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **20**, 41—62.
- Young M. R., 1966. Ph. D. Thesis, Dalhousie University, cyt. za Camm E. L., Towers G. H. N., 1973. *Phytochem.*, **12**, 961—973.
- Young M. R., Neish A. C., 1966. *Phytochem.*, **5**, 1121—1132.
- Zapromietow M. N., Szpiłtowa S. W., 1972. *Fizjol. Rast.*, **19**, 498—503.
- Zimmermann A., Hahlbrock K., 1975. *Arch. Biochem. Biophys.*, **166**, 54—62.
- Zucker M., 1965. *Plant Physiol.*, **40**, 779—784.
- Zucker M., 1969. *Plant Physiol.*, **44**, 912—922.
- Zucker M., 1970. *Biochem. Biophys. Acta*, **208**, 331—333.
- Zucker M., 1971. *Plant Physiol.*, **47**, 442—444.
- Zucker M., 1972. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, **23**, 133—156.