

ANDRZEJ BAJGUZ i ROMUALD CZERPAK

Zakład Biochemii Roślin, Instytut Biologii

Uniwersytet w Białymstoku

Świerkowa 20 B, 15-950 Białystok

e-mail: abajguz@noc.uwb.edu.pl

ROLA KWASU SALICYLOWEGO W ODPOWIEDZIACH OBRONNYCH ROŚLIN NA DZIAŁANIE PATOGENÓW

WSTĘP

Kwas salicylowy (ang. salicylic acid, SA), jako jeden z głównych fenolokwasów, występuje powszechnie w świecie roślin naczyniowych. Dzięki swym specyficznym właściwościom fizykochemicznym posiada dość dużą i różnorodną aktywność fizjologiczno-biochemiczną niezbędną w kształtowaniu interakcji między organizmami, zwłaszcza o charakterze obronnym przed patogenami. U roślin najczęściej występuje w postaci wolnej, najbardziej aktywnej biologicznie oraz w formie połączeń estrowych, głównie jako salicylan metylu (ang. methyl salicylate, MeSA) lub glikozydowych. Wykazuje on działanie stymulujące lub inhibicyjne, a nawet blokujące wiele różnorodnych procesów fizjologicznych i metabolicznych roślin (WOBBE i KLESSIG 1996, CZERPAK i BAJGUZ 1998).

SA wraz z innymi fenolokwasami jest zaliczany, obok typowych fitohormonów, do pospolitych endogennych regulatorów wzrostu i metabolizmu roślin naczyniowych. SA i MeSA w sposób specyficzny działają regulująco na takie procesy jak: wzrost liści i systemu korzeniowego, kiełkowanie nasion, rozwój kwiatów i ich

metabolizm oraz mechanizmy obronne i odpornościowe roślin przed patogenami wirusowymi, bakteryjnymi i grzybowymi. SA korzystnie wpływa na biosyntezę chlorofili, białek, szczególnie enzymatycznych, odpornościowych i transportujących oraz przenikanie metabolitów przez lipoproteinowe cytomembrany. U wielu gatunków roślin okrytozalążkowych (Angiospermae) SA działa regulująco na proces termogenezy pojedynczych kwiatów, bądź całych kwiatostanów, poprzez stymulację oddychania komórkowego, głównie glikolizy, cyklu Krebsa i szlaku alternatywnego oddychania (KLESSIG i MAŁAMY 1994, RASKIN 1995, LENNON i współaut. 1997). Ponadto SA i MeSA spełniają rolę molekularnego przekaźnika sygnałów komórkowych w procesach obronnych przed patogenami, a także w mechanizmach odpornościowych indukują syntezę białek związanych z patogenezą (ang. pathogenesis-related, PR) (CLARKE i współaut. 1998, FREY i CARVER 1998, NIKI i współaut. 1998, CAMERON i współaut. 1999, MERKOUROPOULOSI współaut. 1999, MOLINA i współaut. 1999).

CZYNNIKI I MECHANIZMY OBRONNE ROŚLIN PRZED PATOGENAMI

Rośliny, podobnie jak zwierzęta, w ciągu wielu milionów lat swego istnienia, wytworzyły na drodze ewolucji różnorodne mechanizmy obronne przed inwazją patogenów i abiotycznych czynników stresowych. W odpowiedzi na atak patogenu rośliny dysponują natychmiastową strategią obronną zlokalizowaną bezpośrednio w ścianie komórkowej i plazmolemie. Prócz tego u roślin dopiero po kilku godzinach lub dniach

od momentu pierwotnego zainfekowania pojawia się systemiczna odporność nabyta (ang. systemic acquired resistance, SAR) (KOMBRINK i SOMSSICH 1995, RASKIN 1995).

W bezpośredniej reakcji obronnej rośliny na atak patogenu, przede wszystkim następuje wzmocnienie i uszczelnianie struktury ściany komórkowej, poprzez jej intensywną lignifikację i kutynizację oraz poprzeczne usieciowanie

przez odkładanie kalozy, a u niektórych roślin krzemianów wapnia. Również ściana komórkowa i powierzchniowa warstwa plazmolemy ulegają szybkiemu wysyceniu specyficznymi metabolitami o właściwościach inhibicyjnych i patogenobójczych. Do tego typu związków należą: fenole, fenolokwasy, fenylopropanoidy, garbniki, alkaloidy, glikozydy cyjanogenne, kumaryny, tioniny, opiny oraz różnorodne strukturalnie fitonocydy, fitoaleksyny i antybiotyki. W ten sposób ściana komórkowa z plazmolemą, dodatkowo wzbogacona w wyżej wymienione metabolity, stanowi bezpośrednią barierę strukturalną i fizjologiczno-metaboliczną dla atakujących patogenów (JONES 1994, KLESSIG i MALAMY 1994, KOMBRINK i SOMSSICH 1995, RASKIN 1995, WOBBE i KLESSIG 1996, DU i KLESSIG 1997, DONG 1998, DONNEL i współaut. 1998, SCHWEIZER i współaut. 1998, HELL 1999, RAO i DAVIS 1999).

Podczas infekcji patogenu do komórki roślinnej, najpierw dochodzi do penetracji ściany komórkowej i zmian w jej chemizmie, strukturze i funkcji oraz rozpoznania fizykochemicznego z udziałem plazmolemy. W dalszym etapie następuje szybka interakcja między patogenem a atakowaną komórką, której końcowym efektem może być śmierć komórki będąca jednocześnie sukcesem obronnym przed dalszą inwazją, gdyż w martwych komórkach nie mogą dalej rozwijać się i namnażać patogeny. Ponadto od zainfekowanych komórek stopniowo rozprzestrzeniają się sygnały chemiczne do zdrowych, bezpośrednio sąsiadujących z chorymi, a następnie w całej roślinie. Również w postaci lotnych związków przenikają, np. MeSA, do sąsiednich roślin, aby mogły wcześniej przygotować się strukturalnie i metabolicznie do obrony przed inwazją patogenów (KOMBRINK i SOMSSICH 1995, KRZYMOWSKA i HENNIG 1995, RASKIN 1995, DURNER i współaut. 1997, CZERPAK i BAJGUZ 1998, SESKAR i współaut. 1998).

Sygnały chemiczne pochodzące przeważnie od patogenu i częściowo od zainfekowanych komórek, zwane induktorami (elicitorami), wywołują w zdrowych przylegających do nich komórkach reakcje obronne zapobiegające dalszej infekcji w roślinie. Do induktorów reakcji obronnej w zainfekowanej roślinie należą wytwarzane głównie przez patogeny metabolity, zwłaszcza enzymy: celulazy, kutynazy, pektynazy, ksylanazy i proteazy oraz różnorodne inhibitory, toksyny, a nawet węglowodanowe produkty degradacji ściany komórkowej gospodarza. Induktory wchodząc w interakcje ze specyficznymi sensorowymi receptorami komórkowymi zainfekowanej rośliny, zlokalizowanymi głównie w warstwie zewnętrznej plazmolemy, zapoczątkowują ciąg reakcji biochemicznych z

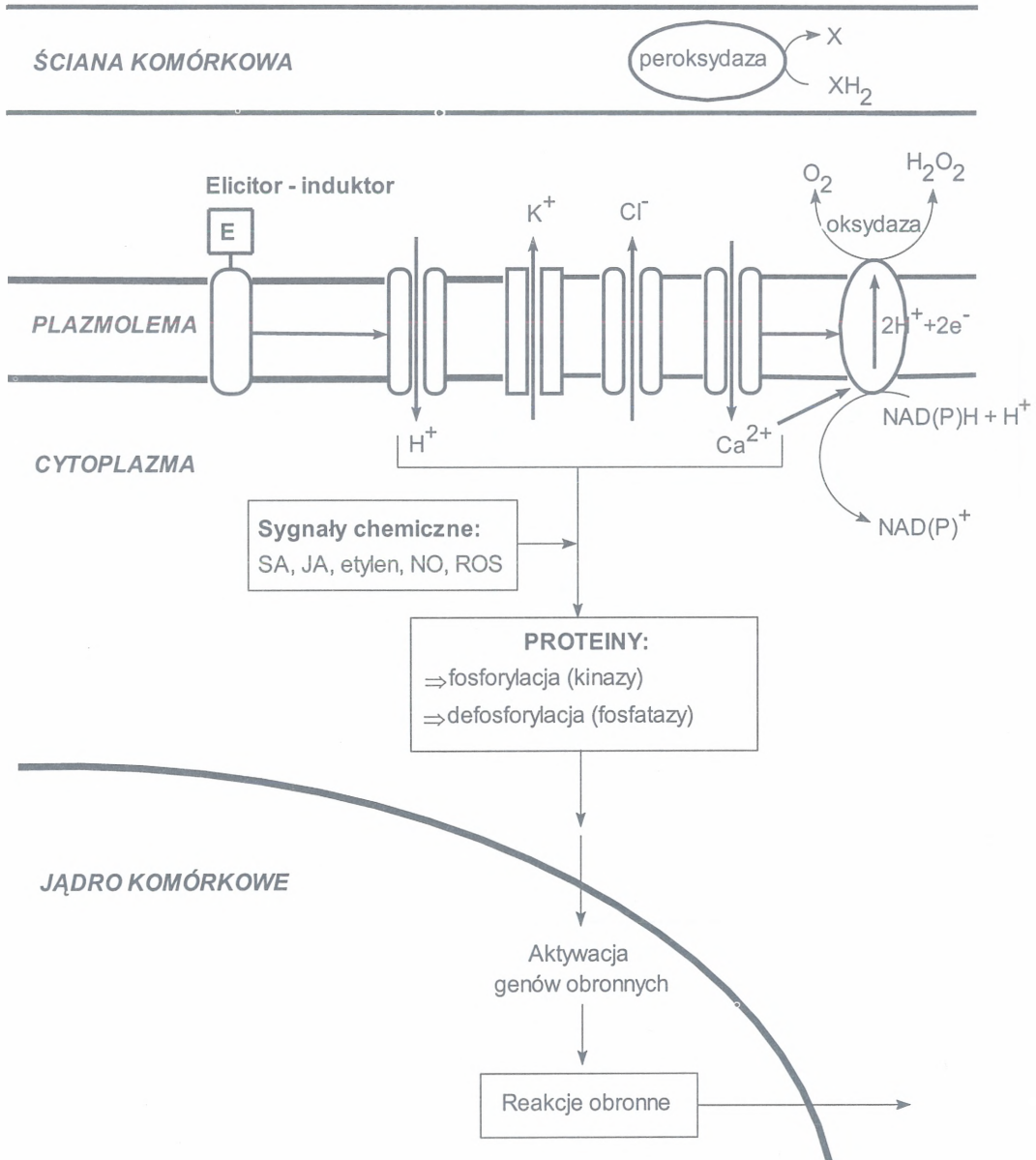
udziałem genomu komórkowego. Efektem tego działania jest wzmożona synteza specyficznych metabolitów o właściwościach inhibicyjnych bądź toksycznych, które ograniczają dalsze rozprzestrzenianie się patogenu w zainfekowanej roślinie. Część patogenów potrafi wytwarzać związki supresorowe, które częściowo bądź całkowicie znoszą efekt działania induktorów sygnalizujących zdrowym komórkom obecność w roślinie patogenu. Również niektóre patogeny, zwłaszcza grzybowe potrafią neutralizować toksyczne działanie fitoaleksyn, powodując ich hydroksylację, redukcję lub demetylację, bądź inne przemiany metaboliczne (Ryc. 1) (KOMBRINK i SOMSSICH 1995, WOBBE i KLESSIG 1996, DU i KLESSIG 1997, REYMOND i FARMER 1998, DURNER i KLESSIG 1999, HELL 1999).

Jedną z najbardziej skutecznych i zarazem drastycznych reakcji rośliny na patogeny jest uruchomienie genetycznych mechanizmów zaprogramowanej śmierci, zwanej apoptozą. Efektem tego działania jest tworzenie się w zainfekowanych komórkach nekroz powodujących ich szybką śmierć i jednocześnie uwięzienie w nich czynników patogennych, które nie mogą dalej rozprzestrzeniać się do zdrowych komórek. Tylko wczesne rozpoznanie przez roślinę patogenu, połączenie z szybką reakcją obronną w miejscu infekcji, prowadzi do ekspresji genów obronnych związanych z SAR. Przede wszystkim dochodzi do intensywnej syntezy inhibitorów działających bakterio- i grzybobójczo, a także enzymów uszkadzających i niszczących struktury patogenu, głównie jego białka. W licznych przypadkach na powierzchni zainfekowanych komórek pojawiają się specyficzne glikoproteiny bogate w hydroksyprolinę, które stanowią nie tylko barierę strukturalną dla patogenów, ale również powodują niespecyficzną aglutynację chorobotwórczych mikroorganizmów. Natomiast zbyt późne rozpoznanie przez roślinę patogenu z reguły stanowi dla niej śmiertelne zagrożenie z powodu nie uruchomienia we właściwym czasie lokalnej odpowiedzi i związanej z nią kaskady chemicznych sygnałów i reakcji powodujących ekspresję odpowiednich genów odpowiedzialnych za systemiczną odporność nabytą typu SAR (KLESSIG i MALAMY 1994, RASKIN 1995, FREY i CARVER 1998, SCHWEIZER i współaut. 1998, SMITH-BECKER i współaut. 1998, WILLITS i RYALS 1998, CAMERON i współaut. 1999, HELL 1999, MOLINA i współaut. 1999).

W procesach opornościowych roślin na patogeny ważną rolę odgrywa gen odporności (ang. resistance, R) wywołujący reakcje nadwrażliwości (ang. hypersensitive response, HR), których działanie uzależnione jest od obecności

odpowiedniego genu awirulentnego (ang. avirulence, *AVR*) w atakującym patogenie. Gdy patogen z genem *AVR* zaatakuje roślinę dochodzi do jego rozpoznania poprzez odpowiednie sekwencje nukleotydowe genu *R* rośliny. W efekcie następuje ekspresja obu genów, a powstałe produkty białkowe wchodzą ze sobą w interakcje

działając z udziałem genomu komórkowego, na które składa się głównie najbardziej skuteczna w działaniu systemiczna odporność nabyta (*SAR*) (JONES 1994, WOBBE i KLESSIG 1996, DURNER i współaut. 1997, DONG 1998, DONNEL i współaut. 1998, FREY i CARVER 1998, SCHWEIZER i współaut. 1998, CAMERON i współaut.



Ryc. 1. Mechanizmy aktywacji genów komórek zainfekowanych patogenem w celu wywołania kaskady reakcji obronnych (wg KOMBRINKA i SOMSSICHA 1995, zmodyfikowany). (SA, kwas salicylowy; JA, kwas jasmonowy; NO, tlenek azotu; ROS, reaktywne formy tlenu)

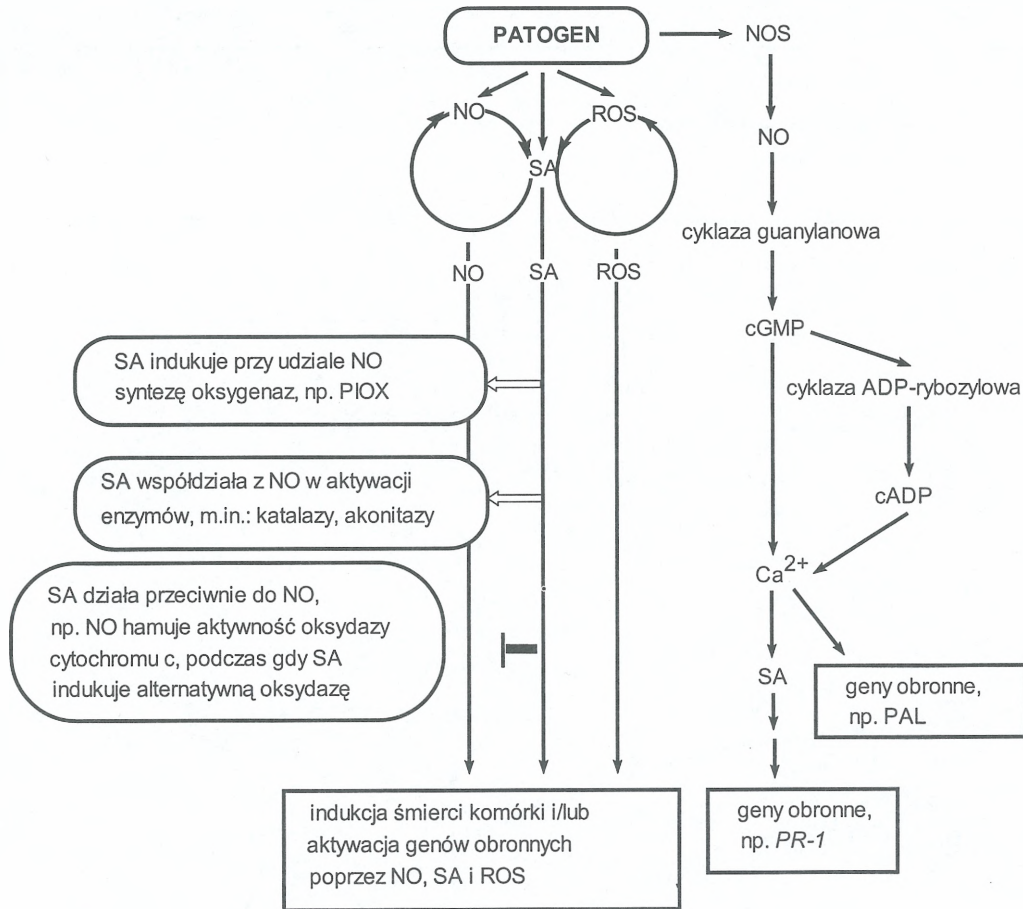
biochemiczną. W ten sposób roślina rozpoznaje intruza i uruchamia cały szereg lokalnych i systemicznych mechanizmów obronnych w komórkach zainfekowanych i w zdrowych, zwłaszcza bezpośrednio stykających się z chorymi. Wyróżniamy tutaj reakcje wczesnego, prawie natychmiastowego reagowania rośliny na patogen oraz procesy obronne opóźnione zachodzące

z udziałem genomu komórkowego, na które składa się głównie najbardziej skuteczna w działaniu systemiczna odporność nabyta (*SAR*) (JONES 1994, WOBBE i KLESSIG 1996, DURNER i współaut. 1997, DONG 1998, DONNEL i współaut. 1998, FREY i CARVER 1998, SCHWEIZER i współaut. 1998, CAMERON i współaut.

1999, HELL 1999, HÜCKELHOVEN i współaut. 1999, MOLINA i współaut. 1999). We wczesnej fazie infekcji pod wpływem elicitora dochodzi do istotnych fizykochemicznych zmian w ścianie komórkowej i plazmolemie. Między innymi następuje szybkie przenikanie jonów potasowych i chlorkowych na zewnątrz komórki, a wnikanie do wnętrza kationów wa-

pniowych i wodorowych. Prócz tego pod wpływem oksydazy z udziałem NADPH_2 dochodzi do wzmożonej syntezy H_2O_2 , a w dalszej konsekwencji do powstawania reaktywnych form tlenu (ang. reactive oxygen species, ROS), tlenku azotu (NO) i innych metabolitów działających inhibicyjnie bądź toksycznie na patogeny w zainfekowanych komórkach. Równoległe dochodzi do wzmożonej syntezy etylenu, NO, kwa-

nian wapniowy i innych, spełniają rolę sygnałów chemicznych aktywujących kinazy, przeważnie serynowo-treoninowe, które fosforylując białka regulatorowe i histonowe powodują de-represję i aktywację ekspresji genów obronnych. W ten sposób zostaje uruchomiona kaskada chemicznych reakcji składających się głównie na SAR, a także zachodzą strukturalne zmiany w ścianie komórkowej i plazmolemie, co



Ryc. 2. Prawdopodobieństwo wzajemnego powiązania między syntezą NO, SA, ROS, i cGMP a indukcją obumierania komórki lub aktywacją w niej genów obronnych pod wpływem inwazji patogena (wg DURNERA i KLESSIGA 1999, zmodyfikowany). (NOS, syntaza tlenku azotu; PIOX, oksygenaza indukująca patogenezę; PAL, amoniako-liaza L-fenylalaniny)

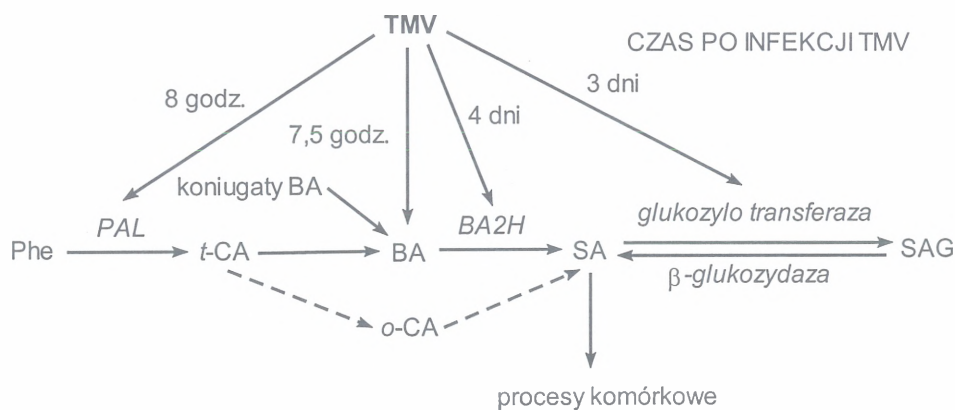
sów: jasmonowego (JA) i salicylowego (SA) i innych fenolokwasów oraz fenylopropanoidów, np. kumarynowych, flawonoidowych o właściwościach inhibicyjnych, fitochelatynowych, fitoncydowych, antybiotycznych, a nawet toksycznych w stosunku do patogenów. Niektóre z nich jak: SA, JA, etylen, ROS, NO, z udziałem przekaźników typu cAMP, cGMP, kalmoduli-

w formie schematów przedstawiają Ryc. 1 i 2 (KLESSIG i MALAMY 1994, KOMBRINK i SOMSSICH 1995, RASKIN 1995, WOBBE i KLESSIG 1996, DU i KLESSIG 1997, DONG 1998, DONNEL i współaut. 1998, FREY i CARVER 1998, REYMOND i FARMER 1998, CAMERON i współaut. 1999, HELL 1999, RAO i DAVIS 1999).

ROLA SA W INDUKCJI EKSPRESJI GENÓW OBRONNYCH ROŚLIN PRZED PATOGENAMI

W przebiegu procesu patogenezы, u roślin zainfekowanych zwłaszcza wirusami lub grzy-

bami, ważną rolę spełniają fenolokwasy, na czele z pospolicie występującym SA. W komór-

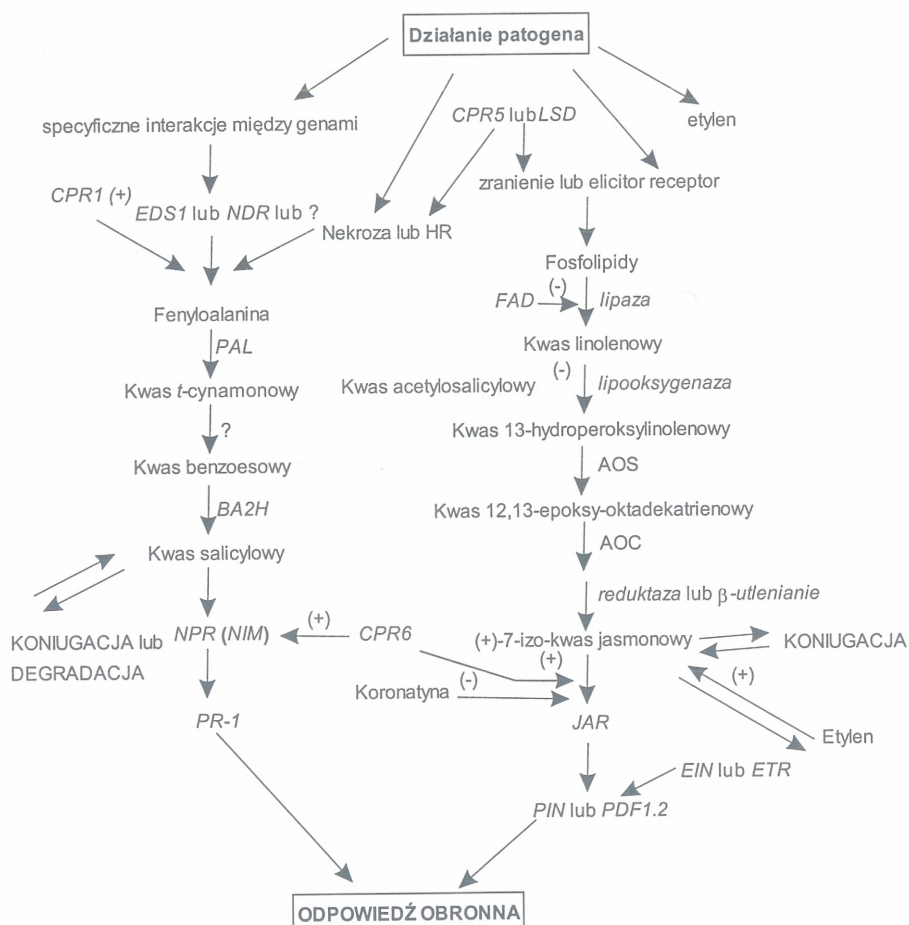


Ryc. 3. Wpływ infekcji wirusem TMV na metabolizm SA w tytoniu (*Nicotiana tabacum*) (wg WOBBE i KLESSIGA 1999)

(Phe, fenyloalanina; PAL, amoniako-liaza L-fenyloalaniny; BA, kwas benzoesowy; BA-2H, 2-hydroksylaza kwasu benzoesowego; t-CA, kwas trans-cynamonowy; o-CA, kwas orto-kumarowy; SAG, glukozyd SA)

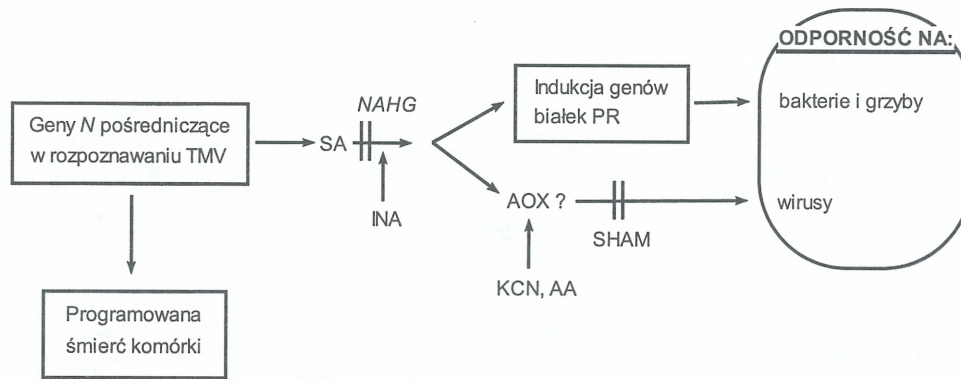
kach tytoniu zainfekowanych wirusem mozaiki tytoniowej (ang. tobacco mosaic virus, TMV) SA aktywnie uczestniczy w mechanizmach obronnych związanych z indukowaniem genów odp-

orności na patogenu nie tylko lokalnej, ale także typu HR i SAR. SA wraz z innymi przekaźnikami (sygnałami) chemicznymi komórki, jak: JA, etylen, NO, ROS i innymi metabolitami indukuje i



Ryc. 4. Interakcje między głównymi szlakami syntezy kaskad chemicznych sygnałów obronnych a biochemicznymi i genetycznymi reakcjami komórki na atak patogena (wg MALECKA i DIETRICH 1999).

(PAL, amoniako-liaza L-fenyloalaniny; BA2H, 2-hydroksylaza kwasu benzoesowego; AOS, syntaza tlenu allenu; AOC, cyklaza tlenu allenu)

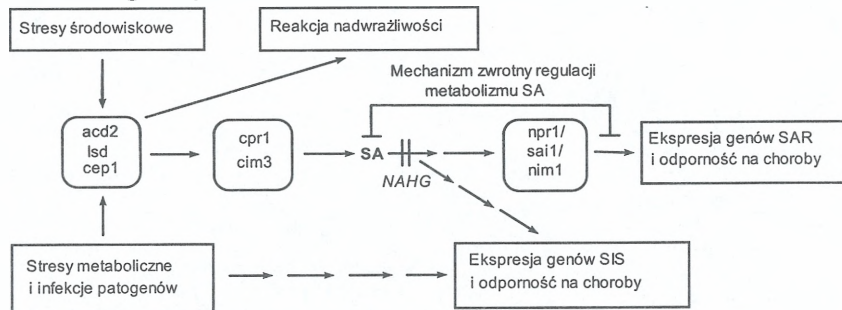


Ryc. 5. Model indukcji biochemicznej odpowiedzi na infekcje wirusów, bakterii i grzybów z udziałem SA aktywującego ekspresję genów kodujących syntezę białek odpornościowych PR (wg CHIVASA i CARRA 1998).

(AA, antymycyna A; AOX, alternatywna oksydaza; INA, kwas 2,6-dichloroizonikotynowy; KCN, cyjanek potasu; SHAM, kwas salicylohydroksaminowy)

aktywuje ekspresję genów odpowiedzialnych za wszystkie rodzaje odporności roślin przed infekcją patogenów, a szczególnie typu HR i SAR. Wpływ patogenów na przykładzie wirusa TMV na syntezę i przemianę SA w komórkach zainfekowanego tytoniu przedstawia Rycina 3. Natomiast interakcje między dwoma szlakami syntezy przekazników chemicznych: etylenu, SA i JA pod wpływem inwazji patogenów wywołujących biochemiczne i genetyczne reakcje ob-

cznych mechanizmów zaprogramowanej śmierci komórki. Dotyczy to tych komórek, które nie są w stanie same obronić się przed inwazją patogenu. Proces ten odbywa się głównie z udziałem intensywnie wytwarzanych wolnych rodników, hydrolitycznych enzymów, zwłaszcza kaspaz i toksyn powodujących szybką śmierć zainfekowanych komórek wraz ze znajdującymi się w nich patogenami. W ten sposób następuje ochrona sąsiednich zdrowych komórek rośliny



Ryc. 6. Rola SA w ekspresji genów odpowiedzialnych za odporność lokalną i systemiczną nabytą na działanie stresów metabolicznych, środowiskowych i infekcje patogenów, na przykładzie rzodkiewnika pospolitego (*Arabidopsis thaliana*) (wg DURNERA i współaut. 1997).

ronne komórki roślinnej uwidacznia schemat na Rycinie 4 (KLESSIG i MALAMY 1994, KOMBRINK i SOMSSICH 1995, WOBBE i KLESSIG 1996, REYMOND i FARMER 1998, ZHOU i współaut. 1998, HÜCKELHOVEN i współaut. 1999, MALECK i DIE-TRICH 1999, RAO i DAVIS 1999).

Do ostatecznych reakcji obronnych w zainfekowanej roślinie należy uruchomienie genety-

przed dalszym rozprzestrzenianiem się patogenu, co w efekcie końcowym zabezpiecza organizm przed całkowitym porażeniem — stanem chorobowym (KOMBRINK i SOMSSICH 1995, DU i KLESSIG 1997, VIDAL i współaut. 1998, DURNER i KLESSIG 1999, RAO i DAVIS 1999).

REGULUJĄCE DZIAŁANIE SA W MOLEKULARNYCH MECHANIZMACH SAR

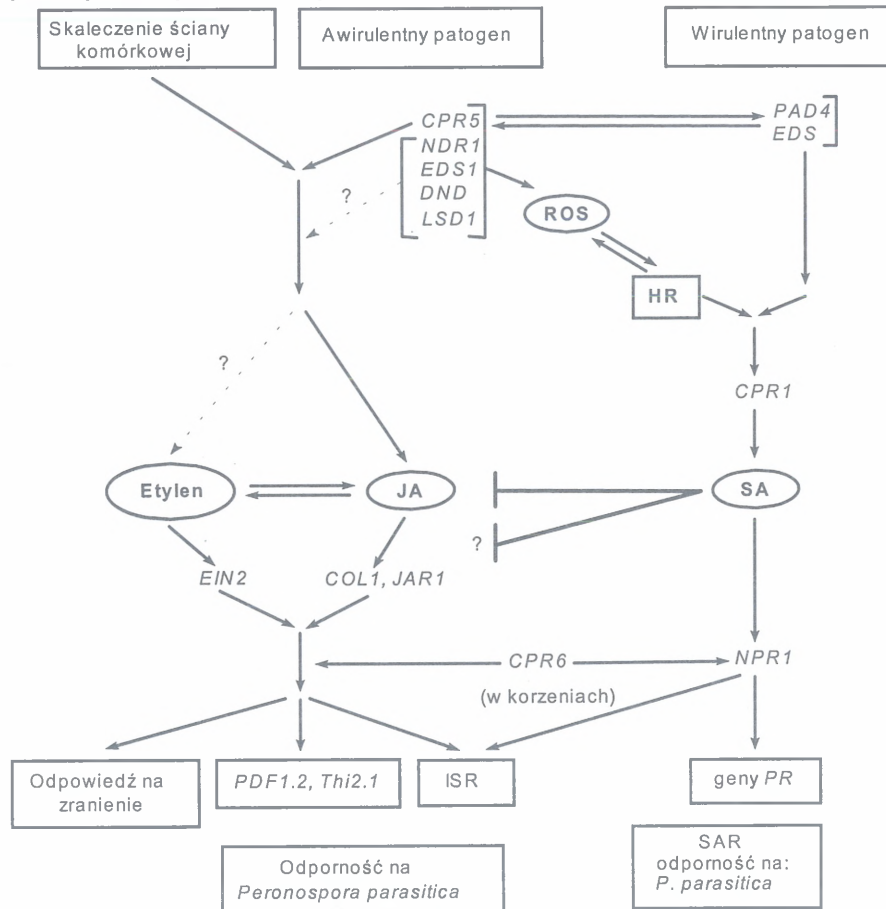
Doświadczenia z mutantami rzodkiewnika pospolitego (*Arabidopsis thaliana*), wykazującymi zaburzenia w procesach obronnych, pozwoliły zidentyfikować geny kontrolujące SAR. U wyselekcjonowanych mutantów rzodkiewnika pojawiły się nekrozy podobne do nekroz wywo-

łanych przez patogen. Jest to jeden z typów mutantów charakteryzujących się ekspresją genów PR, podwyższonym poziomem endogennego SA oraz wzbudzoną odpornością systemiczną (SAR). Zaliczamy tutaj mutanty typu: cpr (ang. constitutive expresser of PR genes), lsd

(ang. lesion simulating disease), *acd2* (ang. accelerated cell death), *cim3* (ang. constitutive immunity), *cep1* (ang. constitutive expression of *PR* genes), *ssi1* (ang. suppressor of salicylate intensity), *dnd1* (ang. defense with no HR cell death). Drugim rodzajem mutantów *Arabidopsis* są rośliny, w których nie dochodzi do ekspresji genów *PR* pod wpływem SA, np. *npr* (ang. nonexpresser of *PR* genes), *edr1* (ang. enhanced disease resistance). W przypadku mutantów *cpr* pojawiają się nekrozy podobne do nekroz wywołanych przez HR. Z kolei wprowadzenie do mutantów *cpr* genu *NAHG* (gen kodujący enzym hydroksylazę salicylanową)

białka o nieznannej funkcji) i *BGL2*, których zadaniem jest wywołanie odpowiedzi obronnej przeciwko grzybom, między innymi *Peronospora parasitica* (Ryc. 4, 7, 8, 9) (CLARKE i współaut. 1998, DONG 1998, MANNERS i współaut. 1998, MALECK i DIETRICH 1999, SHAH i współaut. 1999).

Zintegrowane działanie cząsteczek sygnałowych JA, etyleny i SA reguluje zarówno ekspresję genów obronnych, jak i ekspresję genów: *PR*, defensyn (*PDF1.2*) i tionin (*Thi2.1*) w indukcji odporności na szkodliwe działanie owadów lub grzybów na komórki pomidora, tytoniu czy rzodkiewnika. Przykładem jest zainfekowanie



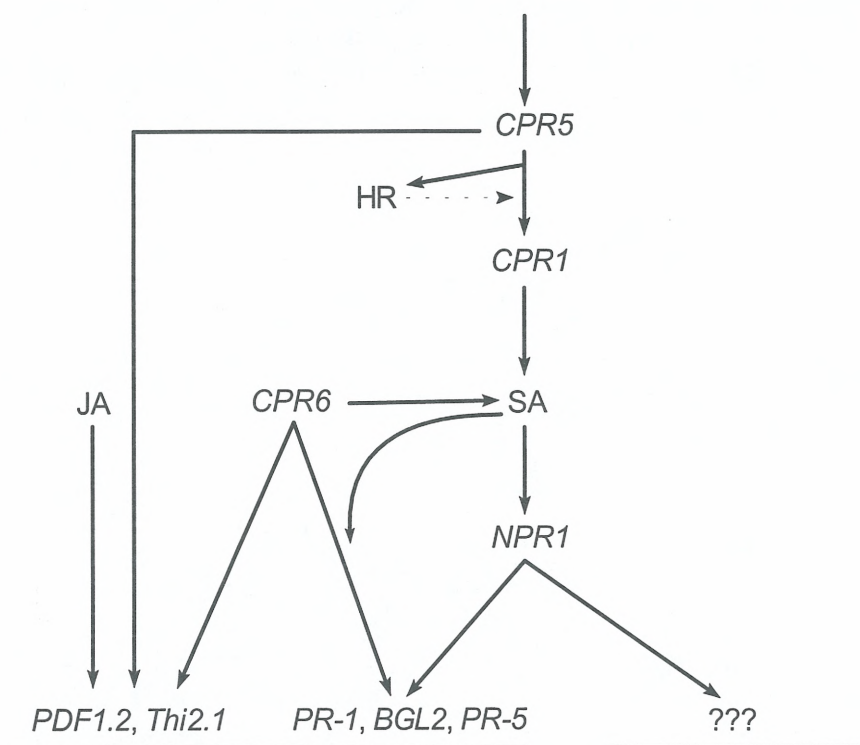
Ryc. 7. Model głównych szlaków działających w roślinach o szerokim spektrum odpowiedzi biochemiczno-genetycznej na infekcje patogenami wirulentnymi i awirulentnymi oraz skaleczenia ściany komórkowej (wg DONGA 1998).

powoduje blokadę ekspresji genów *PR*, która zależna jest od biosyntezy SA. Mutanty *npr1* nie indukują odporności SAR pod wpływem patogenu, SA czy też syntetycznego kwasu 2,6-dichloroizonikotynowego (INA) lub benzotiadiazolu (BTH). Sugeruje to, że gen *NPR1* reguluje procesy indukowane przez SA (Ryc. 5, 6). W związku z tym, że gen *NPR1* może funkcjonować z *CPR6* lub *SSI1* w regulacji genów indukowanych przez JA, to jest *PDF1.2* i *Thi2.1*, jak również przez SA w indukcji genów *PR-1* (kodującego

Arabidopsis przez grzyb *Fusarium oxysporum* sp. *matthiole* prowadzi do indukcji genu tioniny (*Thi2.1*), natomiast infekcja przez grzyb *Alternaria brassicicola* wzbudza gen defensyny *PDF1.2*. Wynikiem tego działania jest indukcja genów *PIN* (kodujących inhibitory proteinaz, proteina-se inhibitor). Sygnałami w szlaku reakcji obronnej na atak patogenu są JA i etylen, które działają synergistycznie na indukcję genów obronnych oraz stymulację ich biosyntezy. Geny kodujące defensyny i tioniny prowadzą do po-

wstania indukowanej odporności systemicznej (ang. induced systemic resistance, ISR). Dodatkowo biochemizm aktywności i korelacja w akumulacji JA i etylenu w indukcji genu odporności stanowi dowód o ewidentnej roli tychże hormonów w odporności na atak patogenu. Mutacja *jar1* zachodząca w genach typu *JAR* (ang. JA-intensitive, prawdopodobnie receptor JA) oraz *ETR1* (receptor etylenu) uniemożliwia

INA. W rezultacie następuje indukcja genów *PR* związana z odpornością na patogeny bakteryjne i grzybowe poprzez alternatywną oksydazę (ang. alternative oxidase, AOX) — enzymu mitochondrialnego alternatywnego szlaku oddychania, który może być blokowany przez kwas salicylohydroksaminowy (salicylhydroxyamic acid, SHAM). Indukcja akumulacji transkryptu AOX następuje także przez SA, INA lub inhibitory



Indukcja genów obronnych u roślin w przypadku infekcji patogenami:

GRZYBOWYMI

BAKTERYJNYMI

Ryc. 8. Proponowany model funkcji regulacyjnej genów *CPR6* i *NPR1* z udziałem SA w indukcji genów związanych z obronną odpowiedzią roślin na patogeny bakteryjne i grzybowe (wg CLARKE'A i współaut. 1998).

wzbudzenie ISR, alternatywnego szlaku dla SAR, niezależnego od SA, w którym głównymi mediatorami są JA i etylen. Z kolei *NPR1*, w przeciwieństwie do genów *CPR*, kontroluje procesy indukowane przez SA (Ryc. 7 i 8) (CLARKE i współaut. 1998, DONG 1998, TERRAS i współaut. 1998).

Zainfekowane mutanty *Arabidopsis lsd* charakteryzują się podwyższonym poziomem SA, który stymuluje pojawienie się nekroz powodujących obumarcie zarażonych komórek. Z kolei mutanty *lsd* z wprowadzonym bakteryjnym genem *NAHG* nie wykazują wystąpienia nekroz, które są przywrócone po podaniu mutantom

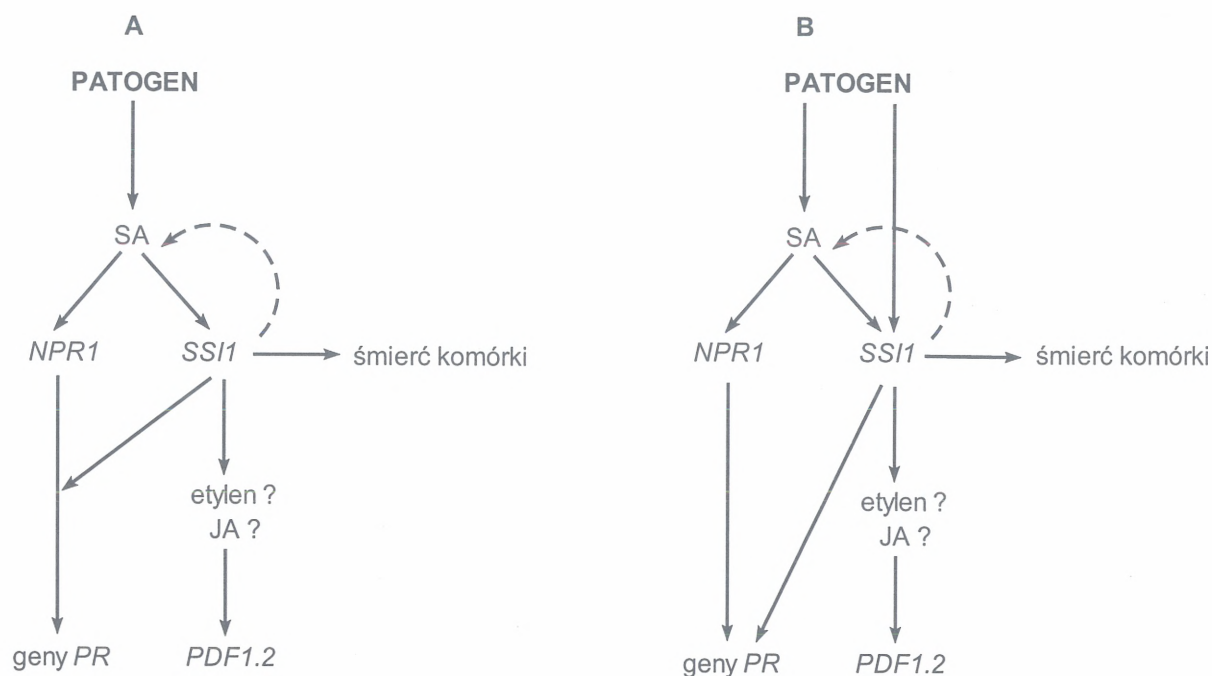
oddychania: antymycynę A (AA), cyjanek potasu (KCN). Również stymulacja transkryptu AOX odbywa się bezpośrednio poprzez zahamowanie aktywności akonitazy wywołanej przez SA. W mitochondrium akonitaza bierze udział w cyklu Krebsa, w przemianie cytrynianu do izocytrynianu. Inaktywacja akonitazy przez SA prowadzi do podwyższenia poziomu cytrynianu, który może indukować ekspresję genu AOX. Dlatego też SA jako mediator inhibicji akonitazy prowadzi do wzrostu aktywności AOX, a tym samym do wzbudzenia odporności na patogeny wirusowe (Ryc. 2, 5) (CHIVASA i CARR 1998, DURNER i KLESSIG 1999, XIE i CHEN 1999).

PODSUMOWANIE

W reakcjach obronnych roślin przed patogenami wyróżnia się reakcje natychmiastowe o charakterze lokalnym i opóźnione typu nadwrażliwości (HR) i systemicznej odporności nabytej (SAR). W reakcjach nadwrażliwości (HR) zasadniczy mechanizm polega na interakcji białka kodowanego przez gen odpornościowy (R) roślin

rych zależy intensywność ekspresji genów o funkcji obronnej i odpornościowej roślin.

W przebiegu procesów obronno-odpornościowych roślin przed patogenami, zwłaszcza grzybowymi i wirusowymi, ważną rolę spełnia SA, który jest jednym z głównych sygnałów chemicznych pośrednio uczestniczących w in-



Ryc. 9. Prawdopodobne powiązania między SA a genami: *NPR1*, *SS1*, *PR* i *PDF1.2* w odpornościowej odpowiedzi roślin na infekcje patogenów (wg SHAHA i współaut. 1999).

ny z białkiem genu awirulencji patogenu (AVR). W molekularnych mechanizmach obronnych przed patogenami typu SAR podstawową rolę spełniają białka odpornościowe.

Podczas inwazji patogenów ważną rolę spełniają elicytory tzw. wywoływacze, które łącząc się ze swoistymi receptorami komórkowymi uruchamiają całą kaskadę reakcji biochemicznych odpowiedzialnych za syntezę białek bezpośrednio lub pośrednio związanych z obroną roślin przed dalszym rozprzestrzenianiem się patogenów. Elicitory mogą pochodzić z patogenu, np. produkt białkowy genu *AVR*, a także niektóre metabolity komórek roślinnych mogą pełnić tę rolę, np. kwas arachidonowy, heptaglukozyd, niektóre fitoaleksyny, itp. W mechanizmach aktywacji genów komórek zainfekowanych patogenem zasadniczą rolę spełniają komórkowe sygnały chemiczne, takie jak: SA, JA, NO, ROS, etylen i inne, które z udziałem przekaźników typu cAMP, cGMP, IP₃, kalmodulinian wapniowy i innych bezpośrednio oddziałują na aktywność kinaz i fosfataz, od któ-

dukowaniu genów związanych z mechanizmami odporności na infekcje typu HR i SAR. W odpowiedzi roślin na działanie patogenu następuje wzbudzenie SAR wraz ze wzrostem poziomu SA, np. w mutantach *cpr Arabidopsis thaliana*. W przypadku mutantów *npr* dochodzi do procesów obronnych uruchamianych przez SA. Przeciwnieństwem SAR jest indukowana systemiczna odporność typu ISR, której wzbudzenie jest niezależne od SA. Głównymi mediatorami ISR jest etylen i kwas jasmonowy. Pomimo poznania szeregu genów odpornościowych, nie wyjaśnione pozostają do końca ich funkcje oraz molekularne mechanizmy rozpoznawania awirulentnych patogenów przez rośliny. Badania laboratoryjne sprowadza się wyłącznie do stwierdzenia odpowiedzi obronnej przed patogenem odnośnie udziału pojedynczych genów. Natomiast w środowisku naturalnym w mechanizmach odpornościowych roślin uczestniczy dużo genów, które najprawdopodobniej ze sobą współdziałają, zwłaszcza różnorodne produkty ich ekspresji.

THE ROLE OF SALICYLIC ACID IN DEFENCE RESPONSES OF PLANTS TO THE ACTION OF PATHOGENS

Summary

Salicylic acid is an important signal molecule which plays a critical role in plant defence responses against pathogen attack. These responses include the induction of local and systemic disease resistance or cell death. The mechanisms through which salicylic acid mediates these effects are varied. They involve alterations in the activity or

synthesis of certain enzymes, or increased defence gene expression. Recent studies demonstrated that jasmonic acid, ethylene and nitric oxide are important for the induction of non-specific disease resistance through signalling pathways which may be regulated by salicylic acid.

LITERATURA

- CAMERON R. K., PALVA N. L., LAMB C. J., DIXON R. A., 1999. Accumulation of salicylic acid and PR-1 gene transcripts in relation to the systemic acquired resistance (SAR) response induced by *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* in *Arabidopsis*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 55, 121-130.
- CHIVASA S., CARR J. P., 1998. Cyanide restores N gene-mediated resistance to tobacco mosaic virus in transgenic tobacco expressing salicylic acid hydroxylase. *Plant Cell* 10, 1489-1498.
- CLARKE J. D., LIU Y., KLESSIG D. F., DONG X., 1998. Uncoupling PR gene expression from NPR1 and bacterial resistance: characterization of the dominant *Arabidopsis* *cpr6-1* mutant. *Plant Cell* 10, 557-569.
- CZERPAK R., BAJGUZ A., 1998. Aktywność fizjologiczna i metaboliczna kwasu salicylowego u roślin. *Kosmos* 47, 83-93.
- DONG X., 1998. SA, JA, ethylene and disease resistance in plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 1, 316-323.
- DONNEL P. J., TRUESDALE M. R., CALVERT C. M., DORANS A., ROBERTS M. R., BOWLES D. J., 1998. A novel tomato gene that rapidly responds to wound and pathogen related signals. *Plant J.* 14, 137-142.
- DU H., KLESSIG D. F., 1997. Role for salicylic acid in the activation of defense responses in catalase deficient transgenic tobacco. *Mol. Plant Microbe Interact.* 10, 922-925.
- DURNER J., KLESSIG D. F., 1999. Nitric oxide as a signal in plants. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2, 369-374.
- DURNER J., SHAH J., KLESSIG D. F., 1997. Salicylic acid and disease resistance in plants. *Trends Plant Sci.* 2, 266-274.
- FREY S., CARVER T. L. W., 1998. Induction of systemic resistance in pea to pea powdery mildew by exogenous application of salicylic acid. *J. Phytopathol.* 146, 239-245.
- HELL M., 1999. Systemic acquired resistance: available information and open ecological questions. *J. Ecol.* 87, 341-346.
- HÜCKELHOVEN R., FODOR J., PREIS C., KOGEL K. H., 1999. Hypersensitive cell death and Papilla formation in barley attacked by the powdery mildew fungus are associated with hydrogen peroxide but not with salicylic acid accumulation. *Plant Physiol.* 119, 1251-1260.
- JONES A. M., 1994. Surprising signals in plant cells. *Science* 263, 183-185.
- KAZAN K., MURRAY F. R., GOULTER K. C., LLEWELLYN D. J., MANNERS J. M., 1998. Induction of cell death in transgenic plants expressing a fungal glucose oxidase. *Mol. Plant Microbe Interact.* 11, 555-562.
- KLESSIG D. F., MALAMY J., 1994. The salicylic acid signal in plants. *Plant Mol. Biol.* 26, 1439-1458.
- KOMBRINK E., SOMSSICH I. E., 1995. Defense response of plants to pathogens. *Advan. Bot. Res.* 21, 1-34.
- KRZYMOWSKA M., HENNIG J., 1995. Molekularne podstawy oddziaływania patogenów z komórkami roślinnymi. *Kosmos* 44, 527-534.
- LENNON A. M., NEUENSCHWANDER U. H., RIBAS-CARBO M., GILES L., RYALS J. A., SIEDOW J. N., 1997. The effects of salicylic acid and tobacco mosaic virus infection on the alternative oxidase of tobacco. *Plant Physiol.* 115, 783-791.
- MALECK K., DIETRICH R. A., 1999. Defense on multiple fronts: now do plants cope with diverse enemies? *Trends Plant Sci.* 4, 215-219.
- MANNERS J. M., PENNINGCKX I. A. M. A., VERMAERE K., KAZAN K., BROWN R. L., MORGAN A., MACLEAN D. J., CURTIS M. D., CAMMUE B. P. A., BROEKAERT W. F., 1998. The promoter of the plant defensin gene PDF1.2 from *Arabidopsis* is systemically activated by fungal pathogens and responds to methyl jasmonate but not to salicylic acid. *Plant Mol. Biol.* 38, 1071-1080.
- MERKOUROPOULOS G., BARNETT D. C., SHIRSAT A. H., 1999. The *Arabidopsis* *extensin* gene is developmentally regulated is induced by wounding, methyl jasmonate, abscisic acid and salicylic acid and codes for a protein with unusual motifs. *Planta* 208, 212-219.
- MOLINA A., GÖRLACH J., VOLRATH S., RYALS J., 1999. Wheat genes encoding two types of PR-1 proteins are pathogen inducible but do not respond to activators of systemic acquired resistance. *Mol. Plant Microbe Interact.* 12, 53-58.
- NIKI T., MITSUHASHI I., SEO S., OHTSUBO N., OHASHI Y., 1998. Antagonistic effect of salicylic acid and jasmonic acid on the expression of pathogenesis-related (PR) protein genes in wounded mature tobacco leaves. *Plant Cell Physiol.* 39, 500-507.
- RAO M. V., DAVIS K. R., 1999. Ozone induced cell death occurs via two distinct mechanisms in *Arabidopsis*: the role of salicylic acid. *Plant J.* 17, 603-614.
- RASKIN I., 1995. Salicylic acid. [W:] *Plant Hormones. Physiology, Biochemistry and Molecular Biology*. DAVIES P. J. (red.). Kluwer Acad. Publ., Dordrecht-Boston-London, 188-205.
- REYMOND P., FARMER E. E., 1998. Jasmonate and salicylate as global signals for defense gene expression. *Curr. Opin. Plant Biol.* 1, 404-411.
- SCHWEIZER P., BUCHALA A., DUDLER R., 1998. Induced systemic resistance in wounded rice plants. *Plant J.* 14, 475-481.
- SESKAR M., SHULAEV V., RASKIN I., 1998. Endogenous methyl salicylate in pathogen-inoculated tobacco plants. *Plant Physiol.* 116, 387-392.
- SHAH J., KACHROO P., KLESSIG D. F., 1999. The *Arabidopsis* *ssl1* mutation restores pathogenesis-related gene expression in *npr1* plants and renders defensin gene expression salicylic acid dependent. *Plant Cell* 11, 191-206.
- SMITH-BECKER J., MAROIS E., HUGUET E. J., MIDDLELAND S. L., SIMS J. J., KEEN N. T., 1998. Accumulation of salicylic acid and 4-hydroxybenzoic acid in phloem fluids of cucumber during systemic acquired resistance is preceded by a transient increase in phenylalanine am-

- monia-lyase activity in petioles and stems. Plant Physiol.* 116, 231–238.
- TERRAS F. R. G., PENNINGCKX I. A. M. A., GODERIS I. J., BROEKAERT W. F., 1998. *Evidence that the role of plant defensin in radish defense responses is independent of salicylic acid. Planta* 206, 117–124.
- VIDAL S., ERIKSSON A. R. B., MONTESANO M., DENECKE J., PALVA E. T., 1998. *Cell wall-degrading enzymes from Ervinia carotovora cooperate in the salicylic acid-independent induction of a plant defense response. Mol. Plant Microbe Interact.* 11, 23–32.
- WILLITS M. G., RYALS J. A., 1998. *Determining the relationship between salicylic acid level and systemic acquired resistance induction in tobacco. Mol. Plant Microbe Interact.* 11, 795–800.
- WOBBE K. K., KLESSIG D. F., 1996. *Salicylic acid — an important signal in plants. [W:] Plant Gene Research. DENNIS E. S. (red.). Springer-Verlag. Berlin, 167–196.*
- XIE Z., CHEN Z., 1999. *Salicylic acid induces rapid inhibition of mitochondrial electron transport and oxidative phosphorylation in tobacco cells. Plant Physiol.* 120, 217–225.
- ZHOU N., TOOTLE T. L., TSUI F., KLESSIG D. F., GLAZEBROOK J., 1998. *PAD4 functions upstream from salicylic acid to control defense responses in Arabidopsis. Plant Cell* 10, 1021–1030.