

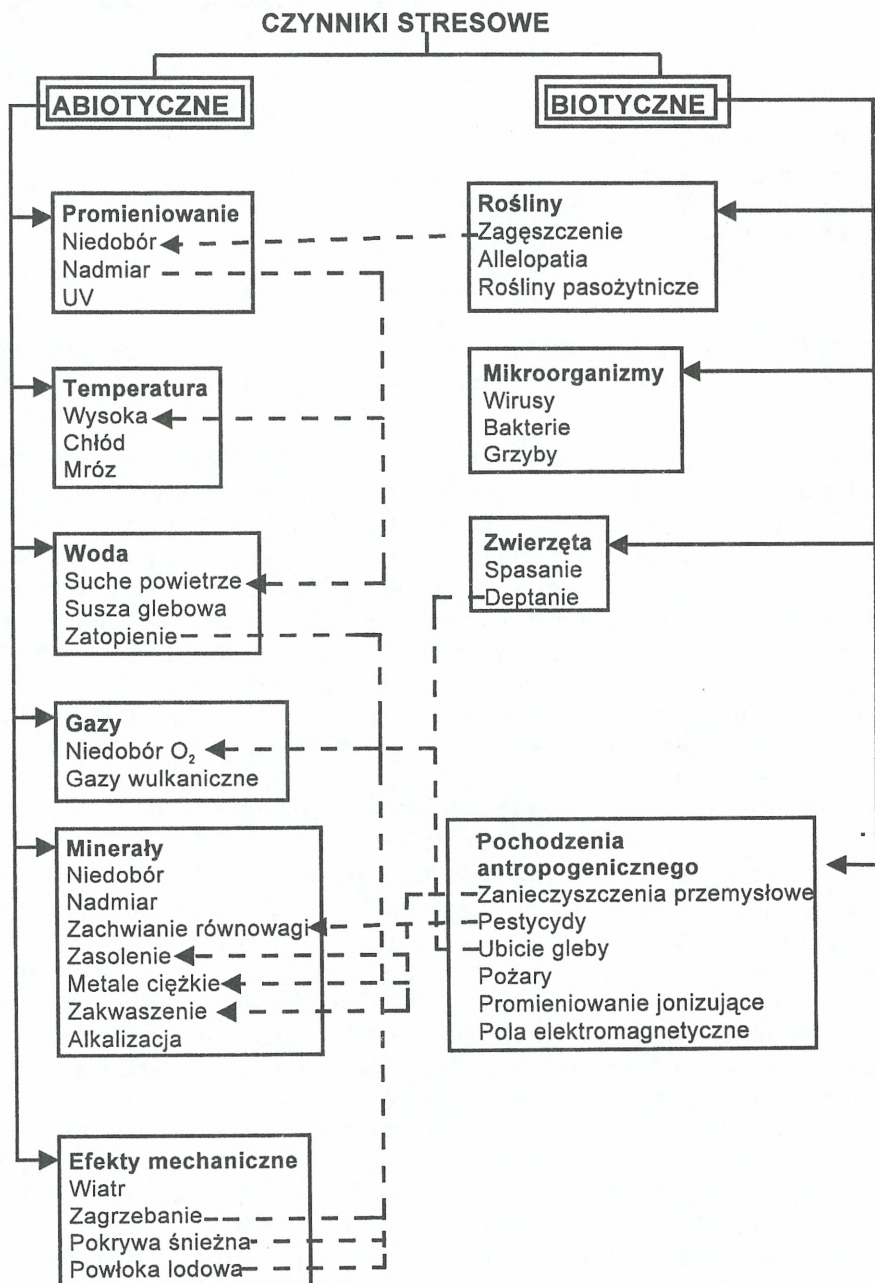
ALINA KACPERSKA

*Zakład Fizjologii Odporności Roślin, Instytut Biologii
Eksperymentalnej Roślin, Uniwersytet Warszawski,
Pawińskiego 5A, 02-106 Warszawa*

UDZIAŁ HORMONÓW ROŚLINNYCH W ODPOWIEDZI ROŚLIN NA STRESOWE CZYNNIKI ŚRODOWISKA

Rośliny rosnące w naturalnych warunkach środowiska a także te, których uprawa przebiega w szklarniach lub pod folią, są stale narażone na działanie czynników, które mogą wywołać niekorzystne dla ich organizmu skutki: mogą być przyczyną zahamowania wzrostu, niepowodzeń w rozwoju generatywnym, licznych zaburzeń metabolicznych, mogą spowodować trwałe uszkodzenia komórek, tkanek i organów, a nawet — doprowadzić do śmierci osobnika. Działanie takich czynników, określanych mianem „stresowych” lub „stresotwórczych”, może spowodować eliminację całych populacji roślin, odmian i gatunków z obszarów, na których dany czynnik lub zespół czynników działają zbyt często, zbyt długo lub zbyt intensywnie. Zestaw tych czynników, jak również ich wzajemne relacje, przedstawia rysunek 1.

Działanie czynnika stresowego powoduje w organizmie roślinnym odpowiedź, która z jednej strony może polegać na nieodwracalnych zaburzeniach struktury i funkcji komórek, które przyjęto określać mianem uszkodzeń, a z drugiej — może doprowadzić do zwiększenia odporności na stres, na przykład spowodować reakcję „aklimatyzacyjną” w przypadku stresów abiotycznych. W tym drugim przypadku początkowe zaburzenie funkcji struktur komórkowych (błon, organeli, cytoplazmy) prowadzi do modyfikacji wielu dróg metabolicznych, w tym — do zmian w ekspresji genów i syntezie białek. Taka wymuszona działaniem czynnika stresowego odpowiedź komórek, tkanek i/lub organów pozwala na lepsze dostosowanie się rośliny do aktualnych warunków środowiska, co sprawia że mogą one przetrwać nie tylko działanie czynnika stresowego wymuszającego reakcję, ale i działanie zwiększonych „dawek” tego stresu: na przykład zwiększa się odporność rośliny na stres spowodowany silniejszym odwodnieniem lub dalszym spadkiem (lub wzrostem) temperatury, zwiększoną inwazją organizmów patogenicznych lub szkodników. Często obserwuje się zjawisko zwane „cross protection” — wywołane jednym czynnikiem stresowym zmiany struktury błon i białek, podwyższające stabilność protoplazmy, przyczyniają się do zwiększenia odporności rośliny na inne stresy. Na przykład poddanie rośliny umiarkowanemu stresowi wodnemu zwiększa jej odporność na zamarzanie i *vice versa*, stres spowodowany zasoleniem może przyczynić się do zwiększenia odporności



Rys. 1. Stresowe czynniki środowiska i ich niektóre powiązania (za LARCHEREM 1995, zmodyfikowne).

roślin na zbyt niską lub zbyt wysoką temperaturę i na desykację (silne odwodnienie). Znane są też przypadki, gdy stres mechaniczny lub inwazja patogena zwiększały odporność tkanki na dehydratację. Powstaje przypuszczenie, że odpowiedź rośliny na działanie różnych czynników stresowych znajduje się pod kontrolą jakiegoś jednego, podstawowego mechanizmu.

Reakcja rośliny na czynnik stresotwórczy może zachodzić w miejscu zadziałania czynnika lub też gdzieś indziej — w jakiejś innej tkance lub organie — ma wówczas charakter systemiczny. W tym drugim przypadku, informacja o powstaniu stanu stresowego w miejscu zadziałania czynnika zostaje przekazana do innych organów: z liści do korzeni i odwrotnie lub z liści do innych części pędu. W badaniach dotyczących odpowiedzi roślin na patogeny ten pierwszy typ reakcji określa się mianem nadwrażliwości (ang. hypersensitive responses, HS) natomiast reakcje systemiczne odpowiadają za tak zwaną odporność nabytą (ang. systemic acquired resistance, SAR). Informacja o powstaniu stanu zagrożenia (stanu stresowego) może mieć różne podłoże fizyczne: może być nią szybko przemieszczające się pobudzenie elektryczne (zmiany potencjału elektrycznego błon), zaburzenia stosunków wodnych w komórkach, zaburzenia transportu jonów i metabolitów, a także lub przede wszystkim — przemieszczania się w obrębie tkanek i organów specyficznych substancji — przekaźników informacji.

Nie ulega wątpliwości, że w reakcjach dostosowawczych rośliny do środowiska uczestniczą hormony roślinne. Wiadomo obecnie, że regulatory te pośredniczą nie tylko w odpowiedziach roślin na działanie czynników zaangażowanych w regulację ich „normalnego” wzrostu i rozwoju, takich jak długość dnia lub określona długość fal świetlnych (na przykład promieniowanie w zakresie czerwieni i dalekiej czerwieni, światło niebieskie), siła ciężenia czy odpowiednia dla danego stadium rozwojowego temperatura, ale i w odpowiedziach, które wiążą się z powstaniem „stanu stresowego” w organizmie roślinnym.

Jedną z pierwszych odpowiedzi rośliny na zadziałanie czynnika stresotwórczego jest zmiana równowagi hormonalnej, typowej dla okresu poprzedzającego to działanie. Dochodzi do zwiększenia podaży jakiegoś hormonu i/lub do obniżenia poziomu innych hormonów.

Najczęściej obserwowaną odpowiedzią roślin na działanie czynnika stresowego jest obniżenie poziomu tych hormonów, które uważa się za stymulatory wzrostu roślin (giberelin, cytokinin, czasem kwasu indoliloctowego), przy równoczesnym zwiększeniu poziomu hormonów zwykle hamujących wzrost elongacyjny komórek lub przyspieszających dojrzewanie i/lub starzenie się tkanek, a więc kwasu abscysynowego (ABA), etylenu, kwasu jasmonowego lub jego estru metylowego (odpowiednio JA i JA-Me). Czy jednak można mówić, że te trzy ostatnie hormony to „hormony stresu”, inaczej hormony zaangażowane w regulację odpowiedzi roślin na stresowe czynniki środowiska? O tym, czy odpowiedź na to pytanie będzie pozytywna, mogą przesądzić następujące kryteria, dotyczące powiązań między czynnikiem a hormonem: 1) działanie czynnika stresotwórczego indukuje lub przyspiesza syntezę hormonu, 2) zahamowanie syntezy hormonu zapobiega wystąpieniu odpowiedzi na czynnik stresowy lub ją osłabia, 3) u mutantów genetycznych, charakteryzujących się niezdolnością do syntezy danego hormonu lub niewrażliwością na hormon podany z zewnątrz, nie występuje poszukiwana odpowiedź na czynnik stresowy, 4) zwiększenie podaży hor-

monu powoduje zmiany metaboliczne i modyfikacje strukturalne w komórkach podobne do tych, które wywołuje czynnik stresotwórczy, 5) reakcja na hormon pozwala osobnikowi na takie modyfikacje wzrostu i rozwoju, które przyczynia się do jego przetrwania, mimo że może to spowodować negatywne skutki dla jakiegoś organu, tkanek lub grupy komórek, na przykład prowadzi do przyspieszonego starzenia się i zrzucania liści, lignifikacji ścian, powstawania plam nekrotycznych (po ataku patogena) i innych.

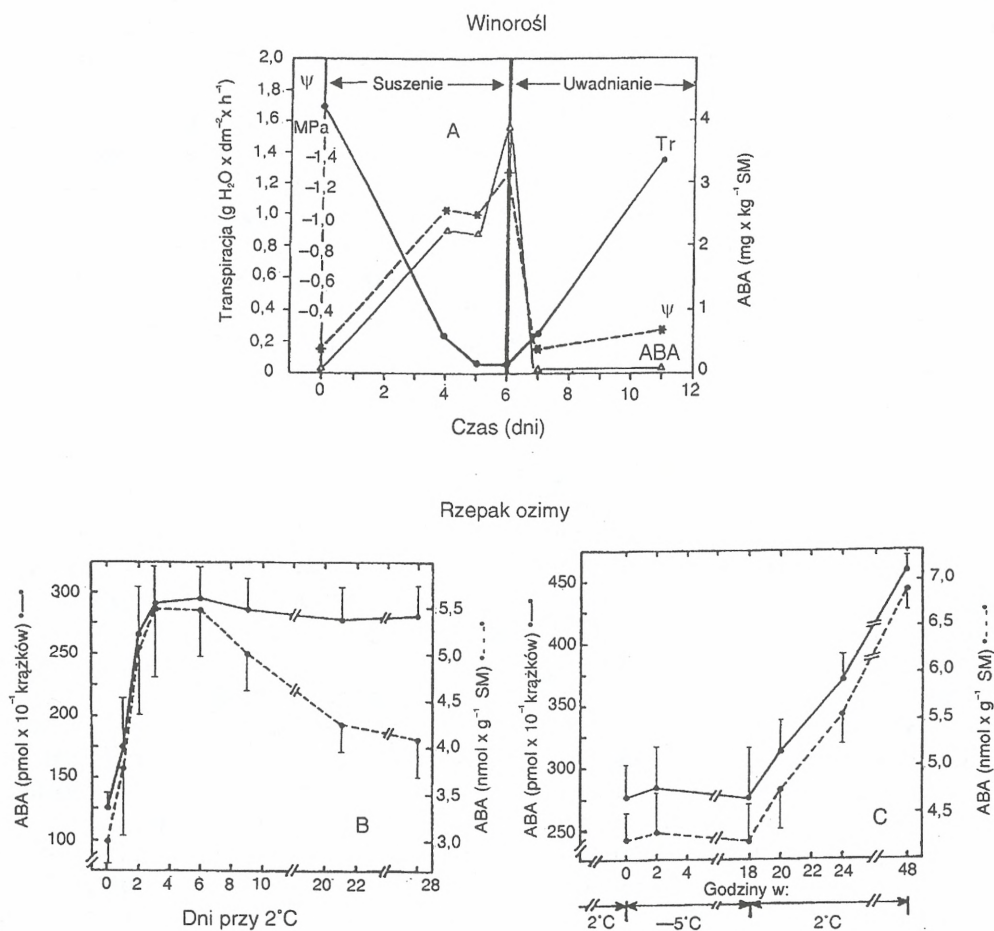
Zastosowanie tych kryteriów pozwoliło na sklasyfikowanie ABA, etylenu i JA i jego pochodnych (JA-Me) jako hormonów stresu, aczkolwiek nie zawsze wiadomo, czy dany hormon spełnia te wszystkie kryteria; w niektórych przypadkach brak jeszcze konkretnych danych. W artykule niniejszym wykorzystano niektóre tylko spośród dostępnych danych, w celu zilustrowania raczej, niż udokumentowania zjawiska.

KWAS ABSCYSYNOWY (ABA)

Kwas abscysynowy należy do seskwiterpenów, a jego prekursorem jest kwas mewalonowy. Biosynteza ABA w tkankach roślin wyższych może się odbywać na drodze bezpośredniej — w wyniku specyficznej cyklizacji pirofosforanu farnezyliu lub pośredniej — w wyniku degradacji karotenoidu — wiolaksantyny, co ostatnio wydaje się bardziej prawdopodobne (PARRY i HORGAN 1991). Poziom ABA w komórkach zależy od szybkości syntezy tego hormonu, jego translokacji z innych tkanek i organów, a także od szybkości jego katabolizmu lub wiązania w biologicznie nieczynne koniugaty.

Porównanie zmian metabolicznych, wywołanych u roślin przez różne abiotyczne czynniki stresowe, wskazuje na podobieństwo reakcji wymuszonych suszą, zasoleniem lub niską temperaturą. Zaproponowano, iż pierwotnym podłożem tych zmian może być stres wodny (BOHNERT i współaut. 1995). Nie ulega obecnie wątpliwości, że poziom kwasu abscysynowego zwiększa się szybko wszędzie tam, gdy dochodzi do zmiany stosunków wodnych w komórkach pod wpływem czynników stresowych, na przykład pod wpływem suszy, chłodu, mrozu (rys. 2), a także wysokiej temperatury i zasolenia. Wywołane tymi czynnikami niewielkie nawet obniżenie potencjału wody w komórkach korzeni i/lub liści stymuluje syntezę tego hormonu lub/i powoduje jego uwolnienie z formy związanej (nieaktywnej biologicznie). Może on przemieszczać się w ksylemie z korzeni do liści lub z chloroplastów w komórkach miękiszowych liścia do cytozolu i dalej — poprzez ściany komórkowe do komórek szparkowych, gdzie powoduje zamykanie się szparek (CORNISH i ZEEVAART 1985) lub do innych komórek i tkanek, gdzie wywołuje różnorodne efekty. Odpowiedź na ABA może wystąpić w bardzo krótkim czasie (na przykład zamykanie szparek w wyniku indukowanych przez ABA zmian w transporcie niektórych jonów do komórek szparkowych) lub wymaga dłuższego czasu do swojej realizacji (np. różnorodne odpowiedzi metaboliczne, w tym zmiany w fotosyntetycznym metabolizmie węgla, SEEMANN i SHARKEY 1987). Wskazuje to, że mechanizm działania ABA w odpowiedzi roślin na czynniki stresowe, jak i receptory tego hormonu mogą być bardzo różne.

Istnieją liczne dowody wskazujące na udział ABA w reakcjach aklimatyzacyjnych roślin. Jest to hormon polepszający gospodarkę wodną rośliny: z jednej strony powoduje zamykanie szparek, co pozwala ograniczyć transpirację, a z drugiej — może przyczyniać się do sprawniejszego pobierania i przewodzenia wody. Na przykład wykazano, że zarówno stres osmotyczny (zwiększający poziom endogennego ABA w pędach), jak i podanie ABA z zewnątrz powodowały zwiększenie eksudacji ze zdekapitowanych siewek słonecznika, co było wynikiem zarówno zwiększonego wydzielania jonów do soku ksylemu, jak i sprawniejszego pobierania wody w wyniku zwiększonego przewodnictwa hydraulicznego korzeni (LUDEWIG i współaut. 1988).



Rys. 2. Zmiany zawartości kwasu abscysynowego w tkankach roślin poddanych: A — odwodnieniu (za LARCHEREM 1995, zmodyfikowane) lub B — działaniu chłodu i C — mrozu (SMOLEŃSKA i współaut. 1995).

Wiadomo, że zwiększenie ciśnienia osmotycznego w komórkach może być ważnym elementem mechanizmu umożliwiającego wzrost komórek w warunkach stresu wodnego (warunkiem tzw. dostosowania osmotycznego). W tym

kontekście specjalnego znaczenia nabierają obserwacje, że ABA bierze udział w regulacji syntezy takich substancji osmotycznie czynnych, jak prolina (QUARRIE 1980) lub osmotyna (LA ROSA i współaut. 1992).

Przetrwanie całego osobnika w warunkach stresowych może zależeć również od innych, idukowanych przez ABA odpowiedzi, w tym odpowiedzi wzrostowo-rozwojowych. Należy do nich ograniczanie intensywności transpiracji nie tylko poprzez zamykanie szparek, ale i zmniejszenie powierzchni transpiracyjnej na skutek zrzucania liści w okresach poprzedzających występowanie ostrych niedoborów wody w środowisku: w naszym klimacie również na jesieni. W warunkach klimatu umiarkowanego lub klimatu, w którym występują sezonowo niedobory wody, duże znaczenie dla przetrwania roślin ma zapadanie pąków, bulw, cebul i nasion w stan głębokiego spoczynku. Nie ulega dziś wątpliwości, że hormonem, który indukuje i podtrzymuje stan spoczynku organów lub form przetrwalnikowych jest właśnie kwas abscysynowy.

W innych badaniach udowodniono bezpośredni wpływ ABA na poziom odporności komórek roślinnych na jakiś czynnik stresowy. I tak wykazano, że podanie ABA do zawiesiny komórkowej powodowało wzrost odporności tych komórek na zamarzanie (CHEN i GUSTA 1983), a zablokowanie syntezy ABA przez podanie fluridonu (inhibitora biosyntezy karotenoidów) spowodowało jej obniżenie. Wykazano, że ABA, który zwiększał odporność zawiesiny komórkowej na zamarzanie powodował takie zmiany w syntezie ściany komórkowej, jak niska temperatura (TANINO i współaut. 1990). Mutanty *Arabidopsis thaliana*, charakteryzujące się zablokowaniem biosyntezy ABA, nie były zdolne do zwiększenia odporności na mróz (HEINO i współaut. 1990), lub odporności na desykację (MEURS i współaut. 1992).

Udowodniono też rolę ABA w regulacji biosyntezy białek. Na przykład badanie produktów translacji *in vitro* poli(A)RNA z siewek jęczmienia, poddanych działaniu umiarkowanego stresu wodnego lub ABA wykazało, że był syntetyzowany bardzo podobny zestaw polipeptydów (GROSSI i współaut. 1992). Indukcja jednego z mRNA (1,5 kb) zachodziła pod wpływem zarówno stresu wodnego, niskiej temperatury, jak i ABA (GROSSI i współaut. 1992).

W ostatnich latach ukazało się wiele prac wskazujących, że czynniki stresowe mogą aktywować lub indukować geny *rab*, to znaczy geny, których ekspresja jest regulowana przez ABA (ang. genes responsive to ABA). Można przypuszczać, że produkty tych genów mogą być zaangażowane w procesy odpowiedzialne za aklimatyzację roślin lub za tolerowanie stresu, albo też — mogą brać udział w procesach regeneracji komórek i roślin po ustąpieniu stresu (ang. recovery). Szczegółowe omówienie genów *rab* w odpowiedzi roślin na czynniki stresowe znalazło się w artykule przeglądowym CHANDLER i ROBERTSON (1994), którzy zwracają uwagę, iż w chwili obecnej za mało jest jeszcze danych, aby mówić o fizjologicznej roli produktów genów *rab* w odporności na stresy, gdyż dla większości tych genów nie jest znana funkcja biochemiczna ich produktów. Udział genów *rab* w reakcjach roślin na czynniki stresowe możnaby zbadać wykorzystując rośliny transgeniczne, u których dochodziłoby albo do wzmożonej ekspresji danego genu (ang. over expression) albo — ekspresja ta ulegałaby zaburzeniom w wyniku wytworzenia antysensownego RNA. Tego typu podejścia sprawdzili się w badaniach dotyczących roli na przykład acylotransferazy

glicerolo-3 fosforanu w odpowiedzi roślin na chłód (MURATA i współaut. 1992) lub dehydrogenazy mannitolo-1-fosforanu w odporności roślin tytoniu na zasolenie (TARCZYŃSKI i współaut. 1993). Niestety, jak narazie brak tego typu danych na temat udziału genów *rab* w odporności roślin na stresy. Tym nie mniej, w badaniach, w których wykorzystano mutanty *Arabidopsis thaliana*, charakteryzujące się obniżoną zawartością ABA (mutacja *aba*) lub niewrażliwe na ABA (mutacja *abi*) stwierdzono, że ekspresja tylko niektórych genów *cor/lti* (ang. cold-regulated albo low temperature-induced) zależała od ABA (NORDIN i współaut. 1991). Okazało się też, że mutanty *aba* i *abi3* nie były zdolne do syntezy stabilnych w wysokiej temperaturze białek grupy LEA (ang. late embryogenesis abundant), które odgrywają prawdopodobnie ważną rolę w odporności komórek na odwodnienie. Białka należące do grupy 2 LEA, znane również pod nazwą dehydryn, często są synonimem białek RAB lub COR. Zaproponowano potencjalną rolę produktów niektórych genów *cor*, między innymi tych, które zależą od ABA: według THOMASHOW'a (1993) białka te mogą chronić błony chloroplastów przed skutkami zamarzania (na przykład białko COR15), stabilizować struktury komórkowe w warunkach desykacji (COR47, podobne do białek LEA), modyfikować proces zamarzania (białko COR6.6, homologiczne z KIN1).

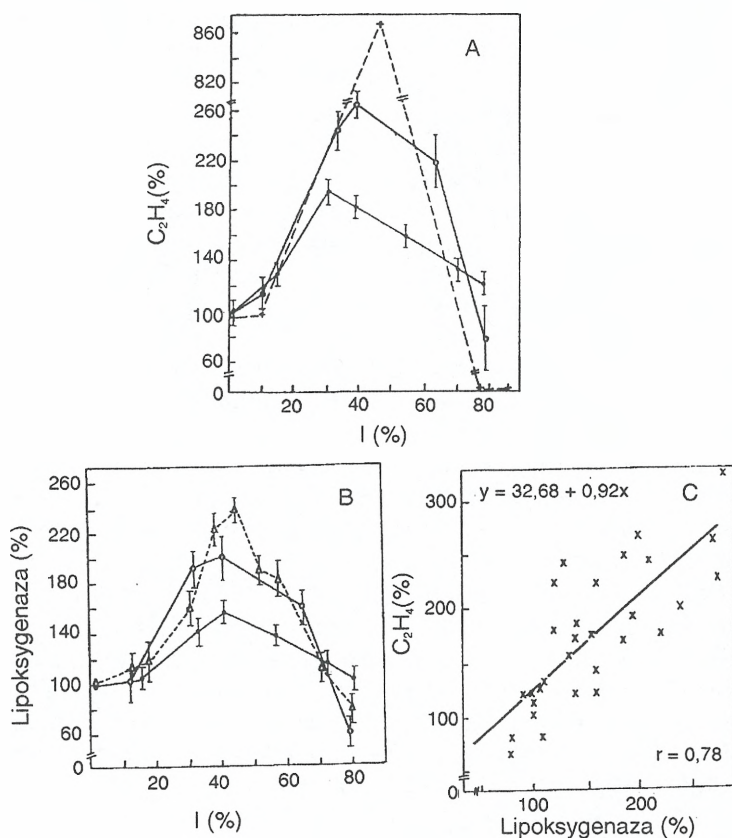
Danych wskazujących na podobieństwo molekularnych odpowiedzi komórek roślinnych na ABA i na różne czynniki stresowe przybywa coraz więcej. I tak wykazano, że podanie ABA do siewek ziemniaka powodowało indukcję i akumulację mRNA *pin2* (białkowego inhibitora proteaz) oraz dwóch innych białkowych inhibitorów, których syntezę indukowało zranienie mechaniczne tkanek (HILDMANN i współaut. 1992). W innych badaniach wykazano, że synteza niektórych białek, należących do grupy białek LEA, może zostać zaindukowana nie tylko w wyniku desykacji lub podania ABA, ale także pod wpływem kwasu jasmonowego (REINBOTHE i współaut. 1992).

Przedstawione wyżej dane wskazują, że kwas abscysynowy pełni regulującą rolę w procesach aklimatyzacyjnych, umożliwiających roślinie ograniczenie szkód, jakie może wyrządzić działanie różnych czynników stresowych. Wydaje się, że podłożem reakcji, w których bierze udział ABA, nie jest naruszenie struktury błon lecz modyfikacja ich funkcji takich, jak transport jonów i metabolitów, przemieszczanie się wody. W wyniku tych reakcji następuje spadek potencjału wody w komórkach, co jest główną przyczyną zwiększenia poziomu ABA. Nie ulega wątpliwości, że ostateczna odpowiedź rośliny na wymuszony stresem wzrost poziomu ABA zależy od skomplikowanego układu współdziałających z ABA różnych innych czynników fizjologicznych, w tym i innych hormonów stresu (patrz na przykład kwas jasmonowy).

ETYLEN

Etylen, który stanowi najprostszą olefinę (C_2H_4) i występuje w stanie gazowym, reguluje w organizmie roślinnym wiele procesów zaangażowanych we wzrost, rozwój i starzenie się tkanek, dojrzewanie owoców, a także w odpowiedzi roślin na różne stresowe czynniki środowiska. Stymulacja syntezy etylenu w tkankach poddanych działaniu stresu jest tak „uniwersalną” reakcją, że

etylen, powstający w wyniku działania czynnika stresowego określa się nazwą „etylen stresowy” lub „wound ethylene” w języku angielskim. Indukcja etylenu stresowego zachodzi w wyniku mechanicznego uszkodzenia komórek (cięcia, nakłuwania, drapania, infekcji przez owady), pod wpływem promieniowania, stresu termicznego (temperatury zbyt niskiej lub zbyt wysokiej), odwodnienia, zatopienia, oddziaływań chemicznych (herbicydów, metali, ozonu, SO_2 i innych polutantów), a także w wyniku infekcji wirusowej i ataku patogena (YANG i HOFFMAN 1984). Zachodzi tylko w żywych komórkach, które reagują na czynnik stresowy przejściową, funkcjonalną destabilizację błony komórkowej, manifestującą się niewielkim wyciekaniem jonów z komórek (rys. 3). W komórkach wykazujących duże, nieodwracalne uszkodzenia błon synteza etylenu spada, a komórka zamiera.



Rys. 3. Synteza etylenu (A) i aktywność lipoksygenazy (B) w tkankach roślinnych, wykazujących różny poziom uszkodzeń (I) spowodowanych mrozem. C — zależność między powstawaniem stresowego etylenu i aktywnością lipoksygenazy w uszkodzonych mrozem tkankach (KACPERSKA i KUBACKA-ZĘBAŁSKA 1985, zmodyfikowane).

Etylen powstaje z metioniny w wyniku jej kolejnych przemian w tak zwanym cyklu metioninowym (ADAMS i YANG 1979, YANG i HOFFMAN 1984), w którym

pośrednimi produktami przemian są S-adenosylometionina (SAM) i kwas 1-aminocyklopropano-1-karboksylowy (ACC). Wiadomo, że zwiększenie produkcji etylenu pod wpływem czynników stresowych lub elicitorów (na przykład niskocząsteczkowych produktów rozpadu ściany komórkowej) zachodzi w wyniku zwiększonej podaży bezpośredniego prekursora etylenu, ACC (YANG i HOFFMAN 1984), czego przyczyną jest aktywacja syntazy ACC. Aktywacja syntazy ACC może też zachodzić pod wpływem kwasu abscysynowego (RIOV i współaut. 1990), natomiast kwas salicylowy blokuje tę reakcję (LESLIE i ROMANI 1986). Wykazano też, że akumulacja indukowanego stresem mechanicznym transkryptu genu syntazy ACC w owocach pomidora była blokowana przez poliaminy i kwas salicylowy (LI i współaut. 1992). O poliaminach wiadomo, że zwiększają stabilność struktur komórkowych w warunkach różnych stresów, natomiast kwas salicylowy jest cząsteczką sygnałową w systemicznych odpowiedziach rośliny na atak patogena (CHEN i KLESSIG 1991).

Reakcję utlenienia ACC do etylenu katalizuje oksydaza ACC (dawniej EFE, ang. ethylene forming enzyme), która jest białkiem konstytucyjnym o poznanej już sekwencji aminokwasów (YANG i DONG 1993). Tym niemniej, w warunkach stresowych, powodujących powstawanie aktywnych form tlenu (O_2^- , OH^-) może dochodzić do nieenzymatycznego utlenienia ACC do tlenu (YANG i HOFFMAN 1984), między innymi w reakcji utleniania wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, katalizowanej przez lipoksygenazę (KACPERSKA i KUBACKA-ZĘBALSKA 1989, rys. 3).

Niewiele jest danych na temat skutków zablokowania syntezy etylenu stresowego, na przykład po podaniu inhibitorów jego syntezy (analogów winylglicyny, hydroksylaminy, jonów Co^{2+} lub Ni^{2+} , YANG i HOFFMAN 1984) lub w wyniku zastosowania technik biologii molekularnej, takich jak na przykład wprowadzenie do rośliny nonsensownego genu oksydazy ACC (HAMILTON i współaut. 1990) lub wywołanie mutacji, blokującej na przykład percepcję etylenu (LANAHAN i współaut. 1994). Zabiegi te wykonywano z powodzeniem na roślinach na przykład pomidora, skutecznie zapobiegając dojrzewaniu owoców lub starzeniu się i odpadaniu kwiatów, które to procesy przebiegały pod kontrolą etylenu. Podobnie, wysoce specyficzne efekty morfogenetyczne etylenu (zahamowanie elongacji hypokotyla, zgrubienie hypokotyli i „zaciskanie” wygięcia podwierzchołkowego hypokotyli) wykorzystano do pozyskania zarówno konstytucyjnych (zdolnych do „nadprodukcji” etylenu), jak i niewrażliwych na etylen mutantów *Arabidopsis*, które służą między innymi do badania miejsca działania etylenu w systemie transdukcji sygnału (BOWLER i CHUA 1994). Jak dotąd, brak takich prac w odniesieniu do roli etylenu w reakcjach roślin na czynniki stresowe.

Można jednak przypuszczać (HARBER i FUCHIGAMI 1989), że takie odpowiedzi roślin na etylen, jak zahamowanie elongacyjnego wzrostu tkanek i stymulacja przyrostu na grubość, przyspieszanie starzenia i odpadania liści, indukcja powstawania korzeni przybyszowych, indukcja powstawania tkanki „przewietrzającej” (aerenchymy) w korzeniach (DREW i współaut. 1981), zwiększenie osmolalności soku komórkowego, stymulacja produkcji fitoaleksyn, stymulacja syntezy bogatych w hydroksyprolinę glikoprotein, odgrywają rolę w aklimatyzacji roślin do takich stresowych czynników środowiska, jak nadmiar lub niedobór wody, zamarzanie wody, perturbacje mechaniczne (wywołane na przykład uci-

skiem lub działaniem wiatru). Ważnym elementem odporności roślin na te stresy jest modyfikacja własności ściany komórkowej pod wpływem etylenu. Wykazano między innymi, że zahamowanie biosyntezy etylenu u roślin poddanych oddziaływaniu mechanicznego stresu zapobiegało nabywaniu przez te rośliny odporności na suszę i mróz (JAFKE 1984). Poddanie roślin działaniu egzogennej etylenu zwiększało odporność roślin pomidora na suszę, a także odporność niektórych drzew owocowych na zamarzanie (HARBER i FUCHIGAMI 1989). Należy też dodać, że przyspieszone pod wpływem etylenu odpadanie liści przyczynia się do obniżenia transpiracji w warunkach stresu wodnego (poprzez ograniczenia transpirującej powierzchni).

Badania, dotyczące odpowiedzi roślin na patogeny, takie jak grzyby, bakterie i wirusy wykazały, że etylen odgrywa ważną rolę w patogenezie: w zależności od badanego systemu może albo indukować reakcje obronne w roślinie gospodarzu, albo może działać synergistycznie, przyspieszając rozwój symptomów chorobowych (BELL 1981, BOLLER 1982). Między innymi etylen uczestniczy w regulacji szlaku syntezy fenylopropanoidów, aktywując kluczowy dla tego szlaku enzym amoniakolizację fenyloalaniny (PAL), stymuluje często produkcję fitoaleksyn, przyczynia się do zablizniania ran (YANG i PRATT 1978). Udział etylenu w indukcji specyficznych genów (ang. plant defense genes) i białek (PR, ang. pathogen related) jest już dobrze udokumentowany (np. ECKER i DAVIS 1987). Przyspieszone pod wpływem etylenu powstawanie plam nekrotycznych (w wyniku degradacji komórek w miejscu infekcji), wzmożona lignifikacja ścian komórkowych, przyspieszone odpadanie liści powodują ograniczanie i hamowanie rozprzestrzeniania się patogena w obrębie rośliny (DUTTA i BIGGS 1991).

Tak więc udział etylenu w odpowiedziach roślin na różnorodne czynniki stresowe nie ulega obecnie wątpliwości. Przedstawione wyżej dane wskazują, że nie jest to dodatkowy produkt (ang. by-product) pewnych dróg metabolicznych, indukowanych stresem, jak to do dziś sugerują niektórzy badacze. Można obecnie proponować, że jest to substancja o działaniu sygnałowo-regulacyjnym. Wydaje się, że hormon ten współdziała z innymi hormonami w regulacji morfogenetycznych i fizjologicznych odpowiedzi roślin na czynniki stresowe, co prowadzi do zwiększonej odporności organizmu na stres. Mechanizm działania tego hormonu wymaga dalszych badań, wiążących się przede wszystkim z mechanizmem jego percepcji (problem receptorów) i udziału w transdukcji sygnału środowiskowego.

JASMONIANY

Kwas jasmonowy (JA) i jego ester metylowy (JA-Me) należą do powszechnie występujących w świecie roślinnym biologicznie czynnych związków cyklopentanonu (MEYER i współaut. 1984, SEMBDNER i PARTHIER 1993). Związki te mogą hamować, stymulować lub indukować wiele reakcji wzrostowych i rozwojowych w roślinach (SEMBDNER i PARTHIER 1993). Do niedawna uważane za „domniemane fitohormony”, obecnie coraz powszechniej są zaliczane do tej właśnie klasy regulatorów wzrostu i rozwoju roślin.

Substratem do syntezy kwasu jasmonowego jest nienasycony kwas tłuszczowy: kwas linolenowy, który ulega peroksydacji w reakcji katalizowanej przez lipoksygenazę. Dalsze przemiany produktów tej reakcji, 13-hydroksynadtlenku kwasu linolenowego prowadzą do powstania kwasu (+)-7-izo-jasmonowego, który ulega izomeryzacji do (-)-JA (SEMBDNER i PARTHIER 1993).

Istnieje kilka hipotez, dotyczących roli kwasu jasmonowego w życiu rośliny. Między innymi bierze się pod uwagę rolę tego związku jako czynnika zaangażowanego w regulację starzenia się tkanek lub — jako czynnika zaangażowanego w reakcję roślin na stres. Fakt, że można zablokować lub rozdzielić w czasie rozwój symptomów starzenia i specyficzne efekty działania JA (na poziomie syntezy białka) sprawia, że powiązanie syntezy JA z odpowiedziami na czynniki stresowe stało się bardziej prawdopodobne (SEMBDNER i PARTHIER 1993).

Od dawna wiadano, że w tkankach poddanych działaniu czynników stresowych, takich jak zranienie, dehydratacja, zbyt intensywne promieniowanie, niska temperatura, zachodzi peroksydacja nienasyconych kwasów tłuszczowych. Wykazano, że produktem dalszych przemian powstających w tej reakcji hydroksynadtlenków lipidów może być kwas „traumatynowy”, hipotetyczny hormon zranienia Haberlandta (ang. wound hormone), zidentyfikowany jako kwas 12-oxo-*trans*-10-dodecenowy (ZIMMERMAN i COUDRON 1979). Ostatnio udowodniono, że takie czynniki, jak zranienie (CREELMAN i współaut. 1992), elicytacja (potraktowanie tkanki niskocząsteczkowymi produktami degradacji ściany komórkowej, np. oligosacharynami) (GUNDLACH i współaut. 1992), stres osmotyczny i desykacja (BELL i MULLET 1991, WASTERNAK i współaut. 1995), a nawet dotyk wrażliwej tkanki, na przykład wąsów czepnych (WEILER i współaut. 1993) prowadzą do wzrostu zawartości endogennego kwasu jasmonowego, co powoduje zmiany w ekspresji wielu genów.

Stwierdzono, że egzogeny JA indukuje zmiany w syntezie wielu białek. Obecnie znanych jest już stosunkowo wiele białek indukowanych przez JA, określonych jako JIPs (ang. jasmonate-induced proteins). Ze względu na funkcję, jaką pełnią te białka u roślin dwuliściennych można je podzielić na 5 różnych klas (WASTERNAK i współaut. 1995). Do białek mających znaczenie w reakcjach na stres należą na pewno inhibitory proteinaz, enzymy zaangażowane w syntezę alkaloidów, lipoksygenazy, białka bogate w glicynę i hydroksyprolinę, zlokalizowane w ścianach komórkowych. Stwierdzono też indukcję białek, których funkcja nie jest znana lub tylko domniemana (SEMBDNER i PARTHIER 1993). Z zestawienia, przedstawionego w tabeli 1 wynika, że synteza wielu białek JIP może być indukowana nie tylko czynnikiem stresowym (powodującym zawsze zwiększenie poziomu endogennego JA), ale i przez inny fitohormon, kwas abscysynowy. Synteza tego hormonu, jak wiadomo, ulega indukcji pod wpływem czynników stresowych, które również indukują syntezę JA (patrz wyżej).

Z drugiej strony wiadomo, że pewne białka, których synteza zaczyna się w wyniku podania JA lub zranienia tkanki, nie ulegają indukcji pod wpływem egzogennego ABA (SEMBDNER i PARTHIER 1993). Powstaje więc pytanie, czy JA i AB współdziałają, czy działają niezależnie na drodze transdukcji sygnału? Poszukiwanie odpowiedzi na to pytanie jest przedmiotem dalszych badań, ale już obecnie dostępne dane przemawiają za komplementarnym oddziaływaniem ABA i JA na drodze przewodzenia sygnału (SEMBDNER i PARTHIER 1993), co się

zgadza z poprzednio sformułowanym przypuszczeniem, że w odpowiedziach, w których uczestniczy ABA, nie dochodzi do naruszenia struktury błony lecz do zmian potencjału wody w komórce. Natomiast synteza JA jest uwarunkowana uwolnieniem nienasyconych kwasów tłuszczowych z lipidów błon, co zachodzi w wyniku aktywacji odpowiednich acylohydrolaz przez czynnik stresowy.

Tabela 1

Białka indukowane kwasem jasmonowym lub estrem kwasu jasmonowego (wg SEMBDNERA i PARTHIERA 1993).

Białko	Pochodzenie	Ciężar cząsteczkowy (kDa)	Inne induktory
Inhibitory proteinazy I i II	liście pomidora	8, 12	ABA, zranienie
Inhibitor proteinazy I	liście ziemniaka		ABA, sacharoza
Inhibitor trypsyny	liście lucerny	6	zranienie
Lipoksygenaza	siewki soi, grochu		zranienie
Amoniakoliza fenylalaniny	liście jęczmienia		zranienie, desykacja
Syntaza chalkonowa	zawiesina komórkowa z soi		oligosacharyny
Białka zapasowe z tkanek wegetatywnych (alfa i beta)	soja: liście, siewki, kultury komórkowe	27 (28), 29 (31) 94	zranienie, desykacja, cukry rozpuszczalne
Napina, krucyferyna	zarodki rzepaku		zranienie
Białka o nieznannej funkcji (wśród nich domniemane białka osmoprotekcyjne)	wycinki z liści jęczmienia	10/12, 23, 30, 37, 52, 66/68, 88	ABA, sorbitol, cukry, desykacja
Białka o nieznannej funkcji (wśród nich podobne do LEA?)	liścienie bawełny	18, 20, 23, 25, 30, 35, 40, 67	ABA
Nieznana funkcja	liście pomidora	63, 5, 87	zranienie

PODSUMOWANIE

Na podstawie przedstawionych wyżej danych można proponować, iż trzy omówione fitohormony: kwas abscysynowy, etylen i kwas jasmonowy pełnią regulacyjną rolę w odpowiedzi roślin na czynniki stresowe, a więc można je określać jako hormony stresu. Należałoby się jednak zastanowić, czy termin ten jest adekwatny w stosunku do roli, którą pełnią w komórkach roślinnych. Czy nie należałoby ich wydzielić w odrębną grupę substancji, których rola wiązałaby się przede wszystkim z przewodzeniem sygnału w organizmie roślinnym (ang. plant-specific signal transmitter substances), do której należałoby zaliczyć też oligosacharyny i pewne oligopeptydy tak, jak to zaproponowali SEMBDNER i PARTHIER (1993)? A jeśli tak, to do tej grupy substancji należałoby dodać jeszcze (a może przede wszystkim ?) kwas salicylowy, który jest produktem peroksydacji flawonoli i który w roślinach pełni funkcję „endogennego” sygnału w reakcjach roślin na patogena (JONES 1994). Związek ten może powstawać w miejscu

zranienia, gdzie bierze udział w reakcjach nadwrażliwości (ang. hypersensitive reaction) lub — może zostać przeniesiony we floemie lub w strumieniu transpiracyjnym w ksylemie do innych części rośliny, gdzie powoduje reakcję obronną typu systemicznego (ang. systemic acquired response, SAR) w wyniku szybkiej indukcji ekspresji genów *pr* (ang. pathogen-related). Należy tu dodać, że prace CHENA i współpracownikw z grupy KLESSIGA (CHEN i KLESSIG 1991, CHEN i współaut. 1993) wykazały, iż działanie kwasu salicylowego może się wiązać z zahamowaniem katalazy, enzymu usuwającego aktywne formy tlenu w komórkach eukariotycznych. Rysuje się fascynująca możliwość, iż pierwotnym podłożem różnych odpowiedzi roślin na czynniki stresowe, naruszające strukturę błon, jest zwiększenie ilości aktywnych form tlenu, które powstają między innymi w reakcji peroksydacji lipidów, katalizowanej przez lipoksygenazę. W tym kontekście etylen, kwas jasmonowy i salicylowy mogłyby uczestniczyć w regulacji odpowiedzi „alarmowych” na czynnik stresowy, w przeciwieństwie do odpowiedzi „fizjologicznych”, w których regulacji zaangażowany byłby przede wszystkim kwas abscysynowy. Zastanowienie się nad tym problemem mogłoby być tematem odrębnego opracowania.

THE PHYTOHORMONE INVOLVEMENT IN PLANT RESPONSES TO ENVIRONMENTAL STRESS FACTORS

Summary

On the basis of the current literature data the following criteria of the hormone involvement in plant responses to stress factors are discussed: 1) the relationship between the stress action and synthesis of a hormone, 2) the effects of inhibition of a hormone synthesis on plant responses to different stressors, 3) the effects of an exogenous hormone on plant metabolism, with special emphasis on the stress- or hormone-induced alterations in gene expression and protein synthesis, 4) the hormone-induced modifications in plant growth and development, which may be of significance in avoidance or tolerance of different environmental constraints. It is shown that three phytohormones: abscisic acid, ethylene and jasmonates comply with most of the proposed requirements for the putative role of a hormone in plant stress responses. Therefore, they can be considered as "stress hormones". Abscisic acid-dependent responses seem to be related primarily to alterations in plant/tissue water status. On the other hand, ethylene and jasmonates seem to be involved in the control of alarm reactions in plants, which are triggered by structural destabilization of a membrane and lipid peroxidative breakdown.

LITERATURA

- ADAMS D. O., YANG S. F., 1979. *Ethylene biosynthesis: identification of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid as an intermediate in the conversion of methionine to ethylene*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76, 170-174.
- BELL A. A., 1981. *Biochemical mechanisms of disease resistance*. Annu. Rev. Plant Physiol. 32, 21-81.
- BELL E., MULLET J. E., 1991. *Lipoxygenase gene expression is modulated in plants by water-deficit, wounding and methyl-jasmonate*. Mol. Gen. Genet. 230, 456-462.
- BOHNERT H. J., NELSON D. E., JENDSEN R. G., 1995. *Adaptations to environmental stresses*. The Plant Cell 7, 1099-1111.
- BOLLER T., 1982. *Ethylene-induced biochemical defenses against pathogens*. [W:] *Plant Growth Substances*. WAREING P. F. (red.). Academic Press New York, NY, 303-312.
- BOWLER C., CHUA N. -H., 1994. *Emerging themes of plant signal transduction*. The Plant Cell 6, 1529-1541.

- CHANDLER P. M., ROBERTSON M., 1994. *Gene expression regulated by abscisic acid and its relation to stress tolerance*. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 45, 113-141.
- CHEN T. H., -H., GUSTA L. V., 1983. *Abscisis acid-induced freezing tolerance in cultured plant cells*. Plant Physiol. 73, 71-76.
- CHEN Z., KLESSIG D. F., 1991. *Identification of a soluble salicylic binding protein that may function in signal transduction in the plant disease resistance response*. Proc.Natl. Acad. Sci. USA 88, 8179-8183.
- CHEN Z., SILVA H., KLESSIG D. F., 1993. *Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid*. Science 262, 1883-1886.
- CORNISH K., ZEEVAART A. D., 1985. *Movement of abscisic acid into the apoplast in response to water stress in Xanthium strumarium L*. Plant Physiol. 78, 623-626.
- CREELMAN R. A., TIERNEY M. L., MULLET J. E., 1992. *Jasmonic acid/methyl jasmonate accumulate in wounded soybean hypocotyl and modulate wound gene expression*. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89, 4938-4941.
- DUTTA S., BIGGS R. H., 1991. *Regulation of ethylene biosynthesis in citrus leaves infected with Xanthomonas campestris pv. citri*. Physiol. Plant. 82, 225-230.
- DREW M. C., JACKSON M. B., GIFFARD S. C., CAMPBELL R., 1981. *Inhibition by silver ions of gas space (aerenchyma) formation in adventitious roots of Zea mays L. subjected to exogenous ethylene or to oxygen deficiency*. Planta 153, 217-224.
- ECKER J., DAVIS R. W., 1987. *Plant defense genes are regulated by ethylene*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84, 5202-5206.
- GROSSI M., CATIVELLI L., TERZI V., STANCA M., 1992. *Modification of gene expression induced by ABA, in relation to drought and cold stress in barley shoots*. Plant Physiol. Biochem. 30, 97-103.
- GUNDLACH H., MÜLLER M. J., KUTCHAN T. M., ZENK M. H., 1992. *Jasmonic acid is a signal transducer in elicitor-induced plant cell culture*. Proc.Natl. Acad. Sci. U.S.A. 89, 2389-2393.
- HAMILTON A. J., LYCETT G. W., GRIERSON D., 1990. *Antisense gene that inhibits synthesis of the hormone ethylene in transgenic plants*. Nature 346, 284-287.
- HARBER R. M., FUCHIGAMI L. H., 1989. *Ethylene-induced stress resistance*. [W:] *Low Temperature Stress Physiology in Crop Plants*. Li P. H. (red). CRC Press, Boca Raton, Florida, 81-89.
- HILDMAN T., EBNETH M., PENA-CORTÉS SÁNCHEZ-SERRANO J. J., WILLMITZER L., PRAT S., 1992. *General roles of abscisic and jasmonic acids in gene activation as a result of mechanical wounding*. The Plant Cell 4, 1157-1170.
- HEINO P., SANDMAN G., LANG V., NORDIN K., PALVA E. T., 1990. *Absciscic acid deficiency prevents the development of freezing tolerance in Arabidopsis thaliana (L.) Heynh*. Theor. Appl. Genet. 79, 801-806.
- JAFFE M. J. 1984., *The involvement of callose and elicitors in ethylene production caused by mechanical perturbation*. [W:] *Ethylene: Biochemical, Physiological and Applied Aspects*. FUCHS Y., CHALUTZ E. (red).Marinus Nijhoff/Dr. W. Jung Pub., The Netherlands, 199-204.
- JONES A. M., 1994. *Surprising signals in plant cells*. Science 263, 183-184.
- KACPERSKA A., KUBACKA-ZEBALSKA M., 1985. *Is lipoxygenase involved in the formation of ethylene from ACC ?* Physiol. Plant. 18, 339-347.
- KACPERSKA A., KUBACKA-ZEBALSKA M., 1989. *Formation of stress ethylene depends both on ACC synthesis and the activity of free radical-generating system*. Physiol.Plant. 77, 231-237.
- LANAHAN M. B., YEN H. -C., GIOVANNONI J. J., KLEE H. J., 1994. *The Never Ripe mutation blocks ethylene perception in tomato*. The Plant Cell. 6, 521-530.
- LARCHER W., 1995. *Physiological Plant Ecology*. Berlin-Heidelberg, 332-334.
- LA ROSA P. C., CHEN Z., NELSON D. E., SINGH N. K., HASEGAWA P. M., BRESSAN R. A., 1992. *Osmotin gene expression is postranscriptionally regulated*. Plant Physiol. 100, 409-415.
- LESLIE C. A., ROMANI R. J., 1986. *Salicylic acid: a new inhibitor of ethylene biosynthesis*. Plant Cell Rep. 5, 144-146.
- LI N., PARSONS B., LIU D., MATTOO A. K., 1992. *Accumulation of wound-inducible ACC synthase transcript in tomato fruit is inhibited by salicylic acid and polyamines*. Plant Molecular Biology 18, 477-487.
- LUDEWIG M., DÖRFLING K., SEIFERT H., 1988. *Absciscic acid and water transport in sunflowers*. Planta 175, 325-333.
- MEYER A., MIERSCH O., BUTTNER C., DATHE W., SEMBDNER G., 1984. *Occurrence of plant growth regulator jasmonic acid in plants*. J. Plant Growth Regul. 3, 1-8.
- MEURS C., BASRA A. S., KARSSSEN C. M., van LOON L. C., 1992. *Role of abscisic acid in the induction of desiccation tolerance in developing seeds of Arabidopsis thaliana*. Plant Physiol. 98, 1489-1493.

- MURATA N., ISHIZAKI-NISHIZAWA O., HIGASHI S., HAYASHI H., TASAKA Y., NISHIDA I., 1992. *Genetically engineered alteration in chilling sensitivity of plants*. *Nature* 356, 710–713.
- NORDIN K., HEINO P., PALVA E. T., 1991. *Seperate signal pathways regulate the expression of a low temperature-induced gene in Arabidopsis thaliana (L.) Heynh.* *Plant Mol. Biol.* 16, 1061–1071.
- PARRY A. D., HORGAN R., 1991. *Carotenoids and abscisic acid (ABA) biosynthesis in higher plants.* *Physiol. Plant.* 82, 320–326.
- QUARRIE S. A., 1980. *Genotypic differences in leaf water potential, abscisic acid and proline concentrations in spring wheat during drought stress.* *Ann. Bot.* 46, 393–394.
- REINBOTHE S., REINBOTHE C., LEHMANN J., PARTHIER B., 1992. *Differential accumulation of methyl jasmonate-induced mRNAs in response to abscisic acid and desiccation in barley (Hordeum vulgare).* *Physiol. Plant.* 86, 49–56.
- RIOV J., DAGAN E., GOREN R., YANG S. F., 1990. *Characterization of abscisic acid-induced ethylene production in Citrus leaf and tomato fruit tissues.* *Plant Physiol.* 92, 48–53.
- SEMBDNER G., PARTHIER B., 1993. *The biochemistry and the physiological and molecular actions of jasmonates.* *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 44, 569–589.
- SEEMANN J. R., SHARKEY T. D., 1987. *The effect of abscisic acid and other inhibitors on photosynthetic capacity and the biochemistry of CO₂ assimilation.* *Plant Physiol.* 84, 696–700.
- SMOLEŃSKA G., GAWROŃSKA H., KACPERSKA A., 1995. *Modifications of abscisic acid level in winter oilseed rape leaves during acclimation of plants to freezing temperatures.* *Plant Growth Regulation* 17, 61–65.
- TANINO K. K., CHEN T. H. H., FUCHIGAMI L. H., WEISER C., 1990. *Metabolic alterations associated with abscisic acid-induced frost hardiness in bromegrass suspension culture.* *Plant Cell Physiol.* 31, 505–511.
- TARCZYŃSKI M. C., JENSEN R. G., BOHNERT H. J., 1993. *Stress protection of transgenic tobacco by production of osmolyte mannitol.* *Science* 259, 508–510.
- THOMASHOW M. F., 1993. *Genes induced during cold acclimation in higher plants.* [W:] *Advances in Low-Temperature Biology*. STEPONKUS P. L. (red.). JAI Press Ltd London, England, Greenwich, Connecticut, 183–210.
- WASTERNAK C., ATZORN R., LEOPOLD J., FEUSSNER I., RADEMACHER W., PARTHIER B., 1995. *Synthesis of jasmonate-induced proteins in barley (Hordeum vulgare) is inhibited by the growth retardant tetcyclasis.* *Physiol. Plant.* 94, 335–341.
- WEILER E. W., ALBRECHT T., GROTH B., XIA Z. -Q., LUXEM M., ANDERT L., SPENGLER P., 1993. *Evidence for the involvement of jasmonates and their octadecanoid precursors in the tendril coiling response of Bryonia dioica Jacq.* *Phytochemistry* 32, 591–600.
- YANG S. F., DONG J. G., 1993. *Recent progress in research of ethylene biosynthesis.* *Bot. Bull. Acad. Sin.* 34, 89–101.
- YANG S. F., HOFFMAN N. E., 1984. *Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants.* *Annu. Rev. Plant Physiol.* 35, 155–189.
- YANG S. F., PRATT H. K., 1978. *The physiology of ethylene in wounded tissue.* [W:] *Biochemistry of Wounded Plant Tissue*. KAHL G. (red). deGruyter, Berlin, 596–622.
- ZIMMERMAN D. C., COUDRON C. A., 1979. *Identification of traumatin, a wound hormone, a 12-oxo-trans-10-dodecenoic acid.* *Plant Physiol.* 63, 536–541.