

## UDZIAŁ NADTLENKU WODORU I REAKTYWNYCH POSTACI TLENU WYTWARZANYCH PRZEZ OKSYDAZĘ NADPH W ODPORNOŚCI ROŚLIN PRZECIWKO PATOGENOM

The hydrogen peroxide generation and oxidative burst in plant defense  
against plant pathogen

Tadeusz PIETRAS, Urszula MAŁOLEPSZA, Andrzej WITUSIK

**Summary.** The generation of activated oxygen species (AOS) is one of the earliest responses of plant cell to elicitors or pathogens. In particular two species, superoxide anion ( $O_2^{\cdot-}$ ) and hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) have received considerable attention. Many potential sources of AOS production have been identified such as NADPH oxidase, peroxidase and lipoxygenase. The AOS produced in response to pathogen and elicitor has been hypothesized to have direct antimicrobial effects and to play a role in other defense mechanisms including membrane lipoxidation, cell wall modification, signal transduction, induced resistance and hypersensitive cell death. The mechanisms and regulation of AOS generation in plant-pathogen/elicitor interactions and similarities between the mammalian reactions during immune response, and signaling pathways in plant oxidative burst are discussed in this review.

**Key words:** activated oxygen species, oxidase NADPH, respiratory burst, hypersensitive response, systemic acquired resistance.

*Dr Tadeusz Pietras, Klinika Pneumonologii i Alergologii, Akademia Medyczna, ul. Kopcińskiego 22, 90–153, Łódź*

*Dr Urszula Małolepsza, Katedra Fizjologii i Biochemii Roślin, Uniwersytet Łódzki, Banacha 12/16, 90–237 Łódź*

*Mgr inż. Andrzej Witusik, Klinika Pneumonologii i Alergologii, Akademia Medyczna, ul. Kopcińskiego 22, 90–153, Łódź*

### WSTĘP

Rośliny rozwinęły różne strategie obrony przeciwko patogenom, takim, jak wirusy, bakterie czy grzyby. Należą do nich synteza fitoaleksyn, związków fenolowych, wytwarzanie strukturalnych barier (warstwa korka, wytwarzanie ligniny i białek o dużej zawartości hydroksyproliny, wytwarzanie „zatyczek” kalozowych w tkankach przewodzących), synteza tzw. białek związanych z patogenezą (pathogenesis related proteins, PR-proteins) a wśród nich chitynazy,  $\beta$ -1,3-glukanazy, peroksydazy i lipoksygenazy [16, 38, 39]. Ważną funkcję w mechanizmach

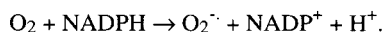
obronnych spełnia reakcja nadwrażliwości [36]. Odkryto, że rośliny naczyniowe wytwarzają reaktywne formy tlenu (RFT), takie jak anionorodnik ponadtlenkowy ( $O_2^{\cdot-}$ ) i nadtlenek wodoru ( $H_2O_2$ ) celem obrony przed atakującymi drobnoustrojami [1, 2, 27, 35]. Zjawisko to od dawna znane jest w organizmach kręgowców, u których istnieją wyspecjalizowane komórki wytwarzające RFT, takie jak granulocyty obojętno-chłonne i makrofagi. Wytwarzane przez te komórki RFT uczestniczą w zabijaniu komórek bakterii i grzybów, będąc bardzo ważnym elementem nieswoistej obrony w układzie immunologicznym kręgowców [26, 27, 28]. Odkrycie

podobnego mechanizmu w świecie roślin zwraca uwagę na powszechne występowanie tego mechanizmu u organizmów eukariotycznych i jego archaiczny ewolucyjnie charakter [28].

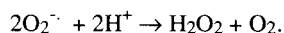
#### ŹRÓDŁA REAKTYWNYCH FORM TLENU W PRZEBIEGU REAKCJI OBRONNYCH ROŚLIN

Reaktywne formy tlenu powstają w każdej komórce w przebiegu reakcji biochemicznych, takich, jak np. łańcuch oddechowy, faza świetlna fotosyntezy, reakcje katalizowane przez liczne oksydoreduktazy zwłaszcza w wyspecjalizowanych w tym celu peroksysomach [2, 4, 35, 40]. Fizjologiczne stężenia RFT nie są szkodliwe, gdyż każda komórka zawiera enzymatyczne i nieenzymatyczne zmiatacze RFT zabezpieczające przed uszkodzeniami [2, 4, 35, 40]. Wśród nich należy wymienić izoenzymy dysmutazy ponadtlenkowej (SOD), katalazy (CAT), peroksydaz askorbinianowej i glutationowej [2, 4, 35, 40]. Pierwszym odkrytym źródłem RFT o istotnym znaczeniu w obronie roślin przeciwko patogenom były peroksydazy, biorące udział w biosyntezie ligniny i polifenoli ściany komórkowej [2, 4, 35, 37, 40]. Udowodniono, że peroksydazy te należą do białek PR (pathogenesis related proteins) [39]. Peroksydazy te katalizują utlenianie alkoholu koniferylowego i innych alkoholi cynamonowych do wolnych rodników powodując ich polimeryzację, przez co wzmacniają bariery ochronne i biosyntezę toksycznych dla grzybów fenoli [20]. Wydaje się, iż wytwarzanie  $H_2O_2$  przez te peroksydazy jest tylko jednym z elementów ich ochronnego działania i być może nie najważniejszym. Drugim enzymem wytwarzającym RFT po infekcji patogenami jest roślinna lipoksygenaza [17, 33]. Enzym ten inicjuje enzymatyczną peroksydację błonowych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, co powoduje zmianę właściwości błon biologicznych, wytwarzanie toksycznych dla gospodarza i patogena produktów peroksydacji lipidów, takich jak dialdehyd malonowy czy 4-hydroksynonenal [17, 33]. Udowodniono, że wzrost aktywności lipoksygenazy hamuje kiełkowanie konidiów grzybowych i wzrost patogenów bakteryjnych [20]. Prawdopodobnie głów-

ną funkcją lipoksygenazy jest biosynteza kwasu jasmonowego – produktu peroksydacji kwasu linolowego [17, 33]. Kwas jasmonowy (jaśminowy) uważany jest za ważny fitohormon odgrywający istotną rolę w indukowaniu mechanizmów obronnych u roślin [20, 21]. Należy podkreślić podobieństwo struktury chemicznej i szlaku biosyntezy pomiędzy kwasem jasmonowym a eikozanoidami kręgowców [3]. Innym enzymem o udowodnionym znaczeniu w wytwarzaniu RFT jest oksydaza ksantynowa, generująca anionorodnik ponadtlenkowy ( $O_2^{\cdot -}$ ) [29]. Udowodniono, że u pomidora zainfekowanego wirusem mozaiki tytoniu (TMV) dochodzi do indukcji aktywności oksydazy ksantynowej, chociaż sami autorzy postulują drugorzędną rolę tego enzymu w mechanizmach reakcji nadwrażliwości u roślin [29]. Oksydaza ksantynowa odgrywa natomiast istotną rolę w katabolizmie puryn,  $O_2^{\cdot -}$  jest natomiast prawdopodobnie tylko produktem ubocznym metabolizmu [29]. Kolejnym ważnym enzymem generującym RFT u roślin, między innymi w reakcji nadwrażliwości, jest oksydaza NADPH [1, 27, 28, 30, 36]. Enzym ten katalizuje reakcję powstawania  $O_2^{\cdot -}$ :



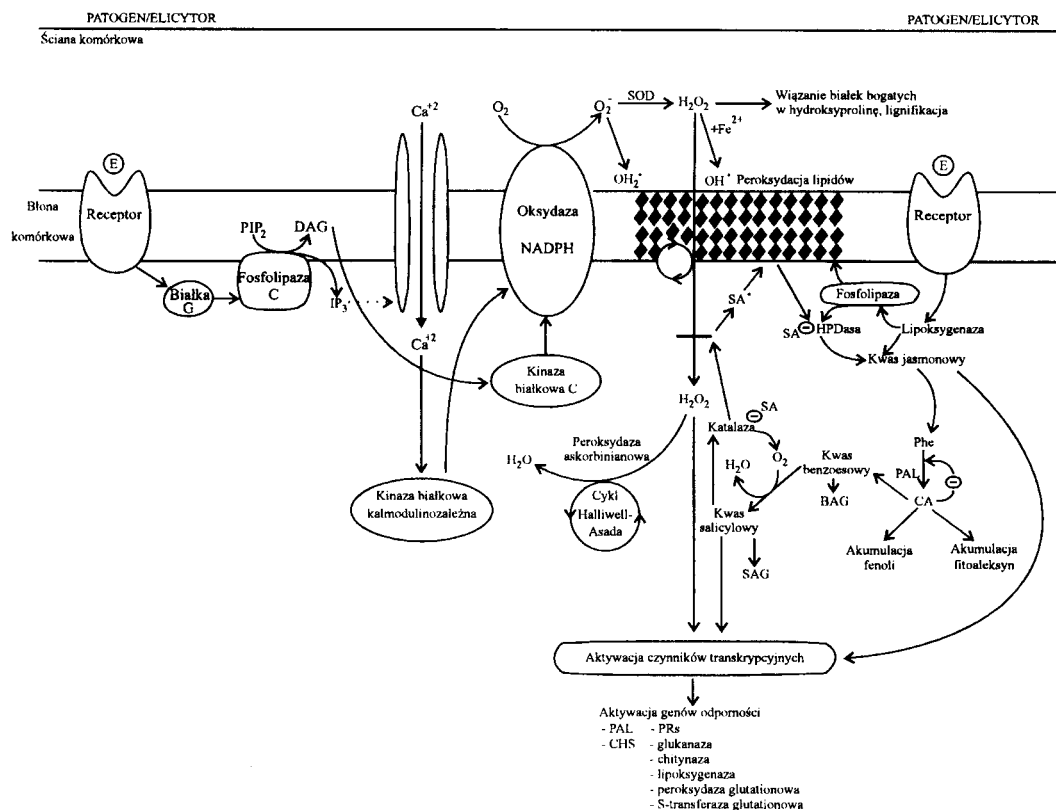
$O_2^{\cdot -}$  w obecności SOD lub samoistnie dysmutuje do  $H_2O_2$  w reakcji:



$H_2O_2$  wchodząc w reakcję z kationami metalu grup przejściowych jest źródłem rodnika hydroksylowego ( $OH^{\cdot}$ ) powodującego rozległe uszkodzenia żywej materii.  $OH^{\cdot}$ , jako silny utleniacz jednoelektronowy, reaguje niespecyficznie z wszystkimi związkami organicznymi, niszcząc aktywność biologiczną związków wielocząsteczkowych i błon [1, 19, 35].

#### REGULACJA AKTYWNOŚCI ROŚLINNEJ OKSYDAZY NADPH

Wytwarzanie  $O_2^{\cdot -}$  przez oksydazę NADPH u roślin odbywa się w dwu fazach [26]. Pierwsza następuje już po około trzech minutach od kontaktu wrażliwej komórki roślinnej z patogenem lub pochodzącym z patogena elicytorem [26].



Ryc. 1. Hipotetyczny model przekazywania sygnałów w reakcjach obronnych komórek roślinnych. Według [16, 27].

PIP<sub>2</sub> – 4,5-bisfosforan fosfatydyloinozytolu, IP<sub>3</sub>–1,4,5-trisfosforan inozytolu, DAG – diacylglicerol, SOD – dysmutaza ponadtlenkowa, SA – kwas salicylowy, SAG – glukozyd kwasu salicylowego, BAG – glukozyd kwasu benzoowego, CA – kwas cynamonowy, Phe – feniloalanina, PAL–amoniakolizacja feniloalaniny, CHS–syntaza chalkonowa, PRs – białka związane z patogenezą.

Fig. 1. A speculative model for signal transduction pathway in plant cell defense, by [16, 27].

PIP<sub>2</sub> – inositol-4,5-bisphosphate, IP<sub>3</sub> – inositol-1,4,5-triphosphate, DAG – diacylglycerol, SOD – superoxide dismutase, SA – salicylic acid, SAG – salicylic acid glucoside, BAG – benzoic acid glucoside, CA – cinnamic acid, Phe – phenylalanine, PAL – phenylalanine ammonia-lyase, CSH – chalcone synthase, PRs – pathogenesis related proteins.

Błona komórkowa – *plasma membrane*; receptor – *receptor*; białka G – *G protein*; fosfolipaza C – *C phospholipase*; kinaza białkowa kalmodulinozależna – *calmoduline-dependent protein kinase*; oksydaza – *oxidase*; kinaza białkowa C – *C protein kinase*; peroksydaza askorbinianowa – *peroxidase ascorbate*; cykl Halliwell-Asada – *Halliwell-Asada cycle*; wiązanie białek bogatych w hydroksyprolinę, lignifikacja – *crosslinking of cell wall proteins, lignification*; peroksydacja lipidów – *lipid peroxidation*; katalaza – *catalase*; kwas salicylowy – *salicylic acid*; aktywacja czynników transkrypcyjnych – *transcription factors activated*; aktywacja genów odporności – *defense gene activation*; glukanaza – *glucanase*; chitynaza – *chitinase*; lipoksygenaza – *lipoxygenase*; peroksydaza glutationowa – *glutathione peroxidase*; S-transferaza glutationowa – *glutathione S-transferase*; fosfolipaza – *phospholipase*; HP Dasa – *HP Dase*; lipoksygenaza – *lipoxygenase*; kwas jasmonowy – *jasmonic acid*; kwas benzoesowy – *benzoic acid*; akumulacja fenoli – *phenolic accumulation*; akumulacja fitoaleksyn – *phytoalexin accumulation*.

Faza ta szybko wygasa, po czym po około 2 godzinach pojawia się u roślin odpornych druga faza wytwarzania RFT przez omówione enzymy,

w tym głównie oksydazę NADPH [26]. Trwa ona kilka godzin. Powszechnie zwraca się uwagę na podobieństwo biochemiczne oksydazy

NADPH roślinnej do analogicznej oksydazy w neutrofilach u ssaków [26]. Oba enzymy katalizują taką samą reakcję, a przeciwciała przeciwko podjednostkom ludzkiej oksydazy reagują z homologicznymi podjednostkami enzymu u roślin [11, 26].

Ludzka oksydaza NADPH jest wielopodjednostkowym enzymem. Składa się z cytochromu  $b_{558}$ , heterodimerskiej flawoproteiny złożonej z białek p22-phox i gp91-phox, rac-małego białka z rodziny GTPaz, oraz dwóch białek regulacyjnych p47-phox i p67-phox [11, 26]. Podczas aktywacji granulocytu, białka p47-phox i p67-phox ulegają fosforylacji i zostają przesunięte z cytoplazmy do błony komórkowej, gdzie ulegają asocjacji z cytochromem  $b_{558}$  [11, 26].

Wykryto, iż roślinne oksydazy składają się na pewno z białek p47-phox i p67-phox o takich samych masach cząsteczkowych, jak u ssaków [11, 26]. Przeciwciała przeciwko ssaczym podjednostkom oksydazy NADPH p47-phox, p67-phox i p22-phox reagują z odpowiednikami roślinnymi [11, 26]. Inhibitory granulocytarnej oksydazy (jodan difenylowy,  $\alpha$ -naftol) hamują także aktywność roślinnego enzymu indukowaną przez elicytory pochodzące z patogenów roślinnych [11, 26]. Dane te potwierdzają hipotezę, że roślinna oksydaza NADPH pochodzi ewolucyjnie od wspólnego ze zwierzęcą białka. Mechanizm funkcjonowania obu enzymów wydaje się być podobny. Tak jak u zwierząt, oksydaza u roślin regulowana jest na drodze fosforylacji i defosforylacji przez odpowiednie kinazy i fosfatazy białkowe [9, 26]. U roślin wiele różnych substancji pochodzących z patogenów oddziałuje z receptorami w błonie komórki, co w rezultacie nasila biosyntezę wtórnych przekazników w cytoplazmie i aktywuje oksydazę NADPH [26]. Jednym ze stosunkowo dobrze poznanych jest kwas oligogalakturnonowy, uwalniany z pektyn ścian komórkowych roślin i grzybów pod wpływem enzymów pektynolitycznych patogenów [23, 24, 25, 26]. W błonie komórkowej protoplastów soi znaleziono specyficzne receptorowe białko dla kwasu oligogalakturnonowego [23, 24, 25, 26]. Udowodniono, iż receptor ten oddziałuje z roślinną fosfolipazą C poprzez białko analogiczne do zwierzęcego

białka  $G\alpha$  o masie 45 kDa [23, 24, 25, 26]. Fosfolipaza C rozkłada błonowy 4,5-bisfosforan fosfatydyloinozytolu ( $PIP_2$ ) do 1,4,5-trifosforanu inozytolu ( $IP_3$ ) i diacyloglicerolu (DAG) [23, 24, 25, 26]. Odkryto, że w komórkach soi rośnie stężenie  $IP_3$  pod wpływem kwasu oligogalakturnonowego [23, 24, 25, 26]. W komórkach zwierzęcych  $IP_3$  wywołuje wzrost stężenia wapnia, aktywację kinaz białkowych kalmodulinozależnych i fosforylację białek, diacyloglicerol zaś aktywuje kinazę białkową C [23, 24, 25]. Inhibitory kinazy C, takie jak np. staurosporyna hamują wytwarzanie RFT przez komórki roślinne, co dowodzi podobnej drogi transmisji sygnału, jak w granulocytach obojętnochłonnych u zwierząt [23, 24, 25, 26]. W komórkach pomidora i ziemniaka kwas oligogalakturnonowy wywołuje fosforylację białka pp43 na resztach treoninowych, co wskazuje, że indukowana kinaza białkowa wykazuje specyficzność wobec tego aminokwasu, podobnie jak zwierzęca kinaza C [9]. Innymi dobrze scharakteryzowanymi substancjami inicjującymi wybuch oddechowy u roślin są harpiny – białka pochodzące z bakterii *Erwinia amylovora* i *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, glikoproteina z *Verticillium dahliae*,  $\beta$ -1,3-glukan z *Phytophthora megasperma* [2, 26]. Substancje te, podobne jak kwas oligogalakturnonowy działają poprzez swoiste receptory sprzężone z białkami G, aktywując bądź fosfolipazę C bądź fosfolipazę  $A_2$ , co w rezultacie aktywuje różne kinazy białkowe i przez to oksydazę NADPH [26]. Zwraca uwagę bardzo podobny sposób regulacji enzymu zarówno wśród roślin, jak i odległych ewolucyjnie kręgowców [26].

#### MECHANIZMY SZKODLIWEGO WPLYWU REAKTYWNYCH FORM TLENU NA PATOGENY

Wysokie stężenie RFT w miejscu aktywacji oksydazy NADPH może być niebezpieczne dla komórek patogena i doprowadzić do jego śmierci, co jest jedną z podstawowych funkcji fizjologicznych tego enzymu [1, 2, 35]. Z drugiej strony RFT mogą także spowodować śmierć komórek wytwarzających  $O_2^-$ , ale z punktu widze-

nia strategii przeżycia osobnika jest to zjawisko korzystne, ponieważ wraz ze śmiercią zaatakowanych komórek ginie także patogen [1, 2, 36]. Reakcję tę nazywa się reakcją nadwrażliwości u roślin (co innego oznacza reakcja nadwrażliwości w immunologii, co zdaniem autorów pracy, może być przyczyną nieporozumień pomiędzy badaczami odporności i oporności u zwierząt i roślin) [16]. Rodnikiem odpowiedzialnym za uszkodzenia białek, kwasów nukleinowych i błon biologicznych jest rodnik  $\cdot\text{OH}$  powstający z  $\text{H}_2\text{O}_2$  w obecności kationów metali grup przejściowych [35]. Rodnik ten uszkadza: białka – hamując ich aktywność enzymatyczną i permeazową, kwasy nukleinowe wywołując zniszczenie aparatu genetycznego, błony biologiczne zaburzając transport jonowy i równowagę osmotyczną komórki, a także wszystkie substancje drobnocząsteczkowe uczestniczące w metabolizmie [35]. Osobnego podkreślenia wymaga wpływ  $\text{O}_2^{\cdot-}$  i  $\text{OH}^{\cdot}$  na błony biologiczne. Rodniki te, w obecności kationów metali grup przejściowych, a zwłaszcza żelaza, indukują autokatalityczny proces peroksydacji lipidów polegający na wolnorodnikowym utlenianiu wielonienasyconych kwasów tłuszczowych błon [19]. Peroksydacja lipidów jest typowym przykładem reakcji łańcuchowej, toteż nawet niewielkie ilości RFT doprowadzają do poważnego uszkodzenia funkcji błon [19]. Utlenianie wielonienasyconych kwasów tłuszczowych zmienia płynność błon i ich przepuszczalność dla substancji drobnocząsteczkowych, oraz hamuje aktywność zaktwowanych w błonie białek [19]. Powstające produkty peroksydacji lipidów, takie jak krótkołańcuchowe aldehydy, dialdehyd malonowy, węglowodory alifatyczne czy 4-hydroksynonenal, są wysoce reaktywnymi toksynami uszkadzającymi białka enzymatyczne i metabolizm [19]. Dodatkowo, wysokie miejscowe stężenie RFT inaktywuje również enzymy zmiatające wolne rodniki, takie jak SOD czy CAT, co dodatkowo nasila uszkodzenia w miejscu zwiększonego wytwarzania RFT [4, 6, 22, 40]. Enzymy te zabezpieczają bowiem komórkę przed fizjologicznymi stężeniami RFT, lecz w warunkach zwiększonego wytwarzania mogą okazać się nieaktywne.

#### REAKTYWNE POSTACIE TLENU JAKO MEDIATORY WZMOCNIENIA ŚCIANY KOMÓRKOWEJ

Wzmocnienie ściany komórkowej jest jedną z podstawowych strategii ochrony komórki roślinnej przed inwazją patogena. RFT, a zwłaszcza  $\text{H}_2\text{O}_2$  są podstawowymi mediatorami odpowiedzialnymi za wzmocnienie ściany komórkowej [2]. W ścianie zawarte są białka bogate w prolinę i hydroksyprolinę. Pod wpływem  $\text{H}_2\text{O}_2$  peroksydazy powodują powstawanie mostków pomiędzy cząsteczkami białek (o masach 33 kDa i 100 kDa), czyniąc je odpornymi na degradację proteolityczną [5, 7]. Należy zwrócić uwagę, że niektóre peroksydazy powodują powstawanie mostków pomiędzy resztami tyrozynowymi cząsteczek, proces podobny do powstawania mostków tyrozynowych w tarczycowej tyreoglobulinie [5, 7].  $\text{H}_2\text{O}_2$  jest także substratem dla peroksydaz syntetyzujących polifenole ściany komórkowej [16]. Synteza lignin ściany komórkowej powstających z polifenoli, w co zaangażowane są peroksydazy, jest także ważnym elementem mechanicznego wzmocnienia ściany komórkowej [16]. Dodatkowo polifenole, rodniki polifenoli i ligniny ściany komórkowej wykazują właściwości bakterio- i mykostatyczne, zapobiegając szerzeniu się infekcji pomiędzy poszczególnymi komórkami i w tkankach martwych (apoplaście), np. ksylemie [16].

#### REAKTYWNE FORMY TLENU JAKO WTÓRNY PRZEKAŹNIK INFORMACJI W MIEJSCOWEJ ODPOWIEDZI NA INWAZJĘ PATOGENA U ROŚLIN

RFT wytwarzane, między innymi, przez roślinną oksydazę NADPH, oprócz bezpośredniego oddziaływania z patogenem, spełniają (podobnie jak u zwierząt) funkcję wtórnego przekaźnika informacji wewnątrz komórki, bardzo ważną w patogenezie zjawiska nadwrażliwości (hypersensitive disease resistance), jak i w indukowaniu odporności układowej (systemic acquired resistance-SAR) [26, 27]. Udowodniono, że w miejscu wytwarzania RFT,  $\text{H}_2\text{O}_2$  może, nie-

zależnie od uszkodzeń spowodowanych przez wolne rodniki, wywoływać śmierć komórki – zjawisko podobne do programowanej śmierci komórki u zwierząt [15, 37]. Wraz ze śmiercią komórki gospodarza ograniczone zostaje rozprzestrzenianie się patogena [15, 37]. W sąsiednich komórkach, do których dociera mniejsze stężenie  $H_2O_2$ , uruchomiona zostaje biosynteza białek PR odpowiedzialnych za odporność [15, 37]. Są wśród nich chitynaza i  $\beta$ -1,3-glukanaza rozkładające ścianę komórkową grzybów, peroksydazy odpowiedzialne za wzmocnienie ściany komórkowej, białka podobne strukturalnie do osmotyn, inhibitory proteaz i amylaz [8, 38, 39]. Nie jest dokładnie znany molekularny mechanizm indukcji przez  $H_2O_2$  biosyntezy białek PR [26]. Przpuszcza się, że zjawisko to przebiega w podobny sposób, jak u zwierząt, u których  $H_2O_2$  modyfikuje czynnik transkrypcyjny NF-kappa-B, poprzez odłączenie podjednostki inhibitorowej [12]. Zaktywowany NF-kappa-B przemieszcza się do jądra komórkowego, gdzie wzmacnia ekspresję genów, w sekwencji regulatorowej których znajduje się miejsce rozpoznające czynnik transkrypcyjny. Innym czynnikiem transkrypcyjnym aktywowanym przez RFT, jest występujący powszechnie w komórkach zwierząt czynnik AP-1 [12].  $H_2O_2$  nasila również biosyntezę fitoaleksyn o właściwościach hamujących rozwój patogenów oraz nasila miejscową biosyntezę z fenyloalaniny kwasu salicylowego, substancji prawdopodobnie odpowiedzialnej za układową odporność roślin na patogeny [1, 2]. Z drugiej strony udowodniono, że  $H_2O_2$  nasila biosyntezę niektórych enzymów zmiatających RFT, takich jak S-transferaza glutationowa i peroksydaza glutationowa, czy niektórych izoenzymów katalazy (CAT) [4, 40]. Peroksydaza glutationowa została niedawno odkryta u roślin [18]. Znana jest ona u zwierząt jako najważniejszy zmiatacz nadtlenu lipidów i  $H_2O_2$ , znacznie ważniejszy od CAT, która występuje przede wszystkim w peroksysomach i, według pojedynczych doniesień, w mitochondriach [34]. CAT nie występuje na terenie cytoplazmy i w pobliżu błon biologicznych, gdzie zachodzą intensywnie procesy peroksydacji lipidów [40]. Peroksydaza glutationowa zabezpie-

cza przede wszystkim cytoplazmę, jądro i błony biologiczne [34].

#### **UDZIAŁ REAKTYWNYCH POSTACI TLENU W MECHANIZMIE NABYTEJ ODPORNOŚCI SYSTEMOWEJ**

Zakażona roślina w miejscu infekcji rozpoczyna syntezę z fenyloalaniny kwasu salicylowego, który następnie jest rozprowadzany po całej roślinie [14]. Uważa się, iż kwas salicylowy może być odpowiedzialny za powstawanie systemowej odporności u roślin (SAR) [31]. Uznano go za kolejny fitohormon (choć nie jest regulatorem wzrostu!) i rozpoczęto poszukiwania receptora wewnątrzkomórkowego, którym okazała się być CAT [10]. W obecności kwasu salicylowego katalaza zahamowana zostaje w około 70%, co zwiększa stężenie wewnątrzkomórkowego  $H_2O_2$ , pochodzącego głównie z oksydaz zawartych w peroksysomach [10]. Kwas salicylowy hamuje też inne oksydoreduktazy z hемом w centrum aktywnym, w tym peroksydazę askorbinianową – bardzo ważny u roślin enzym o istotnym znaczeniu w zmiataniu RFT [13]. Zwiększone stężenie  $H_2O_2$  indukuje biosyntezę białek PR i zwiększa odporność roślin na infekcje [40]. Kwas salicylowy, w przeciwieństwie do aminotriazoli-syntetycznych inhibitorów katalaz, nie nasila biosyntezy izoenzymów CAT [40]. Z drugiej strony udowodniono, że CAT nie jest jedynym białkiem receptorowym działania kwasu salicylowego [32]. Kwas ten aktywuje kanały wapniowe w miększu korzeni marchwi [32]. Niektórzy autorzy postulują, że inhibicja katalazy oraz innych oksydoreduktaz zawierających hem w centrum aktywnym przez kwas salicylowy jest tylko ubocznym działaniem tego hormonu, zaś indukcja odporności odbywa się przez niepoznany jeszcze receptor i aktywację zależnych od tego receptora czynników transkrypcyjnych [40]. Część autorów w ogóle kwestionuje udział kwasu salicylowego w indukowaniu nabytej odporności systemowej [40].

#### **ZAKOŃCZENIE**

Na zakończenie należy zwrócić uwagę, że

RFT odgrywają podobną rolę w mechanizmach obronnych zarówno u zwierząt tkankowych jak i roślin, podobne enzymy zaangażowane są w wytwarzanie RFT. W obu podkrólestwach RFT pełnią również rolę wtórnego przekaźnika w obrębie komórki. Świadczy to o wspólnym ewolucyjnym pochodzeniu roślin i zwierząt, jak i podobnych strategiach obronnych wykształconych na drodze ewolucji na bazie wspólnych mechanizmów biochemicznych.

# LITERATURA

- [1] BAKER C. J., ORLANDI E. W., MOCK N. M. 1993. Harpin, an Elicitor of the Hypersensitive Response in Tobacco Caused by *Erwinia amylovora*, Elicits Active Oxygen Production in Suspension Cells. *Plant. Physiol.* **102**: 1341–1344.
- [2] BAKER C. J., ORLANDI E. W. 1995. Active Oxygen Species in Plant Pathogenesis. *Annu. Rev. Phytopathol.* **33**: 299–321.
- [3] BERGEY D. R., HOWE G. A., RYAN C. A. 1996. Polypeptide Signaling for Plant Defensive Genes Exhibits Analogies to Defense Signaling in Animals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **93**: 12053–12058.
- [4] BOWLER C., CAMP., MONTAGU M. V., INZE D. 1994. Superoxide Dismutase in Plants. *Critic. Rev. Plant Science.* **13**: 199–218.
- [5] BRADLEY D. J., KJELBOM P., LAMB C. J. 1992. Elicitor and Wound-Induced Oxidative Cross-Linking of a Proline-Rich Plant Cell Wall Protein: a Novel, Rapid Defense Response. *Cell* **70**: 21–30.
- [6] BRAY R. C., COCKLE S. A. 1974. Reduction and Inactivation of Superoxide Dismutase by Hydrogen Peroxide. *Biochem. J.* **139**: 43–48.
- [7] BRISSON L. F., TENHAKEN R., LAMB C. J. 1994. The Function of Oxidative Cross-linking of Cell Wall Structural Proteins in Plant Disease Resistance. *Plant Cell.* **6**: 1703–1712.
- [8] BUCHEL A. S., MOLENKAMP R., BOL J. F., LINTHORST J. M. 1996. The PR-1a Promoter Contains a Number of Elements that Bind GT-1-like Nuclear Factors with Different Affinity. *Plant Molec. Biol.* **30**: 493–504.
- [9] CHANDRA S., LOW P. S. 1995. Role of Phosphorylation in Elicitation of the Oxidative Burst in Cultured Soybean Cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **92**: 4120–4123.
- [10] CHEN Z., SILVA H., KLESSIG D. F. 1993. Active Oxygen Species in the Induction of Plant Systemic Acquired Resistance by Salicylic Acid. *Science* **262**: 1883–1886.
- [11] DEWYER S. C., LEGENDRE L., LOW P. S., LETO T. L. 1996. Plant and Human Neutrophil Oxidative Burst Complexes Contain Immunologically Related Proteins. *Biochim. Biophys. Acta.* **1289**: 231–239.
- [12] DONG X. 1995. Finding the Missing Pieces in The Puzzle of Plant Disease Resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **92**: 7137–7139.
- [13] DURNER J., KLESSING D. F. 1995. Inhibition of Ascorbate Peroxidase by Salicylic Acid and 2,6-dichloroisonicotinic Acid, Two Inducers of Plant Defense Responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **92**: 11312–11316.
- [14] GAFFNEY T., FRIEDRICH L., VERNOOIJ B., NEGROTTI D., NYE G., UKENS S., WARD E., KESSMAN H., RYALS J. 1993. Requirement of Salicylic Acid for the Induction of Systemic Acquired Resistance. *Science.* **261**: 754–756.
- [15] GREENBERG J. T. 1996. Programmed Cell Death: A Way of Life for Plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **93**: 12094–12097.
- [16] HAMMOND-KOSACK K. E., JONES J. D. G. 1996. Resistance Gene-Dependent Plant Defense Responses. *Plant Cell* **8**: 1773–1791.
- [17] HILDEBRAND D. F. 1989. Lipoygenases. *Physiol. Plant.* **76**: 249–253.
- [18] HUANG K., LAURIDSEN E., CLAUSEN J. 1994. Selenium-containing Peroxidases of Germinating Barley. *Biol. Trace Elem. Res.* **46**: 173–182.
- [19] JANERO D. R. 1990. Malondialdehyde and Thiobarbituric Acid-reactivity as Diagnostic Indices of Lipid Peroxidation and Peroxidative Tissue Injury. *Free Radic. Biol. Med.* **9**: 515–540.
- [20] KAUS H., FRANKE R., KRAUSSE K., CONRATH U., JEB-LICK W., GRIMMING B., MATERN U. 1993. Conditioning of Parsley (*Petroselinum crispum* L.) Suspension Cells Increases Elicitor-Induced Incorporation of Cell Wall Phenolics. *Plant. Physiol.* **102**: 459–466.
- [21] KAUS H., JEB-LICK W., ZIEGLER J., KRABLER W. 1994. Pretreatment of Parsley (*Petroselinum crispum* L.) Suspension Cultures with Methyl isonate Enhances Elicitation of Activated Oxygen Species. *Plant. Physiol.* **105**: 89–94.
- [22] KONO Y., FRIDOVICH I. 1982. Superoxide Radicals Inhibits Catalase. *J. Biol. Chem.* **257**: 5751–5754.
- [23] LEGENDRE L., HEINSTEIN P. F., LOW P. S. 1992. Evidence for Participation of GTP-binding Proteins in Elicitation of the Rapid Oxidative Burst in Cultured Soybean Cells. *J. Biol. Chem.* **268**: 20140–20147.
- [24] LEGENDRE L., RUETER S., HEINSTEIN P. F., LOW P. S. 1993. Characterization of the Oligogalacturonide-induced Oxidative Burst in Cultured Soybean. *Plant. Physiol.* **102**: 233–240.
- [25] LEGENDRE L., YUEH Y. G., CRAIN R., HADDOCK N., HEINSTEIN P. F., LOW P. S. 1993. Phospholipase C Activation during Elicitation of the Oxidative Burst in Cultured Plant Cells. *J. Biol. Chem.* **268**: 24559–24563.
- [26] LOW P. S., MERIDA J. R. 1996. The Oxidative Burst in Plant Defense: Function and Signal Transduction. *Physiol. Plant.* **96**: 533–542.
- [27] MEHDY M. C. 1994. Active Oxygen Species in Plant Defense Against Pathogens. *Plant. Physiol.* **105**: 467–472.
- [28] MEHDY M. C., SHARMA Y. K., SATHASIVAN K., BAYS W. 1996. The Role of Activated Oxygen Species in Plant Disease Resistance. *Physiol. Plant.* **98**: 365–374.
- [29] MONTALBANI P. 1993. Xanthine Oxidase Activity in Susceptible and Hypersensitive response of Tobacco Leaves to Tobacco Mosaic Virus Infection. *J. Phytopathology.* **139**: 177–186.
- [30] MURPHY T. M., AUCH C. 1996. The Superoxide Synthase

- se of Plasma Membrane Preparation from Cultured Rose Cells. *Plant Physiol.* **110**: 621–629.
- [31] RASKIN I. 1992. Salicylate, A New Plant Hormone. *Plant Physiol.* **99**: 799–803.
- [32] SCHNEIDER-MÜLLER S., KUROSAKI F., NISHI A. 1994. Role of Salicylic Acid and Intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  in the Induction of Chitinase Activity in Carrot Suspension Culture. *Physiol. Molec. Plant Pathol.* **45**: 101–109.
- [33] STASWICK P. E. 1992. Jasmonate, Genes, and Fragrant Signals. *Plant. Physiol.* **99**: 804–807.
- [34] STADTMAN T. C. 1991. Biosynthesis and Function of Selenocysteine-containing Enzymes. *J. Biol. Chem.* **266**: 16257–16260.
- [35] SUTHERLAND M. W. 1991. The Generation of Oxygen Radicals During Host Plant Responses to Infections. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* **39**: 79–93.
- [36] TENHAKEN R., LEVINE A., BRISSON L. F., DIXON R. A., LAMB C. 1995. Function of the Oxidative Burst in Hypersensitive Disease Resistance. *Proc. Natl. Sci. USA*, **92**: 4158–4163.
- [37] URBANEK H., KUŹNIAK E., MAŁOLEPSZA U. 1987. Enzymatic Activity in Broad Bean Leaves Infected by *Botrytis fabae*. *Bull. Polish Acad. Sci.* **35**: 307–313.
- [38] URBANEK H. 1994. Rola białek w reakcjach obronnych roślin na choroby infekcyjne. W: KILIAŃSKA Z., KRAJEWSKA W., LIPIŃSKA A. (red), *Białka komórek prawidłowych i patologicznych*, Łódzkie Towarzystwo Naukowe, Łódź s. 173–183.
- [39] WARD E. R., UKENS S. J., WILLIAMS S. C., DINCHER S. S., WIEDERHOLD D. L., ALEXANDER D. C., AHL-GOY P., METRAUX J., RYALS J. A. 1991. Coordinate Gene Activity in Response to Agents That Induce Systemic Acquired Resistance. *Plant Cell.* **3**: 1085–1094.
- [40] WILLEKENS H., INZE D., MONTAGU M. V., CAMP W. 1995. Catalases in Plant. 1995. *Mol. Breed.* **1**: 207–228.