

Emilia Wilmowicz, Agata Kućko,

Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu, e-mail: emwil@umk.pl,

e-mail: kuckoa@doktorant.umk.pl

Jan Kopcewicz

Wyższa Szkoła Zarządzania Środowiskiem w Tucholi, e-mail: kopcew@umk.pl

MECHANIZMY OBRONNE ROŚLIN DRZEWIASTYCH URUCHAMIANE W ODPOWIEDZI NA ATAK PATOGENÓW

THE MECHANISMS OF TREE DEFENSES IN RESPONSE TO PATHOGENS ATTACK

Słowa kluczowe: fitohormony, odpowiedź lokalna, odpowiedź systemowa, stres, patogen

Key words: phytohormones, local defense, systemic defense, stress, pathogen

Abstract. This paper presents a comprehensive study on the mechanisms of tree responses to pathogens. We describe natural resistance concerning the presence of different types of barriers protecting plants from invasion and also give them strength after a pathogen attack. We put emphasis on induced resistance functioning both locally and systemically and involvement of phytohormones signaling networks. Systemic acquired resistance (SAR) involved the action of salicylic acid and H₂O₂ and accumulation of pathogenesis-related proteins. In turn, jasmonates and ethylene are signaling molecules in the induced resistance (SIR). All these substances play a crucial role in the forest management and can be applied in the tree protection strategies based on the natural and synthetic active compounds.

WSTĘP

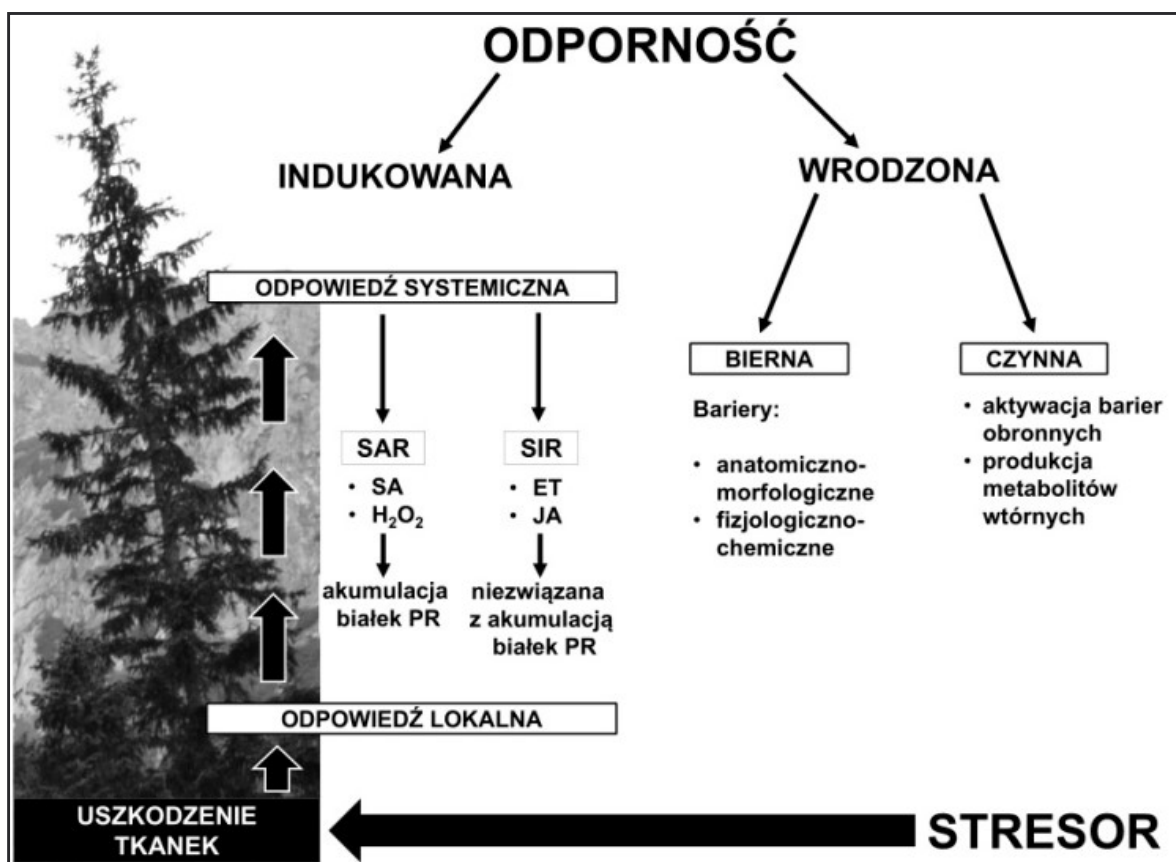
Niekorzystne oddziaływania patogenów, m.in. grzybów, bakterii, wirusów, a także owadów roślinożernych na drzewa leśne, prowadzą do zakłócenia równowagi pomiędzy funkcjami fizjologicznymi a przemianami biochemicznymi i w konsekwencji wywołują zaburzenia podstawowych procesów życiowych. Drzewa wykształciły przeciwko nim odporność, tj. właściwość uniemożliwiającą patogenom wywołanie objawów chorobotwórczych pomimo sprzyjającym ku temu warunkom. Są to mechanizmy zarówno wrodzone (stałe, konstytutywne), jak i nabyte (indukowane) [Pospieszny 2000a, b]. Z utylitarne punktu widzenia szczególnie ważna jest indukowana odpowiedź obronna. Nie wymaga ona manipulacji genetycznych i w związku z tym nie wzbudza kontrowersji społecznych, więc może być w przyszłości cennym narzędziem służącym do zrównoważonego zarządzania odpornością drzew na szkodniki [Eyles i in. 2010].

Badania dotyczące tego zagadnienia prowadzone są głównie na roślinach zielnych, jednak ze względu na przyjazny dla środowiska charakter są także wykonywane na drzewach leśnych w celu ich ochrony. Mechanizm indukowanej odporności jest wielopoziomowy i jednocześnie bardzo zintegrowany, co sprawia, że uruchomiony w ten sposób system obronny jest trwały i skuteczny przeciwko szerokiemu spektrum patogenów. Niniejsza praca stanowi podsumowanie aktualnego stanu wiedzy dotyczącej mechanizmów obronnych drzew leśnych przed patogenami.

MECHANIZMY ODPORNOŚCI WRODZONEJ

Odporność wrodzona jest efektem ewolucyjnego przystosowania się roślin do bytowania w niekorzystnych warunkach środowiska. Jest ona cechą swoistą gatunkowo i odmianowo oraz dotyczy określonego czynnika chorobotwórczego. W zależności od tego czy mechanizmy obronne na chorobę zostają uruchomione przed lub po kontakcie z patogenem odporność wrodzoną dzielimy na bierną i czynną (Ryc. 1) [Kacprzak i in. 2011].

Odporność bierna, nazywana również aksenią lub odpornością preinfekcyjną, może zmieniać się pod wpływem warunków zewnętrznych, jednak funkcjonuje niezależnie od zaistnienia kontaktu pomiędzy patogenem a drzewem. Związana jest przede wszystkim z występowaniem barier anatomiczno-morfologicznych, które



Ryc. 1. Schemat przedstawiający mechanizmy obronne roślin uruchamiane w odpowiedzi na patogeny.

Źródło: Opracowanie własne.

ograniczają lub wręcz uniemożliwiają wnikanie patogenów do tkanek w początkowych stadiach rozwoju choroby. Występowanie barier mechanicznych utrudniających pobieranie pokarmu np. parzących włosków, bruzd i kolców, jest podstawowym parametrem przy wyborze żywiciela przez żerujące owady. Ponadto, istotna jest wysokość pnia drzewa i kształt korony oraz wielkość liści. Niemniej ważne jest także nasycenie woskiem kutykuli, grubość sklerenchymy otaczającej wiązkę przewodzącą, obecność ligniny i suberyny w tkankach wewnętrznych oraz wytwarzanie żywicy [Leszczyński 2001; Malinowski i in. 2008a]. Przykładem jest mechanizm funkcjonujący u sosny zwyczajnej, która zaatakowana przez przypłaszczka granatka obficie wytwarza żywicę zalewającą żerujące larwy i tym samym ogranicza ich liczebność [Gutowski i in. 1992].

W odporności biernej istnieją także bariery fizjologiczno-chemiczne, m.in. metabolity wtórne o działaniu toksycznym tzw. prohibityny hamujące kiełkowanie zarodników oraz wzrost strzępek grzybów, a także ograniczające rozwój bakterii i namnażanie się wirusów. W celu zminimalizowania strat lub uniknięcia całkowitego wyniszczenia przez patogeny, rośliny mają zdolność zmniejszenia zawartości produktów metabolizmu podstawowego, takich jak cukry, fosfolipidy i witaminy. Składniki te decydują o walorach smakowych drzew i ich wyborze przez szkodniki [Malinowski 2008b]. Jednocześnie w mechanizmie dostosowania własnego metabolizmu drzewa mogą zwiększać produkcję metabolitów wtórnych, które są gromadzone na ich powierzchni lub wewnątrz tkanek. Ograniczają one żerowanie lub działają toksycznie już po zasiedleniu rośliny przez owady. Do grupy tej należą pochodne fenolowe, terpenoidowe i azotowe [Keeling i Bohlmann 2006; Bernards i Bastrup-Spohr 2008; Frost i Hunter 2008]. U drzew najważniejsze są pochodne fenolowe, tj. fenole, alkohole i kwasy fenolowe, flawonoidy, kumaryny oraz garbniki. Ich zadaniem jest hamowanie aktywności oksydoreduktaz oraz hydrolaz. Wysoki poziom związków fenolowych jest zazwyczaj skoordynowany z podwyższoną zawartością peroksydaz i oksydaz fenolowych prowadzących do nagromadzenia się polifenoli oraz chinonów, czyli związków wykazujących działanie antybiotyczne [Ciepiela i Chrzanowski 2000]. Ponadto, obecność chinonów umożliwia utlenianie np. witamin i aminokwasów, co w konsekwencji obniża wartość pokarmową drzew. W liściach roślin drzewiastych występują bardzo duże ilości heterogennej grupy tanin należących do flawonoidów. Chronią one drzewa przed kręgowcami, owadami, bakteriami i grzybami. Wykazano, że związki te wiążąc się z tkankami jelita owadów, niszczą ich układ pokarmowy [Harborne 1997]. Wysoka zawartość tanin i niska α -pinenu hamuje zasiedlanie przypłaszczka granatka u sosny zwyczajnej [Apel i in. 1999]. Natomiast podwyższony poziom tanin w starszych liściach wierzby ogranicza atak stonkowatych [Czerniakowski 2006]. Brudnica nieparka w liściach drzewostanów dębowych powoduje podniesienie zawartości fenoli i tanin negatywnie wpływających na rozwój larw i płodność dorosłych osobników motyli oraz zmniejszających stopień żerowania przez ten gatunek w kolejnych latach [Schultz i Baldwin 1982; Rossiter i in. 1988]. Do związków fenolowych należą również

glikozydy fenolowe, które odstraszały owady z rzędów motyli oraz chrząszczy, a ich występowanie stwierdzono m.in. u wierzby i topoli. Kora wierzby zawiera od 1 do 7% glikozydu fenolowego – salicyny, a dodatkowo w jej liściach zidentyfikowano salikortynę, która zapobiega przepoczwarczeniu się chrząszcza jątrewki pospolitej (*Protora vulgatissima* L.) [Harborne 1997].

Istotnym elementem odpowiedzi obronnej są występujące w żywicach kory drzew iglastych związki terpenowe, m.in. α -pinen, β -pinen, które odstraszały większość stawonogów [Harborne 1997]. Igły sosny wydzielają również gazowy etan, który ogranicza żerowanie *Monochamus alternatus*. Co więcej, podczas beztlenowej fermentacji cukrów zachodzącej w pniach i w pęknięciach zniszczonych drzew sosnowych wytwarzany jest etanol, który w wysokich stężeniach odstrasza owady [Malinowski 2008b].

Kolejnym z mechanizmów obronnych jest synteza hormonów owadzych. W igłach i systemie korzeniowym cisa pospolitego występuje 20-hydroksyeksydon - hormon linienia. Kora jodły nadmorskiej zawiera natomiast juwabion - hormon juwenilny, którego powstawanie zachodzi w odpowiedzi na żerowanie ochojnika jodłowego. Zapewnia to ochronę drzewom przed następnymi pokoleniami tego szkodnika [Harbone 1997]. W reakcji obronnej rośliny drzewiaste mogą wytwarzać także fitohormony, które pełnią funkcję substancji sygnałnych. Wydzielane przez uszkodzone drzewa informują o zaistniałym niebezpieczeństwie niezainfekowane osobniki, które włączają mechanizmy odpornościowe np. wydzielają metabolity wtórne i zabezpieczają się przed atakiem szkodników [Haukioja i in. 1985].

Odporność czynna tzw. aktywna, indukowana, poinfekcyjna, pojawia się dopiero w wyniku ataku patogenu. Aby został on rozpoznany przez roślinę, musi dojść do połączenia czynnika stymulującego odpowiedź obronną – elicytora z receptorem membranowym lub cytoplazmatycznym. Wiązanie się tych dwóch elementów inicjuje transdukcję wewnątrzkomórkowych, wtórnych sygnałów uruchamiających system odpornościowy oparty na aktywacji barier obronnych, których funkcjonowanie związane jest ze zmianami w strukturze, np. wytwarzaniem warstwy korkowej wokół miejsca infekcji, a także produkcją metabolitów wtórnych.

MECHANIZMY ODPORNOŚCI INDUKOWANEJ

Po zadziałaniu bodźca stresowego w miejscu lub bezpośrednim sąsiedztwie zainfekowanych tkanek dochodzi do powstania odpowiedzi lokalnych przejawiających się produkcją reaktywnych form tlenu (RFT) i azotu (RNS), a także związków związanych z patogenezą [Barbehenn i in. 2009]. Reakcje te określa się mianem barier chemicznych. Podobnie jak w przypadku odporności wrodzonej, w indukowanej funkcjonują również anatomiczne przystosowania [Huckelhoven 2007]. Lokalne modyfikacje strukturalne występujące bezpośrednio po ataku patogenu uniemożliwiają jego dalszą penetrację. Powstaje zgrubienie, w którym gromadzi się kalozyna, dochodzi do lignifikacji i suberynizacji ścian komórkowych,

przez co wzmacnia i usztywnia się ich struktura. Powstaje strefa nieprzepuszczalna dla wody, która zabezpiecza nieuszkodzone, sąsiadujące komórki. Bardzo często pierwszą odpowiedzią rośliny na atak i uszkodzenia wywołane przez nekrotyczne patogeny jest reakcja nadwrażliwości (HR, ang. hypersensitive response), która powoduje lokalną martwicę tkanek wokół zakażonego miejsca, co ogranicza rozprzestrzenianie się infekcji. Reakcja HR stymuluje również ekspresję genów kodujących białka związane z patogenezą (PR, ang. pathogenesis related), a zjawisko to nazywane jest nabytą odpornością systemiczną (SAR, ang. systemic acquired resistance) (Ryc. 1) [Durrant i Dong 2004].

NABYTA ODPORNOŚĆ SYSTEMICZNA

Zadziałanie czynnika biotycznego uruchamia kinazy i fosfatazy białkowe biorące udział w szlaku transdukcji sygnału SAR. Enzymy te fosforylują lub defosforylują oksydazę ksantynową lub błonową oksydazę NADPH, których aktywność warunkuje powstanie RFT, m.in. anionorodnika nadtlenkowego i H_2O_2 [Złotek i Wójcik 2007]. Pierwszy wzrost produkcji H_2O_2 zachodzi kilka minut po infekcji i ma charakter niespecyficzny, natomiast drugie maksimum jego powstawania obserwuje się nawet po kilku godzinach od zadziałania stresora i jest specyficzne, co oznacza, że występuje tylko w kontakcie z patogenem niekompatybilnym, czyli takim, na którego roślina nie jest podatna [Kuźniak i Urbanek 1999]. Pojawiający się H_2O_2 aktywuje hydroksylazę kwasu benzoowego - enzym katalizujący biosyntezę kwasu salicylowego (SA) [Świdorski i Świdorska 1999]. Zatem rolę cząsteczek sygnałowych w SAR pełni H_2O_2 oraz SA i jego funkcjonalne metabolity. Akumulacja SA w komórce po ataku patogenu prowadzi do nagromadzenia antyoksydantów, czego konsekwencją są zmiany środowiska komórki na redukujące. Wówczas białka kodowane przez geny *Npr-1* (ang. no PR expression) tworzą aktywne monomery, które mogą być transportowane do jądra komórkowego, gdzie oddziałując z czynnikami transkrypcyjnymi TGA, aktywują geny *PR* [Pieterse i Van Loon 2004]. Kodowane przez nie białka występują konstytutywnie w niewielkich ilościach, a ich poziom zmienia się wraz ze stadium rozwoju rośliny. Są aktywowane w odpowiedzi obronnej nie tylko na patogeny i szkodniki, ale także czynniki abiotyczne np. stres solny, oksydacyjny, suszę, działanie promieni UV czy obecność w środowisku jonów metali ciężkich. Dotychczas białka *PR* sklasyfikowano do 17 rodzin. Pośród nich wyróżniono należące do rodziny PR3 chitynazy katalizujące reakcję hydrolizy wiązań β -1,4-glikozydowych w chitynie będącej polimerem N-acetylo-D-glukozyaminy zawartym w ścianie komórkowej grzybów. Chityna jest elicytorem rozpoznawanym przez specyficzne receptory podobne do kinaz LysM RKL (ang. LysM Receptor-Like Kinase), który powoduje wzmożoną ekspresję genów obronnych. Chitynazy, wpływając na integralność ściany i błony komórkowej, wykazują działanie przeciwgrzybowe [Nagy 2004]. Zakwalifikowane do rodziny

PR6 inhibitory proteaz występujące w okrywie nasiennej roślin drzewiastych są uruchamiane w odpowiedzi na zranienie, atak nicieni lub owadów roślinożernych. Enzymy te blokują działanie trypsyny i chymotrypsyny rozkładających białka roślinne i w ten sposób niekorzystnie wpływają na ich trawienie. Nagy i in. [2004] wykazali, że u 6-tygodniowego świerku pospolitego zakażenie korzenia grzybem *Rhizoctonia* powoduje miejscową i systemową akumulację chitynazy, a także peroksydazy (PR9). Co więcej, po ataku owadów pojawiają się oksydazy polifenolowe (PPO), które utleniając związki fenolowe do chinonów, sieciują białka w jelitach owadów i sprawiają, że są one dla nich niestrawne [Felton i in. 1992]. Żerowanie mszyc u czeremchy zwyczajnej prowadziło do podniesienia poziomu rybonukleaz czyli enzymów hydrolizujących RNA, które obniżają aktywność transkrypcyjną komórek [Sytykiewicz i in. 2011].

Kolejnym mechanizmem indukowanej odporności drzew jest synteza *de novo* niskocząsteczkowych substancji (LMW, ang. low-molecular-weight compounds) należących do metabolitów wtórych. Wśród nich występuje ponad 40 000 terpenoidów, 8000 pochodnych fenolowych i 12000 alkaloidów. Przykładem są fitoantycypiny, które zniechęcają roślinożerców, nadając tkankom drzew nieatrakcyjny smak lub zapach. W zainfekowanych już tkankach produkowane są z kolei fitoaleksyny - niskocząsteczkowe fenylopropanoidy syntetyzowane *de novo* po inwazji [Hammerschmidt 1999; 2006; Eyles i in. 2010].

U drzew iglastych produkcja i akumulacja oleożywicy będącej mieszaniną monoterpenu oraz diterpenów jest integralną częścią mechanizmu indukowanej chemicznej odporności obronnej przeciwko patogenom. Ta lepka ciecz powstająca w kanałach żywicznych jest transportowana do wszystkich organów, gdzie oddziałuje z błonami komórkowymi organizmu inwazyjnego i prowadzi do niekontrolowanego wycieku elektrolitów oraz śmierci szkodnika [Hudgins i Franceschi 2004]. Wypływająca z kanału oleożywica może również fizycznie usuwać owady lub po zasklepieniu wysięku przez krystalizację więzić je we wnętrzu drzewa. Co więcej, rośliny iglaste mogą tworzyć traumatyczne kanały żywiczne (TRD), w których syntetyzowane są szkodliwe dla patogenów terpeny [Keeling i Bohlmann 2006]. To anatomiczne przystosowanie powoduje zwiększenie przepływu żywicy w ciągu 2-3 tygodni od momentu zadziałania czynnika stresowego.

Częścią mechanizmu uruchamianego przez drzewa w wyniku ataku patogenów jest także wytwarzanie lotnych związków organicznych (VOCs, ang. volatile organic compounds), które są wewnątrzkomórkowymi sygnałami indukującymi odpowiedź obronną w nieuszkodzonych częściach rośliny, a także wpływają na funkcjonowanie całego ekosystemu leśnego. Nazywane są one feromonami roślinnymi i pełnią funkcję atraktantów dla naturalnych wrogów roślinożerców, a jednocześnie stanowią repelenty dla organizmów atakujących roślinę. Lotne związki organiczne biorą udział w allelopatii, oddziałując na rośliny rosnące w pobliżu jako przekaźniki informacji [Conrath i in. 2006].

INDUKOWANA ODPORNOŚĆ SYSTEMICZNA

W odpowiedzi na patogeny powodujące nekrozy rozwija się indukowana odporność systemiczna (SIR, ang. systemic induced resistance). Może być ona również wywołana przez nieszkodliwe bakterie ryzosferowe stymulujące wzrost roślin (PGPR, ang. plant growth-promoting rhizobacteria) i wówczas nosi nazwę ISR (ang. induced systemic resistance) [Kuc 1983; van Loon 2007]. Rolę cząsteczek sygnałowych w SIR pełnią jasmoniany i etylen (ET) (Ryc. 1) [Broekaert i in. 2006; Balbi i Devoto 2008]. Wielu cennych informacji dotyczących SIR u roślin drzewiastych dostarczyły wyniki badań prowadzonych na sośnie czarnej. Inokulowanie jej łodyg pasożytem *Sphaeropsis sapinea* wywołującym chorobę zasychania wierzchołków pędów, lub mniej agresywnym grzybem *Diplodia scrobiculata*, spowodowało zwiększenie odporności na późniejsze ataki tych patogenów zarówno w łodygach, jak i odgałęzieniach bocznych. Sugeruje to, że sygnał wywołujący reakcje odpornościowe transportowany jest akropetalnie i bazypetalnie. Dodatkowo zaobserwowano, że wytwarzana odporność może być organowo zależna [Bonello i Blodgett 2003].

Mechaniczne uszkodzenie drzew, stres osmotyczny, działanie niektórych metali ciężkich np. Ag, Cu podnoszą poziom endogennych jasmonianów, m.in. kwasu jasmonowego (JA), jego estru metylowego (MeJA) lub koniugatów JA z aminokwasami [Kramell i in. 1995; Rakwal i in. 1996; Bohlmann i in. 1998]. Szczególnym rodzajem stresu mechanicznego jest uszkodzenie tkanek roślin w wyniku ataku owadów, których wydzieliny zawierają elicytory. Wówczas uwalniane są oligogalakturnidy (OGA), które generują odpowiedź lokalną niezależną od JA. Aktywują one ekspresję genów kodujących glukozylotransferazę (*Twil*), kinazę choliny (CK), białko hamujące aktywność poligalakturnidazy (*PGIP1.2*) oraz aminohydrolazę (JR3). Co więcej, OGA indukują syntezę ET [Rojo i in. 2003]. Atak owada powoduje także hydrolizę 200-aminokwasowego prekursora – prosysteminy w wyniku czego powstaje 18-aminokwasowa, bogata w prolinę systemina. Białko to wytworzone lokalnie dyfunduje do apoplastów nieszkodzonych komórek naczyniowych, gdzie wiąże się z receptorami transbłonowymi SR160 i BRI1 [Scheer i Ryan 2002]. Efektem jest uruchomienie szlaku transdukcji sygnału prowadzącego do aktywacji kinaz MAP, a następnie fosfolipazy A₂ (PLA₂) katalizującej rozpad lipidów błonowych i uwolnienie kwasu α -linolenowego – prekursora JA [Kowalczyk i Maciejewska 2002]. Systemina ma decydujący wpływ na produkcję sygnału systemowego, jednak sama nie posiada zdolności przemieszczania się na duże odległości. Rolę długodystansowego przekaźnika informacji w odpowiedzi na zranienie pełni JA [Howe i in. 1999]. Jasmoniany dyfundują do systemu naczyń przewodzących skąd transportowane są do komórek parenchymatycznych. Podczas przemieszczania się w roślinie mogą indukować ekspresję genów kodujących elementy białkowe wpływające na syntezę prosysteminy oraz systeminy i generować w ten sposób

rozprzestrzenianie się sygnałów odpornościowych. Ponadto, JA, działając przeciwstawnie do ET, aktywuje geny obronne kodujące inhibitory proteaz - *Pin1* (ang. proteinase inhibitor). Wzajemne interakcje obydwu fitohormonów gwarantują z kolei wysoką aktywność transkrypcyjną genu *Pin2*, a także indukują ekspresję genów kodujących antygrzybowe białka - defenzyny (*PDF1.2*) [Tian i in. 2014]. Antagonistycznie do JA i ET działa kwas abscysynowy (ABA). Podobnie jest w przypadku stresu oksydacyjnego, kiedy ABA stymuluje ekspresję *RD22*, a ET wywołuje odwrotny efekt. Komunikacja pomiędzy szlakami sygnałowymi JAs, ABA i ET warunkuje właściwą odpowiedź rośliny na dany czynnik stresowy.

ELEMENTY ODPOWIEDZI OBRONNEJ W UJĘCIU PRAKTYCZNYM

W ochronie drzew leśnych przed patogenami podejmowane są dwie aktywności - działanie profilaktyczne oraz minimalizacja szkód ekologicznych, mogących wystąpić w wyniku stosowanych zabiegów ratowniczych. Jednak w obydwu przypadkach podstawowym elementem ochrony jest rozpoznanie zagrożeń ze strony patogenów. W tym celu stosowane są metody oceny występowania szkodliwych owadów, grzybów i ssaków roślinożernych w danym ekosystemie. Muszą być one efektywne i nie mogą negatywnie wpływać na środowisko. Metody te zostały szczegółowo opisane w Instrukcji Ochrony Lasu wydanej w 2012 r. przez Centrum Informacyjne Lasów Państwowych i obejmują zastosowanie zarówno czynników biologicznych, jak i chemicznych. Doskonałym przykładem działań profilaktycznych i ochronnych podejmowanych w lasach sosnowych, świerkowych oraz dębowych i bukowych jest usuwanie porażonych opieńką zgnilizną korzeni drzew, wywoływaną przez grzyby *Armillaria*. Zabiegi te zapobiegają rozprzestrzenianiu się czynnika chorobotwórczego [Haze 2012].

W walce z patogenami powszechne jest także wykorzystanie aktywnych substancji, a nawet występujących w środowisku organizmów, które mogą te związki produkować. Są to tzw. naturalni antagoniści patogenów. Istotne jest, aby mikroorganizmy oraz substancje czynne stosowane w celu zwalczania szkodników i chorób roślin były naturalne i nieszkodliwe dla zwierząt oraz ludzi. Wymagania te stanowią duży problem bezpośrednio związany z ochroną roślin w rolnictwie ekologicznym w Polsce, ponieważ znacznie limitują liczbę dostępnych produktów. Dotyczy to przede wszystkim produkcji ogrodniczej, ale stanowi także ograniczenie w przypadku upraw drzew leśnych. Przykładem jest rotenon będący alkaloidem pozyskiwanym w postaci żywicy z korzeni tropikalnych roślin motylkowych, który jako insektycyd stosowano także w uprawie drzew leśnych. Jednak w Polsce nie dopuszczono produktów zawierających tę substancję. Zgodnie z wynikami najnowszych analiz rotenon, poza bezpośrednią toksycznością, może również powodować rozwój choroby Parkinsona [Betarbet i in. 2000].

Pierwszymi insektycydami biologicznymi rozpowszechnionymi w ochronie upraw już w latach 60. XX wieku były preparaty wykonane na bazie bakterii

Bacillus thuringiensis. Działają one na różne gatunki owadów, m.in. muchówki, motyle i chrząszcze, które atakują topole, wierzby i wiązy. Jedną z najpoważniejszych chorób drzew leśnych wyrządzającą szkody w uprawach sosny zwyczajnej, świerku pospolitego, jodły czy modrzewia, ale także buka, brzozy lub dębu, jest huba korzeni, powodowana przez korzeniowca wieloletniego (*Heterobasidion annosum*). Skutkuje ona rozkładem drewna korzeni i przyziemnych części pnia. W celu ochrony roślin przed zakażeniem aplikuje się zawiesinę zarodników konkurencyjnego grzyba *Phlebiopsis gigantea* [Haze 2012]. Innym przykładem praktycznego zastosowania zjawiska naturalnie występującego, antagonistycznego współżycia organizmów jest stosowanie zawiesiny granulowirusa *Cydia pomonella* patogenicznego w stosunku do zwójków atakujących m.in. brzozy [Ciesielska i in. 2011].

W ochronie drzewostanów stosuje się także feromony roślinne. Przykładem są związki wytwarzane w korzeniach żywotnika zachodniego zaatakowanych przez larwy opuchlaka truskawkowca, będące atraktantami dla nicienia *Heterorhabditis megidis*, który jest naturalnym wrogiem tego szkodnika. Zastosowanie w zwalczaniu korników i innych szkodników roślin leśnych znalazły także feromony wytwarzane przez owady. Są to substancje będące przekąźnikami w życiu płciowym. Skuteczne są zarówno te naturalne, jak i uzyskiwane na drodze syntezy chemicznej, m.in. feromony agregacyjne, „skupiające” owady w miejscu ich działania [Ciesielska i in. 2011].

Zdolność poszczególnych części roślin do akumulowania określonych substancji ochronnych w odpowiedzi na patogeny zależy od ich zaopatrzenia w asymilaty, które w sytuacji stresowej są importowane floemem do zaatakowanych miejsc. Ten długodystansowy transport jest jednym z elementów odpowiedzi na insekty, mikroby lub zranienie mechaniczne u dębu czy topoli [Arnold i Schultz 2002; Allison i Schultz 2005]. U topoli wywołuje on syntezę polifenoli [Arnold i in. 2004]. Wykazano także, że nagłe zmiany w transporcie i rozdziale asymilatów u topoli osikowej powoduje JA, który obok ET i SA pełniących funkcję wtórnych przekąźników informacji, znalazł praktyczne zastosowanie w systemicznej odporności drzew [Babst i in. 2005; Broekaert i in. 2006]. Hormon ten hamował także wzrost larw motyla brudnicy nieparki u kasztana amerykańskiego [Cooper i Rieske 2008]. Aplikacja MeJA u wierzby wiciowej i sosny zachodniej indukuje przemiany podobne do tych, występujących podczas zranienia [Hudgins i in. 2003]. Ten sam związek podwyższa odporność sosny zwyczajnej na atak chrząszcza *Hylobius abietis* i świerku pospolitego na infekcję grzybem *Ceratocystis polonica* [Heijari i in. 2005; Zeneli i in. 2006]. Co ciekawe, MeJA u sosny kalifornijskiej jedynie tymczasowo zwiększa odporność na grzyb *D. pinea* (Gould i in., 2008). W odpowiedziach obronnych mamutowca olbrzymiego na egzogeny MeJA pośredniczy ET [Hudgins i Franceschi, 2004]. Naturalnie występujący izomer *cis* kwasu jasmonowego, strukturalnie podobny do JA lub MeJA, uwalniany z uszkodzonych części roślin, indukuje odporność na owady

i patogeny [Eyles i in. 2010]. W przypadku stosowania jasmonianów należy zwrócić uwagę na fakt, że związki te indukując odpowiedzi obronne, dodatkowo uczestniczą w regulacji innych procesów wzrostu i rozwoju, np. wzrost korzeni czy starzenie liści [Moore 1998].

Egzogenny SA obniża zdolność przeżywania larw przyszczarka (*Dasineura marginemtorquens*) na wierzbie wiciowej [Ollerstam i Larsson 2003]. Pochodna tego związku (5-chloro-SA) powoduje zwiększenie odporności sosny alepskiej na grzyby *D. pinea* i *D. scrobiculata* [Moret i Munoz 2007]. Podczas badań prowadzonych na tytoniu stwierdzono jednak, że w przypadku egzogenego SA jego działanie ogranicza się do traktowanej tkanki. Związek ten nie przemieszcza się efektywnie, co wyklucza jego działanie systemowe, czyli działa inaczej niż w przypadku endogenego SA zaangażowanego w SAR [Enyedi i Raskin 1993].

Oprócz substancji naturalnych istnieją ich syntetyczne odpowiedniki, które mogą imitować odpowiedź rośliny na czynniki stresowe, co stanowi wyzwanie dla współczesnego leśnictwa. Wykazy zarejestrowanych w Polsce chemicznych środków ochrony drzew zebrane są w broszurze „Środki ochrony roślin zalecane do stosowania w leśnictwie” wydawanej przez Instytut Badawczy Leśnictwa na zlecenie Dyrekcji Generalnej Lasów Państwowych. Bardzo często struktura związków chemicznych jest podobna do budowy ich naturalnych odpowiedników. Analog SA - acibenzolar-*S*-metylowy - sprzedawany w postaci komercyjnych preparatów BION[®] lub Actiguard[®] (odpowiednio w Europie i USA) aktywuje reakcje obronne i odpornościowe wywołane atakiem grzybów lub bakterii [Leadbeater i Staub 2007]. Związkami indukującymi odporność na grzyby są ścianowe elementy grzybni - chityna i jej pochodna – chitozan. Te antygrzybiczne właściwości znalazły zastosowanie w uprawie sosny kalifornijskiej, gdzie używany jest związek zawierający 4% chitozan - Elexa[™] Glyco Genesys. Kolejnym elicytorem o działaniu owadobójczym stosowanym u drzew jest imidaklopyryd występujący w komercyjnych preparatach sprzedawanych w Kanadzie i Australii (odpowiednio Admir[®], Bayer Crop Science oraz Confidor[®], Bayer Crop Science) [Eyles i in. 2010]. Szczególnie istotną rolę w powstawaniu komercyjnych preparatów zawierających bioaktywne cząsteczki pełni identyfikacja roślinnych VOC.

Wyżej opisane odkrycia mogą zaowocować opracowaniem i wprowadzeniem na rynek przyjaznych dla środowiska środków ochrony roślin. W celu realizacji tych zamierzeń niezbędna jest charakterystyka elementów szlaków sygnałowych prowadzących do powstania odpowiedzi obronnych. U roślin zielnych osiągnięcie tego celu jest możliwe dzięki użyciu mutantów. Techniki te nie są jednak stosowane u drzew, u których opracowuje się inne metody, np. monitorowanie metabolomu po aplikacji elicytorów, co pozwala na identyfikację cząsteczek zaangażowanych w sygnalizację systemiczną. Niezwykle ważnym osiągnięciem jest także sekwencjonowanie genomu topoli kalifornijskiej oraz jej upraw w warunkach *in vitro* [Tuskan i in. 2006; Coleman i in. 2008]. Wprowadzenie genów

do specyficznych odmian w celu uzyskania pożądaných cech wymaga zastosowania efektywných metod transformacji i regeneracji.

LITERATURA

- Allison, S.D., Schultz, J.C. (2005). *Biochemical responses of chestnut oak to a galling cynipid*. Journal of Chemical Ecology 31:151-166.
- Apel, K.H., Wenk, M., Kleiber, C. (1999). *Status colloquium zum massenwechsel und zur wirtsfindung des blauen kiefernprachtkäfers in eberswalde*. Brandenburgische Forstnachrichten 8:13-15.
- Arnold, T., Appel, H., Patel, V., Stocum, E., Kavalier, A., Schultz, J. (2004). *Carbohydrate translocation determines the phenolic content of Populus foliage: a test of the sink-source model of plant defense*. New Phytologist 164:157-164.
- Arnold, T.M., Schultz, J.C. (2002). *Induced sink strength as a prerequisite for induced tannin biosynthesis in developing leaves of Populus*. Oecologia 130:585-593.
- Babst, B.A., Ferrieri, R.A., Gray, D.W., Lerdaу, M., Schlyer, D.J., Schueller, M., Thorpe, M.R., Orians, C.M. (2005). *Jasmonic acid induces rapid changes in carbon transport and partitioning in Populus*. New Phytologist 167:63-72.
- Balbi, V., Devoto, A. (2008). *Jasmonate signalling network in Arabidopsis thaliana: crucial regulatory nodes and new physiological scenarios*. New Phytologist 177:301-318.
- Barbehenn, R.V., Jaros, A., Lee, G., Mozola, C., Weir, Q., Salminen, J.P. (2009). *Tree resistance to Lymantria dispar caterpillars: importance and limitations of foliar tannin composition*. Oecologia 159:777-788.
- Bernards, M.A., Bastrup-Spohr, L. (2008). *Phenylpropanoid metabolism induced by wounding and insect herbivory*. [W:] Schaller, A., Induced plant resistance to herbivory. (red.) Springer, New York, 189-213.
- Betarbet, R., Sherer, T.B., MacKenzie, G., Garcia-Osuna, M., Panov, A.V., Greenamyre, J.T. (2000). *Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease*. Nature Neuroscience 3:1301-1306.
- Bohlmann, H., Vignutelli, A., Hilpert, B., Miersch, O., Wasternack, C., Apel, K. (1998). *Wounding and chemicals induce expression of the Arabidopsis Thaliana gene Thi 2., encoding a fungal defense thionin, via the octadecanoid pathway*. FEBS Letters 437:281-286.
- Bonello, P., Blodgett, J.T. (2003). *Pinus nigra-Sphaeropsis sapinea as a model pathosystem to investigate local and systemic effects of fungal infection of pines*. Physiological and Molecular Plant Pathology 63:249-261.
- Broekaert, W.F., Delaure, S.L., De Bolle, M.F.C., Cammuel, B.P.A. (2006). *The role of ethylene in host-pathogen interactions*. Annual Review of Phytopathology 44:393-416.
- Ciepiela, A.P., Chrzanowski, G. (2000). *Polyphenolic compounds of winter triticale leaves*. Herba Polonica; 46(4):278-282.
- Ciesielska, J., Malusà, E., Sas Paszt, L. (2011). *Środki ochrony roślin stosowane w rolnictwie ekologicznym*. Skierniewice.
- Coleman, H.D., Park, J.Y., Nair, R., Chapple, C., Mansfield, S.D. (2008). *RNAi-mediated suppression of p-coumaroyl-CoA 3'-hydroxylase in hybrid poplar impacts lignin deposition and soluble secondary metabolism*. Proceedings of the National Academy of Sciences USA 105:4501-4506.
- Conrath, U., Beckers, G.J.M., Flors, V., García-Agustín, P., Jakab, G., Mauch, F. (2006). *Priming: getting ready for battle*. Molecular Plant-Microbe Interactions 19:1062-1071.
- Cooper, W.R., Rieske, L.K. (2008). *Differential responses in American (Castanea dentata Marshall) and Chinese (C. mollissima Blume) chestnut (Fagales: Fagaceae) to foliar application of jasmonic acid*. Chemoecology 18:121-127.
- Czerniakowski, Z.W. (2006). *Preferencje pokarmowe owadów żerujących na wierzbach*. Postępy Ochrony Roślin 46:108-113.

- Durrant, W.E., Dong, X. (2004). *Systemic acquired resistance*. Annual Review of Phytopathology 42:185-209.
- Enyedi, A., Raskin, I. (1993) *Induction of UDP-glucose: salicylic acid glucosyltransferase activity in tobacco mosaic virus - inoculated tobacco (Nicotiana tabacum) leaves*. Plant Physiology 101:1375-1380.
- Eyles, A., Bonello, P., Ganley, R., Mohammed, C. (2010). *Induced resistance to pests and pathogens in trees*. New Phytologist 185:893-908.
- Felton, G.W., Donato, K.K., Broadway, R.M., Duffey, S.S. (1992). *Impact of oxidized plant phenolics on the nutritional quality of dietary protein to noctuid herbivore, Spodoptera exigua*. Journal of Insect Physiology 38:277-285.
- Frost, C.J., Hunter, M.D. (2008). *Herbivore-induced shifts in carbon and nitrogen allocation in red oak seedlings*. New Phytologist 178:835-845.
- Gutowski, J., Królik, R., Partyka, M. (1992). *Studia nad biologią, występowaniem i znaczeniem gospodarczym w Polsce bogatków z rodzaju Paenops Dejan (Coleoptera: Buprestidae)*. Prace IBL 736:77-192.
- Hammerschmidt, R. (1999). *Phytoalexins: what have we learned after 60 years?* Annual Review of Phytopathology 37:285-306.
- Hammerschmidt, R. (2006). *Host-pathogen interaction in conifers: complicated systems yield interesting possibilities for research*. Physiological and Molecular Plant Pathology 68:93-94.
- Harborne, J.B. (1997). *Ekologia biochemiczna*. Tłumaczenie z angielskiego: W. Oleszek, PWN, Warszawa, 351.
- Haukioja, E., Suomela, J., Neuvonen, S. (1985). *Long-term inducible resistance in birch foliage: triggering cues and efficacy on a defoliator*. Oecologia 5:263-269.
- Haze, M. (2012). *Instrukcja ochrony lasu*. Warszawa: Centrum Informacyjne Lasów Państwowych.
- Heijari, J., Nerg, A.M., Kainulainen, P., Viiri, H., Vuorinen, M., Holopainen, J.K. (2005). *Application of methyl jasmonate reduces growth but increases chemical defense and resistance against Hylobius abietis in Scots pine seedlings*. Entomologia Experimentalis et Applicata 115:117-124.
- Howe, G.A., Ryan, C.A. (1999). *Suppressors of systemin signaling identify genes in the tomato wound response pathway*. Genetics 153:1411-1421.
- Huckelhoven, R. (2007). *Cell wall – associated mechanisms of disease resistance and susceptibility*. Annual Review of Phytopathology 45:101-127.
- Hudgins, J.W., Christiansen, E., Franceschi, V.R. (2003). *Methyl jasmonate induces changes mimicking anatomical and chemical defenses in diverse members of the Pinaceae*. Tree Physiology 23:361-371.
- Hudgins, J.W., Franceschi, V. (2004). *Methyl jasmonate-induced ethylene production is responsible for conifer phloem defense responses and reprogramming of stem cambial zone for traumatic resin duct formation*. Plant Physiology 135:2134-2149.
- Kacprzak, P., Macioszek, V.K., Kononowicz, A.K. (2011) *Indukowana odpowiedź systemiczna (ISR) w ochronie roślin przed patogennymi grzybami*. Postępy Biologii Komórki 38:129-142.
- Keeling, C.I., Bohlmann, J. (2006). *Genes, enzymes and chemicals of terpenoid diversity in the constitutive and induced defence of conifers against insects and pathogens*. New Phytologist 170: 657-675.
- Kigel, J. (1995). *Seed development and germination*. [W:] The seed: structure and function, Boesewinkel, F.D., Bouman, F. (red.) Hebrew Univ. of Jerusalem Rehovot, Israel and Gad Gailili Weizmann Inst. of Science Rehovot, Israel, 7-13.
- Kowalczyk, S., Maciejewska, B. (2002). *Roślinne peptydy sygnałowe*. Postępy Biologii Komórki 29:181-201.
- Kramell, R., Atzorn, R., Schneider, G., Miersch, O., Brucker, C., Schmidt, J., Sembdner, G., Parthier, B. (1995). *Occurrence and identification of jasmonic acid and its amino acid conjugates induced by osmotic in barley leaf tissue*. Journal of Plant Growth Regulation 14:29-36.

- Kuc, J. (1983). *Induced systemic resistance in plants to diseases caused by fungi and bacteria*. [W:] The dynamics of host defence, Bailey, J.A., Deverall, B.J. [red.] Academic Press, Australia, Sydney, 191-221.
- Kuźniak, E., Urbanek, H. (1999). *Rola nadtlenku wodoru w odpowiedzi roślin na czynniki stresowe*. Zeszyty. Problemowe Postępów Nauk Rolniczych 469:43-48.
- Leadbeater, A., Staub, T. (2007). *Exploitation of induced resistance: a commercial perspective*. [W] Induced resistance for plant defence: a sustainable approach to crop protection, Walters, D., Newton, A., Lyon, G. (red.) Oxford, UK: Blackwell Publishing 229-241.
- Leszczyński, B. (2001). *Naturalna odporność roślin na szkodniki*. [W:] Biochemiczne oddziaływania środowiskowe, Oleszek, W., Głowniak, K., Leszczyński, B. (red.) Akademia Medyczna, Lublin, 87-108.
- Malinowski, H. (2008a). *Strategie obronne roślin drzewiastych przed szkodliwymi owadami*. Leśne Prace Badawcze 69:165-173.
- Malinowski, H. (2008b). *Mechanizmy obronne roślin drzewiastych przed szkodliwymi owadami*. Postępy w Ochronie Roślin 48:25-33.
- Moore, G.M. (1998). *Tree growth regulators: Issues of control, matters of management*. Journal of Arboriculture 24:10-19.
- Moret, A., Munoz, Z. (2007). *Control of *Diplodia pinea* and *D. scrobiculata* in *Pinus halepensis* by 5-chloro-salicylic acid*. Phytopathologia Mediterranea 46:150-156.
- Nagy, N.E., Fossdal, C.G., Krokene, P., Krekling, T., Lönneborg, A., Solheim, H. (2004). *Induced responses to pathogen infection in Norway spruce phloem: changes in polyphenolic parenchyma cells, chalcone synthase transcript levels and peroxidase activity*. Tree Physiology 24:505-515.
- Ollerstam, O., Larsson, S. (2003). *Salicylic acid mediates resistance in the willow *Salix viminalis* against the gall midge *Dasineura marginemtorquens**. Journal of Chemical Ecology 29:63-174.
- Pieterse, C.M.J., Van Loon, L.C. (2004). *NPRI: the spider in web of induced resistance signaling pathways*. Current Opinion in Plant Biology 7:456-464.
- Pospieszny, H. (2000a). *Dotychczasowy rozwój i dalsze perspektywy ograniczania strat powodowanych przez choroby roślin*. Postępy w Ochronie Roślin 40:84-92
- Pospieszny, H. (2000b). *Nabyta odporność systemiczna roślin na patogeny – od nauki do praktyki*. Postępy Nauk Rolniczych 5:27-42.
- Rakwal, R., Tamogami, S., Kodama, O. (1996). *Role of jasmonic acid as a signaling molecule in copper chloride-elicited rice phytoalexin production*. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry 60:1046-1048.
- Rojo, E., Solano, R., Sánchez-Serrano, J.J. (2003). *Interactions between signaling compounds involved in plant defense*. Journal of Plant Growth Regulation 22:82-98.
- Rossiter, M.C., Schultz, J.C., Baldwin, I.T. (1988). *Relationship among defoliation, red oak phenolics, and gypsy moth growth and reproduction*. Ecology 69:267-277.
- Scheer, J.M., Ryan, C.A. (2002). *The systemin receptor SR160 from *Lycopersicon peruvianum* is a member of the LRR receptor kinase family*. PNAS 99:9585-9590.
- Schultz, J.C., Baldwin, I.T. (1982). *Oak leaf quality declines in response to defoliation by gypsy moth larvae*. Science 217:149-150.
- Świdorski, M., Świdorska, A. (1999). *Genetyczne podstawy odporności roślin*. Biotechnologia 3:36-44.
- Sytykiewicz, H., Czerniewicz, P., Leszczyński, B., Sempruch, C., Goławska, S., Sprawka, I. (2011). *Aktywność rybonukleolityczna w liściach czeremchy zwyczajnej w okresie żerowania mszycy czeremchowo-zbożowej (*Rhopalosiphum padi* L.)*. Postępy Ochrony Roślin 51:223-226.
- Tian, D., Peiffer, M., De Moraes, C.M., Felton, G.W. (2014). *Roles of ethylene and jasmonic acid in systemic induced defense in tomato (*Solanum lycopersicum*) against *Helicoverpa**. Planta 239:577-589.
- Tuskan, G.A., DiFazio, S., Jansson, S., Bohlmann, J., Grigoriev, I., Hellsten, U., Putnam, N., Ralph, S., Rombauts, S., Salamov, A. i in. (2006). *The genome of black cottonwood, *Populus trichocarpa* Torr. & Gray*. Science 313:1596-1604.

- van Loon, L.C., Rep, M., Pieterse, C.M.J. (2006). *Significance of inducible defense-related proteins in infected plants*. Annual Review of Phytopathology 44:135-162.
- Zeneli, G., Krokene, P., Christiansen, E., Krekling, T., Gershenzon, J. (2006). *Methyl jasmonate treatment of mature Norway spruce (Picea abies) trees increases the accumulation of terpenoid resin components and protects against infection by Ceratocystis polonica, a bark beetle-associated fungus*. Tree Physiology 26:977-988.
- Złotek, U., Wójcik, W. (2007). *Wybrane aspekty nabywania u roślin odporności typu SAR*. Acta Scientiarum Polonorum Biotechnologia 6:3-12.

STRESZCZENIE

Drzewa jako część ekosystemów leśnych narażone są na atak różnych grup patogenów (mikroorganizmy, roślinożercy, owady). Odpowiadają na infekcję na dwa różne sposoby. Pierwszy to odporność naturalna, która obejmuje mechanizmy funkcjonujące zarówno przed, jak i po infekcji. Są to bariery strukturalne, chemiczne i mechaniczne, a wśród nich modyfikacje ściany komórkowej, lignifikacja i suberynizacja, tworzenie kanałów żywicznych, jak również synteza wtórnych metabolitów. Drugi mechanizm, nazywany odpornością indukowaną obejmuje odpowiedzi lokalne bezpośrednio w miejscu ataku patogenu i odpowiedzi systemiczne funkcjonujące w oddalonych tkankach roślinnych. Zidentyfikowanie elementów, zwłaszcza fitohormonalnych, zaangażowanych w odporność zarówno indukowaną jak i nabytą, pogłębia naszą wiedzę i prowadzi do szybkiego postępu w odkryciach mechanizmów naturalnej odporności. W konsekwencji przyczynia się to do wyselekcjonowania substancji wzmagających odpowiedź odpornościową i wypracowania właściwej strategii ochrony lasów.

SUMMARY

Trees, as a part of forest ecosystems, are subject to various groups of pathogens, e.g. microbes, herbivores, insects. Like other plants, trees are able to respond to infection in two different ways. First is natural resistance including mechanisms functioning both before and after the infection, such as structural, chemical and mechanical barriers, among them cell wall modifications, deposition of lignin and suberin, formation of resin ducts, as well as synthesis of secondary metabolites. Second mechanism, called induced resistance, consists of local defense at the site of the initial attack and systemic defense functioning in distant parts of the plant. Characterization of the compound, especially phytohormonal, involved both in induced and acquired resistance may provide basic information and lead to rapid progress in the investigation of natural resistance phenomena. Consequently, it improves the strategies of forest protection and ability to develop targeted chemical treatments.