

# Fitoaleksyny w naturalnej obronie roślin przed stresem

*Justyna Szwejda, Eugeniusz Szwonek*

*Instytut Sadownictwa i Kwiaciarnictwa*

*ul. Pomologiczna 18, 96-100 Skierniewice*

*e-mail: eszwonek@insad.pl*

**Słowa kluczowe:** fitoaleksyny, obrona naturalna, stres

## Wstęp

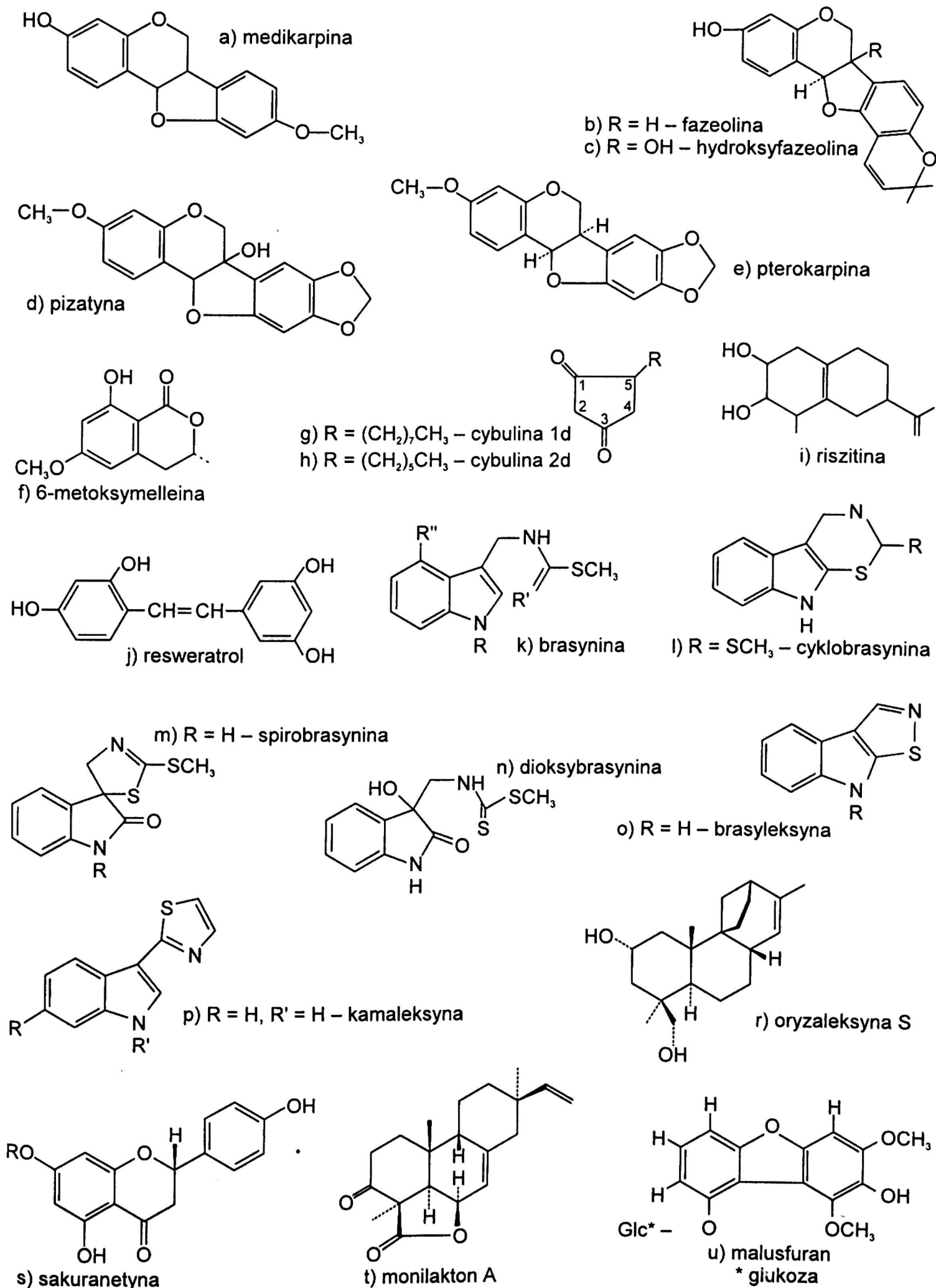
W 1940 roku Muller i Borger obserwując pędy ziemniaka zainfekowane przez zarazę ziemniaka *Phytophora infestans* postawili hipotezę o naturalnym ograniczaniu rozwoju patogena w tkankach rośliny przez substancje wytwarzane w komórkach gospodarza. Podobnym zjawiskiem około trzydzieści lat wcześniej zainteresował się francuski uczyony Noel Bernard. Nazwę substancji hamującej rozwój patogenów w roślinie zaproponowali wspomniani Muller i Borger, którzy wnikliwie zajmowali się reakcją roślin na infekcję patogeniczną oraz naturalnym ograniczaniem rozwoju patogenów. Substancję tę nazwali fitoaleksyną (gr. *phyton* – roślina, *alexin* – ochraniać) [46]. Uznali oni wówczas, że fitoaleksyna jest związkiem chemicznym wytwarzanym przez rośliny w reakcji na infekcje wywoływane przez patogeniczne grzyby i bakterie. Definicja fitoaleksyn, w miarę rozwijających się badań, była wielokrotnie modyfikowana. Ingham w 1973 roku, stwierdził, że fitoaleksyny są substancjami zbliżonymi do antybiotyków, które powstają pod wpływem czynników biotycznych i są rezultatem reakcji rośliny na czynniki chemiczne albo środowiskowe [18]. Syntezę fitoaleksyn może także indukować kontakt rośliny, nie tylko z patogenem, lecz także i jego metabolitami. Ze względu na strukturę chemiczną fitoaleksyny są niskocząsteczkowymi, lipofilnymi związkami chemicznymi o zróżnicowanej budowie cząsteczkowej. Obecnie uważa się, iż są one produktami wtórnego metabolizmu roślin, syntetyzowane *de novo* w odpowiedzi m.in. na atak mikroorganizmów [46]. W zdrowej tkance fitoaleksyny występują na ogół w niewielkim stężeniu, które narasta w rezultacie infekcji [39]. Pierwszymi zidentyfikowanymi fitoaleksynami były: pizatina z grochu *Pisum sativum* i fazeolina z fasoli *Phaseolus vulgaris*. Fitoaleksyny te należą do izoflawo-

nów zawierających dodatkowo pochodne izopentynyli. Gromadząc się w komórkach w znacznych stężeniach, po wnikięciu określonych patogenów, zwiększają odporność roślin na infekcję [7]. Pizatyna jest substancją, która ma szeroki zakres działania grzybobójczego, lecz niezbyt silne działanie antybiotyczne. W trakcie zainfekowania grochu przez patogenicznego grzyba *Sclerotinia fruticola*, stężenie pizatyny wzrasta zarówno w porażonych, jak i zdrowych częściach roślin. Wytwarzanie jej w roślinie jest indukowane zarówno przez grzyby patogeniczne, jak i niepatogeniczne. Fazeolina występuje tak w odpornych, jak i wrażliwych na choroby grzybowe odmianach fasoli, jednakże u odmian odpornych, związek ten pojawia się szybciej i w większych ilościach [9].

## Budowa chemiczna fitoaleksyn i ich występowanie w wybranych roślinach

---

Dotychczas rozpoznano strukturę przeszło dwustu fitoaleksyn występujących w roślinach przypisanych do ponad dwudziestu florystycznych rodzin systematycznych. Nie wykazano przy tym ich obecności u roślin niższych. Większość fitoaleksyn to fenole (flawonoidy, stilbeny, lignany, benzofurany, fenylopropanoidy) lub terpenoidy. Znane są też takie fitoaleksyny, jak poliacetyleny – pochodne kwasów tłuszczowych i alkaloidy. Rośliny z rodzin m.in. *Fabaceae*, *Rosaceae* i *Leguminosae* syntetyzują pochodne izoflawonów, *Composititae* – poliacetyleny, a *Convolvnlaceae* – furanoseskwyterpenoidy [18, 48] (rys. 1.) U kilku przedstawicieli *Brassicaceae* odkryto zdolność do wytwarzania i gromadzenia fitoaleksyn dopiero po inwazji grzybów patogenicznych. Główną strukturą chemiczną tych fitoaleksyn jest pierścień indolu zmiennie podstawiany w pozycji 2 lub 3 przez podstawniki zawierające **azot** lub **siarkę**. Jak wiadomo rodzina roślin krzyżowych ma zwiększone wymagania co do pobierania i obecności **siarki** w ich organizmie, która w tym przypadku odgrywa rolę strukturalną w substancji odpornościowej. Antygrzybowe właściwości mają także takie fitoaleksyny krzyżowych jak: brassynina, cyklob brassynina, spirobrassynina, brasyaleksyna, kamaleksyna i dioksybrassynina. [19, 20, 35, 39]. Reprezentują one typ fitoaleksyn, które – jak się wydaje – są charakterystyczne dla *Brassicaceae*. Rośliny z grupy kapustnych są szeroko rozpowszechnione na świecie, należą tu m.in.: brokuły, kalafior, rzodkiewka, kalarepa, ponadto także np. chrzan i wiele innych [39]. Fitoaleksyny zawierające **siarkę** występują także w kakaowcu *Theobroma cacao* odpornym na grzyba niedoskonałego *Verticillium dahliae*. Ten chorobotwórczy grzyb jest pospolity także w Polsce. Spotyka się go na różnych roślinach dwuliściennych, krzewach, drzewach, najczęściej zaś na pomidorze, ziemniaku, chmielu, łubinie, truskawce, porzeczce, brzoskwini [8, 47]. Fitoaleksyny, które zidentyfikowano u kakaowca są związkami z grupy triterpenoidów (kwas arjunolikowy) oraz fenoli (3,4-dihydroksyacetofenon, 4-hydroksyacetofenon) [41]. Większość związków formujących się w komór-

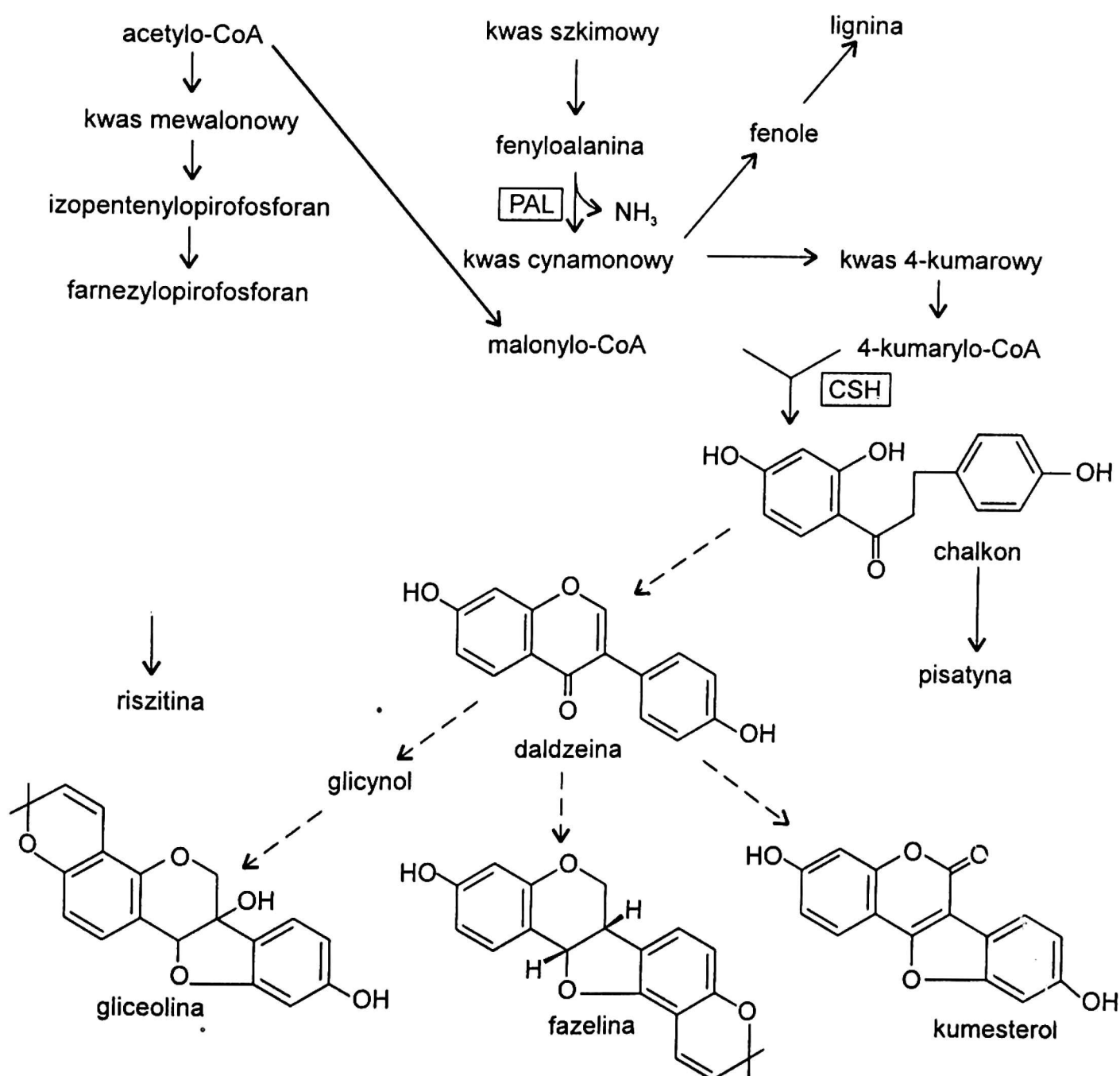


**Rysunek 1.** Wzory strukturalne wybranych fitoaleksyn (częściowo wg Jankiewicza i Sobieczewskiego [25])

kach odmian jabłoni odpornych na parcha jabłoniowego *Venturia inaequalis* należy także do fenoli. Zauważono, że obecność wspomnianych związków w jabłoni hamuje wzrost i zarodnikowanie parcha jabłoniowego. Tak było m.in. w przypadku hodowli komórek jabłoni odmiany „Liberty”, które okazały się odporne na inwazję parcha kiedy to fitoaleksyny gromadziły się w miejscu porażenia. Wśród zidentyfikowanych związków największą aktywność antygrzybową wykazywał związek fenolowy 2,4-metoksy-3-hydrokso-9-O- $\beta$ -D-glukozylohydroksobenzofuran (malusfuran). Stwierdzono przy tym, że gromadzenie malusfuranu w przestrzeniach międzykomórkowych może powstrzymać inwazję grzyba już we wczesnym stadium infekcji. Specyfika działania tego związku nie została jednak rozpoznana do końca. Możliwe, iż w reakcji na porażenie przez parcha następuje hydroliza malusfuranu, a powstający produkt, którym jest pochodna dibenzofuranu hamuje dalszy rozwój zarodników i wzrost strzępek grzyba, wstrzymując tym samym dalsze porażenie. Wcześniejsze badania nad parchem infekującym rośliny z rodziny różowatych wskazują na wytwarzanie bifenyli i pochodnych dibenzenofuranu, które mają aktywność antygrzybową [24]. W młodych drzewach jabłoni Branley's Seedling występuje fitoaleksyna, którą jest kwas benzoowy. Jest to najprostsz y związek wśród wszystkich znalezionych do tej pory fitoaleksyn [4]. W niedojrzałych owocach nektaryn znaleziono triterpenoid, który jest fitoaleksyną produkowaną wskutek mechanicznego uszkodzenia lub porażenia grzybem [16]. W liściach gruszy występuje np. hydrochinon w formie glukozydu arbutyny, który ma właściwości grzybobójcze [31]. Winorośl *Vitis* spp. zawiera fitoaleksyny z grupy stilbenów (trans-resweratrol, trans- $\epsilon$ -winiferyna, trans-3-O- $\beta$ -D glukozyd resweratrolu, trans-pterostilben). Substancje te odgrywają znaczącą rolę w indukowaniu odporności na porażenie grzybem *Botrytis cinerea*. Największe znaczenie mają tu jednakże dwie fitoaleksyny: resweratrol i jego dehydrodimer  $\epsilon$ -winiferyna. Są one wytwarzane we wszystkich odmianach winorośli w podobnych ilościach [14]. W cebuli wykryto dwie spokrewnione ze sobą fitoaleksyny o wspólnej nazwie cybuliny [50]. U lucerny najlepiej poznanymi fitoaleksynami są: kumesterol i medikarpina. Kumesterol wytwarza się także przy zetknięciu rośliny z grzybami niepatogenicznymi [43]. Fitoaleksyną marchwi jest 6-metoksymelleina, pochodna dihydroizokumariny. Prawdopodobnie powstaje ona pod wpływem jonów metali m.in. miedzi, digalakturonidy i etefonu – związku wydzielającego etylen [33]. Fitoaleksyny ryżu występują pod postacią flawonoidów i diterpenoidów. Największą aktywność antygrzybową w ryżu wykazywały takie jak fitoaleksyny: sakuranetyna, momilakton A i oryzaleksyna S. Chronią one ryż przed atakiem patogena wywołującego zarazę ryżu *Pyricularia oryzae* [18]. Zazwyczaj rośliny wytwarzają nie jedną, lecz kompleks fitoaleksyn, co czyni ich obronę przeciwko patogenom bardziej skuteczną.

## Biosynteza fitoaleksyn

Wyodrębnia się trzy podstawowe szlaki metaboliczne syntezy większości roślinnych metabolitów wtórnych, które wiodą przez takie związki pośrednie jak: malonian, mewalonian i szikimian. W syntezę fitoaleksyn może być zaangażowany jeden z tych szlaków, dwa z nich, albo wszystkie trzy. Jeśli synteza fitoaleksyn przebiega więcej aniżeli jednym szlakiem metabolicznym cały proces syntezy podlega ścisłej regulacji i koordynacji metabolicznej wszystkich szlaków współdziałających. Brak lub deficyt prekursora w jednym ze szlaków może ograniczać szybkość zachodzących przemian lub całkowicie blokować formowanie się fitoaleksyn. Najlepiej poznane są szlaki biosyntezy fitoaleksyn izoflawonoidowych i seskwiterpenoidowych (rys. 2). Podstawową cząsteczką izoflawonoidów jest difenylopropen  $C_6-C_3-C_6$ , który po-



**Rysunek 2.** Schemat biosyntezy fitoaleksyn izoflawonoidowych i seskwiterpenowych (riszitina) przedstawiony w skrócie (częściowo wg Warda [53] i Szakiel [48])

wstaje w toku działania dwóch szlaków, tj. przez malonian i szikimian. Układ fenylopropenowy C<sub>3</sub>–C<sub>6</sub>, który tworzy pierścień B izoflawonoidów, pochodzi od aminokwasów aromatycznych powstających z kwasu szikimowego, natomiast pierścień fenyłowy A jest tworzony z trzech cząsteczek malonylo-CoA na drodze poliketydowej. W wyniku kondensacji obu tych układów powstają chalkony, z których następnie tworzą się izoflawonoidy po przesunięciu pierścienia fenyłowego B z pozycji 2 w pozycję 3. Następne przekształcenia polegają na hydroksylacji, metylacji albo dołączeniu łańcucha prenyłowego. Izoflawonoidy różnią się więc między sobą stopniem utlenienia pierścienia heterocyklicznego oraz występowaniem w cząsteczce dodatkowych grup hydroksylowych, metoksyłowych, prenyłowych. Głównymi enzymami biorącymi udział w biosyntezie fitoaleksyn izoflawonoidowych są: amoniakoliaza fenyloalaninowa (PAL) oraz syntaza chalkonu (CHS). PAL katalizuje tu odszczepienie cząsteczki amoniaku od fenyloalaniny do powstania kwasu trans-cynamonowego, natomiast CHS – powstawanie chalkonów z kwasów cynamonowych i malonylo-CoA. Szlak biosyntezy fitoaleksyn seskwiterpenoidowych przebiega podobnie jak szlak mewalonianowy do etapu pirofosforanu farnezyłu (FPP). Fitoaleksyny te tworzone są przez cyklizację do form germakrenu. Natomiast w roślinach *Datura stramonium* wykazano, że fitoaleksyny seskwiterpenoidowe: lubimina i hydroksylubimina syntetyzowane są z 2,3-dihydroksygermakrenu A. W zdrowych tkankach ziemniaka, stwierdzono przemianę seskwiterpenoidu solawetiwonu do izolubiminy, następnie do 15-dihydrolubiminy, a w końcu do riszityny. Biosynteza tych fitoaleksyn przebiega podobnie [48]. Fitoaleksyny terpenoidowe powstają na szlaku wiodącym przez mewalonian, a kluczowym enzymem, od którego zależy ich produkcja jest reduktaza 3-hydroksy-3-metyloglutarylo-CoA (HMGR), która katalizuje syntezę kwasu mewalonowego z 3-hydroksy-3-metyloglutarylo-CoA (HMG). Od kwasu mewalonowego pochodzi duża liczba związków w roślinie m.in.: sterole, karotenoidy, fitol w cząsteczce chlorofilu, a także fitoaleksyny seskwiterpenowe [54].

## Wytwarzanie fitoaleksyn, a odporność roślin

---

Rolę fitoaleksyn w wywoływaniu odporności roślin na inwazję patogenów potwierdzono naukowo [23, 32, 38]. Podstawowe kryteria, które kwalifikują charakterystyczne związki roślinne do fitoaleksyn są następujące:

- związek musi akumulować się w odpowiedzi na stres, np. infekcję;
- związek musi być czynnikiem ograniczającym zakres infekcji;
- związek musi akumulować się w pobliżu porażonej części rośliny w okresie, kiedy skończy się infekcja;
- zmiana ilości fitoaleksyn powinna współgrać ze zmianą odporności roślin na stres;
- zmiana wrażliwości organizmu atakującego pod wpływem wytwarzanych fitoaleksyn powinna korelować z możliwością jego rozwoju w miejscu porażenia [47].

Jest ponadto kilka innych aspektów odporności i wrażliwości roślin na choroby, których nie można wyjaśnić tylko wytwarzaniem fitoaleksyn. Grzybobójcze działanie fitoaleksyn polega na hamowaniu wzrostu mycelium, wydłużania się trzonek konidialnych, kiełkowania spor oraz przyrostu suchej masy grzybni. Procesom tym towarzyszy reorganizacja cytoplazmy, jej granulacja, dezorganizacja organelli komórkowych i rozpad błon patogena [48]. Toksyczność fitoaleksyn dla grzybów jest niekiedy bardzo duża, np. u niektórych odmian soi stężenie hydroksyfazeoliny przewyższa 100–400-krotnie stężenie potrzebne do zahamowania 50% rozwoju grzybni *Phytophthora megasperma* [29]. Fitoaleksyny wykazują także działanie bakteriostatyczne lub bakteriobójcze w odniesieniu do bakterii różnych szczepów, np. dla bakterii *Rhizobium japonicum* i *Rhizobium lupini*. Najbardziej toksyczne są fitoaleksyny izoflawonoidowe: medikarpina, kiewiton; średnio fazeolina i maakiaina; słabo – pizatyna i kumesterol [48]. Do tej pory nie zdefiniowano, w jaki sposób porażenie przez patogeny lub działanie stresu wywołuje w roślinie wytwarzanie fitoaleksyn. Wiadomo, że ważną rolę w indukcji ich syntezy odgrywają tzw. wywoływacze, czyli elicytory. Elicytory mogą mieć pochodzenie biotyczne (np. węglowodany pochodzące ze ścian komórkowych roślin lub grzybów; związki tłuszczowe, enzymy produkowane przez mikroorganizmy; polipeptydy), jak i abiotyczne, np. temperatura, promieniowanie UV, sole metali ciężkich jak: Hg, Cu, a także detergenty [3, 10, 13]. Przykładem elicytora biotycznego może być:  $\beta$ -1,3- $\beta$ -1,6-heptaglukozyd wyizolowany ze ściany komórkowej grzyba *Phytophthora megasperma* oraz kwasy tłuszczowe – kwas arachidowy, a także 5,8,11,14,17-cis-eikosapentaenowy – wydzielane przez grzyb *Phytophthora infestans* [37, 48]. Hepta- $\beta$ -glukozyd – jest to oligosacharyna, która pod wpływem enzymów gospodarza jest uwalniana ze ściany komórkowej grzyba. Oligosacharyny mogą funkcjonować jako cząsteczki regulatorowe i kontrolować procesy m.in. reakcje odpornościowe, morfogenezę lub reprodukcję. Odkryto, że uszkodzone komórki rośliny same wydzielają enzym odszczepiający odpowiednie fragmenty polisacharydów ze ścian komórkowych sąsiednich komórek. Takie zjawisko umożliwia syntezę fitoaleksyn w odpowiedzi na zarażenie wirusowe, a także na działanie czynników abiotycznych [37]. Nie mniejsze znaczenie w tworzeniu fitoaleksyn mają elicytory abiotyczne. Przykładowo maksymalną koncentrację fitoaleksyn w liściach bawełny stwierdzano w temperaturze 25–30°C (noc–dzień), niedobór zaś wilgotności w jej liściach powodował obniżenie wytwarzania tych substancji [58]. Stwierdzono, że odporność winorośli *Vitis vinifera* i *Vitis labrusce* na infekcję powodowaną przez grzyb *Botrytis cinerea* w następstwie działania promieniami UV jest rezultatem działania m.in. fitoaleksyn – reweratrolu i  $\epsilon$ -winiferyny [14, 26]. Elicytory są także wytwarzane w roślinach w odpowiedzi na infekcję patogena grzybowego [21]. Groch *Pisum sativum* rozpoczyna syntezę pizatyny nie tylko w odpowiedzi na infekcję grzybem *Monilima fruticola*, ale także pod wpływem działania chlorków Hg i Cu [58]. Elicytor fitoaleksyn, aby mógł zadziałać, musi przyłączyć się w komórce rośliny do specyficznego receptora o budowie białkowej umiejscowionego na błonie cytoplazma-

tycznej [6]. Taki receptor po przyłączeniu do czynnika wywołującego syntezę fitoaleksyn tworzy tzw. aktywną „cząstkę sygnałową”, która z kolei przekazuje informacje wzdłuż „szlaku przekazu sygnału” i w końcowym efekcie przyczynia się do transkrypcji umożliwiając ekspresję genu lub genów odpowiedzialnych za tworzenie się enzymów produkujących fitoaleksyny [10]. Odporność roślin może być wzmocniona przez wszczepienie z innego gatunku rośliny genu warunkującego wytwarzanie określonej fitoaleksyny. I tak np. przeniesienie genu syntazy stilbenu z winorośli *Vitis vinifera* do rośliny tytoniu, poprawiało jego odporność na infekcję grzyba *Botrytis cinerea* [23]. Zdarza się jednak, iż wzmocnianie odporności roślin przez wprowadzenie genu nie kończy się pozytywnie. Transfer genów związanych z wytwarzaniem poszczególnych fitoaleksyn nie zawsze przesądza bowiem o odporności wybranego gatunku na choroby. Zdarza się jednak, iż w niektórych gatunkach nie osiąga się tą drogą zdolności do wytwarzania związków zwiększających ich odporność na określone patogeny ponieważ układ fitoaleksyna–patogen nie funkcjonuje prawidłowo [18]. Inną metodą wzmocniania odporności jest stymulowanie roślin do wytwarzania szybko i w dużej ilości własnych fitoaleksyn. Osiąga się to przez uodparnianie, czyli np. poprzez inkubację interesującego gatunku z mikroorganizmami niepatogenicznymi [18]. Pobudzanie do działania fitoaleksyn może być również inicjowane przez fungicydy stosowane do zwalczania określonych patogenów, np. metaksyl użyty przeciwko *Phytophthora megasperma* porażającemu soję uwalniał ze strzępek grzyba czynnik wywołujący syntezę gliceoliny [5].

W ostatnich latach duże znaczenie w uprawie szklarniowej ma tzw. bakteryzacja. Polega ona na sztucznej kolonizacji nasion i korzeni bakteriami z antagonistami patogenów roślin. Bakteryzacja może powodować zwiększone wytwarzanie fitoaleksyn. Przykładem jest np. bakteryzacja korzeni goździka przez *Pseudomonas* sp., po której stwierdzono zwiększoną syntezę fitoaleksyn [40]. Podczas badań współrozwoju rośliny żywicielskiej i patogena, wykazano, że grzyby formują celem przeżycia, swoją własną strategię biochemiczną. Niektóre fitopatogeniczne grzyby są zdolne do zmieniania substancji obronnych w mniej dla nich toksyczne związki poprzez metabolizm i detoksykację. W trakcie detoksykacji fitoaleksyn przez grzyby patogeniczne, na ogół „przewagę” ma patogen ze szkodą dla roślin [52]. Niektóre patogeny rozwijają mechanizmy unieczynnijające reakcję odpornościową rośliny żywicielskiej, przyczyniając się do tego, że roślina jest niezdolna do „zauważenia” wniknięcia patogena [37]. I tak np. grzyb *Fusarium solani* wytwarza enzym hydratazę kiewitonu, który katalizuje przejście fitoaleksyny kiewitonu w związek mniej toksyczny [49]. Natomiast grzyb *Mycosphaerella pinodes*, patogen grochu, jest zdolny do wytwarzania substancji częściowo hamującej działanie czynnika indukującego syntezę pizatyny, wskutek czego nagromadza się ona w tkankach z opóźnieniem [57].



## Wybrane pierwiastki w fitoaleksynach

---

Cebula zawiera dwie fitoaleksyny: cybulinę 1d i cybulinę 2d (5-oktylo-cyklopenta-1,3-dion 5-heksylo-cyklopenta-1,3-dion), w których syntezie znaczną rolę odgrywają jony **wapnia**. Synteza tych fitoaleksyn następuje w wyniku działania elicytora biotycznego pochodzącego z patogenicznego grzyba *Botrytis cinerea*. Udowodniono, że usunięcie z komórek cebuli wewnątrzkomórkowego  $\text{Ca}^{2+}$  za pomocą związków chelatujących wapń np. EDTA, powodowało zanik elicytora, który pośredniczył w syntezie fitoaleksyn. Z kolei dodatek substancji zwiększającej zawartość wewnątrzkomórkowego  $\text{Ca}^{2+}$  w postaci wapniowego jonoforu A23187 powodował ponowne gromadzenie się fitoaleksyn nawet pod nieobecność typowego elicytora. Dodatek wapniowego jonoforu A23187 indukował także wytwarzanie 6-metoksymelloiny, która jest fitoaleksyną marchwi [34]. Z kolei w doświadczeniach z soją stwierdzono, że substancje zmniejszające obecność wewnątrz komórkowych jonów  $\text{Ca}^{2+}$  hamowała syntezę gliceoliny powstającej pod wpływem elicytora pochodzącego z *Phytophthora megasperma* [45]. Uzyskane wyniki sugerują, że jony  $\text{Ca}^{2+}$  spełniały rolę „pośrednika” w regulacji syntezy fitoaleksyn w komórkach cebuli [11, 34, 45]. Kendra i in. [30] stwierdzili z kolei, że synteza pizatyny, która występuje po infekcji patogenicznego grzyba *Fusarium solani* lub pod wpływem elicytora, którym może być chitozan niezależnie od jonów  $\text{Ca}^{2+}$ . Stąd wniosek, że wapń pośredniczy w syntezie jedynie niektórych fitoaleksyn. Obecność jonów **sodu** i **potasu** w tkankach grochu i grochu polnego jest również silnie związana z reakcją obronną roślin i wytwarzaniem fitoaleksyn [58]. Niektóre z fitoaleksyn zawierają **siarkę**. Przykładem jest tu np. camaleksyna [15], która jest naturalnym elementem aktywnej obrony przed grzybami patogenicznymi [2, 41]. W drugiej części niniejszego opracowania zaznaczono strukturalny udział **siarki** i **azotu** w określonych fitoaleksynach.

## Toksyczność fitoaleksyn

---

Oprócz opisanej pozytywnej roli fitoaleksyn, ich oddziaływanie na roślinę-gospodarza może być negatywne. Związane to jest np. ze ściśle lokalnym działaniem fitoaleksyn, kiedy dochodzi do eliminowania komórek otaczających miejsce zakażone w rezultacie tzw. reakcji nadwrażliwości [36]. Fitoaleksyny są toksyczne nie tylko dla grzybów i bakterii, lecz mogą wywołać różne zaburzenia także u innych organizmów. Stwierdzono, że np. pizatyna hamuje wzrost kultur kallusa grochu, fazeolina zaś oddychanie i wzrost komórek fasoli i grochu, prowadząc do ich obumierania [48]. Ujemny wpływ wywierają fitoaleksyny także na niektóre organizmy zwierzęce. Zaobserwowano np. ograniczanie pobierania tlenu przez larwy pasożytniczego nicienia *Meloidogyne incognita* w obecności izomerów gliceoliny [27, 28]. Niekorzystne skutki

uboczne obserwowano u zwierząt żywiących się roślinami zawierającymi fitoaleksyny. Stwierdzono, że fitoaleksyny izoflawonoidowe wywołują lizę erytrocytów, a niektóre, takie jak pizatyna, zmniejszały *in vitro* intensywność oddychania mitochondriów izolowanych z wątroby szczura. Inny izoflawonoid, tj. kumesterol, wykazywał aktywność estrogenową na macicę myszy, co tłumaczono okresową niepłodnością, a także innych zaburzeń reprodukcyjnych u ssaków żywiących się roślinami zawierającymi zwiększoną ilość wspomnianych fitoaleksyn [48].

## Wykorzystanie właściwości fitoaleksyn w praktyce

---

Fitoaleksyny znajdują zastosowanie w: rolnictwie, farmacji, ekologii, biochemii, medycynie biologii molekularnej i w chemii przemysłowej [18]. Jako substancje współtworzące naturalną barierę obronną roślin przeciwko patogenom, zwracają uwagę m.in. fitopatologów. Rozpatruje się tu możliwości indukowania wzrostu zawartości fitoaleksyn w celu poprawienia naturalnej odporności roślin uprawnych na choroby. Aktywność fungicydalna fitoaleksyn jest jednakże generalnie mniejsza od fungicydów syntetycznych. Pozyskiwanie fitoaleksyn drogą ekstrakcji lub syntezy jest przy tym kosztowne [32]. Okazuje się też, iż ich analogi syntetyczne, które są bardziej aktywne od naturalnych, charakteryzują się cechami niekorzystnymi dla środowiska, podobnie do powszechnie stosowanych fungicydów. Alternatywą jednak może być stosowanie elicytorów fitoaleksyn [18]. Hamującym wpływem fitoaleksyn na różne choroby zajmował się Sinha [44]. Badał on także indukujące oddziaływanie wybranych czynników na naturalną syntezę fitoaleksyn. Ponieważ niektóre fitoaleksyny są związkami silnie fitotoksycznymi, znaczny wzrost ich stężenia w roślinie mógłby okazać się niekorzystny. Ważne jest zatem dobranie takiego stężenia elicytora, aby nie powodował on porażenia rośliny. Wiadomo np., że elicytor wyizolowany z *Fusarium solani*, stosowany na nasiona lub rozwijające się rośliny cebuli podczas 3-letnich doświadczeń w niewielkim stężeniu tj.  $25 \text{ mg} \cdot \text{dm}^{-3}$ , znacznie ograniczał porażenie chorobami grzybowymi [12]. W ochronie roślin zastosowanie znajduje chitozan. Chitozan jest pochodną chityny, którą otrzymuje się m.in. przy przetwarzaniu skorupiaków. Substancja ta okazała się elicytorem fitoaleksyny m.in. u grochu, wykazując także zdolność hamowania kiełkowania i wzrostu grzybni kilku patogenów grzybowych m.in. *Fusarium solani* [12]. Niektóre z fitoaleksyn wpływają ograniczająco na dynamikę wzrostu niektórych ludzkich komórek rakowych [39].

## Literatura

- [1] Agrios G.N. 1998. Plant Pathology. „The Phytoalexins response of ground nut and its role in disease resistance”. 3rd. Academic. Press, New York: 14–148.
- [2] Bloem E., Haneklaus S., Schnug E., 2003. Sulphur nutrition deficiency and plant resistance to pathogens. Abstr. of the COST Action 829 Conference: Progress in plant sulphur research 1997–2003; Braunschweig; May 15–18, 2003.
- [3] Boller T. 1995. Chemoperception of microbial signals in plant cells. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 46: 189–214.
- [4] Brown A.E., Swinburne T.R. 1971. Benzoic acid: an antifungal compound formed in Bramley’s Seedling apple fruits following infection by *Nectria galligena* BRES. *Phytochemistry* 31: 543–548.
- [5] Cahill D.M., Ward E.W. 1989 Effects of metaxyl on elicitor activity, stimulation and glyceollin production and growth of sensitive and tolerant isolates of *Phytophthora megasperma* f.sp. *glycinea*. *Physiol. Molec. Plant Pathology* 35: 97–112.
- [6] Cheong J.J., Hahn M. 1991. A specific high-affinity binding site for the hepta- $\beta$ -glucoside elicitor exists in soybean membranes. *Plant Cell* 3: 137–147.
- [7] Clarence A.R. 1994. Oligosaccharide signals: From plant defense to parasite offense. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 91: 1–2.
- [8] Cooper R.M., Resende M.L., Flood J., Rowan M. 1996. Detection and cellular localization of elemental sulphur in disease-resistant genotypes of *Theobroma cacao*. *Nature* 379, 11(1): 159–162.
- [9] Cruickshank I. 1962. Studies on phytoalexins. IV. The anti microbial spectrum of pisatin. *Austr. J. Biol. Sci.* 15: 147–159.
- [10] Darvill A.G., Albersheim P. 1984. Phytoalexins and their elicitors—defense against microbial infection in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 35: 243–257.
- [11] Dimitriev A., Djatsok J., Grodzinsky D. 1996. The role of  $\text{Ca}^{2+}$  in elicitation of phytoalexin synthesis in cell culture of onion (*Allium cepa* L.). *Plant Cell Reports* 15: 945–948.
- [12] Dimitriev A.P., Tverskoy L.A., Grodzinsky D.M. 1988. A novel approach to inducing fungal resistance in onions. W: Brighton Crop Protection Conference. Pests and Diseases. Vol. 3 Thornton Heath UK. British Crop Protection Council: 461–478.
- [13] Doares S.H., Narváez-Vasquez J., Conconi A. 1995. Salicylic acid inhibits synthesis of proteinase inhibitors in tomato leaves induced by systemin and jasmonic acid. *Plant Physiol.* 108: 1741–1746.
- [14] Douillet-Brenil A.C., Jeandet P. 1999. Changes in the phytoalexin content of Various *Vitis* Spp. In response to ultraviolet C elicitation. *J. Agric. Food Chem.* 47: 4456–4461.
- [15] Dubuis Pierre-Henri, Mauch F.. 2003. Sulphur nutrition deficiency and plant resistance to pathogens. Abstr. of the COST Action 829 Conference: Progress in plant sulphur research 1997–2003; Braunschweig; May 15–18, 2003.
- [16] El Lahlou H., Hiari N., Tsuda M., Ohigashi H. 1999. Triterpene phytoalexins from nectarine fruits. *Phytochemistry* 52: 623–629.
- [17] Gawlik U., Wójcik W. 1997. Niektóre aspekty indukowanej odporności roślin na patogeny grzybowe. *Post. Nauk Rol.* 3: 21–29.

- [18] Grayer R.J., Kokubun T. 2001. Plant–fungal interactions: the search for phytoalexins and other antifungal compounds from higher plants. *Phytochemistry* 56: 253–263.
- [19] Gross D. 1993. Indole phytoalexins from *Brassica oleracea* var. *gongylodes*. 41 st Annual congress on medicinal plant research, Dusseldorf, Germany, 31 August–4 September 1993. *Planta Medica* 59(7): 618.
- [20] Gross D. 1993. Phytoalexins of the *Brassicaceae*. *Journal of Plant Diseases and Protection* 100(4): 422–433.
- [21] Gustine D.L., Sherwood R.T., Moyer B.G. 1991. Metabolites from *Pseudomonas corrugata* elicit phytoalexin biosynthesis in white clover. *Phytopathology* 80: 1427–1432.
- [22] Hadwiger L.A., Ogawa T., Kuyama H. 1994. Cytosan polymer sizes effective in inducing phytoalexin accumulation and fungal suppression are verified with synthesized oligomers. *Mol. Plant-Micr. Interactions*. 7: 531–533.
- [23] Hain R., Reif H.J., Krause E. 1993. Disease resistance results from foreign phytoalexin expression in a novel plant. *Nature* 361: 153–156.
- [24] Hrazdina G., Borejsza-Wysocki W., Lester C. 1997. Phytoalexin production in an apple cultivar resistant to *Venturia inaequalis*. *Biochemistry and Cell Biology* 87(3): 868–876.
- [25] Jankiewicz L.S., Sobiczewski P. 1997. Fitoaleksyny i inne substancje związane z odpornością roślin przeciwko patogenom. W: *Regulatory wzrostu i rozwoju roślin*. WNP, Warszawa: 251–273.
- [26] Jeandet P., Bessis R., Gantheron B. 1991. The production of resveratrol (3,4,5-trihydroxystilbene) by grape berries in different developmental stages. *Anner. J. Enology Viticulture* 42: 41–46.
- [27] Kaplan D.T., Keen N.T., Thmason I.J. 1980. Association of glyceollin with incompatible response of soybean roots to *Meloidogyne incognita*. *Plant Pathol.* 16: 309–319.
- [28] Kaplan D.T., Keen N.T., Thmason I.J. 1980. Studies on the mode of action of glyceollin in soybean incompatibility to the root knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *Plant Pathol.* 16: 319–326.
- [29] Keen N. 1971. Hydroxyphaseollin produced by soybeans resistant and susceptible to *Phytophthora megasperma*. *Physiol. Plant Pathology*. 1: 265–275.
- [30] Kendra D., Hadwiger L. 1987. Receptor-mediated activations of a plant  $Ca^{2+}$  permeable ion channel involved in pathogen defence. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 31: 337–348.
- [31] Kokubun T., Haborne J.B., Eagles J. 1994. 2'6'-dihydroxy-4'-methoxyacetophenone, a phytoalexin from the roots of *Sanguisorba minor*. *Phytochemistry* 35: 331–333.
- [32] Kuć J. 1991. Phytoalexins: Perspectives and prospects. W: Sharma R.P., Salunkhe D.K. (red.) *Mycotoxins and phytoalexins*. CRC Press, Boca Raton: 595–603.
- [33] Kurosaki F., Nishi A. 1991. Comparison of activities involved in the biosynthesis of carrot phytoalexin 6-methoxymellein. *Phytochemistry* 30: 1823–1835.
- [34] Kurosaki F., Tsurusawa Y., Nishi A. 1987. The elicitation of phytoalexins by  $Ca^{2+}$  and cyclic AMP in carrot cells. *Phytochemistry* 26(7): 1919–1923.
- [35] Marquard P., Walker K.C. 1995. In Kimber D., McGregor D.I. *Brassica oilseeds*. Wallingford, UK: CAB International: 195 ss.
- [36] Mulekar V.G., Mayee C.D., Patil M.A. 1988. Efficacy of a new formulation against *Plasmopara halstedii*. *Indian Phytopathology* 41: 496–497.

- [37] Oku H., Shiraishi T. 1994. Phytoalexins and host specificity in plant diseases. W: Daniel M., Purkayastha R.P. (red.) Handbook of Phytoalexin Metabolism and Action. Marcel Dekker, New York 519–555.
- [38] Paxton J. 1994. Soybean phytoalexins: elicitation, nature, mode of action, and role. W: Daniel M., Purkayastha R.P. (red.) Handbook of Phytoalexin Metabolism and Action. Marcel Dekker, New York: 69–83.
- [39] Pedras M., Okanga F.I., Zaharia I.L., Khan A.Q. 2000. Phytoalexins from crucifers: synthesis, biosynthesis, and biotransformation. *Phytochemistry* 53: 161–176.
- [40] Peer R van, Niemann G.J., Schippers B. 1991. Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of *Fusarium* wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. strain WCS 417r. *Phytopathology* 81: 728–734.
- [41] Resende M.L., Flood J., Ramsden J.D. 1996. Novel phytoalexins including elemental sulphur in the resistance of cocoa (*Theobroma cacao* L.) to *Vericillium* wilt (*Vericillum dahliae* KLEB.). *Physiological and Molecular Plant Pathology* 48: 347–359.
- [42] Rogers E., Glazebrook J., Ausubel F. 1996. Mode of action of the *Arabidopsis thaliana* phytoalexin camalexin and its role in Arabidopsis-pathogen interactions. *Mol. Plant-Microbe Interact* 9: 748–757.
- [43] Sherwood R., Olah A., Oleson W., Jones E. 1970. Effect of disease and injury on accumulation of a flavonoid estrogen, coumesterol in alfalfa. *Phytopathology* 60: 684–688.
- [44] Sinha A.K. 1994. Possible role of phytoalexin inducer chemicals in plant disease control. W: Daniel M., Purkayastha R.P. (red.), Handbook of Phytoalexin Metabolism and Action. Marcel Dekker, New York: 555–591.
- [45] Stab M., Ebel J. 1987. Effect of Ca<sup>2+</sup> on phytoalexin induction of fungal elicitor in soybean cells *Arch. Biochem. Biophys.* 257: 416–423.
- [46] Strange R.N., Subba-Rao P.V. 1994. The phytoalexin response of groundnut and its role in disease resistance. *Oleagineux-Paris* 49(5): 227–233.
- [47] Subba R., Strange R.N. 1994. Chemistry, biology, and role of groundnut phytoalexins in resistance to fungal attack. W: Daniel M., Purkayastha R.P. (red.), Handbook of Phytoalexin Metabolism and Action. Marcel Dekker, New York: 199–227.
- [48] Szakiel A. 1991. Rola fitoaleksyn w naturalnej odporności roślin. *Post. Bioch.* 37(2): 104–110.
- [49] Turbeck C.S., Li D.X., Choi G.h. 1990. Induction and purification of kievitone hydratase from *Fusarium solani*. *Phytochemistry* 29: 2841–2846.
- [50] Tverskoy L., Dimitriev A. 1991. Two phytoalexins from *Allium cepa* bulbs. *Phytochemistry* 30: 799–800.
- [51] Twardowski T., Astriab M. 2000. Funkcja dekarboksylazy lizynowej w regulacji biosyntezy alkaloidów chinolizydynowych. *Postępy nauk rolniczych.* 6: 57–67.
- [52] Van Etten H.D., Matthews P.S. 1989. Phytoalexin detoxification: importance for pathogenicity and practical implications. *Annal Review of Phytopathology* 27: 143–164.
- [53] Ward E.W. 1986. Biochemical mechanisms involved in resistance of plants to fungi. I.: Bailey J.A. red. Biology and molecular biology of plant-pathogen interactions, Springer-Verlag, Berlin: 107–131.
- [54] Weissenborn D.L., Denbow C.J., Laine M., Lang S.S., Yang Z., Yu X., Cramer C.L. 1995. HMG-CoA reductase and terpenoid phytoalexins: Molecular specialization within a complex pathway. *Physiol. Plant.* 93: 393–400.

- [55] Wink M. 1987. Alkaloids: Biochemistry, Metabolism, and Function in Plants Cell Suspension Cultures. *Planta Medica* 53: 509–514.
- [56] Wyman J.G., Van Etten H.D. 1978 Antibacterial Activity of Selected Isoflavonoids. *Phytopathology* 68: 583–588.
- [57] Yoshiroka H., Shiraishi T., Yamada T. 1990. Suppression of pisatin production and ATPase activity in plasma membranes by orthovanadate verapamil and a suppressor from *Mycosphaerella pinodes*. *Plant Cell Physiol.* 31: 1139–1146.
- [58] Yuki I., Masashi A., Kazuhiro T., Tetsuji Y., Tomonori S. 1997. Association between ion fluxes and defense responses in pea and cowpea tissues. *Plant Cell Physiol.* 38(6): 698–706.
- [59] Zeringue H.J. 1990. Stress effect on cotton leaf phytoalexins elicited by cell free-mycelia extracts of *Aspergillus flavus*. *Phytochemistry* 29: 1789–1791.

## **Phytoalexines in natural plants defence system against stress**

---

**Key words:** phytoalexines, natural defence, stress

### **Summary**

Phytoalexines (gr. *phyton* – plant; *alexin* – protect) belong to the specific plant substances. Among of them there are some compounds concentration which increases in plant if infected or being under biotic or abiotic stress. Antipathogenic properties of phytoalexines were primarily discovered in 1911. The structure of pisatine – the pea phytoalexine was however indentified at the end of sixtieths of past century. Plant substances recognized as phytoalexines hold up an increasing interest. Their biochemical pathways as well as possible use of their characteristic properties in practice are the subject of investigations. Some years ago there were initiated scientific experiments on antifungal function of chitosan, an elicitor of plants phytoalexines.