

HALINA ŚLESAK<sup>1</sup>, IRENEUSZ ŚLESAK<sup>2, 3</sup>

<sup>1</sup>*Instytut Botaniki  
Uniwersytet Jagielloński  
Grodzka 52, 31-044 Kraków*

<sup>2</sup>*Instytut Fizjologii Roślin im. Franciszka Górskiego PAN  
Niezapominajek 21, 30-239 Kraków*

<sup>3</sup>*Katedra Genetyki, Hodowli i Biotechnologii Roślin  
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego  
Nowoursynowska 159, 02-776 Warszawa  
E-mail: halina.slesak@uj.edu.pl  
i.slesak@ifr-pan.krakow.pl*

## ODPOWIEDŹ ROŚLIN NA ZRANIENIE

### WSTĘP

W odróżnieniu od zwierząt, większość roślin jest przytwierdzona systemem korzeniowym do podłoża, co powoduje brak możliwości zmiany położenia organizmu i aktywnego unikania zagrożenia związanego z ryzykiem mechanicznego uszkodzenia. Jednym z pytań, które można zadać jest, czy zranienie rośliny prowadzi do określonej odpowiedzi fizjologiczno-biochemicznej o charakte-

rze obronnym i naprawczym? Wiele danych wskazuje na to, że rośliny wykształciły odpowiednik zwierzęcego systemu odpornościowego, który indukowany jest w odpowiedzi na zranienie i infekcję przez drobnoustroje chorobotwórcze. W niniejszym artykule podjęto próbę przedstawienia wybranych zagadnień, dotyczących mechanizmów obronnych i odpowiedzi rośliny na zranienie.

### DEFINICJA ZRANIENIA

Utrata integralności fizycznej komórek, tkanek, czy organów rośliny, polegająca na przerwaniu ciągłości ściany komórkowej (apoplastu) może być ogólnie zdefiniowana jako zranienie (ang. wounding), stres zranienia czy też uszkodzenie mechaniczne. Stres zranienia wywołany przez czynniki biotyczne pojawia się najczęściej w wyniku żerowania na roślinach owadów oraz całej grupy roślinożerców należących do kręgowców. Obok czynników biotycznych powodujących zranienie, do uszkodzeń mechanicznych prowadzą również czynniki fizyczne (abiotyczne), takie jak np. wiatr, grad czy deszcz (DE BRUXELLES i ROBERTS 2001, LEÓN i współaut. 2001). Reakcja rośliny ujawnia się już po kilku minutach od zranienia i obejmuje tworze-

nie cząsteczek sygnałowych, których przemieszczanie się aktywuje określone grupy genów obronnych. Geny te kodują białka pełniące funkcje w szlakach przekazywania sygnałów, naprawie uszkodzonych tkanek oraz produkcji komponentów odstraszających roślinożerców, ograniczających ich żerowanie i rozwój (SZCZEGIELNIAK 2007).

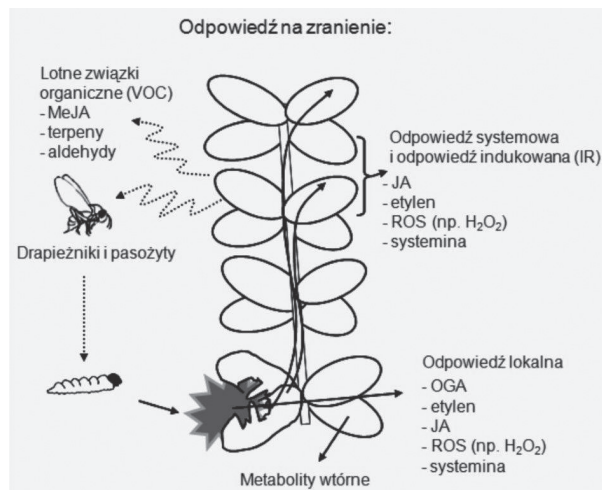
Wiele gatunków roślin wykształciło bierne mechanizmy obronne przeciwko zranieniu. Należą do nich przede wszystkim przystosowania o charakterze anatomiczno-morfologicznym, takie jak: gruba kutikula na powierzchni epidermy, kolce, ciernie, czy adaptacje o charakterze chemicznym, np. produkcja toksycznych dla roślinożerców (np. larw owadów) substancji chemicznych

Tabela 1. Przykłady wybranych związków chemicznych metabolizmu wtórnego produkowanych przez rośliny w odpowiedzi na zranienie (wg CONSTABEL 1999, ŚLESAK i współaut. 2001).

Związek chemiczny	Gatunek
Związki fenolowe	
Kwasy fenolowe, np. kwas chlorogenowy	<i>Lycopersicon esculentum</i> , <i>Solanum</i> sp.
Furanokumaryny, np. ksantotoksyna	<i>Pastinaca sativa</i>
Kumaryny, np. skopoletyna	<i>Heliantus</i> sp., <i>Nicotiana</i> sp.
Stilbeny, np. pinosylwina	<i>Pinus radiata</i>
Taniny	<i>Quercus</i> sp., <i>Salix</i> sp., <i>Betula</i> sp.
Ligniny	różne gatunki
Terpenoidy	
Monoterpeny, kwasy diterpenowe	<i>Abies grandis</i>
Alkaloidy steroidowe, np. solanidyna	<i>Solanum</i> sp.
Kukurbitacyny	<i>Cucurbita maxima</i>
Alkaloidy	
Nikotyina	<i>Nicotiana attenuata</i>
Alkaloidy tropanowe, np. apoatropina	<i>Atropa acuminata</i>
Kwasy hydroksamowe	<i>Triticum aestivum</i>

w różnych organach roślinnych (CONSTABEL 1999, LEÓN i współaut. 2001, DICKE i VAN POECKE 2002, KESSLER i BALDWIN 2002) (Tabela 1).

W uszkodzonych komórkach dochodzi do znacznego zaburzenia funkcji życiowych. Oprócz ściany komórkowej, zazwyczaj zerwaniiu podlega również ciągłość plazmolemy i innych przedziałów komórkowych, np. wakuoli, chloroplastów itp. (LEÓN i współaut. 2001). Zranienie tkanki roślinnej prowadzić może do znacznej utraty wody, co w efekcie wywołuje również objawy stresu wodnego. W przypadku zranienia wywołanego przez owady roślinożerne dodatkowym czynnikiem, oprócz zranienia mechanicznego, jest oddziaływanie substancji chemicznych (tzw. elicytorów) zawartych w ślinie owadów, które wzmacniają odpowiedź rośliny na uszkodzenie mechaniczne (DICKE i VAN POECKE 2002, KESSLER i BALDWIN 2002). Przykładem są inceptyny, nowa klasa białkowych elicytorów odkrytych w cofającym się, strawionym pokarmie larw, żerujących na fasolniku chińskim (*Vigna unguiculata*). Inceptyna w tak małych ilościach jak 1 femtomol ( $10^{-15}$  M) na liść indukuje zwiększenie poziomu kwasu jasmonowego (ang. jasmonic acid, JA) i kwasu salicylowego (ang. salicylic acid, SA) w liściach, a także uwolnienie etylenu i terpe-



Ryc. 1. Ogólna charakterystyka odpowiedzi rośliny na zranienie, które wywołuje tzw. odpowiedź indukowaną (ang. induced response, IR).

Pokazano wybrane substancje chemiczne produkowane w odpowiedzi na zranienie; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: nadtlenuk wodoru, JA: kwas jasmonowy, MeJA: jasmonian metylu, OGA: kwas oligogalakturonowy, ROS: reaktywne formy tlenu oraz lotne związki organiczne (VOC), które są chemoatraktantami dla owadów drapieżnych lub pasożytniczych atakujących roślinożerców.

noidów (FELTON i TUMLINSON 2008). Zraniona roślina reaguje tzw. odpowiedzią aktywowaną zranieniem (ang. wound-activated response), która ma na celu regenerację uszkodzonej tkanki i obronę organizmu przed negatywnymi skutkami zranienia (LEÓN i współaut. 2001). Uszkodzenie tkanki w określonym miejscu wywołuje odpowiedź w obrębie miejsca zranienia i wówczas mamy do czynienia z tzw. odpowiedzią lokalną (ang.

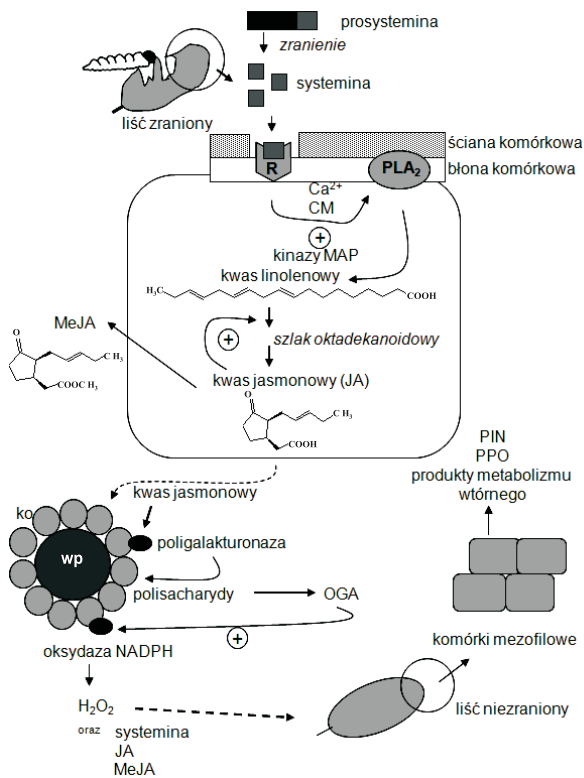
local response). Jednocześnie informacja o uszkodzeniu może być przekazywana do innych, często odległych od miejsca zranienia, nieuszkodzonych części rośliny. W tym drugim przypadku odpowiedź rośliny ma charakter systemowy (ang. systemic response) i często jest określana jako tzw. odpowiedź indukowana (ang. induced response, IR) (Ryc. 1) (BOSTOCK i współaut. 2001, LEÓN i współaut. 2001).

### SYGNAŁY O ZRANIENIU

Obserwowana na poziomie komórek i tkanek odpowiedź jest wynikiem działania całego zespołu czynników o charakterze egzo- i endogennym (DE BRUXELLES i ROBERTS 2001, LEÓN i współaut. 2001). Spośród najwcześniejszych zdarzeń biochemicznych zaangażowanych w odpowiedź na uszkodzenie tkanki należy wymienić zmiany w: tzw. potencjale transbłonowym i wewnątrzkomórkowym stężeniu jonów  $Ca^{2+}$ , produkcję reaktywnych form tlenu (ang. reactive oxygen species, ROS), aktywację kanałów jonowych i związanych z cytoszkieletem receptorów wrażliwych na zmiany napięcia (ang. stretch-sensors) oraz modyfikacje potranslacyjne białek (KOO i HOWE 2009). Wiele zróżnicowanych pod względem che-

micznym cząsteczek regulatorowych jest zaangażowanych w przekazywanie informacji o zranieniu. Do podstawowych substancji sygnałowych należą: systemina, oligosacharydy uwalniane z uszkodzonej ściany komórkowej, głównie kwas oligogalakturnonowy (ang. oligogalacturonic acid, OGA) i cząsteczki pełniące rolę hormonów. Do tej drugiej grupy należą przede wszystkim kwas jasmonowy i jego pochodne oraz etylen i kwas abscysynowy (ang. abscisic acid, ABA) (Ryc. 1) (PAUL i współaut. 2000, DE BRUXELLES i ROBERTS 2001, LEÓN i współaut. 2001).

Jak wspomniano powyżej, jedną z podstawowych substancji, która pojawia się w tkankach w wyniku zranienia jest systemina (Ryc. 1, 2). Systeminę zidentyfikowano początkowo w liściach pomidora (*Lycopersicon esculentum*), następnie ziemniaka (*Solanum*



Ryc. 2. Model transdukcji sygnału zranienia w odpowiedzi lokalnej i systemowej u *Lycopersicon esculentum* (wg OROZCO-CÁRDENAS i współaut. 2001, GATEHOUSE 2002, zmienione).

Uszkodzenie tkanki poprzez zranienie mechaniczne lub atak roślinożercy aktywuje biosyntezę JA z kwasu linolenowego w tzw. szlaku oktadekanoidowym. Kwas linolenowy powstaje w wyniku związania przez odpowiedni receptor systeminy i aktywność fosfolipazy  $PLA_2$ . JA może być metabolizowany do różnych pochodnych, spośród których pokazano MeJA. OGA może aktywować oksydazę NADPH w błonie komórkowej, co prowadzi do produkcji ROS, głównie  $H_2O_2$ . W odpowiedzi systemową zaangażowana jest systemina i pochodne JA. W efekcie tej odpowiedzi roślina produkuje PIN, PPO oraz wiele związków metabolizmu wtórnego (LEÓN i współaut. 2001); CM: kalmodulina, ko: komórki okółowiązkowe, MeJA: jasmonian metylu, OGA: kwas oligogalakturnonowy, PIN: inhibitory proteinaz,  $PLA_2$ : fosfolipaza  $A_2$ , PPO: oksydaza polifenolowa, R: receptor dla systeminy (SR 160), wp: wiązka przewodząca.

*tuberosum*), papryki (*Capsicum* sp.) i wilczej jagody (*Atropa belladonna*) (SZCZEGIELNIAK 2007). Systemina jest 18-aminokwasowym oligopeptydem, który powstaje w wyniku zranienia z 200-aminokwasowego prekursora tzw. prosysteminy (MATSUBAYASHI i współaut. 2001, RYAN i współaut. 2002). Biosynteza prosysteminy zachodzi w komórkach miękiszowych floemu (NARVAEZ-VASQUEZ i RYAN 2004). Systemina jest oligopeptydem, który pojawia się zarówno w odpowiedzi lokalnej jak i systemowej, albowiem może być transportowana na duże odległości w obrębie rośliny (DE BRUXELLES i ROBERTS 2001, LEÓN i współaut. 2001). Stwierdzono, że systemina jest transportowana w soku floemowym, aczkolwiek mechanizm tego transportu nie został dotychczas szczegółowo poznany (RYAN i współaut. 2002). Aktywność fizjologiczną systemina wykazuje już w ilościach femtomolowych (w przeliczeniu na świeżą masę rośliny) i dlatego zaliczana jest do grupy peptydowych hormonów roślinnych (MATSUBAYASHI i współaut. 2001, RYAN i współaut. 2002). Jej główną funkcją jest indukcja genów dla inhibitorów proteinaz (*PIN*). Inhibitory proteinaz (*PIN*) mają kluczowe znaczenie w generowaniu odporności roślin na zranienie i atak roślinożerców. Ich działanie obronne polega na inaktywacji enzymów trawiennych owadów, takich jak trypsyna i chymotrypsyna (CONSTABEL 1999, KESSLER i BALDWIN 2002). W ziemniaku i pomidorze stwierdzono indukcję serynowych inhibitorów proteinaz i wyróżniono ich dwie rodziny, tzw. *PIN I* i *PIN II* (CONSTABEL 1999, RYAN 2000). Z liści pomidora (*Lycopersicon esculentum*) wyizolowano też trzy bogate w hydroksyprolinę glikopeptydy, o długości: 20, 18 i 15 aminokwasów, które były odpowiedzialne za aktywację genów obronnych, podobnie jak systemina (PEARCE i RYAN 2003). Peptydy te powstają z pojedynczego, indukowanego zranieniem prekursora o długości 146 aminokwasów. Traktowanie młodych łodyg pomidora tymi peptydami w ilościach femtomolowych indukowało syntezę białek *PIN*, co sugeruje, że stanowią one istotną część sygnału o zranieniu, który z kolei aktywuje obronę przeciwko roślinożercom i patogenom. Uważa się, że wymienione wyżej peptydy zaliczane do rodziny systemin, są syntetyzowane w odpowiedzi na atak roślinożerców lub inne uszkodzenie mechaniczne, zarówno w liściach uszkodzonych jak i w tych niezranionych (PEARCE i RYAN 2003). U tytoniu natomiast opisano dwa polipeptydy powstające

z 165 aminokwasowego prekursora, nie wykazującego homologii do prosysteminy. Aktywują one syntezę obronnych białek *PIN* w sposób zbliżony do systeminy. Wskazuje to, że strukturalne różnice pomiędzy hormonami peptydowymi różnych gatunków roślin nie stanowią przeszkody, aby hormony te pełniły podobną funkcję. Co ciekawe, sytuacji takiej nie spotyka się w świecie zwierząt (PEARCE i współaut. 2001).

Obok wspomnianych związków chemicznych wskazuje się również inne czynniki lub układy sygnałowe uczestniczące w odpowiedzi systemowej. Zalicza się do nich impulsy elektryczne pojawiające się w wyniku zranienia, jak również falę hydrauliczną (DE BRUXELLES i ROBERTS 2001, LEÓN i współaut. 2001).

W wyniku uszkodzenia tkanki obserwuje się również wzmożoną produkcję reaktywnych form tlenu (ROS), takich jak anionorodnik ponadtlenkowy ( $O_2^{\cdot-}$ ) czy nadtlenek wodoru ( $H_2O_2$ ). W obrębie liścia  $H_2O_2$  był generowany zarówno w odpowiedzi lokalnej, jak i systemowej (OROZCO-CARDENAS i RYAN 1999). OROZCO-CARDENAS i RYAN (1999) stwierdzili ponadto, że zarówno uszkodzenie mechaniczne, jak i obecność systeminy, OGA i JA wywołują akumulację  $H_2O_2$  w tkankach na drodze systemowej. Badania prowadzone na *Pisum sativum* przez LIU i współaut. (2008) dowiodły, że zarówno JA jak i  $H_2O_2$  są włączone w transdukcję sygnału o zranieniu i odgrywają ważną rolę w odpowiedzi obronnej indukowanej zranieniem. Uszkodzenie stymuluje szybką syntezę *de novo* JA. Zwiększony poziom JA wywołuje natomiast produkcję  $H_2O_2$  przez błonową oksydazę NADPH. Ponadto, OROZCO-CÁRDENAS i współaut. (2001) wykazali, że egzogenne  $H_2O_2$  indukował ekspresję genów *PIN*. Na skutek uszkodzenia mechanicznego stwierdzono również wzrost aktywności jednego z podstawowych enzymów antyoksydacyjnych jakim jest dysmutaza anionorodnika ponadtlenkowego (ang. superoxide dismutase, SOD) (CHANDRU i współaut. 2003, ŚLESIAK i współaut. 2008) oraz wzrost aktywności niespecyficznych oksydaz polifenolowych (ang. polyphenol oxidase, PPO), a także peroksydaz (CONSTABEL 1999, GATEHOUSE 2002). Oksydazy polifenolowe katalizują reakcje utleniania związków monofenolowych i *orto*-difenolowych przy udziale tlenu cząsteczkowego, a produktem ich działania są wysoce reaktywne *orto*-chinony, które spontanicznie polimeryzują z innymi biomolekułami. Efektem tych

reakcji jest charakterystyczne brązowienie tkanki w miejscu zranienia. Wiązanie się chinonowych pochodnych z białkami prowadzi do ich wytrącania i utrudnia trawienie takich kompleksów roślinożercom (CONSTABEL 1999). Peroksydazy natomiast utleniają wiele substancji, m. in. związki fenolowe. Ocenia się, że zasadniczą funkcją peroksydaz w reakcji na zranienie jest udział w procesach naprawczych, takich jak biosynteza ligniny podczas odbudowy uszkodzonej ściany komórkowej (CONSTABEL 1999). W reakcjach katalizowanych przez peroksydazy substratem jest  $H_2O_2$ , stąd też nadtlenek wodoru, oprócz wspomnianych wcześniej funkcji sygnałowych, pełni również rolę czynnika uczestniczącego w naprawie ściany komórkowej i ograniczającego wzrost mikroorganizmów chorobotwórczych, które mogą wnikać do zranionej tkanki. Opisana powyżej wzmożona produkcja  $H_2O_2$ , jaką obserwuje się w wyniku zranienia, jest bardzo podobna do analogicznego procesu, który ma miejsce podczas zakażenia rośliny patogenami (HEATH 2000, BOSTOCK i współaut. 2001). Co ciekawe, podobne zjawisko zwiększonej produkcji ROS, tzw. „wybuch tlenowy” (ang. oxidative burst), występuje u ssaków podczas reakcji neutrofilii na stan zapalny wywołany wniknięciem do organizmu drobnoustrojów chorobotwórczych (LÜTHJE i współaut. 2000).

Innym ważnym czynnikiem chemicznym, zaangażowanym w odpowiedź lokalną, jest wspomniany wcześniej OGA (Ryc. 1, 2). Związek ten jest produktem hydrolizy polisacharydów ściany komórkowej, katalizowanej przez poligalakturonazę mikroorganizmów chorobotwórczych (GATEHOUSE 2002). OROZ-

CO-CARDENAS i współaut. (2001) sugerują, że poligalakturonaza w obrębie komórek okolicytkowych może aktywować błonową oksydazę NADPH, która z kolei przyczynia się do wzmożonej produkcji  $O_2^-$  i  $H_2O_2$ . W tym modelu wiązki przewodzące stanowiłyby główny system, który umożliwia transport nadtlenu wodoru (Ryc. 2). Endogenne pochodzenie oligogalakturonidów potwierdzają wyniki doświadczeń, w których systemina indukowała gen dla poligalakturonazy. Ponadto, oligogalakturonidy aktywują ekspresję indukowanych zranieniem genów *PIN* u *Solanaceae*. Chociaż oligosacharydy mogą pochodzić z mechanicznego uszkodzenia ścian komórek roślinnych, indukowane zranieniem geny poligalakturonazy, opisane u pomidora, mogą być odpowiedzialne za produkcję endogennych oligogalakturonidów podczas zranienia. Biorąc pod uwagę fakt, że poligalakturonidazy są indukowane przez systeminę, oligogalakturonidy mogą reprezentować etap pośredni w sygnalizacji odpowiedzi lokalnej, już po wytworzeniu systeminy w miejscu uszkodzenia. Ponadto, w komórkach pomidora oligogalakturonidy wywołują „wybuch tlenowy”, co sugeruje, że przynajmniej w tym przypadku sekwencja zdarzeń: zranienie → systemina → oligogalakturonidy → ROS należy do tego samego szlaku transdukcji sygnału. Natomiast u *Arabidopsis* oligogalakturonidy pośredniczą w zahamowaniu szlaku sygnałowego zależnego od JA, oddziałując lokalnie poprzez produkcję etylenu w uszkodzonych tkankach. Z kolei w odpowiedzi systemowej w pełni funkcjonuje ścieżka sygnałowa zależna od JA (LEÓN i współaut. 2001).

## ROLA FITOHORMONÓW

Wspólną cechą odpowiedzi na zranienie u roślin, związaną z pojawieniem się systeminy i OGA, jest lokalna i systemowa akumulacja JA i ABA (DE BRUXELLES i ROBERTS 2001, LEÓN i współaut. 2001, GATEHOUSE 2002). Przypuszcza się, że za wzmożoną produkcję ABA na skutek zranienia odpowiedzialne jest odwodnienie tkanek (REYMOND i współaut. 2000). Niemniej jednak nie wiadomo, który

z etapów biosyntezy ABA jest aktywowany przez zranienie. Dobrze udokumentowany jest fakt, że poziom ABA rośnie w tkankach roślinnych poddanych stresowi suszy (WILKINSON i DAVIES 2002) i przypuszcza się, że szlak syntezy ABA w zranionych organach przebiega podobnie jak w przypadku stresu wodnego (LEÓN i współaut. 2001).

## KWAS JASMONOWY I JEGO POCHODNE

Istotną rolę w odpowiedzi roślin na zranienie odgrywa wspomniany już kwas jasmono-

wy. W ostatniej dekadzie zbadano szlak sygnałowy z udziałem JA u przedstawicieli roślin

dwuliściennych, takich jak np.: *Arabidopsis thaliana*, *Lycopersicon esculentum*, *Nicotiana tabacum*, i na mniejszą skalę u roślin jednoliściennych (np. *Hordeum vulgare*, *Oryza sativa*) (KAZAN i MANNERS 2008). W dojrzałych, nie poddanych działaniu elicytorów liściach, JA jest utrzymywany na niskim poziomie, aczkolwiek pod wpływem specyficznej stymulacji, po kilku minutach, następuje indukcja jego syntezy (GLAUSER i współaut. 2008). Po zranieniu lub ataku roślinożercy sygnał jest szybko przekazywany do plastydów w celu rozpoczęcia natychmiastowej produkcji JA. Szybka odpowiedź musi wynikać z aktywacji enzymów biosyntezy JA, obecnych w tkance dzięki dostępności substratów i/lub modyfikacji potranslacyjnych odpowiednich enzymów (KALLENBACH i współaut. 2010). Ostatnio zidentyfikowano kilka czynników regulacyjnych, które wpływają na produkcję JA. Natomiast nadal nie wiadomo w jaki sposób regulatory te wpływają na biosyntezę kwasu jasmonowego. Przykładowo, u *Nicotiana attenuata* wykazano, że w biosyntezie JA uczestniczą indukowana salicylanami kinaza białkowa (ang. salicylic acid-induced protein kinase, SIPK), indukowana zranieniem kinaza białkowa (ang. wound-induced protein kinase, WIPK), białko regulatorowe NPR1 (ang. non-expressor PR-1) oraz elicytor owada 18:3-Glu (ang. N-linolenoyl-glucose). Dodatkowo wykazano, że hamowana zranieniem plastydowa glicerolipaza (GLA1) odgrywa zasadniczą rolę w indukcji biosyntezy *de novo* JA, co sugeruje, że wymienione powyżej czynniki (SIPK, NPR1, 18:3-Glu) mogą zwiększać efekt działania tego enzymu przez regulację jego aktywności. Przeciwnie do SIPK i NPR1, WIPK nie wpływa na produkcję kwasu linolenowego, ale kontroluje jego przekształcenie do kwasu 12-okso-fytodienowego (ang. 12-oxo-phytodienoic acid, 12-OPDA). Kontrola ta polega na, co najmniej częściowej, regulacji aktywności syntazy tlenu allenu (ang. allene oxide synthase, AOS) (KALLENBACH i współaut. 2010). JA jest syntetyzowany w uszkodzonych tkankach w tzw. szlaku oktadekanoidowym (Ryc. 2). Wiele dowodów wskazuje na to, że związkami, który aktywuje szlak oktadekanoidowy jest systemina (Ryc. 2) (RYAN 2000, GATEHOUSE 2002). W szlaku regulowanym przez systeminę funkcjonuje kaskada sygnałowa zachodząca z udziałem fosfolipaz, które uwalniają z błony fosfolipidowej pierwszy prekursor JA, czyli wspomniany wyżej 18-węglowy kwas linolenowy (Ryc. 2) (RYAN 2000, LEÓN i współaut. 2001). Ponadto zaobserwowano, że podczas pierw-

szych godzin po zranieniu rośliny akumulują kwas fosfatydowy i niezestryfikowane kwasy tłuszczowe, które powstają na skutek działania głównie fosfolipazy typu A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) i fosfolipazy typu D (PLD) (DE BRUXELLES i ROBERTS 2001, LEÓN i współaut. 2001). Kluczowym „punktem kontrolnym” w syntezie JA jest wspomniana wcześniej syntaza tlenu allenu (AOS). W zranionych roślinach stwierdzono wzrost poziomu mRNA dla AOS jak i ilości samego enzymu (LEÓN i współaut. 2001). Wykazano również, że synteza 12-OPDA, jednego z prekursorów JA zachodzi w chloroplastach, skąd najprawdopodobniej związek ten jest transportowany do peroksysomów i tam ulega β-oksydacji prowadzącej do powstania JA (SCHALLER 2001, WEBER 2002). Warto zwrócić uwagę, że w modelu transdukcji sygnału o zranieniu proponowanym przez OROZCO-CARDENAS i współaut. (2001) głównym źródłem kwasu linolenowego są fosfolipidy błony komórkowej, a szlak oktadekanoidowy zachodzi w cytozolu (Ryc. 2). Lokalizacja biosyntezy JA w kompleksie komórki towarzyszące-elementy sitowe floemu jest ważna w kontekście badań, które dowodzą akumulacji prosysteminy w komórkach miękiszowych floemu (NARVAEZ-VASQUEZ i RYAN 2004). Wyraźne oddzielenie prosysteminy i enzymów biosyntezy JA i ich lokalizacja w różnych typach komórek, sugeruje model, w którym przyłączanie systeminy do tzw. receptora SR160 na powierzchni komórek towarzyszących inicjuje syntezę transportowanego floemem JA (SCHILLMILLER i HOWE 2005). Większość genów, które kodują enzymy niezbędne w biosyntezie JA jest aktywowana zranieniem, a część z nich: lipooxygenaza (ang. lipooxygenase, LOX), syntaza tlenu allenu (AOS), reduktaza 12-OPDA są również indukowane przez egzogeny JA, co sugeruje kontrolę na zasadzie sprzężenia zwrotnego dodatniego, tzn. JA stymuluje swoją dalszą produkcję (Ryc. 2) (LEÓN i współaut. 2001, DEVOTO i TURNER 2003). Kwas jasmonowy ulega różnym enzymatycznym transformacjom, w efekcie których powstają jego pochodne, różniące się aktywnością biologiczną. Do głównych szlaków metabolicznych kwasu jasmonowego należy: (1) metylacja C-1, w efekcie której powstaje lotny ester metylowy JA (MeJA), który zidentyfikowano jako zapachowy komponent kwiatów jaśminu, (2) dekarboksylacja C-1, prowadząca do formowania innej lotnej substancji: cis-jasmonu, (3) hydroksylacja C-12 (lub C-11) prowadząca do powstania kwasu tuberonowego i pokrewnych pochodnych, które mogą być następnie

modyfikowane przez sulfonowanie lub glikozylację, (4) redukcja C-6, dająca w efekcie kwas kukurbinowy, który może być dalej estryfikowany do pochodnych cukrowych oraz (5) wiązanie za pośrednictwem grupy amidowej grupy karboksylowej z izoleucyną lub z innymi aminokwasami, które prowadzą do powstania m. in. koniugatu kwas jasmonowy-izoleucyna (JA-Ile) (BROWSE i HOWE 2008).

Ponadto, uwolniony z błon biologicznych kwas linolenowy może być przekształcony w szlaku oktadekanoidowym w inne, obok JA, tzw. oksylipiny, które pojawiają się w roślinach w wyniku zranienia (CONSTABEL 1999, LEÓN i współaut. 2001, TURNER i współaut. 2002). Oksylipiny powstają również w rezultacie utleniania enzymatycznego innych kwasów tłuszczowych i większość z nich wykazuje aktywność biologiczną (WEBER 2002). Warto tutaj podkreślić fakt, że wspomniany już prekursor JA, czyli 12-OPDA, jest pod względem strukturalnym bardzo podobny do prostaglandyn, które powstają w tkankach ssaków w stanach zapalnych, w wyniku przemian kwasu arachidonowego (MUELLER 1997). Podobieństwa pomiędzy szlakiem biosyntezy prostaglandyn i JA sugerują, że jest to archaiczna droga metaboliczna o podstawowym znaczeniu obronnym dla organizmów wyższych, która powstała na dość wczesnych etapach ewolucji.

Wytworzony w szlaku oktadekanoidowym JA sam może działać jako sygnał systemowy aktywując różne grupy genów i enzymów uczestniczących w reakcji rośliny na stres zranienia, takich jak: inhibitory proteinaz, peroksydazy, oksydazy polifenolowe (THALER i współaut. 1996) oraz SOD (COMPAROT i współaut. 2002). Badania prowadzone przez YANG i współaut. (2011) wykazały, że u *Nicotiana attenuata* gen *NaBAK1* jest niezbędny dla indukowanej przez roślinożercę akumulacji JA. Gen ten koduje fragment receptora dla brassinosteroidów, i dodatkowo, na zasadzie kontroli negatywnej, reguluje aktywność białkowych inhibitorów trypsyny indukowanej przez roślinożercę.

Wspomniany wyżej MeJA jest substancją lotną, którą można zaliczyć do tzw. lotnych związków organicznych (ang. volatile organic compounds, VOC). Dlatego też MeJA odgrywa istotną rolę w komunikacji międzykomórkowej jak również w wywoływaniu reakcji obronnych u innych roślin w populacji (SEO i współaut. 2001, BALDWIN i współaut. 2002).

Odpowiedź na JA jest zwykle zależna od szerokiej gamy zmian w ekspresji genów. W

komórkach nie poddanych stresowi zranienia, zawierających niski poziom JA, czynniki transkrypcyjne, które stymulują ekspresję genów odpowiedzi zależnej od JA, są hamowane przez represory transkrypcji białka JAZ (ang. JAsmonate ZIM-domain). Zwiększony poziom JA stymuluje przyłączanie JAZ do COI1 (ang. coronatine insensitive 1), białka z domeną F, będącego podjednostką ligazy ubikwitynowej E3 typu SCF. Indukowana interakcja COI1-JAZ wywołuje degradację JAZ poprzez proteasom 26S, powodując odblokowanie (derepresję) czynników transkrypcyjnych (BROWSE i HOWE 2008, BROWSE 2009, HOWE 2010). Białko COI1, wykazującemu strukturalne i funkcjonalne podobieństwo do receptora auksyn TIR1 (ang. transport inhibitor response 1), coraz częściej przypisuje się funkcję receptora JA. Percepcja opisanego powyżej sygnału prowadzącego do aktywacji ligazy ubikwityny E3 ma miejsce na terenie jądra komórkowego (FRANKOWSKI i współaut. 2009).

Interakcja COI1-JAZ nie jest stymulowana przez JA, MeJA czy też 12-OPDA, ale przez koniugat JA-izoleucyna (JA-Ile) (KOO i HOWE 2009). Mimo, że koniugaty są powszechnie uważane za formę magazynowania lub transportowania hormonu, dzięki której roślina utrzymuje hormonalną homeostazę, to jednak JA-Ile pełni rolę aktywnej i specyficznej cząsteczki sygnałowej, promującej oddziaływanie białek COI1 i JAZ (FRANKOWSKI i współaut. 2009). Obecny model dotyczący roli JA w przekazie sygnału zranienia, wskazuje, że sygnał jest inicjowany poprzez kumulację JA-Ile do poziomu wystarczającego do indukcji interakcji COI1-JAZ. Mechaniczne uszkodzenie tkanki już po 5 minutach od zranienia powoduje ok. 25-krotny wzrost akumulacji JA i JA-Ile. Tak duża szybkość produkcji JA i JA-Ile sugeruje, że wszystkie enzymy zaangażowane w ich biosyntezę są obecne w nie poddanych stresowi zranienia komórkach. Uszkodzone liście akumulują również inne koniugaty JA z aminokwasami, takie jak: JA-Val i JA-Leu. Jednak badania wskazują, że poziom JA-Ile jest co najmniej 10-krotnie wyższy niż dwóch pozostałych koniugatów, co może wskazywać, że JA-Ile jest główną cząsteczką sygnałową u *Arabidopsis* w odpowiedzi na zranienie zależnej od COI1 (KOO i współaut. 2009).

Warto dodać, że u *Arabidopsis thaliana* oprócz znanych pochodnych kwasu jasmonowego takich jak: kwas hydroksyjasmonowy (HOJA), koniugat JA-Ile i jego

12-hydroksylowe pochodne (12-HOJA-Ile), został odkryty nowy związek, indukowany zranieniem: 12-karboksyjasmonianoylo-L-izoleucyna (12-HOOCJA -Ile). Obecność HOJA i 12-HOOCJA-Ile stwierdzono w ner-

wach głównych (ang. midvein) zranionych liści, co wyraźnie odróżniało je od innych badanych pochodnych JA (GLAUSER i współaut. 2008).

#### ETYLEN

Substancją o charakterze hormonalnym produkowaną w dużej ilości na skutek zranienia jest etylen. Świadczy o tym indukcja genów zaangażowanych w biosyntezę tego hormonu (BOUQUIN i współaut. 1997). Stwierdzono również, że systemina, OGA i JA powodowały wzmożoną produkcję etylenu w kulturach komórkowych pomidora oraz etylen wywoływał ekspresję genów dla *PIN II* (O'DONNELL i współaut. 1996). Z drugiej strony, pojawiły się fakty świadczące o tym, że u *Arabidopsis* w odpowiedzi lokalnej etylen może inhibować ekspresję genów zależną od JA (ROJO i współaut. 1999). Ponadto sądzi się, że etylen może hamować szlak metaboliczny zależny od JA głównie w od-

powiedzi lokalnej, a pozostaje bez wpływu na efekty systemowe regulowane przez JA (WANG i współaut. 2002).

W przekaz sygnałów w obrębie komórek i tkanek włączony jest szereg jeszcze innych związków chemicznych. Między innymi wykazano, że w wyniku stresu mechanicznego wzrasta poziom tlenku azotu (NO) (GARCÉS i współaut. 2001). W innych doświadczeniach stwierdzono, że rośliny traktowane nitroprusydkiem sodu, który jest powszechnie stosowanym donorem NO, wykazywały zahamowanie akumulacji  $H_2O_2$  i syntezy PIN w wyniku zranienia (OROZCO-CARDENAS i RYAN 2002).

#### LOTNE ZWIĄZKI ORGANICZNE

Najlepiej poznaną odpowiedzią fizjologiczną roślin na atak roślinożercy jest synteza *de novo* lotnych związków organicznych (VOC), które są następnie uwalniane do atmosfery i pełnią rolę chemoatraktantów dla naturalnych wrogów roślinożerców (SZCZEGIELNIAK 2007) (Ryc. 1). Dodatkowo, uwolnienie VOC, jako skutek ataku roślinożercy, może być efektem uszkodzenia istniejących struktur, w których lotne związki są zmagazynowane, takich jak kanały żywiczne lub włoski gruczołowe (HOLOPAINEN i GERSHENZON 2010). Co ciekawe, wykazano, że VOC mogą być uwalniane przez znacznie większy obszar tkanek niż tylko te uszkodzone i nawet fluktuacje w natężeniu światła i temperatury regularnie obserwowane w naturze, mogą indukować emisję VOC (LORETO i współaut. 2006). Dwoma najbardziej popularnymi składnikami mieszaniny lotnych związków są terpeny ( $C_{10}$  monoterpeny i  $C_{15}$  seskwiterpeny) oraz lotne związki z zielonych liści ( $C_6$  aldehydy, alkohole i estry uzyskane z rozkładu przez lipoksygenazę kwasów tłuszczowych, wchodzące w skład typowego zapachu uszkodzonych liści) (UNSICKER i współaut. 2009). Lotne terpeny zwiększają zdolności roślin w radzeniu sobie z wewnętrznymi zmianami oksydacyjnymi i z odpowiedzią roślin na stres.

VICKERS i współaut. (2009) zaproponowali model „pojedynczego biochemicznego mechanizmu dla wielu fizjologicznych stresorów”, wprowadzający ujednoczone wyjaśnienie ochrony sprawowanej przez lotne terpeny w zróżnicowanych warunkach stresowych. Według ww. autorów węgiel jest przekierowywany do produkcji lotnych związków w warunkach stresowych, a następnie obecność tych związków powoduje ochronę rośliny przed niekorzystnymi czynnikami stresowymi, co wyjaśnia ich wysoki metaboliczny koszt produkcji. W badaniach prowadzonych przez LAOTHAWORNKITKUL i współaut. (2008) nad transgenicznym tytoń, jako modelem interakcji roślina-owad, po raz pierwszy wykazano, że izopren (jeden z VOC, spokrewniony z mono- i seskwiterpenami) może być rozpoznawany przez żerujące gąsienice, zniechęcając je do spożywania wydzielającej go rośliny. Chemiczne sygnały VOC od roślin uszkodzonych przez roślinożerców alarmują zdrowych sąsiadów do podjęcia obrony w celu efektywniejszej odpowiedzi na potencjalny atak (FELTON i TUMLINSON 2008). W rozważaniach dotyczących złożonych interakcji roślina-roślinożerca, warto wziąć pod uwagę fakt, że tylko wieloaspektowe podejście obejmujące fitohormony, od-



powieź transkrypcyjną i biosyntezę metabolitów, pozwoli na zbadanie mechanizmów leżących u podstaw emisji tzw. indukowa-

nych przez roślinożerców roślinnych lotnych związków (ang. herbivore-induced plant volatiles, HIPV) (DICKE i współaut. 2009).

#### ZALEŻNOŚĆ POMIĘDZY ODPOWIEDZIĄ NA ZRANIE NIE A REAKCJĄ NA INFЕКCJĘ PRZEZ PATOGENY

Na roślinę w naturalnym środowisku oddziałuje cały wachlarz czynników stresowych. Dlatego trudno sobie wyobrazić, aby transdukcja sygnału o zranieniu nie pokrywała się, przynajmniej częściowo, z innymi znanymi szlakami sygnałowymi w komórce roślinnej, zwłaszcza z tymi, które pojawiają się w rezultacie działania innych niż uszkodzenie mechaniczne czynników stresowych. Zranienie stwarza drobnoustrojom chorobotwórczym sprzyjające warunki do zainfekowania rośliny. Dlatego uzasadnione wydaje się przypuszczenie, że odpowiedź na zranienie i reakcja na infekcję przez patogeny będą podobne. Umownie wyróżnia się dwie klasy odpowiedzi roślin na zakażenie patogenem. Jedną z nich to tzw. reakcja nadwrażliwości (ang. hypersensitive response, HR). Istotą tej odpowiedzi, wywołanej przez awirulentnego dla danej rośliny patogena, jest powstawanie martwiczych brunatnych plam w zainfekowanych miejscach. Ponadto obszar zakażenia zostaje odizolowany od reszty zaatakowanego organu (np. liścia) warstwą odcinającą, w której zachodzi szybkie obumieranie komórek, czyli tzw. programowana śmierć komórki (ang. programmed cell death, PCD). W efekcie prowadzi to do „odrzućenia” przez zdrową część rośliny chorej tkanki lub organu i zapobiega rozprzestrzenianiu się infekcji (HEATH 2000, HAM i BENT 2002). Podobnie jak w przypadku zranienia, w reakcję typu HR zaangażowane są ROS, jony  $Ca^{2+}$  i określone kinazy białkowe (SCHALLER 2001). Reakcja HR ma zazwyczaj charakter miejscowy, ale może być również związana z odpowiedzią systemową (METRAUX i współaut. 2002, WHITHAM i DINESH-KUMAR 2002). Drugi typ odpowiedzi na atak patogena jest określany mianem tzw. „nabytej odporności systemowej” (ang. systemic acquired resistance, SAR). Podstawowa funkcja SAR polega na tym, że roślina zaatakowana przez drobnoustroje chorobotwórcze w jednym miejscu (np. odpowiedź lokalna typu HR) wysyła informację do innych niezakażonych części i niejako przygotowuje je („zaszczepia”) na kolejne zakażenie (odpowieź systemowa). W tym bardzo skrótowym opisie łatwo za-

uważyć podobieństwa pomiędzy odpowiedzią typu HR i SAR a lokalną i systemową odpowiedzią rośliny na zranienie, czyli opisywaną wcześniej odpowiedzią indukowaną (IR). Istotne różnice pomiędzy odpowiedzią rośliny na atak patogena i odpowiedzią na zranienie pojawiają się przede wszystkim na poziomie molekularnym. Główną substancją sygnałową w reakcji typu SAR jest kwas salicylowy (SA) (METRAUX i współaut. 2002). O odmienności dróg sygnałowych odpowiedzialnych za reakcję na zranienie i infekcję patogenami świadczą doniesienia, w których SA lub drobnoustroje chorobotwórcze hamowały zależną od JA odpowiedź na zranienie (PRESTON i współaut. 1999). Z drugiej strony, uszkodzenie ściany komórkowej przez enzymy organizmu patogenego *Erwinia carotovora* indukowało odpowiedź zależną od JA (NORMAN i współaut. 1999). Jedną z cech charakterystycznych SAR jest indukcja genów dla tzw. białek PR (ang. pathogenesis-related proteins), które są białkami obronnymi skierowanymi przeciwko drobnoustrojom chorobotwórczym (FELTON i KORTH 2000, NÜRNBERGER i SCHEEL 2001, HAM i BENT 2002). W przeciwieństwie do SAR, szlak sygnałowy pojawiający się w odpowiedzi na zranienie jest rezultatem działania głównie szlaku okta-dekanoidowego i JA, bez udziału SA (Ryc. 2). Zatem istnieje pogląd na temat odmienności szlaków sygnałowych zaangażowanych w odpowiedź na infekcję patogenem i reakcję na zranienie (FELTON i KORTH 2000, PAUL i współaut. 2000). Obecnie zaczyna obowiązywać opinia, że również JA może być odpowiedzialny za odporność na pewne patogeny i odwrotnie – elicytory pochodzące od patogenów mogą wzmacniać produkcję JA (BOSTOCK 1999, SCHALLER i WEILER 2002). Wydaje się, że szlaki sygnałowe, w których udział bierze SA i JA mogą się wzajemnie pokrywać (BOSTOCK 1999, WALLING 2000). Przykładowo, zranienie tkanek jakie wywołują owady żywiące się sokiem floemowym (np. mszyce) wzmacnia ekspresję wspomnianych wyżej genów PR (WALLING 2000, KESSLER i BALDWIN 2002). Podstawowym punktem wspólnym w transdukcji sygnału w odpowiedzi na zranie-

nie i infekcję przez patogeny jest wzmożona produkcja ROS oraz aktywność określonych kinaz (HEATH 2000, NÜRNBERGER i SCHEEL 2001, ZHANG i KLESSIG 2001, FUJITA i współaut. 2006). Warto podkreślić, że wiele intere-

sujących szczegółów dotyczących transdukcji sygnału w odpowiedzi roślin na zranienie, których nie poruszono w niniejszym artykule, znajduje się w pracy przeglądowej SZCZEGIELNIAK (2007).

#### ODPOWIEDŹ ROŚLIN NA ZRANIENIE W KULTURACH *IN VITRO*

Hodowla roślin w warunkach *in vitro* daje niepowtarzalną możliwość analizy lotnych związków organicznych (VOC), ponieważ wyklucza zewnętrzne zanieczyszczenia, zarówno chemiczne jak i mikrobiologiczne oraz ich możliwy wpływ na wzrost roślin. Ponadto, monitorowanie VOC wewnątrz naczyń hodowlanych do kultur tkankowych, stanowi niedestrukcyjne narzędzie analityczne, użyteczne do określenia produkcji lotnych związków, potencjalnie ważnych dla przemysłu farmaceutycznego i do oceny fizjologicznej aktywności kultury (MAES i współaut. 2001). Wśród VOC uwalnianych przez rośliny zranione w warunkach *in vitro* i obecnych w atmosferze kultur tkankowych bardzo ważną rolę odgrywają terpeny, ponieważ mogą odzwierciedlać status fizjologiczny roślin (PREDIERI i RAPPARINI 2007). Monitorowanie emisji terpenów, jako odpowiedzi rośliny na stres mechaniczny w warunkach *in vitro*, prowadzone u *Prunus avium* x *P. pseudocerasus*, wykazało zwiększone tempo emisji izoprenów i monoterenów w pierwszej godzinie po przeszczepieniu kultur. Stężenie terpenów było znacznie wyższe w naczyniach hodowlanych zawierających pędy zranione skalpelem w porównaniu do kultur pędów niezranionych (PREDIERI i RAPPARINI 2007). Podobnie szybka odpowiedź w emisji VOC (*cis*-3-heksenal i *cis*-3-heksenolu), w efekcie zranie-

nia eksplantatu, była obserwowana przez MAES i współaut. (2001) u hodowanego *in vitro* pomidora (*L. esculentum*). Wiadomo, że synteza terpenów jest indukowana przez stres mechaniczny i uszkodzenie, co związane jest z technikami mikropropagacji. Badania dotyczące tego zagadnienia prowadził w warunkach *in vitro* VERCAMMEN i współaut. (2001) z użyciem zautomatyzowanego systemu do monitorowania emisji terpenów z uszkodzonego mechanicznie *Hedera helix* i hodowanego *in vitro* pomidora, poddanego zgryzaniu przez roślinożerne gąsienice *Spodoptera littoralis*. Głównymi komponentami obecnymi w atmosferze kultury, zarówno pomidora, jak i bluszcz (*Hedera helix*) były terpeny: mono- i seskwiterpeny. Wymienioną powyżej metodę zastosowali również MAES i DEBERGH (2003) do badania emisji terpenów w kulturze *in vitro* pędów pomidora poddanych zranieniu poprzez atak roślinożernych gąsienic. Stres zranienia wywołany przez owady spowodował natychmiastową, wysoką emisję mono- i seskwiterpenów, co potwierdza hipotezę, że komponenty te są obecne wewnątrz liści a ich emisja następuje w efekcie uszkodzenia włosków przez gąsienice. Natomiast emisja tzw. związków indukowanych, takich jak linalol i indol, miała miejsce dopiero 1-2 dni po usunięciu z liści roślinożerców.

#### PODSUMOWANIE

Z przedstawionej powyżej charakterystyki dotyczącej reakcji roślin na uszkodzenie mechaniczne wyłania się pewien całościowy obraz skomplikowanych i zaawansowanych mechanizmów obronnych jakimi dysponuje roślina. Dalsze badania na poziomie molekularnym wymagają zidentyfikowania określonych regionów promotorowych jak i wszystkich czynników transkrypcyjnych dla genów aktywowanych zranieniem. Technika badawcza jaką jest metoda mikromacierzy DNA (ang. DNA microarray) daje możliwość poznania ekspresji setek genów jednocześnie. Badania z jej zastosowaniem wskazują, że tak

różne czynniki stresowe, jak zasolenie, stres suszy, zranienie, czy infekcja przez patogeny wywołują podobne efekty na poziomie ekspresji określonych genów (REYMOND i współaut. 2000, CHEONG i współaut. 2002). Przykładowo, szczegółowe badania DOMBROWSKIEGO (2003) pokazały, że stres solny u pomidora indukował mRNA dla genów zaangażowanych w odpowiedź na zranienie, takich jak: *PIN II*, *LOX*, czy prosysteminy (*PS*).

Badania nad stresem zranienia wywołanego zgryzaniem przez roślinożerców mają również aspekt praktyczny. Rośliny uprawne są powszechnie atakowane przez różne ga-

tunki owadów roślinożernych, powodujących straty rzędu 10-20% plonów roślin uprawnych i stanowiące znaczący czynnik ograniczający produkcję żywności (FERRY i współaut. 2004). Zrozumienie reakcji biochemicznych, które decydują o odporności roślin na zranienie zapewne pozwoli w przyszłości lepiej przeciwdziałać szkodliwym skutkom aktywności roślinożerców. Planuje się między innymi otrzymać rośliny transgeniczne, produkujące więcej substancji lotnych, będących chemoatraktantami dla naturalnych wrogów owadów roślinożernych. Wyniki pierwszych

prób z transgenicznymi roślinami *Arabidopsis*, wykazującymi wzmożoną produkcję określonych terpenoidów są bardzo zachęcające (TURLINGS i TON 2006). Najprawdopodobniej w najbliższych latach pojawi się więcej fascynujących informacji na ten temat.

Praca była częściowo finansowana w ramach: grantu nr 595/N-COST/2009/0, projektu Welcome 2008/1 z Fundacji na Rzecz Nauki Polskiej oraz z funduszy strukturalnych z Unii Europejskiej.

## ODPOWIEDŹ ROŚLIN NA ZRANIENIE

### Streszczenie

Rośliny narażone są na różnorodne biotyczne i abiotyczne czynniki stresowe, które mogą powodować zranienie organizmu roślinnego. Odpowiedź rośliny na uszkodzenie mechaniczne może mieć charakter lokalny i/lub systemowy i obejmuje m. in. transdukcję sygnału o zranieniu, która prowadzi do ekspresji wielu różnych genów. W odpowiedzi roślin na zranienie główną rolę odgrywa kwas jasmonowy i jego pochodne. Ważną rolę przypisuje się również innym związkom chemicznym, takim jak: oligopeptyd systemina, oligosacharydy, lotne związki organiczne oraz fitohormony (np. kwas abscysynowy). W odpowiedzi na zranienie biorą również udział czynniki fizyczne, takie jak: fala hydrauliczna, czy impulsy elektryczne. Wymienione komponenty szlaków sygnałowych są kontrolowane i regulowane przez interakcje z innymi wewnątrzkomórkowymi kaskadami

sygnałowymi u roślin, do których należy: odwracalna fosforylacja białek, zmiany wewnątrzkomórkowego stężenia jonów wapnia, regulowane przez kalmodulinę oraz produkcja reaktywnych form tlenu, takich jak anionorodnik ponadtlenkowy i nadtlenek wodoru. Niektóre substancje chemiczne zaangażowane w transdukcję sygnału o zranieniu funkcjonują również w szlakach sygnałowych jako rezultat działania czynników stresowych, innych niż uszkodzenie mechaniczne, np. w reakcji na infekcję przez patogeny. Zrozumienie mechanizmów, które są odpowiedzialne za reakcje na zranienie, zarówno w obrębie organizmu roślinnego jak i w kontekście oddziaływania roślina – środowisko, ma istotne znaczenie poznawcze i może mieć zastosowanie praktyczne, zwłaszcza w szeroko pojętej ochronie roślin.

## THE RESPONSE OF PLANTS TO WOUNDING

### Summary

Plants during life are exposed to different abiotic and biotic stress factors. Both of them can induce wounding of a plant body. Responses to mechanical damage are local or/and systemic and hence involve the transduction of wound signals to activate the expression of various genes. In plant responses to wounding the central role plays jasmonic acid and its derivatives, but other compounds, including the oligopeptide systemin, oligosaccharides, volatile organic compounds and phytohormones e. g. abscisic acid are also important. Additionally, physical factors such as hydraulic pressure or electrical pulses, have also been proposed as a crucial factors involved in wound signaling. These components of signaling pathways are controlled in time and space by highly complex regulatory networks modulated

by interactions with other signaling cascades in plants. They include reversible protein phosphorylation steps, calcium calmodulin-regulated events, and production of reactive oxygen species such as superoxide anion radical and hydrogen peroxide. Indeed, some of these components involved in transducing of wound signals also function in signaling of other plant defence responses, mainly in pathogen responses, suggesting that cross-talk events may regulate temporal and spatial activation of different defences. Understanding the ways in which wound signaling pathways are coordinated individually and in the context of the plants environment is crucial in the application of this knowledge to plants crop protection strategies.

## LITERATURA

BALDWIN I. T., KESSLER A., HALITSCHKE R., 2002. *Volatile signalling in plant-plant-herbivore interactions*

*what is real?* Curr. Opin. Plant Biol. 5, 351-354.

- BOSTOCK R. M., 1999. *Signal conflicts and synergies in induced resistances to multiple attackers*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 55, 99–109.
- BOSTOCK R. M., KARBAN R., THALER J. S., WEYMAN P. D., GILCHRIST D., 2001. *Signal interactions in induced resistance to pathogens and insect herbivores*. *Eur. J. Plant Pathol.* 107, 103–111.
- BOUQUIN T., LASSERRE E., PRADIER J., PECH J. C., BALAGUÉ C., 1997. *Wound and ethylene induction of the ACC oxidase melon gene CM-ACO1 occurs via two direct and independent transduction pathways*. *Plant Mol. Biol.* 35, 1029–1035.
- BROWSE J., 2009. *Jasmonate passes muster: a receptor and targets for the defense hormone*. *Annu. Rev. Plant Biol.* 60, 183–205.
- BROWSE J., HOWE G. A., 2008. *New weapons and a rapid response against insect attack*. *Plant Physiol.* 146, 832–838.
- CHANDRU H. K., KIM E., KUK Y., CHO K., HAN O., 2003. *Kinetics of wound-induced activation of antioxidative enzymes in *Oryza sativa*: differential activation at different growth stages*. *Plant Sci.* 164, 935–941.
- CHEONG Y. H., CHANG H. S., GUPTA R., WANG X., ZHU T., LUAN S., 2002. *Transcriptional profiling, reveals novel interactions between wounding, pathogen, abiotic stress, and hormonal responses in *Arabidopsis**. *Plant Physiol.* 129, 661–677.
- COMPAROT S. M., GRAHAM C. M., REID D. M., 2002. *Methyl jasmonate elicits a differential antioxidant response in light- and dark-grown canola (*Brassica napus*) roots and shoots*. *Plant Growth Regul.* 38, 21–30.
- CONSTABEL P. C., 1999. *A survey of herbivore-inducible defensive proteins and phytochemicals*. [W:] *Inducible plant defenses against pathogens and herbivores: biochemistry, ecology, and agriculture*. AGRAWAL A. A., TUZUN S., BENT E. (red.). American Phytopathological Society Press, Paul, MN, USA, 137–166.
- DE BRUXELLES G. L., ROBERTS M. R., 2001. *Signals regulating multiple responses to wounding and herbivores*. *Crit. Rev. Plant Sci.* 20, 487–521.
- DEVOTO A., TURNER J. G., 2003. *Regulation of jasmonate-mediated plant responses in *Arabidopsis**. *Ann. Bot.* 92, 329–337.
- DICKE M., VAN LOON J. J., SOLER R., 2009. *Chemical complexity of volatiles from plants induced by multiple attack*. *Nat. Chem. Biol.* 5, 317–324.
- DICKE M., VAN POECKE R. M. P., 2002. *Signalling in plant-insect interactions: signal transduction in direct and indirect plant defence*. [W:] *Plant Signal Transduction*. Scheel D., Wasternack C. (red.). Oxford University Press, 289–316.
- DOMBROWSKI J. E., 2003. *Salt stress activation of wound-related genes in tomato plants*. *Plant Physiol.* 132, 2098–2107.
- FELTON G. W., KORTH K. L., 2000. *Trade-offs between pathogen and herbivore resistance*. *Curr. Opin. Plant Biol.* 3, 309–314.
- FELTON G. W., TUMLINSON J. H., 2008. *Plant-insect dialogs: complex interactions at the plant-insect interface*. *Curr. Opin. Plant Biol.* 11, 457–463.
- FERRY N., EDWARDS M. G., GATEHOUSE J. A., GATEHOUSE A. M. R., 2004. *Plant-insect interactions: molecular approaches to insect resistance*. *Curr. Opin. Biotechnol.* 15, 155–161.
- FRANKOWSKI K., ŚWIEŻAWSKA B., WILMOWICZ E., KĘSY J., KOPCEWICZ J., 2009. *Szlak sygnałowy kwasu jasmonowego – nowe informacje*. *Post. Biochem.* 55, 337–341.
- FUJITA M., FUJITA Y., NOUTOSHI Y., TAKAHASHI F., NARUSAKA Y., YAMAGUCHI-SHINOZAKI K., SHINOZAKI K., 2006. *Crosstalk between abiotic and biotic stress responses: a current view from the points of convergence in the stress signalling networks*. *Curr. Opin. Plant Biol.* 9, 436–442.
- GARCÉS H., DURZAN D., PEDROSO M. C., 2001. *Mechanical stress elicits nitric oxide formation and DNA fragmentation in *Arabidopsis thaliana**. *Ann. Bot.* 87, 567–574.
- GATEHOUSE J. A., 2002. *Plant resistance towards insect herbivores: a dynamic interaction*. *New Phytol.* 156, 145–169.
- GLAUSER G., GRATA E., DUBUGNON L., RUDAZ S., FARMER E. E., WOLFENDER J. L., 2008. *Spatial and temporal dynamics of jasmonate synthesis and accumulation in *Arabidopsis* in response to wounding*. *J. Biol. Chem.* 283, 16400–16407.
- HAM J. H., BENT A., 2002. *Recognition and defence signalling in plant/bacterial and fungal interactions*. [W:] *Plant Signal Transduction*. SCHEEL D., WASTERNAK C. (red.). Oxford University Press, 198–225.
- HEATH M. C., 2000. *Hypersensitive response-related death*. *Plant Mol. Biol.* 44, 321–334.
- HOLOPAINEN J. K., GERSHENZON J., 2010. *Multiple stress factors and the emission of plant VOCs*. *Trends Plant Sci.* 15, 176–184.
- HOWE G. A., 2010. *Ubiquitin ligase-coupled receptors extend their reach to jasmonate*. *Plant Physiol.* 154, 471–474.
- KALLENBACH M., ALAGNA F., BALDWIN I. T., BONAVENTURE G., 2010. *Nicotiana attenuata SIPK, WIPK, NPR1, and fatty acid-amino acid conjugates participate in the induction of jasmonic acid biosynthesis by affecting early enzymatic steps in pathway*. *Plant Physiol.* 152, 96–106.
- KAZAN K., MANNERS J. M., 2008. *Jasmonate signaling: toward an integrated view*. *Plant Physiol.* 146, 1459–1468.
- KESSLER A., BALDWIN I. T., 2002. *Plant responses to insect herbivory: the emerging molecular analysis*. *Annu. Rev. Plant Biol.* 53, 299–328.
- KOO A. J. K., GAO X., JONES A. D., HOWE G. A., 2009. *A rapid wound signal activates the systemic synthesis of bioactive jasmonates in *Arabidopsis**. *Plant J.* 59, 974–986.
- KOO A. J. K., HOWE G. A., 2009. *The wound hormone jasmonate*. *Phytochemistry* 70, 1571–1580.
- LAOTHAWORNKITKUL J., PAUL N. D., VICKERS C. E., POSSELL M., TAYLOR J. E., MULLINEAUX P. M., HEWITT C. N., 2008. *Isoprene emissions influence herbivore feeding decisions*. *Plant Cell Environ.* 31, 1410–1415.
- LEÓN J., ROJO E., SÁNCHEZ-SERRANO J. J., 2001. *Wound signalling in plants*. *J. Exp. Bot.* 52, 1–9.
- LIU Y., PAN Q.-H., YANG H.-R., LIU Y.-Y., HUANG W.-D., 2008. *Relationship between H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and jasmonic acid in pea leaf wounding response*. *Russ. J. Plant Physiol.* 55, 765–775.
- LORETO F., BARTA C., BRILLI F., NOGUES I., 2006. *On the induction of volatile organic compound emissions by plants as consequence of wounding or fluctuations of light and temperature*. *Plant Cell Environ.* 29, 1820–1828.
- LÜTHJE S., BÖTTGER M., DÖRING O., 2000. *Are plants stacked neutrophiles? Comparison of pathogen-induced oxidative burst in plants and mammals*. *Progr. Botan.* 61, 187–222.
- MAES K., DEBERGH P. C., 2003. *Volatiles emitted from in vitro grown tomato shoots during abiotic and biotic stress*. *Plant Cell Tiss. Organ Cult.* 75, 73–78.
- MAES K., VERCAMMEN J., PHAM-TUAN H., SANDRA P., DEBERGH P. C., 2001. *Critical aspects for the reliable headspace analysis of plant cultivated in vitro*. *Phytochem. Anal.* 12, 153–158.
- MATSUBAYASHI Y., YANG H., SAKAGAMI Y., 2001. *Pep-tide signals and their receptors in higher plants*. *Trends Plant Sci.* 6, 573–577.

- METRAUX J.-P., NAWRATH C., GENOUD T., 2002. *Systemic acquired resistance*. Euphytica 124, 237–234.
- MUELLER M. J., 1997. *Enzymes involved in jasmonic acid biosynthesis*. Physiol. Plant 100, 653–663.
- NARVAEZ-VASQUEZ J., RYAN C. A., 2004. *The cellular localization of prosystemin: a functional role for phloem parenchyma in systemic wound signaling*. Planta 218, 360–369.
- NORMAN C., VIDAL S., PAIVA E. T., 1999. *Oligogalacturonide-mediated induction of a gene involved in jasmonic acid synthesis in response to the cell-wall-degrading enzymes of the plant pathogen Erwinia carotovora*. Mol. Plant-Microbe Interact. 12, 640–644.
- NÜRNBERGER T., SCHEEL D., 2001. *Signal transmission in the plant immune response*. Trends Plant Sci. 6, 372–379.
- O'DONNELL P. J., CALVERT C., ATZORN R., WASTERNAK C., LEYSER H. M. O., BOWLES D. J., 1996. *Ethylene as a signal mediating the wound response of tomato plants*. Science 274, 1914–1917.
- OROZCO-CARDENAS M., RYAN C. A., 1999. *Hydrogen peroxide is generated systemically in plant leaves by wounding and systemin via the octadecanoid pathway*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 96, 6553–6557.
- OROZCO-CARDENAS M., RYAN C. A., 2002. *Nitric oxide negatively modulates wound signalling in tomato plants*. Plant Physiol. 130, 487–493.
- OROZCO-CARDENAS M.L., NARVAEZ-VÁSQUEZ J., RYAN C. A., 2001. *Hydrogen peroxide acts as a second messenger for the induction of defence genes in tomato plants in response to wounding, systemin and methyl jasmonate*. Plant Cell 13, 179–191.
- PAUL N. D., HATCHER P. E., TAYLOR J. E., 2000. *Coping with multiple enemies: an integration of molecular and ecological perspectives*. Trends Plant Sci. 5, 220–225.
- PEARCE G., MOURA D. S., STRATMANN J., RYAN C. A., 2001. *Production of multiple plant hormones from a single polyprotein precursor*. Nature 411, 817–820.
- PEARCE G., RYAN C. A., 2003. *Systemic signaling in tomato plants for defense against herbivores*. J. Biol. Chem. 278, 30044–30050.
- PREDIERI S., RAPPARINI F., 2007. *Terpene emission in tissue culture*. Plant Cell Tiss. Organ Cult. 91, 87–95.
- PRESTON C. A., LEWANDOWSKI C., ENYEDI A. J., BALDWIN I. T., 1999. *Tobacco mosaic virus inoculation inhibits wound-induced jasmonic acid-mediated responses within but not between plants*. Planta 209, 87–95.
- REYMOND P., WEBER H., DAMOND M., FARMER E. E., 2000. *Differential gene expression in response to mechanical wounding and insect feeding in Arabidopsis*. Plant Cell 12, 707–719.
- ROJO E., LEÓN J., SANCHEZ-SERRANO J. J., 1999. *Crosstalk between wound signalling pathways determines local versus systemic gene expression in Arabidopsis thaliana*. Plant J. 20, 135–142.
- RYAN C. A., 2000. *The systemin signaling pathway: differential activation of plant defensive genes*. Biochim. Biophys. Acta 1477, 112–121.
- RYAN C. A., PEARCE G., SCHEER J., MOURA D. S., 2002. *Polypeptide hormones*. Plant Cell 14 (Suppl.), 251–264.
- SCHALLER F., 2001. *Enzymes of the biosynthesis of octadecanoid-derived signalling molecules*. J. Exp. Bot. 52, 11–23.
- SCHALLER F., WEILER E. W., 2002. *Wound- and mechanical signalling*. [W:] Plant Signal Transduction. SCHEEL D., WASTERNAK C. (red.). Oxford University Press, 20–44.
- SCHILLMILLER A. L., HOWE G. A., 2005. *Systemic signaling in the wound response*. Curr. Opin. Plant Biol. 8, 369–377.
- SEO H. S., SONG J. T., CHEONG J. J., LEE Y. H., LEE Y. W., HWANG I., LEE J., CHOI Y. D., 2001. *Jasmonic acid carboxyl methyltransferase: a key enzyme for jasmonate-regulated plant responses*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98, 4788–4793.
- SZCZEGIELNIAK J., 2007. *Szlaki przekazywania sygnału w reakcji roślin na zranienie*. Post. Biochem. 53, 121–132.
- ŚLESIAK E., ŚLESIAK M., GABRYŚ B., 2001. *Effect of methyl jasmonate on hydroxamic acid content, protease activity, and bird cherry-oat aphid Rhopalosiphum padi (L.) probing behavior*. J. Chem. Ecol. 27, 2529–2543.
- ŚLESIAK I., ŚLESIAK H., LIBIK M., MISZALSKI Z., 2008. *Antioxidant response system in the short-term post-wounding effect in Mesembryanthemum crystallinum leaves*. J. Plant Physiol. 165, 127–137.
- THALER J. S., STOUT M. J., KARBAN R., DUFFEY S., 1996. *Exogenous jasmonates simulate insect wounding in tomato plants (Lycopersicon esculentum) in the laboratory and field*. J. Chem. Ecol. 22, 1767–1781.
- TURLINGS T. C. J., TON J., 2006. *Exploiting scents of distress: the prospect of manipulating herbivore-induced plant odours to enhance the control of agricultural pests*. Curr. Opin. Plant Biol. 9, 421–427.
- TURNER J. G., ELLIS C., DEVOTO A., 2002. *The jasmonate signal pathway*. Plant Cell 14 (Suppl.), 153–164.
- UNSICKER S. B., KUNERT G., GERSHENZON J., 2009. *Protective perfumes: the role of vegetative volatiles in plant defense against herbivores*. Curr. Opin. Plant Biol. 12, 479–485.
- VERCAMMEN J., PHAM-TUAN H., SANDRA P., 2001. *Automated dynamic sampling system for the on-line monitoring of biogenic emissions from living organisms*. J. Chromatogr. A 930, 39–51.
- VICKERS C. E., GERSHENZON J., LERDAU M. T., LORETO F., 2009. *A unified mechanism of action for volatile isoprenoids in plant abiotic stress*. Nat. Chem. Biol. 5, 283–290.
- WALLING L. L., 2000. *The myriad plant responses to herbivores*. J. Plant Growth Regul. 19, 195–216.
- WANG K. L.-C., LI H., ECKER J. R., 2002. *Ethylene biosynthesis and signaling networks*. Plant Cell 14 (Suppl.), 131–151.
- WEBER H., 2002. *Fatty acid-derived signals in plants*. Trends Plant Sci. 7, 217–224.
- WHITHAM S. A., DINESH-KUMAR S. P., 2002. *Signalling in plant-virus interactions*. [W:] Plant Signal Transduction. SCHEEL D., WASTERNAK C. (red.). Oxford University Press, 226–249.
- WILKINSON S., DAVIES W. J., 2002. *ABA-based chemical signalling: the co-ordination of responses to stress in plants*. Plant Cell Environ. 25, 195–210.
- YANG D. H., HETTENHAUSEN CH., BALDWIN I. T., WU J., 2011. *BAK1 regulates the accumulation of jasmonic acid and the levels of trypsin proteinase inhibitors in Nicotiana attenuata's responses to herbivory*. J. Exp. Bot. 62, 641–652.
- ZHANG S., KLESSIG D. F., 2001. *MAPK cascades in plant defense signaling*. Trends Plant Sci. 6, 520–527.