

Molekularne podstawy kształtowania tolerancji na wysychanie w dojrzewających nasionach

Agnieszka I. Piotrowicz-Cieślak

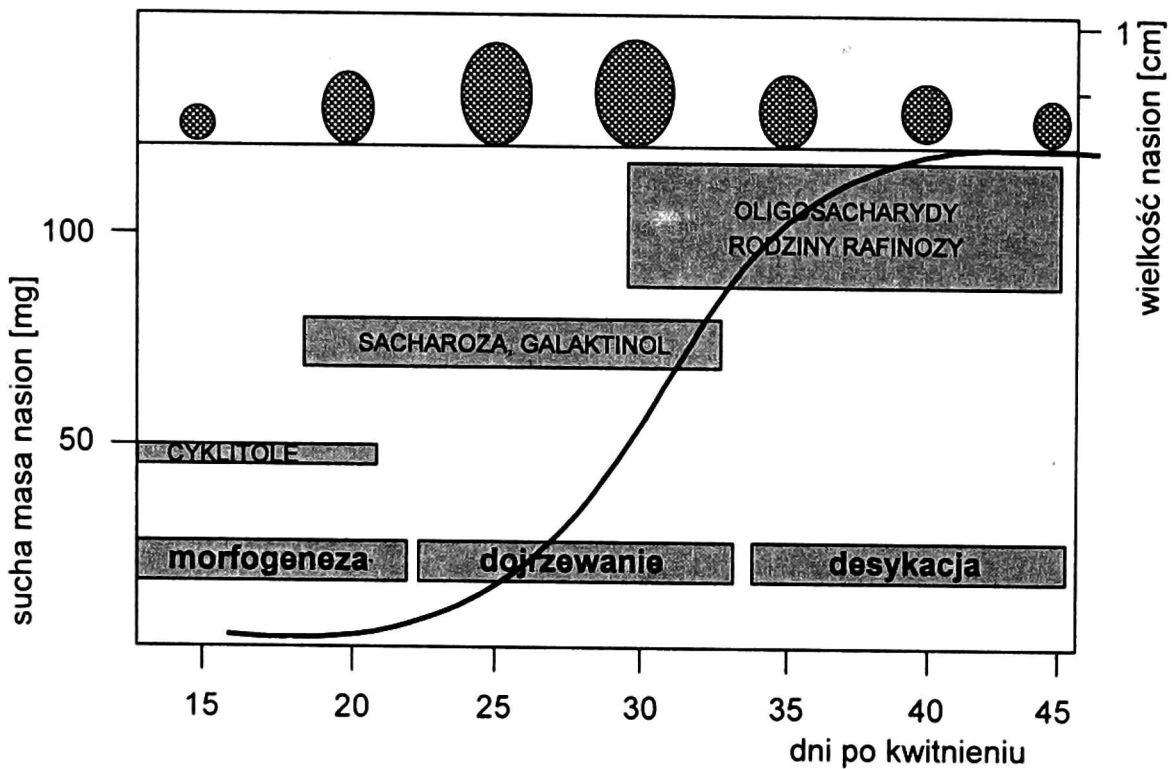
*Katedra Fizjologii i Biotechnologii Roślin, Uniwersytet Warmińsko-Mazurski
ul. Oczapowskiego 1a, 10-718
e-mail: acieslak@uwm.edu.pl*

Słowa kluczowe: nasiona, tolerancja na wysychanie, typ nasion, DNA, białko, cukry rozpuszczalne

Wstęp

Nasiona to główny produkt rolniczy. Oprócz wielu cech wpływających na wartość siewną nasion główne miejsce zajmuje odporność na desykcję. Definicję tolerancji na wysychanie określić można jako zdolności kiełkowania nasion zaraz po zbiorze lub sztucznym suszeniu [18, 34]. Wszystkie nasiona roślin rolniczych charakteryzują się wysoką tolerancją na wysychanie. Jednak wrażliwość na desykcję uzależniona jest od ich etapu rozwojowego. Pierwszy etap obejmuje zapłodnienie i kształtowanie endospermu (prabielma), drugi – zasadniczy rozwój zarodka [40], a trzeci – gromadzenie białek zapasowych, tłuszczów lub skrobi, wzrasta wówczas sucha masa nasion. Kulminacją dojrzewania jest zgromadzenie rezerw i desykcja (rys. 1). Desykcja jest powiązana z redukcją metabolizmu i wchodzeniem w stan spoczynku [27]. W zależności od tolerancji na wysychanie wyróżniono trzy typy nasion: ortodoksyjne (orthodox), wrażliwe (recalcitrant) i pośrednie. Nasiona ortodoksyjne charakteryzują się tolerowaniem strat wody do poziomu 5–10% świeżej masy, co oznacza, że mogą stracić 90–95% wody [17]. Nasiona te charakteryzują się bardzo dobrą żywotnością, nawet po długim ich przechowywaniu w warunkach niskiej wilgotności i temperatury. Zapewnia to dobre rozprzestrzenianie gatunku i chroni jednocześnie przed stresami środowiskowymi [30].

Nasiona wrażliwe na desykcję charakteryzują się brakiem wysychania podczas dojrzewania. Powoduje to w konsekwencji niską żywotność i krótki czas przechowywania nasion. Podczas ontogenezy nasiona te mają wysoką zawartość wody i nie są zdolne do tolerowania jej ubytku [4]. Należą do tej grupy nasiona drzew i traw tropi-



Rysunek 1. Akumulacja suchej masy i podstawowe etapy ontogenezy nasion na przykładzie łubinu żółtego

kalnych oraz niektóre nasiona drzew klimatu umiarkowanego, jak dąb czy klon [20, 21, 34, 39, 42]. Nasiona trzeciego typu, pośredniego, tolerują desykcję pod warunkiem, że ubytek wody nie był zbyt wysoki. Nasiona takie nie są odporne na stresy środowiskowe [24]. Należy podkreślić, że we wczesnym etapie ontogenezy nasiona wszystkich tych trzech typów nie tolerują ubytku wody [19].

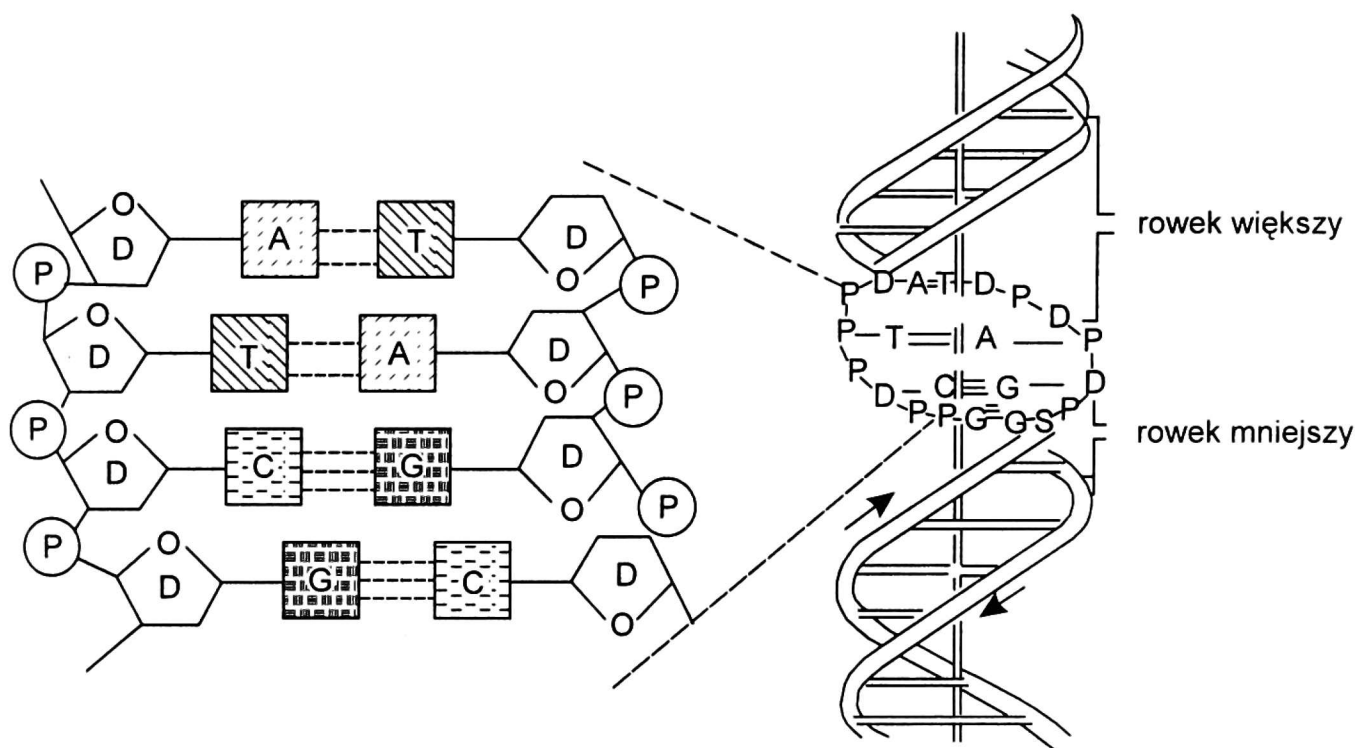
Zmiany zachodzące w nasionach pod wpływem desykcji zasadniczo można podzielić na dwie grupy:

- zmiany w obrębie DNA i ich następstwa,
- akumulacja związków o charakterze osmoprotekcyjnym.

Zmiany w obrębie DNA to najnowsza teoria uzyskiwania tolerancji na wysychanie. Związki o charakterze osmoprotekcyjnym przez lata uważano za najważniejsze w uzyskiwaniu tolerancji na wysychanie.

Zmiany w obrębie DNA

Utrzymywanie integralności i naprawa materiału genetycznego w trakcie odwadniania to najważniejsze cechy komórki. W warunkach pełnego uwodnienia cząsteczka DNA jest zbudowana z dwóch prawoskrętnych łańcuchów polinukleinowych o konformacji helikalnej. Splecione są one w podwójny helis wokół hipotetycznej osi wspólnej [3]. Dzięki temu zasady azotowe znajdują się wewnątrz, a łańcuch cukrowo-fosforanowy na zewnątrz powstałej struktury, taka α -helisa określana jest jako forma B. Wzajemne oplatanie się dwóch łańcuchów wytwarza w helisie dwa rowki, mniejszy i większy (rys. 2). W wyniku utraty wody polinukleotydy DNA ulegają prze-



Rysunek 2. Model DNA z zaznaczonymi rowkami większym i mniejszym

kształceniu, co w konsekwencji prowadzi do powstania superzwojów i nici różnych kształtów. W ten sposób naturalna forma B przechodzi stopniowo w lewoskrętną formę A, a następnie w formę Z, typową dla desykowanych nasion ortodoksyjnych [37]. W tym czasie dochodzi do inaktywacji transkrypcji mRNA, która powiązana jest z metylacją DNA i prawdopodobnie towarzyszy konwersji formy B do postaci Z DNA [47]. Helis B jest stabilizowany poprzez uwodnienie fosforanów rowka mniejszego. W tej formie cząsteczki wody przyłączone są osobno do każdej grupy fosforanowej. Podczas odwadniania woda jest sukcesywnie wycofywana. Zwiększa się ilość par zasad przypadających na jeden skręt helisy. Liczba par zasad rośnie od 10,5 w formie B, do 11 par zasad w formie A i do 12 podczas odwodnienia w formie Z. Zwiększenie liczby par zasad zmienia również odległości pomiędzy atomami tlenu w grupach fosforanowych DNA. W formie Z odległość ta wynosi 6,6 Å, w formie A – 5,3 Å i w formie Z – 4,4 Å. Zmiany konformacyjne powodują, że w formie Z przeważają dekamery AATT, w formie A oktamery – TATA, w formie Z zaś – heksamery GCGC [37]. W odwodnionych nasionach dominują pary zasad GC, które mają zdolność przyłączania o jedną cząsteczką wody mniej niż pary zasad AT [43].

Oprócz zmian w obrębie DNA podczas desykcji obserwowane są zmiany w stopniu upakowania chromatyny. W nasionach ortodoksyjnych, tolerujących desykcję, chromatyna jest zwarta, skondensowana i taki jej stan utrzymywany jest w nasionach do chwili ponownej hydratacji. Uwodnienie powoduje, że chromatyna zwarta ulega rozluźnieniu [37], co jest bezpośrednią przyczyną, że kiełkujące nasiona nie tolerują desykcji.

W nasionach wielu gatunków wyizolowano specyficzne mRNA i białka indukowane podczas odwadniania tkanek [41]. Wśród białek kodowanych genami indukowanymi poprzez deficyt wody należą białka LEA (białka późnej embriogenezy).

Białka te zostały dobrze poznane [49]. Przypisuje się im funkcje osmoprotekcyjne, funkcje białek opiekuńczych (chaperonów), rolę w sekwertacji jonów, zdolność do wiązania wody oraz funkcję białek (dehydryn) chroniących przed uszkodzeniami dehydratacyjnymi [8]. Poznano również sekwencję dehydryn. Najważniejsza ich funkcja to ochronna białek enzymatycznych, stabilizują bowiem ich strukturę i przywracają konformację w częściowo rozwiniętych łańcuchach białkowych [14]. Proces ten jest związany z właściwościami hydrofilowymi i hydrofobowymi domen występujących w pobliżu końca N bogatego w glicynę [16, 48]. Geny białek LEA są przypuszczalnie zawsze obecne w nasionach, natomiast ich mRNA-zy występują tylko podczas dojrzwania. Białka LEA są hydrofilowe, zależne od ABA i wysokiej temperatury. Pełnią one kluczową rolę podczas dojrzwania [45]. Podstawą takiej sugestii jest często obserwowana wysoka ekspresja genów LEA przy równoczesnym braku wrażliwości na wysychanie [27]. Spośród białek zaangażowanych w uzyskiwanie tolerancji na wysychanie na uwagę zasługują również białka stresu termicznego (HSP), których rola szczególnie silnie jest akcentowana u roślin rezurekcyjnych *Craterostigma plantagineum* [2].

Zmiany w metabolizmie kwasów nukleinowych, podobnie jak białek, zależą od długotrwałości i intensywności dehydratacji. Mały deficyt wody nie zmienia zawartości kwasów nukleinowych w roślinach, natomiast duży jej niedobór wywołuje zmniejszenie się poziomu kwasów nukleinowych, zwłaszcza RNA [27].

W warunkach dehydratacji następuje zmiana ekspresji wielu genów odpowiedzialnych za zmiany w metabolizmie pierwotnym komórki. Do tej grupy genów należą między innymi geny kodujące enzymy odpowiedzialne za dehydratację 3-gliceroaldehydu, karboksylację PEP oraz aktywność proteinaz cysteinowych. Dehydratacja zmienia też ekspresję genów odpowiedzialnych za skład i właściwości błon (syntaza S-adenozylometioniny) oraz genów usprawniających liczbę obrotu poszczególnych białek i genów kodujących syntezę ubikwityny [13].

Akumulacja związków o charakterze osmoprotekcyjnym

Podczas desykcji zidentyfikowano w nasionach rozliczną grupę związków chemicznych zapobiegających niekorzystnym zmianom podczas ubytku wody. Należą do nich fruktany, glicyno-betaina, glutamina, karnityna, mannitol, poliole, prolina, sorbitol, trechaloza, sacharoza i oligosacharydy rodziny rafinozy (RFO). Związki te są zróżnicowane pod względem chemicznym, ale ich działanie i rola są bardzo podobne. Wszystkie włączane są na powierzchni białek, osłaniają je i utrzymują w stanie uwodnionym [50, 51]. Spośród osmoprotektantów dobrze poznane są sacharoza i oligosacharydy rodziny rafinozy (RFO). Rola RFO i prawdopodobnie galaktozylocyklioli (GC) polega na współtworzeniu stanu szklistego [38] i udziale w tzw. hipotetycznym zastąpieniu wody [15]. W czasie dehydratacji RFO i GC zastępują cząsteczki

wody naturalnie związanej z powierzchnią membran. Zastąpienie wody przez grupy hydroksylowe cukrów [44] utrzymuje prawidłową przestrzeń pomiędzy członami lipidów, chroniąc je przed destrukcją. Usunięcie wody powoduje przejście fazowe lipidów i śmierć komórki. W procesach tych błony biologiczne stają się bardziej sztywne i wzrasta energia aktywacji umiejscowionych w nich enzymów. Zmiany te noszą nazwę termotropowej zmiany fazy lipidów.

Temperatura zmienia również stan uporządkowania reszt kwasów tłuszczowych. Kwasy tłuszczowe wielonienasycone trudniej ulegają uporządkowaniu aniżeli kwasy tłuszczowe nasycone. Zmiana płynności błony biologicznej lub pewnych jej domen, wywołana przez temperaturę, modyfikuje strukturę i funkcje białek błonowych [11]. Reakcja błon na zmianę temperatury zależy również od zawartości steroli w błonie oraz ich oddziaływań pomiędzy sobą i innymi związkami organicznymi [52]. Dla większości roślin chłodno-wodnych przejście fazowe przypada na temperaturę 10°C. Jeżeli cząsteczka fosfatydyloglicerolu zawiera kwasy tłuszczowe nasycone (mające wysoką temperaturę topnienia), wówczas łatwo dochodzi do przejścia fazowego fosfolipidów. Dopiero przejście fazowe fosfatydyloglicerolu daje początek przejściom fazowym innych fosfogalaktolipidów sąsiadujących z fosfatydyloglicerolem.

Stan szklisty (krystaliczny) uzależniony jest od samej komórki [1]. Charakteryzuje się wysokim współczynnikiem elastyczności i lepkości [22]. Powstaje w niskiej temperaturze, przy małej zawartości wody, co wpływa korzystnie na przedłużanie żywotności nasion [9]. W stanie szklistym szczególnie porządane są oligosacharydy rodziny rafinozy i galaktozylocyklitole, bowiem ich wysoka masa cząsteczkowa przyczynia się do podwyższenia temperatury przejścia fazowego fosfolipidów [20]. Szczególnie duże ilości oligosacharydów i galaktozylocyklitoli akumulują nasiona roślin strączkowych [39] i dlatego spośród nasion roślin rolniczych najlepiej tolerują suszę. Sugerowano, że obecność rafinozy, stachiozy i werbaskozy w nasionach hamuje krystalizację sacharozy podczas wysychania [29]. Sacharoza dość łatwo krystalizuje, wątpliwa jest jednak rola rafinozy w zapobieganiu lub całkowitym hamowaniu jej krystalizacji [12, 28]. Szybkość krystalizacji *in vitro* uzależniona jest od temperatury, co istotnie podważa rolę RFO w zapobieganiu krystalizacji sacharozy [10]. Obecność sacharozy nie jest na pewno wystarczającym czynnikiem, aby zapewnić tolerancję na wysychanie [7]. Jednak udział RFO i GC w uzyskiwaniu tolerancji na wysychanie jest bezsprzeczny. W nasionach, w których nie występują oligosacharydy rodziny rafinozy, tolerancję na wysychanie zapewniają galaktozylocyklitole. Występują one w nasionach gryki, która akumuluje w odpowiedzi na stres desykacyjny [35] fagopyritol (galakto-*chiro*-inozytol). Zarodki somatyczne lucerny również akumulują galaktozylocyklitole podczas uzyskiwania tolerancji na wysychanie [25]. Inną zaletą RFO i GC jest zmniejszanie poziomu monosacharydów, glukozy, fruktozy i galaktozy. Substraty te są zużywane bowiem do syntezy oligosacharydów [31]. Z drugiej strony niski poziom monocukrów ogranicza reakcje Mailarda, które są niszczycielskie wobec białek [5]. Sacharoza, oligosacharydy rodziny rafinozy i galaktozylocyklitole mogą działać

jak „zmiatacze wolnych rodników”, co ma szczególne znaczenie w tkankach wrażliwych (recalcitrant) na wysychanie [46]. Przed formami wolnorodnikowymi dojrzewające nasiona mogą być chronione także przez enzymatyczne (dysmutazy, katalazy, peroksydazy) i nieenzymatyczne antyutleniacze (barwniki fotosyntetyczne, glutation, askorbinian, tokoferol). Koncentracje tych związków zmieniają się w zależności od typu tkanki i gatunku. Rola procesów antyoksydacyjnych w ograniczaniu uszkodzeń podczas suszenia jest procesem powszechnie znanym [32].

Ostatnie badania fizjologiczne [6], molekularne [23] i biofizyczne [20] dowodzą, że związki o charakterze osłaniającym nie są bezpośrednim i na pewno nie jedynym czynnikiem zapewniającym uzyskiwanie tolerancji na wysychanie. Mechanizm uzyskiwania tolerancji na wysychanie przez nasiona jest wielopłaszczyznowy i jeden z wymienionych czynników nie zapewnia tolerancji na wysychanie. Uzyskanie tolerancji na wysychanie wymaga określonych zmian w obrębie DNA, białek, lipidów jak również odpowiedniego poziomu akumulacji związków o charakterze osmoprotekcyjnym.

Podsumowanie

Praca obejmuje najnowsze osiągnięcia fizjologii dojrzewania nasion. Kształtowanie się tolerancji na wysychanie zależy od zmian konformacyjnych DNA, akumulacji białek późnej embriogenezy i akumulacji związków o charakterze osmoprotekcyjnym. Zmiany w metabolizmie dojrzewających nasion warunkują długotrwałość i intensywność dehydratacji. Obecnie wiadomo, że związki o charakterze osmoprotekcyjnym nie są jedynymi kształtującymi tolerancję na wysychanie, a ich rola ogranicza się tylko do zmniejszenia skutków dehydratacji. Najbardziej prawdopodobną hipotezą przyszłościową są zmiany konformacyjne DNA. Należy sadzić, że pełne wyjaśnienie tego procesu jest możliwe tylko na poziomie molekularnym.

Literatura

- [1] Angell C.A. 1990. Relaxation, glass formation, nucleation, and rupture in normal and water-like liquids. W: Correlation and connectivity. Stanley H.E., Ostrowsky N. (red.), Netherlands, Kulwer Academic Publishers: 133–160.
- [2] Alamillo J., Almoguera C., Bartels D., Jordano J. 1995. Constitutive expression of small heat shock proteins in vegetative tissues of the resurrection plant *Craterostigma plantagineum*. *Plant Molecular Biology* 29: 1093–1099.
- [3] Alberts B., Bray B., Johnson A., Lewis J., Raff M., Roberts K., Walter P. 1999. Podstawy biologii komórki. Wprowadzenie do biologii molekularnej. PWN, Warszawa: 186–187.
- [4] Berjak P., Pammenter N.W. 1997. Progress in the understanding and manipulation of desiccation-sensitive (recalcitrant) seeds. W: Basic and Applied Aspects of Seed Biology:

- Proceedings of the Fifth International Workshop on Seeds, Reading, 1995. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers: 689–703.
- [5] Bewley J.D., Black M. 1994. *Seeds Physiology of Development and Germination*, Second Edition. New York, Plenum Press: 445 ss.
- [6] Black M., Corbineau F., Gee H., Côme D. 1999. Water content, raffinose and dehydrins in the indication of desiccation tolerance in immature wheat embryos. *Plant Physiology* 120: 463–471.
- [7] Brenac P., Horbowicz M., Downer S.M., Dickerman A.M., Smith M.E., Obendorf R.L. 1997. Raffinose accumulation related to desiccation tolerance during maize (*Zea mays* L.) seed development and maturation. *Journal of Plant Physiology* 150: 481–488.
- [8] Bruggink G.T., Ooms J.J.J., Van der Toorn P. 1999. Induction of longevity in primed seeds. *Seed Science Research* 9: 49–53.
- [9] Buitink J., Hemminga M.A., Hoekster F.A. 1999. Influence of water content and temperature on molecular mobility and intercellular glasses in seeds and pollen. *Plant Physiology* 118: 531–541.
- [10] Buitink J., Hemminga M.A., Hoekster F.A. 2000. Is there a role for oligosaccharides in longevity? An assessment of intracellular glass stability. *Plant Physiology* 122: 1217–1224.
- [11] Burke M.J. 1986. The glassy state and survival of anhydrous biological systems. W: *Membranes, Metabolism and Dry Organisms*. Leopold A.C. (red), Cornell University Press, Ithaca, NY: 358–363.
- [12] Caffrey M., Fonesca V., Leopold A.C. 1988. Lipid-sugar interactions: relevance to anhydrous biology. *Plant Physiology* 86: 754–758.
- [13] Chiatante D., Brusa P. 1994. Increase of the content of QP47 (a desiccation-associated nuclear protein) in embryo cells during maturation of pea seeds. *Seed Science Research* 4: 421–429.
- [14] Close T.J., Asghar R., Meyer N., DeMason D.A. 1993. Dehydrins: Immunolocalization, purification, biochemical characterization, and model for their mode of action (abstract no. 18). *Plant Physiology* 102: 5.
- [15] Crowe J.H., Hoekster F.A., Crowe L.M. 1992. Anhydrobiosis. *Annual Review of Physiology* 86: 754–758.
- [16] Cuming A.C. 1999. LEA proteins. W: *Seeds Proteins*. Shewry P.R., Casey E. (red), Kluwer Academic Publishers: 753–780.
- [17] Ellis R.H., Hong T.D., Roberts E.H. 1990. Effect of moisture content and method of rehydration on the susceptibility of pea seeds to imbibition damage. *Seed Science and Technology* 18: 131–138.
- [18] Ellis R.H., Hong T.D., Roberts E.H. 1987. The development of desiccation-tolerance and maximum seed quality during seed maturation in six grain legumes. *Annals of Botany* 59: 23–29.
- [19] Farrant J.M., Pammenter N.W., Berjak P. 1992. Development of the recalcitrant homoiohydrous seeds of *Avicennia marina*: anatomical, ultrastructural and biochemical events associated with development from histodifferentiation to maturation. *Annals of Botany* 70: 75–86.
- [20] Farrant J.M., Pammenter N.W., Berjak P., Farnsworth E.J., Vertucci C.W. 1996. Presence of dehydrin-like proteins and levels of abscisic acid in recalcitrant (desiccation sensitive) seeds may be related to habitat. *Seed Science Research* 6: 175–182.

- [21] Finch-Savage W.E., Farrant J.M. 1997. The development of desiccation-sensitive seeds in *Quercus robur* L. Reserve accumulation and plant growth regulators. *Seed Science Research* 7: 35–39.
- [22] Franks F., Hatley R.H.M., Mathias S. 1991. Materials science and the production of shelf-stable biologicals. *Biopharmaceutical Technology* 4: 38–42.
- [23] Groot S.P.C., Van der Geest A.H.M., Tesnier K., Alonso-Blanco C., Bentsink L., Donkers H., Koornneef M., Vereugdenhil D., Bino R.J. 2000. Molecular genetics analysis of *Arabidopsis* seeds quality. W: Seeds biology, Advances and Application. Black M., Brandford K. J., Vazquez-Ramos (red), Wallingford UK, CAB International.
- [24] Hong T.D., Ellis R.H. 1997. The effect of the initial rate of drying on the subsequent ability of immature seeds of Norway maple (*Acer platanoides* L.) to survive rapid desiccation. *Seed Science Research* 7: 41–45.
- [25] Horbowicz M., Obendorf R.L., McKersie B.D., Viands D.R. 1995. Soluble saccharides and cyclitols in alfalfa (*Medicago sativa* L.) somatic embryos, leaflets, and mature seeds. *Plant Science* 109: 191–198.
- [26] Kermode A.R. 1997. Approaches to elucidate the basis of desiccation-tolerance in seeds. *Seed Science Research* 7: 75–95.
- [27] Kermode A.R., Bewley J.D. 1989. Developing seeds of *Ricinus communis* L., when detached and maintained in atmosphere of high relative humidity, switch to a germinative mode without the requirement for complete desiccation. *Plant Physiology* 90: 702–707.
- [28] Koster K.L. 1991. Glass formation and desiccation tolerance in seeds. *Plant Physiology* 96: 302–304.
- [29] Koster K.L., Leopold A.C. 1988. Sugars and desiccation tolerance in seeds. *Plant Physiology* 88: 829–832.
- [30] Leopold A.C. 1990. Coping with desiccation. W: Stress responses in plants: adaptation and acclimation mechanisms. Alscher R.G., Cumming J.R. (red), New York, Willey-Liss: 57–86.
- [31] Leprince O., Hendry G.A.F., McKersie B.D. 1993. The mechanisms of desiccation tolerance in developing seeds. *Seed Science Research* 85: 581–588.
- [32] Li CH., Sun W.Q. 1999. Desiccation sensitivity and activities of free radical-scavenging enzymes in recalcitrant *Theobroma cacao* seeds. *Seed Science Research* 9: 209–217.
- [33] Lin T.P., Huang N.H. 1994. The relationship between carbohydrate composition of some tree seeds and their longevity. *Journal of Experimental Botany* 45: 1289–1294.
- [34] Long C.A., Dale R.M.K., Sussex I.M. 1981. Maturation and germination of *Phaseolus vulgaris* embryonic axes in culture. *Planta* 153: 405–415.
- [35] Obendorf R.L. 1998. Buckwheat fagopyritols. W: Advances in Buckwheat Research, Campbell C., Przybylski R. (red), Seventh International Symposium on Buckwheat, Winnipeg, Manitoba, Canada (August 12–14, 1998). Winnipeg, Manitoba, Canada, Published by Organizing Committee under the auspices of the International Buckwheat Research Association: 65–71.
- [36] Obendorf R.L. 1997. Oligosaccharides and galactosyl cyclitols in seed desiccation tolerance (Review Update). *Seed Science Research* 7: 63–74.
- [37] Osborne D.J., Boubriak I.I. 1994. DNA and desiccation tolerance. *Seed Science Research* 4: 175–185.

- [38] Górecki R.J., Piotrowicz-Cieślak A.I., Lahuta L., Obendorf R.L. 1997. Soluble carbohydrates in desiccation tolerance of yellow lupin seeds during maturation and germination. *Seed Science Research* 7: 107–115.
- [39] Pritchard H.W., Haye A.J., Wright W.J., Steadman K.J. 1995. A comparative study of seed viability in *Inga* species: Desiccation tolerance in relation to the physical characteristics and chemical composition of the embryo. *Seed Science and Technology* 23: 85–100.
- [40] Raghavan V. 1986. Embryogenesis in Angiosperms. A developmental and experimental study, Cambridge, Cambridge University Press: 103–114.
- [41] Ried J.L., Walker-Simmons M.K. 1993. Group 3 late embryogenesis abundant proteins in desiccation-tolerant seedlings of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Physiology* 102: 125–131.
- [42] Salmen Eswpindola L., Noin M., Corbineau F., Côme D. 1994. Cellular and metabolic damage induced by desiccation in recalcitrant *Araucaria angustifolia* embryos. *Seed Science Research* 4: 193–201.
- [43] Seanger W., Hunter W.N., Kennard O. 1986. DNA conformation is determined by economics in the hydration of phosphate groups. *Nature* 324: 358–388.
- [44] Sun W.Q., Leopold A.C., 1994. Glassy state and seed storage stability: a viability equation analysis. *Annals of Botany* 74: 601–604.
- [45] Vernon D.M., Meinke D.W. 1995. Late embryo-defective mutants of *Arabidopsis*. *Developmental Genetics* 16: 311–320.
- [46] Vertucci C.W., Farrant J.M. 1995. Acquisition and loss of desiccation tolerance. W: Seed development and germination. Kigel J., Galili G. (red.), New York, Marcel Dekker Inc.: 237–271.
- [47] Wolfe J., Bryant G. 1999. Freezing, drying, and/or vitrification of membrane-solute-water systems. *Cryobiology* 39: 103–129.
- [48] Wolkers W.F., Van Kilsdonk M.G., Hoekster F.A. 1998. Dehydration-induced conformational changes of poly-l-lysine as influenced by drying rate and carbohydrates. *Biochimica et Biophysica Acta* 1425: 127–136.
- [49] Wolkers W.F. 2001. Isolation and characterization of D-7 LEA protein from pollen that stabilizes glasses in vitro. *Biochimica et Biophysica Acta* 1544: 196–206.
- [50] Steadman K.J., Pritchard H.W., Dey P.M. 1996. Tissue-specific soluble sugars in seeds as indicators of storage category. *Annals of Botany* 77: 667–674.
- [51] Still D.W., Kovach D.A., Bradford K.J. 1994. Development of desiccation tolerance during embryogenesis in rice (*Oryza sativa*) and wild rice (*Zizania palustris*). Dehydrin expression, abscisic acid content, and sucrose accumulation. *Plant Physiology* 104: 431–438.
- [52] Strauss G., Hauswr H. 1986. Stabilization of small unilamellar phospholipid vesicles by sucrose during freezing and dehydration. W: Membranes, Metabolism and Dry Organisms. Leopold A.C. (red.). Cornell University Press, Ithaca, NY: 318–326.

Molecular base to formation of desiccation tolerance in ripening seeds

Key words: seeds, desiccation tolerance, type of seeds, DNA, protein, soluble sugars

Summary

Traditionally the seeds have been divided into three storage behaviour classes: recalcitrant, desiccation-sensitive (orthodox) and intermediate. Desiccation tolerance is one of fundamental properties of the orthodox seeds. Desiccation evolves a water stress that leads to many physiological, phenological and morfological changes. Several hypotheses were proposed to explain the physiological basis of desiccation tolerance, including accumulation of osmoprotectants, protein synthesis and genes with upregulated expression in response to dehydration. Numerous studies on the seeds demonstrated their accumulation of soluble sugars during the acquisition of desiccation tolerance.