

ODPORNOŚĆ ROŚLIN NA BIOTYCZNE CZYNNIKI STRESOWE

PLANT RESPONSE TO BIOTIC STRESS FACTORS

Wioleta WOJTASIK, Anna KULMA

Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Wrocławski

Streszczenie: Rośliny są stale narażone na ataki patogennych grzybów, bakterii i wirusów, które w niesprzyjających dla nich warunkach mogą prowadzić do zaburzenia wzrostu i rozwoju lub choroby, a nawet ich śmierci. Z tego powodu rośliny wykształciły specyficzne mechanizmy obronne. Odporność wrodzona (bariery fizyczne i chemiczne), obecna w roślinie przez całe jej życie, nawet pomimo braku kontaktu z patogenami, dzieli się na odporność nieswoistą, która zapewnia różnym roślinom efektywną obronę przeciwko różnym gatunkom i szczepom patogenów oraz odporność swoistą, która warunkuje ochronę konkretnemu, jednemu rodzajowi roślin w stosunku do jednego lub kilku szczepów patogennych. Natomiast odporność nabyta, uruchamiana w odpowiedzi na infekcję, jest aktywowana w komórkach otaczających miejsce infekcji (lokalna odporność nabyta), lub rozwija się później w odległych częściach roślin (systemiczna odporność indukowana i systemiczna odporność nabyta). Pierwszą barierą zabezpieczającą roślinę przed wywołaniem objawów chorobowych jest bariera fizyczna (ściana komórkowa, warstwa wosków, kutikula), natomiast drugą barierą chemiczną (związki anty-mikrobiologiczne). Pierwszym etapem odpowiedzi obronnej roślin jest rozpoznanie elitorów: nieswoistych (PAMPów, DAMPów, MAMPów) oraz swoistych (efektorów). Rozpoznanie elitorów nieswoistych przez gospodarza prowadzi do aktywacji odporności podstawowej lub tzw. odporności wyzwalanej PAMP'ami (PTI). Patogeny mogą jednak przewyciężyć odporność PTI, z tego powodu rośliny wykształciły drugą linię obrony, tzw. odporność wyzwalaną efektorami (ETI). Następnym etapem są kolejno zachodzące zmiany w komórkach: alkalizacja cytoplazmy przez gwałtowny napływ jonów wapnia, produkcja reaktywnych form tlenu oraz reaktywnych form azotu, aktywacja kaskady kinaz MAP, która prowadzi do aktywacji czynników transkrypcyjnych wpływających na ekspresję genów PR, produkcję etylenu, JA i SA, wzmocnienie ściany komórkowej roślin i indukcję syntezy związków antymikrobiologicznych.

Słowa kluczowe: odporność, rośliny, patogen, stres

Summary: Plants are constantly exposed to attack by pathogenic fungi, bacteria and viruses which under unfavorable conditions can lead to abnormal growth and development, disease or even plant

death. For this reason, plants have developed specific defense mechanisms. Innate immunity (physical and chemical barriers), present in the plant throughout its life even despite the lack of contact with pathogens divides into: nonspecific immunity, which provides an effective defense against different species and strains of pathogens and specific immunity, which determines the protection of specific, one type of plant in relation to one or more pathogenic strains. In contrast, acquired immunity, activated in the response to infection, it is activated in the cells surrounding the site of infection (local acquired immunity) or develops later in remote parts of the plant (systemic immunity induced and systemic acquired resistance). The first barrier protecting the plant from the infection is a physical barrier (the cell wall, a layer of wax, cuticle), while the second is a chemical barrier (anti-microbial compounds). The first stage of the plant defense response is to recognize elicitors: non-specific elicitors (PAMP, DAMP, MAMP) and specific elicitors (effectors). The recognition of non-specific elicitors by the host leads to the activation of primary immunity (PAMP'ami triggered immunity; PTI). However, pathogens can overcome the PTI resistance, and for this reason plants have developed a second line of defense, effectors triggered immunity (ETI). The next stage are sequentially occurring changes in cells: alkalization of the cytoplasm by rapid influx of calcium ions, production of reactive oxygen species and reactive forms of nitrogen, cascade of MAP kinases, which leads to the activation of transcription factors regulating expression of PR gene, ethylene production, JA and SA, strengthening of plants cell wall and the synthesis of antimicrobial compounds.

Key words: immunity, plants, pathogen, stress

WSTĘP

Rośliny, w swoim naturalnym środowisku, są narażone na działanie różnych czynników stresowych, które przyczyniają się do zaburzeń wzrostu i rozwoju oraz spadku objętości biomasy. Działanie czynników stresowych może prowadzić do zmian odwracalnych, bądź też w przypadku zbyt długiej ekspozycji na dany czynnik lub zbyt wysokiego jego natężenia do zmian nieodwracalnych, które zawsze prowadzą do śmierci rośliny [20]. Czynniki stresowe dzieli się na abiotyczne: wysoką lub niską temperaturę, zasolenie, odwodnienie, promieniowanie UV, niedobór tlenu, wpływ metali ciężkich oraz biotyczne: oddziaływanie innych roślin, zwierząt, bakterii, grzybów i wirusów.

Stres biotyczny określa się jako negatywny wpływ jednego organizmu na drugi. Może on przyjąć postać konkurencji między takimi samymi organizmami lub pokrewnymi, bądź bardziej drastyczną formę, jaką jest atak patogena. Wśród patogenów roślin wyróżnia się: grzyby, wirusy, bakterie oraz pasożyty o zróżnicowanej strategii działania. Patogeny nekrotroficzne zabijają komórki roślin, biotroficzne utrzymują komórki przy życiu, natomiast hemibiotroficzne początkowo utrzymują komórki przy życiu, by zabić je później. Patogeny mają możliwość sukcesywnej infekcji, która prowadzi do rozwoju choroby, gdy sprzyjają im warunki środowiskowe osłabiające gospodarza, gdy obrona roślin przed chorobą jest niewystarczająca oraz gdy gospodarz błędnie rozpozna patogena [12, 43].

ODPOWIEDŹ OBRONNA ROŚLIN NA DZIAŁANIE PATOGENA

Patogeny mogą powodować nieodwracalne zmiany w uprawie roślin wpływając na znaczne obniżenie uzyskanych plonów. Dostają się one do wnętrza roślin bezpośrednio, wnikając do liści czy korzeni lub przez zranienia obecne na powierzchni gospodarza czy też przez naturalnie otwierające się aparaty szparkowe. Podczas procesu infekcji patogeny wydzielają enzymy degradujące ścianę komórkową roślin oraz wydzielają różnego typu elicitory. Rośliny wykształciły specyficzne mechanizmy obronne przeciwdziałając infekcjom patogennym: wniknięciu do ich wnętrza, a następnie rozprzestrzenieniu się po ich organizmie. Pierwszą barierą zabezpieczającą roślinę przed wywołaniem objawów chorobowych jest bariera fizyczna obejmująca ścianę komórkową roślin, warstwę wosków, kutikulę, a druga chemiczna, która obejmuje składniki antymikrobiologiczne [13, 30, 49].

Wyróżnia się dwa typy interakcji roślina-patogen: interakcja kompatybilna, gdy patogen jest zdolny do kolonizacji gospodarza, co prowadzi do wystąpienia objawów chorobowych i niekompatybilna, gdy infekcja patogenna jest hamowana przez mechanizmy obronne gospodarza, co nie wywołuje symptomów chorobowych. Udana infekcja ma miejsce, gdy reakcje obronne gospodarza są nieefektywne i nieodpowiednie. Na tej podstawie można wyodrębnić dwa typy gospodarzy: wrażliwe na infekcję, biorące udział w interakcji kompatybilnej i odporne, uczestniczące w reakcji niekompatybilnej [14, 22, 27].

TYPY ODPORNOŚCI ROŚLINY

Odporność roślin na infekcje patogenne dzieli się na: odporność wrodzoną, obejmującą mechanizmy, które są obecne w roślinie przez całe jej życie, nawet pomimo braku kontaktu z patogenami (bariery fizyczne i chemiczne) oraz odporność nabytą, która jest aktywowana w odpowiedzi na infekcje patogenne. Typy odporności roślin przedstawiono poniżej [22]:

ODPORNOŚĆ ROŚLIN

ODPORNOŚĆ WRODZONA

ODPORNOŚĆ NIESWOISTA

ODPORNOŚĆ NON-HOST

ODPORNOŚĆ PODSTAWOWA

ODPORNOŚĆ GATUNKOWO NIESWOISTA

ODPORNOŚĆ ILOŚCIOWO LIMITUJĄCA

ODPORNOŚĆ NA STRESORY INDUKUJĄCE NEKROZĘ

ODPORNOŚĆ SWOISTA

ODPORNOŚĆ SKRAJNA

ODPORNOŚĆ „GEN NA GEN”
ODPORNOŚĆ PRZECIW TOKSYNOM
WYCISZANIE GENÓW
ODPORNOŚĆ NABYTA
LOKALNA ODPORNOŚĆ NABYTA (LAR)
SYSTEMICZNA ODPORNOŚĆ INDUKOWANA (ISR)
SYSTEMICZNA ODPORNOŚĆ NABYTA (SAR)

ODPORNOŚĆ WRODZONA

Ten typ odporności występuje w roślinach w dwóch formach: odporności nieswoistej (ogólnej), zapewniającej różnym roślinom efektywną obronę przeciwko różnym gatunkom i szczepom patogenów oraz odporności swoistej, warunkującej ochronę konkretnemu, jednemu rodzajowi roślin w stosunku do jednego lub kilku szczepów patogennych [22].

Odporność nieswoista

Odporność nieswoista jest najbardziej rozpowszechnionym typem odporności charakterystycznym dla większości roślin. Opisano różne formy tego typu odporności, a wśród nich: odporność „non-host”, czyli rasowo nieswoistą, odporność podstawową, odporność gatunkowo nieswoistą, ilościowo limitującą odporność oraz odporność na czynniki nekrotyczne.

Fundamentalną i trwałą, a jednocześnie najpowszechniejszą formą odporności roślin jest odporność rasowo nieswoista (ang. „*non-host*”), która zapewnia wszystkim roślinom niezależnie od gatunku czy rodzaju odporność na wszystkie gatunki patogenów. Występują dwa typy odporności rasowo nieswoistej. W pierwszym typie odporności rośliny rozpoznają patogenne elicitory (głównie PAMPy), następnie aktywują odpowiedź obronną przez kaskadę kinaz MAP wpływając na wzmocnienie ściany komórkowej roślin przez jej lignifikację, akumulację związków fenolowych, produkcję saponin i fitoaleksyn oraz indukcję genów PR. Infekcja patogenna zostaje całkowicie zahamowana przez system obronny rośliny i nie powoduje żadnych widzialnych symptomów chorobowych, w tym zmian nekrotycznych wynikających z reakcji nadwrażliwości (HR). Drugi typ odporności rasowo nieswoistej wykazuje podobny mechanizm jak w odporności „gen na gen”. Rośliny rozpoznają patogenne elicitory obecne w cytoplazmie oraz przyłączone do powierzchni błony komórkowej wyzwalając mechanizm obronny prowadzący do reakcji nadwrażliwości (HR) [28]. Główną rolę w ograniczaniu infekcji w organizmie gospodarza odgrywa odpowiednio utrzymana równowaga pomiędzy reaktywnymi formami tlenu (RFT) a antyoksydantami (właściwy stan redox w komórkach) [22]. Dla przykładu nadtlenek wodoru zapewnia odporność jęczmienia na mączniaka pszenicy [38].

Odporność podstawowa występuje na wczesnym etapie interakcji gospodarz-patogen. Rośliny posiadają receptory, które rozpoznają elicitory wydzielane przez patogeny lub takie, które powstają w wyniku hydrolizującego działania patogennych enzymów (fragmenty ściany komórkowej gospodarza). Ten typ odporności roślin obejmuje nagromadzenie się RFT, wzrost aktywności genów PR (chitynazy i β -1,3-glukanazy) oraz akumulację składników antymikrobiologicznych [22].

Przeciwno infekcjom grzybowym rośliny wykształciły dwa typy odporności: odporność rasowo niespecyficzną, efektywną przeciwko kilku patogennym szczepom wywołującym mączniaka jęczmienia przez trwałe wyciszenie genu *Mlo* oraz odporność limitującą tempo i ograniczającą sporulację patogennych grzybów. Ze względu na wrażliwość gospodarza infekcja jest spowalniana i utrzymywana na niskim poziomie. Przykładem mogą być choroby ziemniaka tj.: zaraza ziemniaka *Phytophthora infestans* [36]. Te typy odporności cechują się akumulacją RFT, natomiast nie obserwuje się reakcji nadwrażliwości [22].

Odporność na czynniki stresowe (biotyczne i abiotyczne) indukujące nekrozę związana jest z właściwościami antyoksydacyjnymi roślin. Duża zdolność antyoksydacyjna roślin zapewnia multi-odporność na różne czynniki stresowe, co skojarzone jest ze zwiększoną akumulacją RFT.

Odporność swoista

Odporność swoista roślin obejmuje: odporność skrajną (ekstremalną), odporność „gen na gen”, odporność przeciw toksynom oraz mechanizm wyciszania genów warunkujący odporność przeciwko wirusom.

Odporność skrajna (ekstremalna) to swego rodzaju bezobjawowa odporność oparta na mechanizmie „gen na gen”, w której nie występuje reakcja nadwrażliwości. Badania prowadzone na ziemniaku wykazały, że produkt genu odporności Rx ziemniaka łączy się z odpowiednim produktem genu awirulencji (*Avr*) efektywnie przeciwdziałając infekcji wirusa X ziemniaka [2].

Odporność swoista oparta o mechanizm „gen na gen” aktywuje reakcję nadwrażliwości (HR). Penetracja patogena w roślinie jest ograniczana do miejsca infekcji, gdzie następuje HR, czyli śmierć zainfekowanych komórek roślinnych. Klasyczny mechanizm „gen na gen” opiera się na interakcji produktu genu odporności roślin (*R*) oraz produktu patogennego genu awirulencji (*Avr*) [22].

Toksyny wydzielane przez patogenne szczepy bakteryjne i grzybowe mogą wywoływać różne choroby roślin. Odporność przeciwko patogennym toksynom zakłada, że rośliny wytwarzają enzymy, które odpowiadają za inaktywację toksyn [22]. Johal i Brigges wydzielili gen HM1 kodujący reduktazę zależną od NADPH, która inaktywowała toksynę HC z patogennego grzyba [18].

Odporność swoista oparta o specyficzny mechanizm wyciszania genów jest charakterystyczna w przypadku infekcji wirusowych. Infekcje te prowadzą do wystąpienia typowych objawów i rozprzestrzeniania się patogena w gospodarzu.

Jednak nie we wszystkich częściach roślin występują charakterystyczne objawy, co związane jest z nieobecnością w tamtych miejscach patogena. Ten typ odporności roślin jest efektywny tylko w przypadku takich szczepów wirusowych, które zawierają sekwencje homologiczne do wirusa, z którego pochodzi transgen wprowadzony wcześniej do gospodarza (roślin transgenicznych). Mechanizm wyciszania genów jest wysoce specyficzny i zapewnia wysoką odporność opierając się na sekwencjach kwasów nukleinowych, a nie na działaniu białek [22, 44].

ODPORNOŚĆ NABYTA

Po pierwotnej infekcji patogennej w roślinach rozwija się odporność nabyta, nadająca otaczającym tkankom i oddalonym częściom roślin odporność przed kolejnymi infekcjami. Wykształcona w roślinach tzw. „pamięć stresowa” niekoniecznie spowoduje, że gospodarz obroni się przed kolejnymi inwazjami patogenów, lecz na pewno zapewni roślinom osłabienie symptomów chorobowych, np. redukcję nekrozy w tkankach infekowanych patogenami nekrotycznymi. Nabyta odporność roślin może działać lokalnie (lokalna odporność nabyta; LAR), w komórkach otaczających miejsce infekcji, lub systemowo (systemiczna odporność indukowana; ISR i systemiczna odporność nabyta; SAR), rozwijająca się później w odległych częściach roślin (ryc. 1) [22].

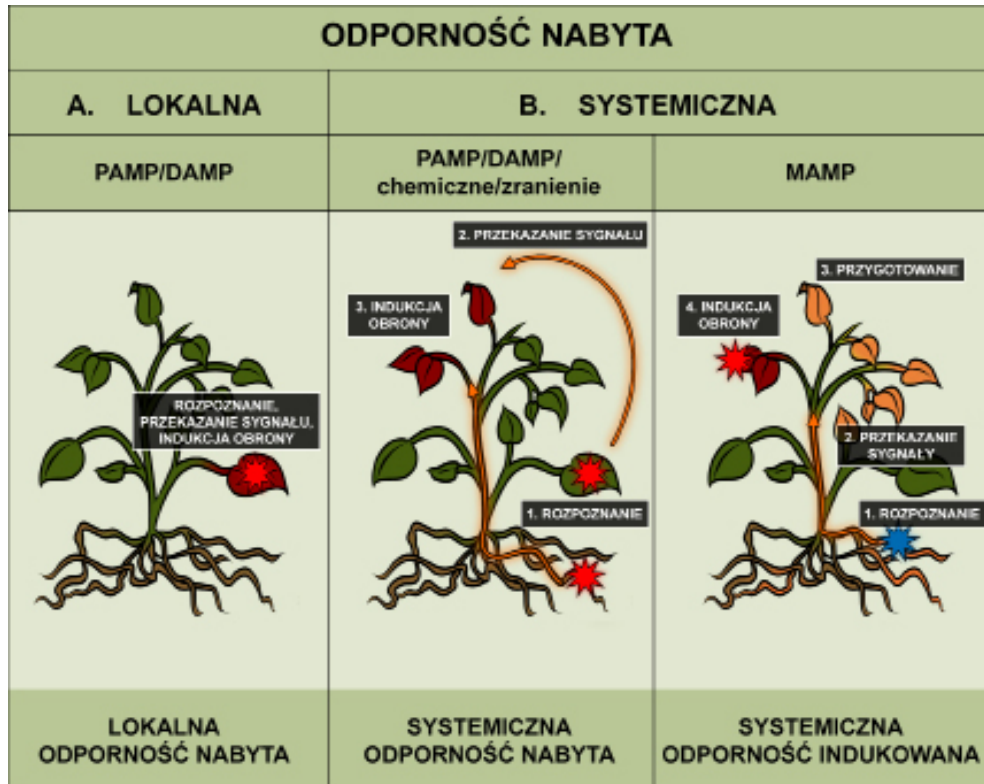
W obu typach odporności systemicznej występują następujące etapy: rozpoznanie elitorów przez komórki roślinne, przekazanie sygnału do odległych części roślin w celu propagowania stanu systemicznej odporności oraz ekspresja mechanizmów obronnych limitująca i ograniczająca w przyszłości penetrację patogenów w tkankach gospodarza [15].

Lokalna odporność nabyta

Lokalna odporność nabyta, wywołana w pobliżu miejsca infekcji (w tkankach otaczających komórki nekrotyczne) prowadzi do stałego wzmocnienia ochrony roślin przed kolejnymi infekcjami patogennymi, czyli do systemicznej odporności nabytej. LAR obejmuje silną odpowiedź obronną roślin stymulując je do produkcji białek związanych z patogenezą klasy I (białka szlaku fenylopropanoidowego i terpenoidowego) i klasy II (białka PR), wytwarzania i gromadzenia wtórnych metabolitów (fenylopropanoidów i terpenów) oraz kwasu salicylowego [8].

Systemiczna odporność indukowana

Tylko kilka szczepów *Pseudomonas* i *Bacillus*, które nazywane są rizobakteriami promującymi wzrost roślin (PGPR) jest zdolnych do wywołania systemicznej odporności indukowanej. Elicitorami wymaganymi do aktywacji ISR są MAMPy (wzorce molekularne związane z niepatogennymi mikroorganizmami).



RYCINA 1. Typy odporności nabytej roślin. Na podstawie [15], zmodyfikowane
 FIGURE 1. Types of plant acquired resistance. According to [15], modified

W ISR zaangażowane są szlaki sygnałowe kwasu jasmonowego (JA) i etylenu (ET) [15], natomiast nie obserwuje się akumulacji kwasu salicylowego czy wzmożonej ekspresji białek PR [39].

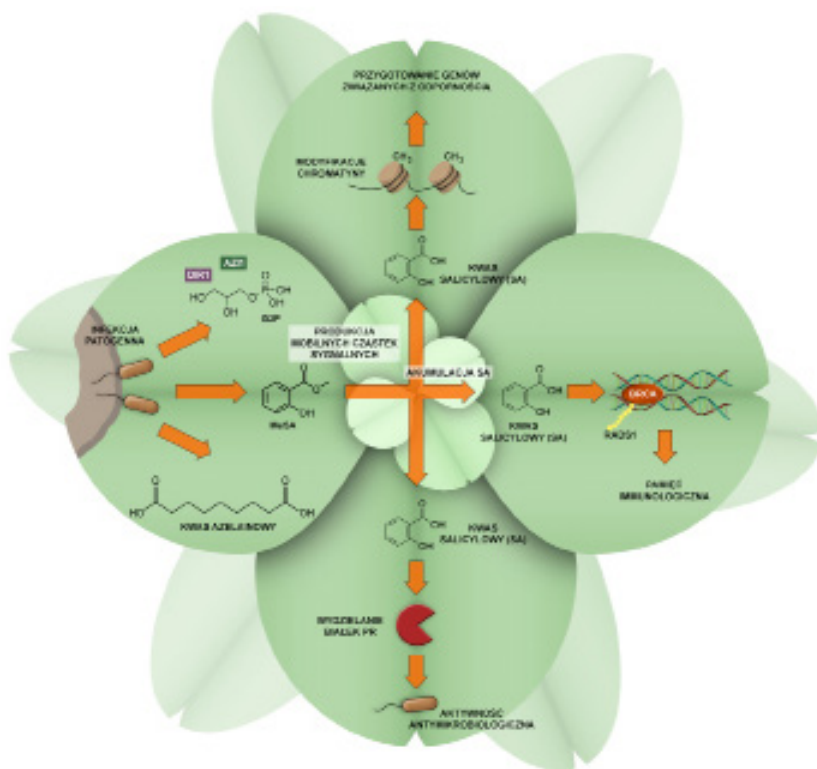
Systemiczna odporność nabyta

Systemiczna odporność nabyta jest aktywowana w częściach roślin oddalonych od miejsca infekcji. Elicitorami SAR są: PAMPy (wzorce molekularne związane z patogenami), DAMPy (fragmety ściany komórkowej roślin uwalniane w wyniku działania patogennych enzymów), efekторы (produkty genów awirulencji patogenów), elicitory chemiczne oraz zranienie. Natomiast mobilnymi cząsteczkami sygnałowymi SAR są: metylosalicylan (MeSA), kwas jasmonowy (JA), kwas azelainowy i diterpenoid [15]. Rodzaj mobilnych cząsteczek sygnałowych uczestniczących w SAR zależy od gatunku rośliny oraz typu interakcji roślina-patogen. Odpowiadają one za przekazanie sygnału z miejsca infekcji do po-

zostałych części rośliny, co prowadzi do akumulacji SA, który z kolei wpływa na podwyższenie poziomu ekspresji białek PR (ryc. 2) [37].

Usunięcie kwasu salicylowego przez konstytutywnie ekspresjonowaną hydrolazę salicylanu znosi SAR. Jednak mobilną cząsteczką sygnałną indukującą odporność nie jest SA, lecz metylosalicylan (MeSA), powstający z SA w wyniku działania metylotransferazy w zainfekowanych komórkach. Następnie MeSA jest transportowany z komórki do komórki przez plazmodesmy lub przez floem do pozostałych części roślin. Powtórne przekształcenie MeSA do SA katalizuje esteraza MeSA, zapewniając odpowiedni poziom SA w nieinfekowanych tkankach [27, 37].

Innymi mobilnymi cząsteczkami sygnałnymi indukującymi odporność są: kwas azelainowy, dodatkowo indukujący ekspresję genu *AZII* kodującego białko przenoszące lipidy zaangażowane w produkcję lub/i translokację cząsteczek mobilnych oraz kwas jasmonowy (JA), transportowany przez apoplastyczne białko przenoszące lipidy kodowane przez gen *DIR1* [37].



RYCINA 2. Udział mobilnych cząstek sygnałnych, głównie kwasu salicylowego, w SAR. Na podstawie [37], zmodyfikowane

FIGURE 2. The contribution of mobile signal particles, especially salicylic acid, in SAR. According to [37], modified

SAR zapewnia roślinie wyższą odporność przy kolejnych atakach patogenów. Ponadto w ten sposób wytworzona pamięć immunologiczna, związana z procesem przygotowania komórki (ang. „*priming*”), może zostać przekazana następnym pokoleniom. „*Priming*” wynika z akumulacji w komórce składników sygnałnych, które są aktywowane jedynie przy kolejnej infekcji patogennej. Przygotowanie komórek polega na akumulacji nieaktywnych MPK3 i MPK6 oraz NPR1 (zarówno mRNA, jak i białek), które ulegają aktywacji po infekcji [34].

SA prowadzi do rekrutacji białka BRCA 2 (ang. *Breast Cancer Susceptibility 2*) do promotora genu NPR1, wpływając na wytworzenie pamięci immunologicznej. Ponadto kwas salicylowy wpływa na modyfikację chromatyny: zmiany w metylacji i acetylacji DNA i histonów, a tym samym na procesy związane z aktywacją genów zaangażowanych w odporność. Lokalna, patogenna infekcja może zmieniać status metylacji i acetylacji histonów, a w szczególności wpływać na sekwencje promotorne genów w tkankach systemicznych. Tego typu zmiany określa się mianem zmian epigenetycznych, które zapewniają roślinom długotrwałą pamięć immunologiczną dziedziczną z pokolenia na pokolenie [37].

SYSTEMY OBRONNE ROŚLIN

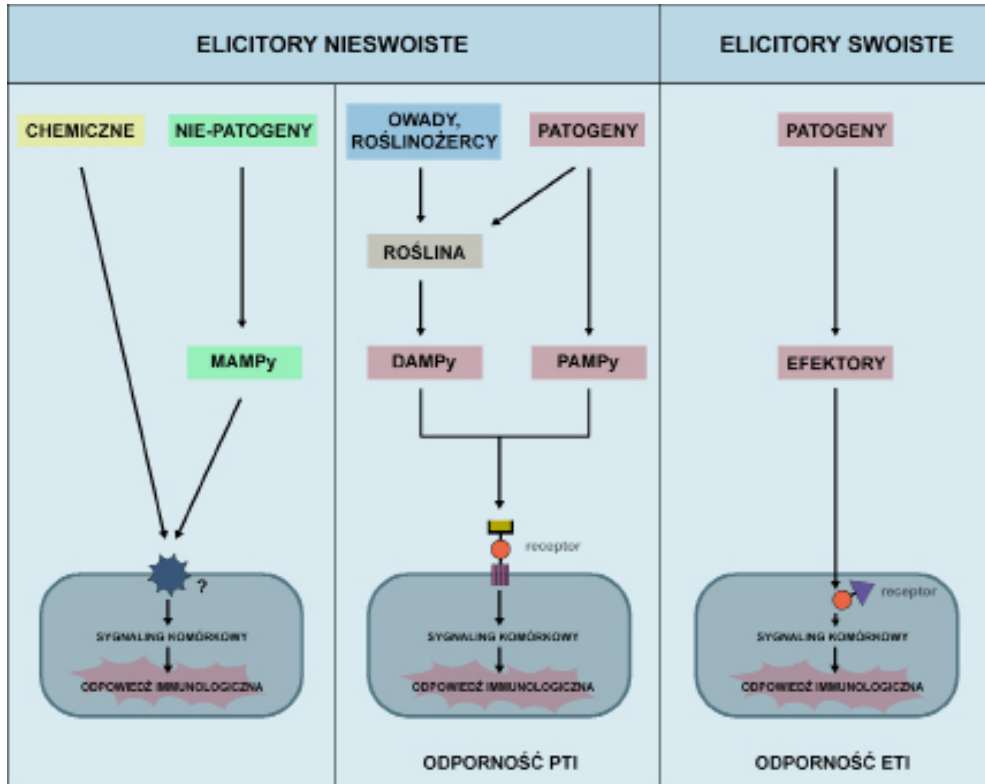
ROZPOZNANIE I PRZEKAZANIE SYGNAŁU

Typy elitorów

Obecność czynników infekujących jest wykrywana przez rośliny poprzez rozpoznanie odpowiednich sygnałów (elitorów), które indukują odpowiedź obronną roślin. Występują dwie klasy elitorów: elitory ogólne (nieswoiste), zaangażowane w odporność podstawową, będącą pierwszą barierą ochronną oraz elitory swoiste, uczestniczące w odporności stanowiącej drugą barierę ochronną (ryc. 3) [15].

Do elitorów ogólnych zalicza się: PAMPy (wzorce molekularne związane z patogenami), specyficzne struktury patogennych organizmów, DAMPy (wzorce molekularne związane ze zniszczeniem), endogenne sygnały, najczęściej fragmenty ściany komórkowej roślin lub patogenów powstałe w wyniku działania enzymów hydrolizujących wydzielonych przez patogena lub gospodarza, MAMPy (wzorce molekularne związane z mikroorganizmami), sygnały pochodzące od niepatogennych mikroorganizmów oraz elitory chemiczne. Rozpoznanie elitorów ogólnych przez gospodarza prowadzi do aktywacji odporności podstawowej lub tzw. odporności wyzwalanej PAMP'ami (PTI) [46].

Patogeny mogą przezwyciężyć odporność PTI, określaną jako odporność wrodzoną stanowiącą pierwszą linię obrony. Z tego powodu rośliny wykształciły drugą linię obrony, tzw. odporność wyzwalaną efektorami (ETI). Efektory to druga grupa elitorów, określaną mianem elitorów swoistych. Jako białka



RYCINA 3. Typy elicytorów rozpoznawane przez rośliny. Na podstawie [15], zmodyfikowane
FIGURE 3. Types of elicitors recognized by plants. According to [15], modified

awirulencji (*Avr*) wytwarzane przez patogeny są rozpoznawane przez roślinne receptory obecne w cytozolu, tzw. specyficzne białka odporności (*R*). Odporność ETI oparta jest o mechanizm odporności „gen na gen” [15, 25].

PAMPy to struktury mikroorganizmów (patogennych bakterii, grzybów i legniowców) niezbędne do ich normalnego życia i jednocześnie umożliwiające im zainfekowanie gospodarza. Należą do nich: składniki powierzchniowe komórek, enzymy sekrecyjne oraz białka zlokalizowane w cytozolu. PAMPy tj.: chityna (główny strukturalny składnik ściany komórkowej grzybów), LPS (glikolipidowy składnik zewnętrznej błony bakterii Gram-ujemnych) i flagelina (główny strukturalny składnik organu służącego do poruszania się bakterii) mogą wyzwać odpowiedź obronną w wielu gatunkach gospodarzy, podczas gdy wzorce tj.: Pep-13, EF-Tu, ksylanaza i białka szoku zimna są rozpoznawane przez gatunki roślin należące do jednej rodziny [4, 15].

DAMPy to endogenne sygnały obecne w apopląście, do których zalicza się oligosacharydy: oligogalakuroniany, uwalniane ze ściany komórkowej roślin przez działanie hydrolizujących enzymów patogena oraz N-acetylo-chitooligosacharydy, uwalniane ze ściany komórkowej grzyba przez działanie białek PR gospodarza. Systemina i Pep-1, peptydy obecne w cytozolu, mogą również działać jako DAMPy rozpoznawane odpowiednio przez receptor typu RLK (SR160) oraz receptor LRR [15, 29, 50].

MAMPy pochodzące z mikroorganizmów niepatogennych zaangażowane są w wyzwalanie odporności systemicznej. Na przykład elicator Sm1 pochodzący z grzyba *Trichoderma virens* indukuje odporność systemiczną w kukurydzy [15, 31].

ODPORNOŚĆ PTI/MTI

PAMPy są rozpoznawane na powierzchni komórek roślinnych przez zlokalizowane tam wysoce-swoiste receptory PRR (RLK i RLP). Receptory RLK (kinazy receptoro-podobne) są zbudowane z zewnątrzkomórkowej domeny łączącej się z ligandem zawierającej powtórzenia bogate w leucynę (LRR), domeny transmembranowej oraz wewnątrzkomórkowej domeny kinazy serynowo-treoninowej, natomiast receptory RLP (białka receptoro-podobne) są podobnie zbudowane jak RLK, jednak nie posiadają domeny wewnątrzkomórkowej [15, 29]. Przykładowe pary elicatorów PAMP i receptorów PRR to: flagelina22:FLS2, ET-Tu:EFR, Ax21:XA21 oraz fragmenty chityny:CERK1 [27].

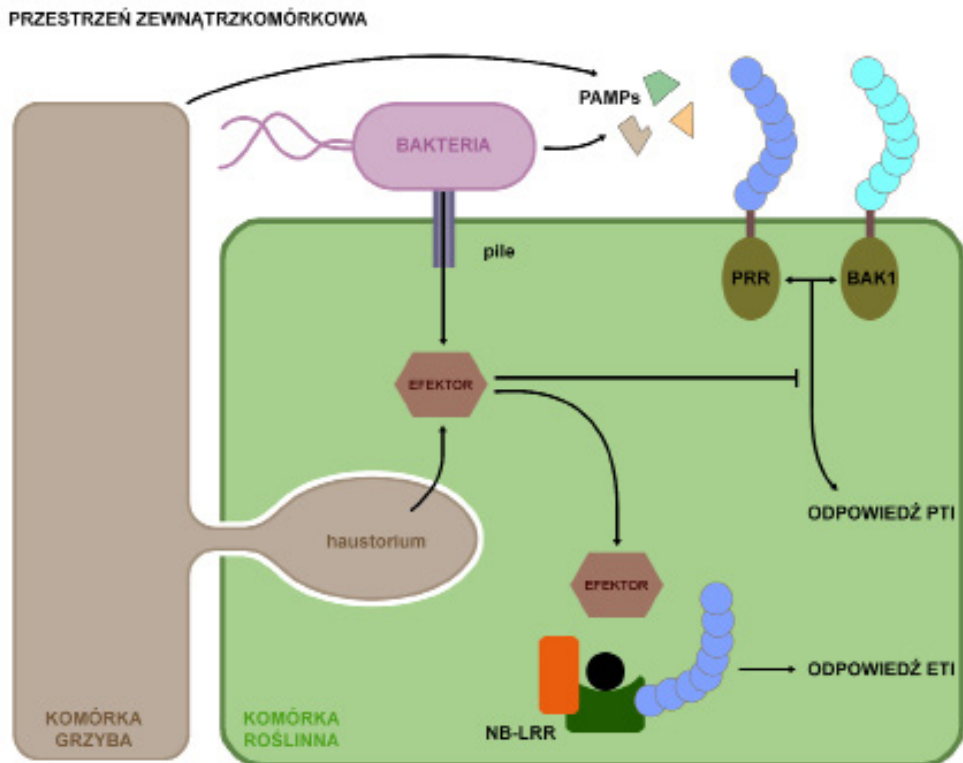
Powierzchniowe receptory PRR do pełnej swojej aktywności wymagają białek BAK1 bogatych w powtórzenia leucynowe (receptor: ang. *Brassinosteroid insensitive-Associated Kinase 1*), należących do rodziny receptorów kinazowych somatycznej embriogenezy (SERK). Interakcja obu receptorów wpływa na ich fosforylację i zainicjowanie szlaku sygnałnego PTI (ryc. 4) [10].

ODPORNOŚĆ ETI

Odporność wyzwalana efektorami (ETI) tłumi odporność PTI, ponieważ głównym zadaniem białek awirulencji, wydzielanych przez patogeny bezpośrednio do cytozolu komórek gospodarza, jest uniemożliwianie wiązania elicatorów nieswoistych z receptorami, a tym samym hamowanie odporności PTI. Białka Avr najprawdopodobniej działają jako inhibitory kinaz. Rośliny broniąc się przed patogenami uruchamiają drugą linię obrony, czyli odporność ETI, w wyniku czego białka awirulencji patogena są rozpoznawane i wiązane przez białka odporności R gospodarza (wewnątrzkomórkowe receptory (NB)-LRR i LRR) (ryc. 4) [6,

25]. Większość białek R należy do rodziny receptorów NB-LRR. Natomiast mniej liczna klasa białek R to receptory LRR, wśród których wyróżnia się trzy podklasy: białka RLP (wewnątrzkomórkowe LRR posiadające transmembranową domenę), białka RLK (wewnątrzkomórkowe LRR o aktywności kinaz cytoplazmatycznych) oraz PGIP (inhibitory poligalakturonaz występujące w ścianie komórkowej) [27]. Odporność ETI jest silniejsza i cechuje się szybszą odpowiedzią obronną w porównaniu z odpornością PTI oraz wywołuje reakcję nadwrażliwości [10].

Białka R mogą rozpoznawać patogenne efekторы przez ich bezpośrednie połączenia lub pośrednio z udziałem innych białek roślinnych. W przypadku pośredniego rozpoznania efekторы modyfikują dodatkowe białka, które następnie są rozpoznawane przez receptory NB-LRR [6].



RYCINA 4. Zależność pomiędzy odpornością PTI a ETI u roślin. Na podstawie [10], zmodyfikowane
FIGURE 4. The relationship between ETI and PTI plants resistance. According to [10], modified

TRANSDUKCJA SYGNAŁU ODPOWIEDZI ROŚLIN NA INFEKCJE PATOGENNĄ

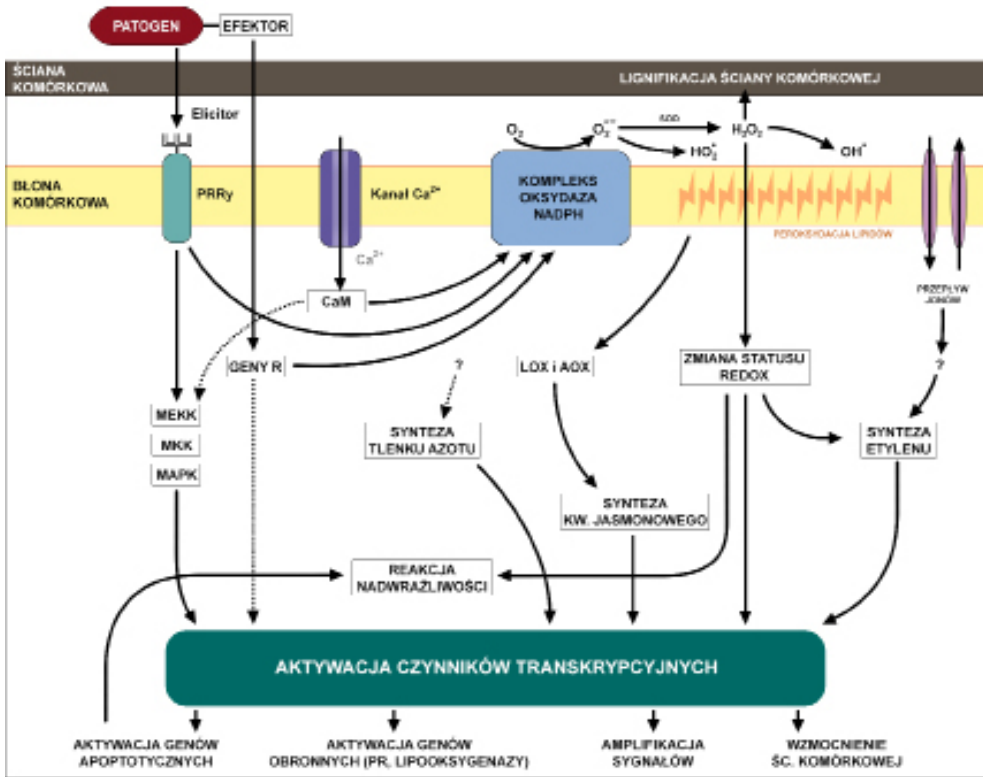
Oba rodzaje odporności, wyzwalane PAMP'ami (PTI) oraz efektorami (ETI), wywołują podobne zmiany w komórkach tj.: alkalizację cytoplazmy przez gwałtowny napływ jonów wapnia, produkcję RFT oraz reaktywnych form azotu (najczęściej tlenku azotu NO), aktywację kaskady kinaz MAPK, która prowadzi do aktywacji czynników transkrypcyjnych typu WRKY, które aktywowane przez fosforylację łączą się z kasetą W promotorów genów PR aktywując ich ekspresję, produkcję etylenu, JA i SA, wzmocnienie ściany komórkowej roślin poprzez odkładanie kalozy i indukcję składników mikrobiologicznych [25, 29]. Schematycznie szlak sygnałowy przedstawiono na rycinie 5 [23].

Alkalizacja cytoplazmy wynika ze zmian w przepływach jonów wodoru, potasu, chloru i wapnia przez błonę komórkową. Ufosforylowany receptor przekazuje sygnał poprzez białko G do kanału jonowego, który następnie ulega otwarciu, powodując napływ jonów wapnia do cytozolu oraz wypływ jonów K^+ i Cl^- . Jony Ca^{2+} aktywują kinazę białkową, która poprzez fosforylację aktywuje oksydazę NAD(P)H, przyczyniając się do wybuchu tlenowego. Ponadto wzrost cytozolicznego Ca^{2+} prowadzi do aktywacji ekspresji białek PR. Reaktywne formy tlenu wykazują bezpośrednie działanie antymikrobiologiczne, dodatkowo wzmocniają ścianę komórkową przez oksydatywne połączenia glikoprotein, indukują wewnątrzkomórkowe szlaki sygnałowe tj.: syntezę SA i aktywację kaskady kinaz MAPK oraz inicjują SAR [23, 27].

Jednakże pomiędzy mechanizmami obronnymi wywołanymi oboma typami odporności roślin występują znaczące różnice. ETI prowadzi do akumulacji SA w zainfekowanych tkankach, gdzie SA łączy się z receptorem NPR3 (ang. *Nonexpressor of PR gene 3*), a przez to wyzwała degradację supressora NPR1, co w konsekwencji prowadzi do rozwoju reakcji nadwrażliwości [27].

REAKCJA NADWRAŻLIWOŚCI (HR)

Reakcja nadwrażliwości to efektywny mechanizm obrony roślin przed infekcjami patogennymi, polegający na śmierci zainfekowanych komórek, a tym samym zabezpieczający przed rozprzestrzenieniem się patogena po organizmie gospodarza. HR obejmuje silny wybuch tlenowy i nagromadzenie się reaktywnych form tlenu, akumulację SA oraz wzmocnienie ekspresji genów zaangażowanych w szlaki metabolizmu wtórnego: fenylpropanoidów i terpenoidów [8].



RYCINA 5. Transdukcja sygnału odpowiedzi roślin na infekcje patogenne. Na podstawie [23], zmodyfikowane

FIGURE 5. The signal transduction of plant response to pathogenic infections. According to [23], modified

ROLA BIAŁEK PR W ODPORNOŚCI ROŚLIN

Białka związane z patogenezą (białka PR) są wytwarzane i gromadzone w roślinach w wyniku infekcji patogennej (indukowanej przez grzyby, bakterie, wirusy czy wiroidy) lub/i wpływu innego czynnika stresowego, hormonów (etylenu, kwasu jasmonowego, kwasu salicylowego) czy peptydu (systeminy) [1, 48]. Są one lokalnie akumulowane w miejscach infekcji i w otaczających je tkankach oraz w nieinfekowanych tkankach, zapewniając odporność roślinom przed kolejnymi infekcjami.

Białka PR to małowcząsteczkowe białka kwasorozpuszczalne zlokalizowane w przestrzeni wewnątrzkomórkowej oraz białka zasadorozpuszczalne zlokalizowane w wakuoli. Na podstawie masy molekularnej, punktu izoelektrycznego, lokalizacji i biologicznej aktywności zostały one podzielone na 5 rodzin, natomiast na podstawie właściwości i funkcji na 17 rodzin, wśród których występują m.in.:

β -1,3-glukanazy, chitynazy, białka podobne do taumatyny, peroksydazy, białka inaktywujące rybosomy, tioniny, defensyny, białka transportujące lipidy, oksydazy szczawianu [11, 41] (tab. 1).

TABELA 1. Klasyfikacja białek PR

TABLE 1. The classification of PR proteins

RODZINA	PRZYKŁAD	FUNKCJE
PR-1	PR-1a z tytoniu	Antygrzybowa
PR-2	PR-2a z tytoniu	β -1,3-glukanaza
PR-3	P, Q z tytoniu	Chitynaza typu I, II, IV, V, VI, VII
PR-4	R z tytoniu	Chitynaza typu I, II
PR-5	S z tytoniu	Białko podobne do taumatyny
PR-6	Inhibitor I z pomidora	Inhibitor proteiny
PR-7	P69 z pomidora	Endoproteinaza
PR-8	Chitynaza z ogórka	Chitynaza typu III
PR-9	Peroksydaza z tytoniu	Peroksydaza
PR-10	PR1 z pietruszki	Białko podobne do rybonukleazy
PR-11	Chitynaza klasy V z tytoniu	Chitynaza typu I
PR-12	Rs-AFP3 z rzodkiewki	Defensyna
PR-13	THI2.1 z <i>A.thaliana</i>	Tionina
PR-14	LTP4 z jęczmienia	Białko transportujące lipidy
PR-15	OxOa (germin) z jęczmienia	Oksydaza szczawianu
PR-16	OxOLP z jęczmienia	Białko podobne do oksydazy szczawianu
PR-17	PRp27 z tytoniu	Nieznana

Białka PR-2 (β -1,3-endoglukanazy) i PR-3, PR-4, PR-8 i PR-11 (endochitynazy) wykazują działanie antygrzybicze ograniczając aktywność, wzrost i rozprzestrzenianie się patogena w roślinach podczas infekcji. Dodatkowo chitynazy i inhibitory proteinaz (PR-6) biorą udział w odpowiedzi obronnej roślin przeciw infekcjom wywołanymi przez nicienie i owady roślinożerne. Natomiast białka PR-8, które cechuje aktywność lizozymowa, są zaangażowane w odpowiedź roślin przeciwko bakteriom. Defensyny (PR-12), tioniny (PR-13) i białka przenoszące lipidy (PR-14) wykazują aktywność zarówno antibakteryjną, jak i antygrzybową. Białka PR-1 są używane jako markery SAR (systemicznej odporności nabytej) wykazując

właściwości antygrzybowe nawet w mikromolarnej ilości. Białka PR-5 (podobne do taumatyny) uczestniczą w SAR i w odpowiedzi na stres biotyczny powodując hamowanie wzrostu szczepów grzybów i redukcję kiełkowania spor, najprawdopodobniej przez wpływ na zwiększenie przepuszczalności błon grzybowych przez mechanizm tworzenia por lub/i interakcje z receptorami patogenów [5, 45]. Białka PR-7 to endoproteiny, które najprawdopodobniej degradują ścianę komórkową mikroorganizmów. Peroksydazy z rodziny białek PR-9 odpowiadają za wzmocnienie ściany komórkowej przez ich udział w lignifikacji ściany, tym samym podnoszą odporność roślin przeciw patogenom. Białka PR-10 wykazują dużą homologię do rybonukleaz i cechują się aktywnością rybonukleazową, przez co przypuszcza się, że mogą być one kluczowe w obronie roślin przed wirusami. Dodatkowo białka PR-10 wykazują aktywność przeciwgrzybiczną hamując translację białek grzybowych [5]. Białka PR-15 i PR-16, znalezione w roślinach jednoliściennych, są podobne do oksydaz szczawianu i charakteryzują się aktywnością dysmutazy ponadtlenkowej. Enzymy te wytwarzają nadtlenek wodoru, który pośrednio, bądź bezpośrednio bierze udział w odpowiedzi obronnej roślin przed infekcją. Białka z rodziny PR-17 zostały znalezione w tytoniu, pszenicy i jęczmieniu, i choć nie są dobrze poznane wiadomo, że należą do grupy metaloproteinaz. Natomiast białka PR-18 o charakterze oksydaz węglowodanów są indukowane SA i infekcjami grzybowymi, produkują nadtlenek wodoru i wykazują właściwości antymikrobiologiczne [40].

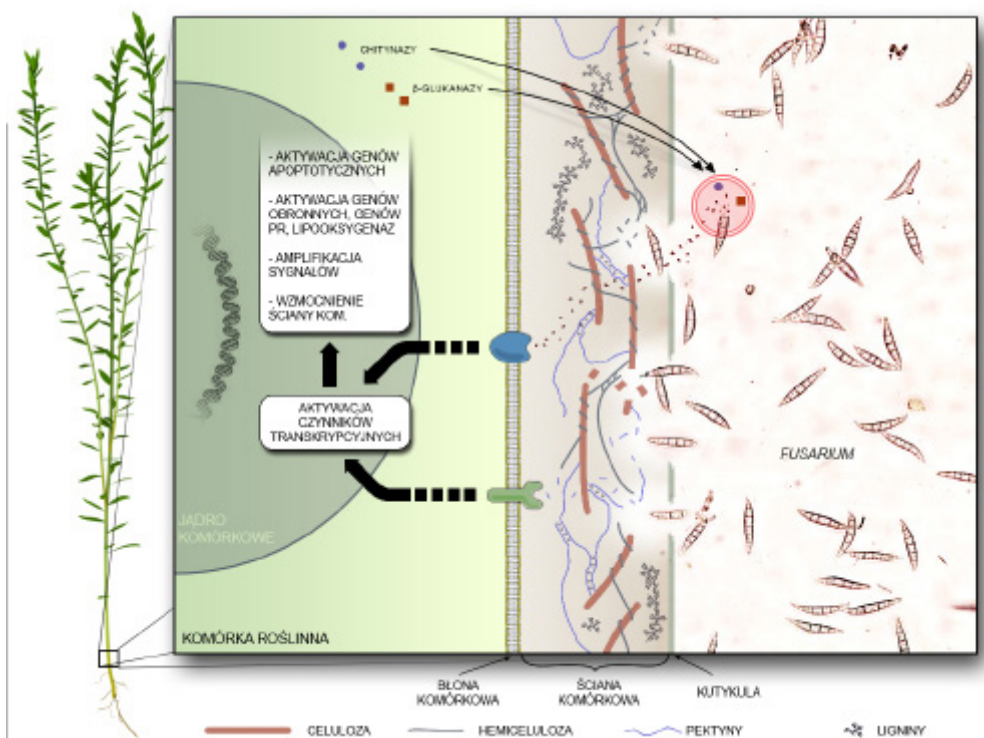
Białka związane z patogenezą są syntetyzowane i akumulowane w roślinach nie tylko podczas infekcji patogennych, ale również podczas normalnego wzrostu i rozwoju niezainfekowanych roślin. Obecność β -1,3-glukanazy i chitynazy stwierdzono w korzeniach tytoniu, natomiast białka PR-10 znalezione zostały w pyłku kwiatowym. Ponadto wykazano, że białka PR-2 są niezbędne do prawidłowego rozwoju pyłku w tytoniu i ryżu [47], a białka PR-2 i PR-3 odgrywają ważną rolę w kiełkowaniu nasion przez degradację ściany komórkowej okrywy nasiennej [26].

Spośród białek związanych z patogenezą, β -1,3-glukanaza i chitynaza są najważniejszymi enzymami hydrolizującymi, które pełnią istotne funkcje podczas infekcji patogennej. Odpowiadają one za degradację β -1,3-glukanu i chityny, czyli głównych składników ściany komórkowej grzybów. Podczas infekcji obserwuje się znaczny wzrost ekspresji zarówno β -1,3-glukanazy, jak i chitynazy, co zostało potwierdzone w wielu roślinach np.: pomidorze, tytoniu, soi, pszenicy i grochu [3, 7, 16, 24, 32].

Rośliny transgeniczne z nadekspresją β -1,3-glukanazy czy chitynazy cechują się zwiększoną odpornością na infekcje patogenne. Ponadto nadekspresja obu tych genów w roślinach wskazuje na efekt synergistyczny zapewniając im jeszcze większą odporność przed patogenami. Na przykład pomidor z nadekspresją tytoniowych genów β -1,3-glukanazy i chitynazy czy tytoń z nadekspresją jęczmiennych genów β -1,3-glukanazy i chitynazy cechowały się wyższą odpornością na infekcje odpowiednio *Fusarium oxysporum* i *Rhizoctonia solani* w porównaniu z roślinami transformowanymi pojedynczymi genami [16, 19].

ROLA ŚCIANY KOMÓRKOWEJ W ODPORNOŚCI ROŚLIN

Ściana komórkowa roślin jest strukturą dynamiczną, zbudowaną głównie z celulozy, w której łańcuchy glukanowe oddziaływujące ze sobą poprzez wiązania wodorowe tworzą krystaliczne mikrofibryle, pektyn (homogalakturonianu i ramnogalakturonianu I i II), hemicelulozy (ksyloglukanów, glukomannanów, ksylanów i różnie połączonych glukanów) i lignin. Dodatkowo ściana komórkowa zawiera enzymy i białka strukturalne [21, 35].



RYCINA 6. Udział ściany komórkowej w odpowiedzi roślin na infekcje, na przykładzie grzybów z rodzaju *Fusarium*

FIGURE 6. The contribution of the cell wall in the plant response to infections, for example, fungi of the *Fusarium* genus

Ściana komórkowa stanowi pierwszą, zewnętrzną barierę roślin przed infekcjami patogennymi (ryc. 6). Atak patogennych grzybów rozpoczyna się wydzielaniem przez nie enzymów degradujących ścianę komórkową gospodarza. Początkowo produkcja pektynaz prowadzi do degradacji pektyn, a przez to do rozluźnienia ściany komórkowej i odsłonięcia pozostałych polimerów, umożliwiając ich rozkład przez celulazy

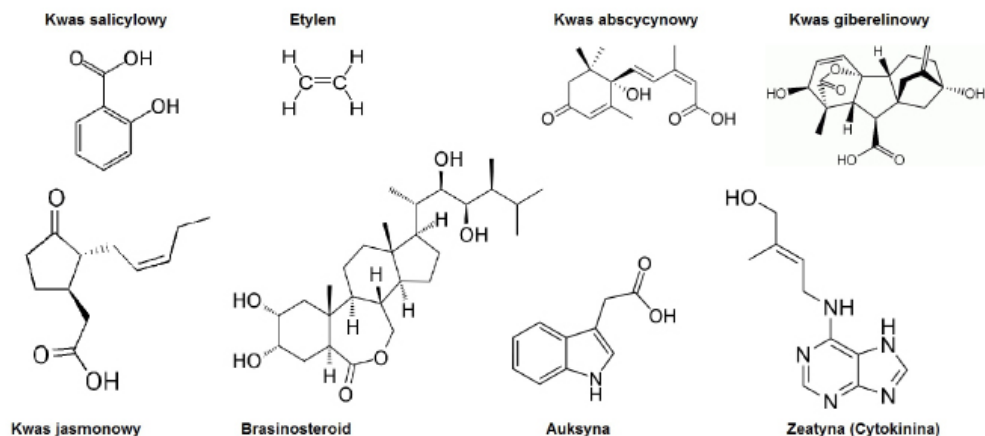
i hemicelulazy grzybowe. W wyniku działania poligalakturonaz wydzielanych przez patogeny są uwalniane oligogalakturoniany (OG), fragmenty pektyn, które pełnią rolę elicitorów i aktywują mechanizmy obronne roślin. OG poprzez szlak sygnałny prowadzą do indukcji transkrypcji genów związanych z patogenezą i innych genów odpowiedzi metabolicznej i systemicznej (Berlin i wsp. 2007, Lionetti i wsp. 2012).

ROLA FITOHORMONÓW W ODPORNOŚCI ROŚLIN

Fitohormony to małe cząsteczki niezbędne do prawidłowego wzrostu, rozwoju, reprodukcji i przeżycia roślin. Jako cząstki sygnałne działają one głównie w niskich stężeniach. Przykłady fitohormonów roślinnych przedstawiono na rycinie 7, gdzie wyróżniono: kwas salicylowy (SA), etylen (ET), kwas jasmonowy (JA), auksynę, kwas abscysynowy (ABA), brasinosteroid, kwas giberelinowy i cytokininę [33].

Fitohormony pełnią bardzo ważną funkcję w odpowiedzi immunologicznej roślin wywołanej biotycznymi i abiotycznymi czynnikami stresowymi. SA, JA i ET jako cząsteczki sygnałne wpływają na regulację procesów związanych z odpornością roślin. Również ABA, auksynom, brasinosteroidom i giberelinom przypisuje się pewne funkcje w tym procesie.

Infekcje patogenne stymulują rośliny do produkcji jednego lub wielu rodzajów hormonów zależnie od typu patogena. Szlaki sygnałne mediowane SA uczestniczą w odporności roślin przeciw patogenom biotroficznym i hemibiotroficznym, podczas gdy szlaki zależne od JA i ET w odporności przeciw patogenom nekro-



RYCINA 7. Hormony roślinne
FIGURE 7. Plant hormones

troficznych i owadom roślinożernym. Odpowiedź obronna roślin regulowana hormonami obejmuje kompleksową sieć oddziaływań. Szlaki mediowane SA i JA/ET działają antagoniście w odpowiedzi na ataki patogenne, natomiast szlaki JA i ET charakteryzują się synergistycznym oddziaływaniem [9, 17, 33, 42].

Kwas salicylowy odgrywa ważną rolę w systemicznej odporności nabytej (opisana wcześniej) oraz w systemicznej odporności indukowanej, gdzie jego działanie nie jest związane ze wzmocnieniem ekspresji genów związanych z patogenezą. Szlak sygnałny kwasu salicylowego wpływa na zmianę komórkowego potencjału redoks, który prowadzi do redukcji oligomeru NPR1 do aktywnej formy monomeru, która następnie jest transportowana do jądra. NPR1 w jądrze funkcjonuje jako transkrypcyjny koaktywator genów odpowiadających na SA (np.: PR1) przez zdolność wiązania z czynnikiem transkrypcyjnym TGA, który oddziałuje na promotory ich genów [9, 33].

Kwas jasmonowy i etylen uczestniczą w systemicznej odporności indukowanej, gdzie działają po rozpoznaniu patogena przez gospodarza. W szlaku sygnałnym mediowanym JA kompleks E3 liazy ubikwitynowej SCFCO11 i białka JAZ tworzą kompleks, który obniża transkrypcję genów związanych ze szlakiem JA. Nadmierna akumulacja JA wpływa na przyłączenie się izoleucyny połączonej z JA do F-kasety białka COI1 w kompleksie SCFCO11, po czym białka JAZ są ubikwitynowane i degradowane przez proteosom 26S. Degradacja białek JAZ prowadzi do aktywacji transkrypcji genów związanych z JA przez działanie czynników transkrypcyjnych: MYC2, ERF1 i ORA59.

W szlaku sygnałnym ET, gazowy etylen jest rozpoznawany przez receptory obecne w błonie komórkowej (ETR1), które negatywnie regulują odpowiedź związaną z etylenem, ponieważ przy jego nieobecności utrzymują one negatywną rolę regulatorową białka CTR1, odpowiadającego za pozytywną regulację EIN2. Dostarczenie ET hamuje przekazanie sygnału zależne od ET przez zwolnienie CTR1 i EIN2. W wyniku tego pozytywny regulator ekspresji genów odpowiadający na ET (EIN3) pozostaje aktywny i aktywuje czynniki transkrypcyjne tj.: ERF1, wpływając na ekspresję genów ET [33].

Kwas abscysynowy (ABA) pełni istotne funkcje podczas rozwoju roślin (dojrzwaniu i kiełkowaniu nasion, wydłużaniu korzeni) oraz w odpowiedzi immunologicznej roślin wywołanej abiotycznymi i biotycznymi czynnikami stresowymi. ABA jest powiązany z siecią SA-JA-ET i powoduje obniżenie poziomu ekspresji genów związanych z JA/ET, ale jednocześnie wpływa na biosyntezę JA i odporność przeciwko nekrotroficznym patogenom. Ponadto ABA wykazuje antagoniście działanie w stosunku do szlaku sygnałnego SA poprzez negatywny wpływ na WRKY45 i NPR1 [9, 33].

Auksyny odgrywają ważną rolę na każdym etapie rozwoju roślin. Ich szlak sygnałny jest również powiązany ze szlakami SA-JA-ET. Auksyny wpływają na biosyntezę JA i ekspresję genów wymaganych do produkcji JA. Działając antago-

nistycznie do SA promują wrażliwość roślin na infekcje patogenne. SA wpływa na represję genów związanych z auksynami [33].

Gibereliny to fitohormony roślinne, które kontrolują wzrost roślin poprzez regulację degradacji białek DELLA ograniczających wzrost. Białka te promują wrażliwość na patogeny biotroficzne i odporność na nekrotrofy przez modulację silnych powiązań ze szlakami sygnałnymi SA i JA [33].

Brasinosteroidy są zaangażowane w wydłużanie i podział komórek, różnicowanie, reprodukcję i rozwój roślin. Ich główna rola w odporności na infekcje jest związana z występowaniem na powierzchni błony komórkowej receptora BAK1 [33].

PODSUMOWANIE

Rośliny cały czas są narażone na ataki patogenów: grzybów, bakterii i wirusów, czego konsekwencją, w niesprzyjających dla nich warunkach, mogą być zaburzenia wzrostu i rozwoju lub w skrajnych przypadkach choroba prowadząca do ich śmierci. Rośliny wykształciły różne mechanizmy obronne przeciwdziałając infekcjom patogennym: wniknięciu do ich wnętrza, a następnie rozprzestrzenieniu się po ich organizmie. Pierwszą barierą zabezpieczającą roślinę przed wywołaniem objawów chorobowych jest bariera fizyczna (ściana komórkowa, warstwa wosków, kutikula), a drugą chemiczna (składniki anty-mikrobiologiczne).

Odporność roślin na infekcje patogenne dzieli się na: odporność wrodzoną, obejmującą mechanizmy, które są obecne w roślinie przez całe jej życie, nawet pomimo braku kontaktu z patogenami oraz odporność nabytą, która jest aktywowana w odpowiedzi na infekcje patogenne. Odporność wrodzoną dzieli się na: odporność nieswoistą, która zapewnia różnym roślinom efektywną obronę przeciwko różnym gatunkom i szczepom patogenów oraz odporność swoistą, która warunkuje ochronę konkretnemu, jednemu rodzajowi roślin w stosunku do jednego lub kilku szczepów patogennych. Odporność nabyta może działać lokalnie (lokalna odporność nabyta), w komórkach otaczających miejsce infekcji, lub systemowo (systemiczna odporność indukowana i systemiczna odporność nabyta), rozwijająca się później w odległych częściach roślin.

Rośliny poprzez rozpoznanie odpowiednich sygnałów (elicitorów) indukują odpowiedź obronną. Wśród elicitorów wyróżnia się dwie klasy: elicitory ogólne (PAMPy, DAMPy, MAMPy) oraz elicitory swoiste (efektory). Rozpoznanie elicitorów ogólnych przez roślinę prowadzi do aktywacji odporności podstawowej lub tzw. odporności wyzwalanej PAMP'ami (PTI). Patogeny mogą przewyciężyć odporność PTI, z tego powodu rośliny wykształciły drugą linię obrony, tzw. odporność wyzwalaną efektorami (ETI). Odporności PTI i ETI wywołują podobne zmiany w komórkach tj.: alkalizację cytoplazmy przez gwałtowny napływ jonów wapnia, produkcję RFT oraz reaktywnych form azotu (najczęściej tlenku azotu NO), akty-

wację kaskady kinaz MAPK, która prowadzi do aktywacji czynników transkrypcyjnych aktywując tym samym ekspresję genów PR, produkcję etylenu, JA i SA, wzmocnienie ściany komórkowej roślin i indukcję składników mikrobiologicznych.

PODZIĘKOWANIA

Autorzy pracy dziękują Kamilowi Kostynowi za pomoc graficzną w przygotowaniu rycin.

Praca powstała dzięki wsparciu finansowemu Narodowego Centrum Nauki, grant nr. 2013/11/N/NZ1/02378 i nr 2012/06/A/NZ1/00006 oraz wewnętrznego projektu badawczego UWr nr. 57/MN/WB/16

LITERATURA

- [1] BALASUBRAMANIAN V, VASHISHT D, CLETUS J, SAKTHIVEL N. Plant β -1,3-glucanases: their biological functions and transgenic expression against phytopathogenic fungi *Biotechnology Letters* 2012; **34**: 1983-1990
- [2] BENDAHMANE A, KANYUKA K, BAULCOMBE DC. The Rx gene from potato controls separate virus resistance and cell death responses *The Plant Cell Online* 1999; **11**: 781-791
- [3] BETTINI P, COSI E, PELLEGRINI MG, TURBANTI L, VENDRAMIN G, BUIATTI M. Modification of competence for in vitro response to *Fusarium oxysporum* in tomato cells. III. PR-protein gene expression and ethylene evolution in tomato cell lines transgenic for phytohormone-related bacterial genes *Theoretical and Applied Genetics* 1998; **97**: 575-583
- [4] BITTEL P, ROBATZEK S. Microbe-associated molecular patterns (MAMPs) probe plant immunity *Current Opinion in Plant Biology* 2007; **10**: 335-341
- [5] BORAD V, SRIRAM S. Pathogenesis-related proteins for the plant protection *Asian J. Exp. Sci.* 2008; **22**: 189-196
- [6] BOYD LA, RIDOUT C, O'SULLIVAN DM, LEACH JE, LEUNG H. Plant-pathogen interactions: disease resistance in modern agriculture *Trends in Genetics* 2013; **29**: 233-240
- [7] CHEONG YH, KIM CY, CHUN HJ, MOON BC, PARK HC, KIM JK, LEE S-H, HAN C-D, LEE SY, CHO MJ. Molecular cloning of a soybean class III β -1,3-glucanase gene that is regulated both developmentally and in response to pathogen infection *Plant Science* 2000; **154**: 71-81
- [8] COSTET L, CORDELIER S, DOREY S, BAILLIEU F, FRITIG B, KAUFFMANN S. Relationship between localized acquired resistance (LAR) and the hypersensitive response (HR): HR is necessary for LAR to occur and salicylic acid is not sufficient to trigger LAR *Molecular Plant-Microbe Interactions* 1999; **12**: 655-662
- [9] DERKSEN H, RAMPITSCH C, DAAYF F. Signaling cross-talk in plant disease resistance *Plant Science* 2013; **207**: 79-87
- [10] DODDS PN, LAWRENCE GJ, CATANZARITI AM, TEH T, WANG CI, AYLIFFE MA, KOBE B, ELLIS JG. Direct protein interaction underlies gene-for-gene specificity and coevolution of the flax resistance genes and flax rust avirulence genes *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006; **103**: 8888-8893
- [11] EBRAHIM S, USHA K, SINGH B. Pathogenesis related (PR) proteins in plant defense mechanism *Science against Microbial Pathogens* 2011; **2**: 1043-1054
- [12] GLAZEBROOK J. Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens *Annu Rev Phytopathol* 2005; **43**: 205-227

- [13] GUEST DI, BROWN JF. Plant defences against Pathogens *Plant Pathogens and Plant Diseases* New South Wales, 1997;
- [14] GURURANI MA, VENKATESH J, UPADHYAYA CP, NOOKARAJU A, PANDEY SK, PARK SW. Plant disease resistance genes: Current status and future directions *Physiological and Molecular Plant Pathology* 2012; **78**: 51-65
- [15] HENRY G, THONART P, ONGENA M. PAMPs, MAMPs, DAMPs and others: an update on the diversity of plant immunity elicitors. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2012; **6**: 257-268
- [16] JACH G, GÖRNBARDT B, MUNDY J, LOGEMANN J, PINSDORF E, LEAH R, SCHELL J, MAAS C. Enhanced quantitative resistance against fungal disease by combinatorial expression of different barley anti-fungal proteins in transgenic tobacco *The Plant Journal* 1995; **8**: 97-109
- [17] JIA C, ZHANG L, LIU L, WANG J, LI C, WANG Q. Multiple phytohormone signalling pathways modulate susceptibility of tomato plants to *Alternaria alternata* f. sp. *lycopersici* *J Exp Bot* 2013; **64**: 637-650
- [18] JOHAL GS, BRIGGS SP. Reductase activity encoded by the HM1 disease resistance gene in maize *Science* 1992; **258**: 985-987
- [19] JONGEDIJK E, TIGELAAR H, ROEKEL JC, BRES-VLOEMANS S, DEKKER I, ELZEN PM, CORNELISSEN BC, MELCHERS L. Synergistic activity of chitinases and β -1,3-glucanases enhances fungal resistance in transgenic tomato plants *Euphytica* 1995; **85**: 173-180
- [20] KACPERSKA A. Fizjologia roślin *Reakcje roślin na abiotyczne czynniki stresowe. Przemiany związków organicznych i energii u roślin.* 2005;
- [21] KEEGSTRA K. Plant cell walls *Plant Physiol* 2010; **154**: 483-486
- [22] KIRÁLY L, BARNA B, KIRÁLY Z. Plant resistance to pathogen infection: forms and mechanisms of innate and acquired resistance *Journal of Phytopathology* 2007; **155**: 385-396
- [23] LI CY, DENG GM, YANG J, VILOJEN A, JIN Y, KUANG RB, ZUO CW, LV ZC, YANG QS, SHENG O, WEI YR, HU CH, DONG T, YI GJ. Transcriptome profiling of resistant and susceptible *Cavendish* banana roots following inoculation with *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* tropical race 4 *BMC Genomics* 2012; **13**: 1471-2164
- [24] LI WL, FARIS JD, MUTHUKRISHNAN S, LIU DJ, CHEN PD, GILL BS. Isolation and characterization of novel cDNA clones of acidic chitinases and β -1,3-glucanases from wheat spikes infected by *Fusarium graminearum* *Theoretical and Applied Genetics* 2001; **102**: 353-362
- [25] MAZZOTTA S, KEMMERLING B. Pattern recognition in plant innate immunity. *Journal of Plant Pathology* 2011; **93**: 7-17
- [26] MOROHASHI Y, MATSUSHIMA H. Development of β -1,3-glucanase activity in germinated tomato seeds *Journal of Experimental Botany* 2000; **51**: 1381-1387
- [27] MUTHAMILARASAN M, PRASAD M. Plant innate immunity: an updated insight into defense mechanism *J Biosci* 2013; **38**: 433-449
- [28] MYSORE KS, RYU CM. Nonhost resistance: how much do we know? *Trends Plant Sci* 2004; **9**: 97-104
- [29] NEWMAN MA, SUNDELIN T, NIELSEN JT, ERBS G. MAMP (microbe-associated molecular pattern) triggered immunity in plants *Front Plant Sci* 2013; **4**
- [30] NURNBERGER T, LIPKA V. Non-host resistance in plants: new insights into an old phenomenon *Molecular Plant Pathology* 2005; **6**: 335-345
- [31] PEL MJ, PIETERSE CM. Microbial recognition and evasion of host immunity *J Exp Bot* 2013L **64** 1237-1248
- [32] PETRUZZELLI L, KUNZ C, WALDVOGEL R, MEINS F JR., LEUBNER-METZGER G. Distinct ethylene- and tissue-specific regulation of beta-1,3-glucanases and chitinases during pea seed germination *Planta* 1999L **209** 195-201
- [33] PIETERSE CMJ, LEON-REYES A, VAN DER ENT S, VAN WEES SCM. Networking by small-molecule hormones in plant immunity *Nat Chem Biol* 2009L; **5**: 308-316
- [34] SHAH J, ZEIER J. Long-Distance Communication and Signal Amplification in Systemic Acquired Resistance *Frontiers in Plant Science* 2013; **4**
- [35] SOMERVILLE C, BAUER S, BRINNSTOOL G, FACETTE M, HAMANN T, MILNE J, OSBORNE E, PAREDEZ A, PERSOON S, RAAB T, VORWERK S, YOUNGS H. Toward a systems approach to understanding plant cell walls *Science* 2004; **306**: 2206-2211

- [36] SONG J, BRADEEN JM, NAESS SK, RAASCH JA, WIELGUS SM, HABERLACH GT, LIU J, KUANG H, AUSTIN-PHILLIPS S, BUELL CR, HELGESON JP, JIANG J. Gene RB cloned from *Solanum bulbocastanum* confers broad spectrum resistance to potato late blight *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; **100**: 9128-9133
- [37] STEVEN HS, XINNAN D. How do plants achieve immunity? Defence without specialized immune cells *Nature Reviews Immunology* 2012; **12**: 89-100
- [38] TRUJILLO M, KOGEL KH, HUCKELHOVEN R. Superoxide and hydrogen peroxide play different roles in the nonhost interaction of barley and wheat with inappropriate formae speciales of *Blumeria graminis* *Mol Plant Microbe Interact* 2004; **17**: 304-312
- [39] VALLAD GE, GOODMAN RM. Systemic acquired resistance and induced systemic resistance in conventional agriculture *Crop Sci.* 2004; **44**: 1920-1934
- [40] VAN LOON LC, REP M, PIETERSE CM. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants *Annu Rev Phytopathol* 2006; **44**: 135-162
- [41] VAN LOON LC, VAN STRIEN EA. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins *Physiological and Molecular Plant Pathology* 1999; **55**: 85-97
- [42] VERHAGE A, VAN WEES SC, PIETERSE CM. Plant immunity: it's the hormones talking, but what do they say? *Plant Physiol* 2010; **154**: 536-540
- [43] VLEESHOUWERS VG, OLIVER RP. Effectors as tools in disease resistance breeding against biotrophic, hemibiotrophic, and necrotrophic plant pathogens *Mol Plant Microbe Interact* 2014; **27**: 196-206
- [44] VOINNET O. Induction and suppression of RNA silencing: insights from viral infections *Nat Rev Genet* 2005; **6**: 206-220
- [45] WANG X, TANG C, DENG L, CAI G, LIU X, LIU B, HAN Q, BUCHENAUER H, WEI G, HAN D, HUANG L, KANG Z. Characterization of a pathogenesis-related thaumatin-like protein gene TaPR5 from wheat induced by stripe rust fungus *Physiologia Plantarum* 2010; **139**: 27-38
- [46] WIESEL L, NEWTON AC, ELLIOTT I, BOOTY D, GILROY EM, BIRCH PRJ, HEIN I. Molecular effects of resistance elicitors from biological origin and their potential for crop protection *Frontiers in Plant Science* 2014; **5**: 655
- [47] WORRALL D, HIRD DL, HODGE R, PAUL W, DRAPER J, SCOTT R. Premature dissolution of the microsporo-cyte callose wall causes male sterility in transgenic tobacco *Plant Cell* 1992; **4**: 759-771
- [48] WU CT, BRADFORD KJ. Class I chitinase and beta-1,3-glucanase are differentially regulated by wounding, methyl jasmonate, ethylene, and gibberellin in tomato seeds and leaves *Plant Physiol.* 2003; **133**: 263-273
- [49] ZHANG Y, LUBBERSTEDT T, XU M. The genetic and molecular basis of plant resistance to pathogens *Journal of Genetics and Genomics* 2013; **40**: 23-35
- [50] ZIPFEL C. Pattern-recognition receptors in plant innate immunity *Current Opinion in Immunology* 2008; **20**: 10-16

Redaktor prowadzący – Janusz Maszewski

Otrzymano: 20.05.2016

Przyjęto: 11.07.2016

Wioleta Wojtasik

Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Wrocławski

ul. Przybyszewskiego 63/77, 51-148 Wrocław

e-mail: wojtasik@ibmb.uni.wroc.pl

tel.: +48713756354

fax: +48713756202

