**MUTANTY *ARABIDOPSIS*
W BADANIACH ODPOWIEDZI OBRONNEJ ROŚLIN
NA GRZYBY NEKROTROFICZNE***

ARABIDOPSIS MUTANTS IN THE RESEARCH
OF PLANT DEFENCE RESPONSE TO NECROTROPHIC FUNGI

Violetta Katarzyna MACIOSZEK, Joanna ŁAŻNIEWSKA,
Andrzej Kiejstut KONONOWICZ

Katedra Genetyki Ogólnej, Biologii Molekularnej i Biotechnologii Roślin, Uniwersytet Łódzki

Streszczenie: Odkrycie wielu ważnych punktów szlaków sygnałowych w badaniach odpowiedzi roślin na stres biotyczny było możliwe dzięki wykorzystaniu mutantów modelowej rośliny *Arabidopsis thaliana*. Dostępność mutantów typu *knock-out*, uzyskanych w drodze mutagenезy chemicznej lub linii mutantów insercyjnych pozwala skupić się na określonym zagadnieniu badawczym bez konieczności czasochłonnego tworzenia własnych mutantów. Odporność roślin na grzyby nekrotroficzne jest zależna przede wszystkim od biosyntezy i szlaku sygnałowego kwasu jasmonowego oraz biosyntezy i akumulacji niskocząsteczkowych metabolitów wtórnych, takich jak: fitoaleksyny, które skutecznie hamują rozwój grzyba i kolonizację tkanek roślinnych. W artykule przedstawiono wybrane aspekty odpowiedzi obronnej *A. thaliana* na atak grzybów nekrotroficznych zależnych od szlaku kwasu jasmonowego oraz warunkowane produkcją kamaleksyny, a które zostały rozszyfrowane dzięki wykorzystaniu mutantów.

Słowa kluczowe: kamaleksyna, odpowiedź obronna zależna od JA, stres biotyczny, transdukcja sygnału.

Summary: The discovery of many critical points in signal transduction pathways in the research into plant response to biotic stress was possible owing to the use of mutants of the model plant – *Arabidopsis thaliana*. Accessibility of knock-out mutants obtained through chemical mutagenesis and lines of insertion mutants make it possible to focus on a specific problem without necessarily using time-consuming production of own mutants. Plant resistance to necrotrophic fungi is mostly dependent on biosynthesis and the signaling pathway of jasmonic acid as well as biosynthesis and accumulation of phytoalexins, low molecular weight secondary metabolites. Phytoalexins effectively suppress fungal growth and colonization of plant tissues. In this paper, we present current knowledge on selected aspects of *A. thaliana* defense response to necrotrophic fungi dependent on jasmonic acid signaling pathway and conditioned by camalexin production, which were deciphered as a result of using the mutants.

Key words: biotic stress, camalexin, JA-dependent defense response, signal transduction.

*Praca finansowana z grantów MNiSzW nr N N302 3188 33 oraz UŁ nr 505/0397 i 506/0996. Udział VKM i JŁ w przygotowaniu niniejszej pracy był jednakowy.

WSTĘP

Rośliny są narażone na infekcje wywoływane m.in. przez grzyby nekrotroficzne, takie jak: *Botrytis cinerea*, *Alternaria brassicicola*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Fusarium oxysporum*, charakteryzujące się szerokim spektrum gospodarzy. Szlaki sygnałowe zaangażowane w odporność/wrażliwość roślin na te patogeny są zależne od cząsteczek sygnałowych, przede wszystkim takich jak: kwas jasmonowy (JA), etylen (ET) oraz kwas abscysynowy (ABA). Odpowiedź roślin na atak patogennych grzybów zależna od kwasu salicylowego (SA) jest uważana za istotną w przypadku biotrofów, natomiast w przypadku infekcji przez nekrotrofy, mutanty *Arabidopsis thaliana eds5* (ang. *Enhanced Disease Susceptibility5*), *sid2* (ang. *SA-Induction-Deficient*), *pad4* (ang. *Phytoalexin Deficient4*) nie wykazują zwiększonej wrażliwości [13, 22]. Większość komponentów szlaków sygnałowych jest determinowana genetycznie, a ich odkrycie a także ukazanie ich wzajemnych powiązań było możliwe zarówno dzięki rozwojowi inżynierii genetycznej, jak i zsekwenjonowaniu genomu *A. thaliana*. Wiele danych, w tym kompletna sekwencja genomu, mapy genomowe, informacje o ekspresji genów i metabolizmie *A. thaliana* są ogólnie dostępne w internetowej bazie danych – TAIR (*The Arabidopsis Information Resource*) przy *Carnegie Institution for Science Department of Plant Biology* finansowanej przez amerykańską Narodową Fundację Naukową – NSF (ang. *National Science Foundation*). Obecnie *A. thaliana* jest jedną z najbardziej popularnych roślin modelowych używanych w laboratoriach na całym świecie. Krótki cykl życiowy, łatwość hodowli w warunkach laboratoryjnych, opracowane efektywne metody transformacji, a przede wszystkim dostępność ekotypów i mutantów poprzez trzy centra zasobów *A. thaliana* zajmujące się ich kolekcjonowaniem, reprodukcją i dystrybucją – *Arabidopsis Biological Resource Center* przy Uniwersytecie Stanowym w Ohio, *The Nottingham Arabidopsis Stock Centre* w Uniwersytecie Nottingham oraz *Sendai Arabidopsis Seed Stock Center* (SASSC) Uniwersytetu Edukacji w Miyagi, umożliwiają badanie molekularnych aspektów odporności i wrażliwości roślin na patogeny [19, 35]. Możliwość zakupu nasion mutantów *A. thaliana* typu *knock-out*, uzyskanych w drodze mutagenazy chemicznej oraz całych linii mutantów insercyjnych bez konieczności czasochłonnego tworzenia własnych mutantów przyspiesza badania i pozwala skupić się na określonym zagadnieniu badawczym. Mutanty *A. thaliana* są intensywnie wykorzystywane w badaniach mechanizmów leżących u podstaw odpowiedzi obronnych roślin, m.in. szlaków sygnałowych, zmian metabolicznych, funkcji określonych genów, co przyczynia się do rozwoju strategii ochrony roślin uprawnych również przed grzybami nekrotroficznymi. Testy przesiewowe z wykorzystaniem metod klasycznej genetyki (ang. *Forward Genetics*), odwrotnej genetyki (ang. *Reverse Genetics*) oraz podejścia TILING pozwoliły na uzyskanie wielu mutantów *A. thaliana*, które umożliwiły m.in. odkrycie istotnych aspektów działania jasmonianów zarówno w odpowiedzi na stres, jak i w procesach rozwojowych, a także biosyntezy kamaleksyny. Zarówno biosynteza fitoaleksyn, jak i aktywacja szlaku sygnałowego kwasu

jasmonowego są uznawane za najważniejsze linie obrony roślin przeciwko grzybom nekrotroficznym [4, 13].

MUTANTY SZLAKU KWASU JASMONOWEGO

Biosynteza i szlak sygnałowy kwasu jasmonowego są uznawane za zasadnicze w takich procesach jak: rozwój kwiatów, produkcja pyłku, dojrzewanie owoców, wzrost korzeni, ruchy roślin np. zwijanie się wąsów pnączy, starzenie się roślin, magazynowanie węgla i azotu, stres abiotyczny m.in. susza, promieniowanie UV, ozon oraz odpowiedź obronna roślin przeciw szkodnikom i nekrotroficznym patogenom [1, 25]. W odkryciu istotnych genów, kodujących enzymy zaangażowane w te procesy istotną rolę odegrały mutanty *A. thaliana*. Obecnie wiadomo, że podstawą transdukcji sygnału, która łączy biosyntezę kwasu jasmonowego ze zmianami ekspresji genów indukowanych przez ten hormon są: aktywacja kwasu jasmonowego, kompleks SCF^{COI1}, białka represorowe z domeną ZIM (JAZ) oraz czynniki transkrypcyjne (TF), które pozytywnie regulują ekspresję genów w sposób zależny od kwasu jasmonowego (ang. *JA-Responsive Genes*) [15].

Kwas jasmonowy oraz jasmoniany to cząsteczki sygnałowe o istotnym wpływie na reakcje obronne roślin przeciw patogenom. Zostało to zaobserwowane w wyniku ich częstej akumulacji w odpowiedzi na atak patogenów, zmienioną podatność lub odporność mutantów defektywnych w biosyntezie lub szlaku sygnałowym kwasu jasmonowego oraz efekty podania egzogenego jasmonianu. Odpowiedź zależna od kwasu jasmonowego jest związana z akumulacją inhibitorów proteinaz serynowych, inhibitorów papain, deaminaz treoninowych, aminopeptydaz leucynowych, białek dezaktywujących rybosomy, liazy amonowej fenyloalaniny czy arylowanych homoterpenów. Aktywność jasmonianów prowadzi również do silnej ekspresji genów defensyny *PDF1.2* oraz tioniny *THI2.1* [32].

Mutantem, który pozwolił na identyfikację jednej z aktywnych form kwasu jasmonowego, jest mutant *jar1*. Gen *JAR1* koduje syntazę, która warunkuje powstanie koniugatów kwasu jasmonowego z aminokwasami, a szczególnie z izoleucyną JA-Ile [11, 14]. Należy zaznaczyć, że nawet niewielkie zmiany w strukturze aktywnych form JA powodują dezaktywację tego fitohormonu [15]. *JAR1* jest zaangażowany w obronę roślin przed różnymi czynnikami stresowymi, np. działaniem ozonu, ale przede wszystkim w odporność roślin na szkodniki. Mutant *jar1* nie jest sterylny, co dowodzi, że *JAR1* nie jest niezbędny we wszystkich odpowiedziach związanych z działaniem JA, ale może mieć przywrócone funkcje poprzez podanie JA-Ile [21, 43].

Testy przesiewowe z użyciem JA oraz koronatyny (toksyny bakteryjnej, która jest strukturalnym analogiem MeJA i wykazuje jego niektóre efekty biologiczne) pozwoliły na wyizolowanie kilku mutantów niewrażliwych na kwas jasmonowy m.in. *coil* (ang. *coronatine insensitive1*) [44]. Gen *COI1* koduje białko o masie 66 kDa, zawierające N-końcowy motyw F-box oraz C-końcową domenę powtórzeń bogatych

w leucynę (LRR) [15, 36]. Badania z użyciem mikromacierzy roślin indukowanych zranieniem lub atakiem patogenów wykazały, że wszystkie poznane dotąd odpowiedzi, w których pośredniczy JA wymagają aktywności *COI1*. U *Arabidopsis* białko *COI1* łączy się z CUL1 (Cullin1) oraz białkami typu SKP1-like (ang. *Suppressor of Kinetochor Protein1*): ASK1 i ASK2 (białko towarzyszące kinazie fazy S, ang. *Arabidopsis S-Phase Kinase-Associated*) i RBX1 (ang. *Ring-Box1*) tworząc kompleks SCF^{COI1} (SKP1, CUL1, F-box), który działa jak ligaza ubikwitynowa typu 3. F-box w kompleksie SCF jest składnikiem określającym specyficzność substratu, rozpoznaje białka JAZ (represory genów JA-zależnych) i kieruje je na drogę degradacji proteosomalnej 26S [6, 11, 36]. Mutant *coil* nie wykazuje ekspresji genów regulowanych przez JA kodujących roślinne białka zapasowe (VSP) i białka związane z patogenezą – tioninę (THI2.1) i defensynę (PDF1.2), a także nie wykazuje zahamowania wzrostu korzeni przez ester metyloвого kwasu jasmonowego (MeJA) i jest męskosterylny [7, 43, 44]. Ponadto, mutant *coil* wykazuje brak odporności na atak szkodników oraz zwiększoną podatność na grzyby nekrotroficzne, takie jak *A. brassicicola* i *B. cinerea*, ponieważ odporność roślin na te grzyby jest warunkowana m.in. przez szlak sygnałowy JA [10]. W przeciwieństwie do tych interakcji, w przypadku infekcji *A. thaliana* przez *F. oxysporum* podatność na tego grzyba jest zależna od szlaku JA i uczestniczy w niej białko *COI1*. Wskazuje na to fakt, że mutant *coil*, niezdolny do percepcji JA, ale nie mutanty z zaburzoną biosyntezą tego fitohormonu, cechuje się zwiększoną odpornością na *F. oxysporum* [38]. Ostatnio, stosując molekularne i biochemiczne metody odkryto, a następnie potwierdzono, że *COI1* jest receptorem dla jasmonianów, do którego przyłącza się zarówno JA-Ile, jak i koronatylna [16, 45].

W szlaku sygnałowym JA ważną rolę spełnia kaskada MAP kinaz (ang. *Mitogen-Activated Protein*). Jest ona jedną z głównych i konserwatywną ewolucyjnie ścieżką sygnałową transdukcji sygnału zewnątrzkomórkowego wśród eukariontów. Każda MAP kinaza jest aktywowana przez podwójną fosforylację trójpeptydowego motywu (Thr-Xaa-Tyr) zlokalizowanego w pętli aktywacyjnej (T-loop). Aktywacja MAP kinazy *A. thaliana* MPK4 jest konieczna w miejscowej odporności przeciw *A. brassicicola* oraz systemicznej indukcji *PDF1.2* inicjowanej przez szlaki sygnałowe kwasu jasmonowego i etylenu. Kinaza ta działa negatywnie na aktywację PAD4 oraz EDS1, które są pozytywnymi regulatorami SA, wzmagającymi jego akumulację i negatywnymi regulatorami szlaku sygnałowego JA i ET [2]. Przez kaskadę MAP kinaz MKK3-MPK6 kwas jasmonowy powoduje represję ekspresji zlokalizowanego w jądrze czynnika transkrypcyjnego MYC2. Czynniki ten, wraz z czynnikiem MYC10, rozpoznaje sekwencję G-box promotora genu aminopeptydazy leucynowej (LAP) oraz indukuje ekspresję genu *PDF1.2*. Kompleks MYC2-MYC10 powoduje represję genów zależnych zarówno od JA i ET, a promuje ekspresję genów zależnych od SA [37]. MYC2 jest kodowany przez gen *JIN1*. Mutacja w tym genie prowadzi do niewrażliwości roślin na JA. Mutant *jin1* (ang. *Jasmonate Insensitive1*) oprócz zmniejszonej inhibicji wzrostu korzeni wykazuje również obniżony poziom ekspresji *VPS* i podwyższoną odporność na *B. cinerea* [8, 23].

U *Arabidopsis* zarówno JA, jak i ET indukują ekspresję czynnika transkrypcyjnego ERF1 (ang. *Ethylene Response Factor*), który wiąże się *in vitro* z sekwencją promotorów GCC-box swych genów docelowych. Jego ekspresja następuje w wyniku ataku patogenów nekrotroficznych. Nadekspresja *AtERF1* powoduje podwyższenie ekspresji pewnej liczby genów indukowanych synergistycznie przez JA i ET, takich jak *PR4* i *b-CHI*, ale obniża np. ekspresję *VSP* lub *THI2.1*, których poziom wzrasta w przypadku nadekspresji genu *AtERF2* [3, 20].

W szlaku sygnałowym JA bierze udział heterotrimeryczny kompleks białek G, kodowany przez geny *Gα* i *Gβ* oraz dwie podjednostki genów *Gγ* (*AGG1* i *AGG2*). Białka G to komponenty szlaków przewodzenia sygnałów pośredniczących w aktywacji rodziny siedmiu receptorów transbłonowych nazywanych receptorami połączonymi z białkiem G (ang. *G Protein-Coupled Receptors*). Białka G okazały się niezbędne w odporności *A. thaliana* przeciwko *Plectosphaerella cucumerina*. Spełniają one również ważną rolę w odporności przeciw *F. oxysporum* i *A. brassicicola*. Mutanty *agg1*, które nie produkują podjednostki *Gβ* białka, ale nie *agg2*, wykazują obniżony poziom ekspresji genów związanych z odpornością przeciw *A. brassicicola*, w tym *PDF1.2* [39, 40].

KAMALEKSYNA I MUTANTY *pad*

Po rozpoznaniu przez roślinę elicytorów patogena, takich jak: polisacharydowe fragmenty ścian komórkowych grzybów, glikoproteiny, peptydy czy kwasy tłuszczowe następuje gwałtowna produkcja fitoaleksyn [9]. Obronna aktywność fitoaleksyn została wykazana w wielu interakcjach roślin z patogenami. Przykład stanowią może zahamowanie wzrostu awirulentnego szczepu śluzowca *Albugo candida* w wyniku działania fitoaleksyn *Brassica rapa* (spirobrasinina, cyklobraasinina, rutaleksyna) [30], czy też hamowanie rozwoju *Magnaporthe grisea* przez oryzaleksyny ryżu [31]. Ta sama fitoaleksyna może hamować wzrost różnych patogenów w różnym stopniu, co oznacza, że patogeny cechują się odmienną wrażliwością na daną fitoaleksynę. Na przykład brasinina znacznie skuteczniej hamuje rozwój grzyba *Bipolaris leersiae* niż grzybów z rodzaju *Leptosphaeria* [28]. Pomimo że w wielu przypadkach fitoaleksyny wykazują skuteczność działania, to należy pamiętać, że istnieją patogeny, które wykształciły zdolność do przełamania tej linii obrony roślin [17]. Wirulencja niektórych mikroorganizmów patogennych w dużym stopniu oparta jest na zdolności do detoksyfikacji fitoaleksyn, co umożliwia im udaną kolonizację gospodarza. Tak jest w przypadku szczepów grzyba *L. maculans*, który efektywnie dezaktywuje brasininę, przekształcając ją w kwas idoilo-3-karboksylowy [28], grzyba *F. solani* f. sp. *phaseoli*, przekształcającego fazeolinę fasoli do jej nietoksycznego hydratu, czy też grzybów *B. cinerea* i *F. oxysporum* f. sp. *vasinfectum*, detoksyfikujących kapsidiol papryki poprzez jego transformację do kapsenonu [27].

Kamaleksyna, 3-tialzol-2-yl-indol, jest fitoaleksyną produkowaną przez dzikie gatunki roślin z rodzaju krzyżowych, takie jak *Arabis lyrata*, *Camelina sativa* i

Capsella bursa-pastoris [29] i jest elementem skomplikowanej sieci mechanizmów obronnych rośliny modelowej – *A. thaliana*. Wyjściowym aminokwasem do biosyntezy kamaleksyny jest tryptofan, który ulega przekształceniom z udziałem enzymów cytochromu P450. Pierwszym metabolitem tryptofanu, powstającym w wyniku aktywności enzymów CYP79B2 i CYP79B3 jest indoilo-3-acetaldoksym (IAOx), który jest także prekursorem brasininy i jej pochodnych u innych kapustowatych. W dalszych etapach dołączany jest pierścień imidiazolowy wywodzący się z cysteiny. Ostatni etap biosyntezy to przekształcenie kwasu (S)-dihydrokamaleksynowego do kamaleksyny przy udziale enzymu CYP71B15 (PAD3). Mutanty *A. thaliana pad* (ang. *Phytoalexin Deficient*), z upośledzoną zdolnością do syntezy kamaleksyny, wykazują zwiększoną wrażliwość na atak szerokiej gamy patogenów zarówno biotroficznych (np. *Pseudomonas syringae*, *Peronospora parasitica*), jak i nekrotroficznych (np. *B. cinerea*, *A. brassicicola*, *Cochliobolus carbonum*), co wskazuje na ważne znaczenie tej fitoaleksyny w reakcjach obronnych [12]. Brak/niedobór kamaleksyny w mutantach *pad* koreluje z rozprzestrzenianiem się zmian chorobowych na liściach *A. thaliana* podczas infekcji przez *A. brassicicola* [42]. Rośliny *pad3* wykazują także znacznie ostrzejsze, w porównaniu z typem dzikim, objawy chorobowe podczas infekcji *B. cinerea* [41]. Po inokulacji roślin sporami *B. cinerea* następuje drastyczny wzrost ilości kamaleksyny w obszarze bezpośrednio otaczającym miejsce infekcji, przy czym jej synteza zachodzi kosztem produkcji innych metabolitów wtórnych [17]. Ponadto, testy *in vitro* wykazały silne, hamujące działanie kamaleksyny zarówno na kiełkowanie spor, jak i wzrost strzępek wzrostowych grzybów *A. brassicicola* i *Alternaria brassicae*, przy czym inhibicja ta była efektywniejsza w porównaniu z brasininą i badanymi izocyjanami [34]. Dane te dowodzą, że kamaleksyna jest jednym z głównych mechanizmów obronnych *A. thaliana*.

Ważnymi czynnikami, które biorą udział w regulacji produkcji kamaleksyny, są SA, reaktywne formy tlenu (RTF), glutation (GSH) oraz MAP kinazy. Gen *PAD4* koduje białko lipazo-podobne, które bierze udział w szlaku sygnałowym SA. Brak tego białka u mutantów *pad4* prowadzi do obniżonej biosyntezy kamaleksyny w odpowiedzi na *P. syringae*, jednak nie wpływa znacząco na biosyntezę tej fitoaleksyny po infekcji nekrotrofami (*B. cinerea*), co oznacza, że rola *PAD4* zależy od typu interakcji roślina-patogen [12]. Mutanty *pad2* charakteryzują się znacznie obniżonym poziomem kamaleksyny, a tym samym zwiększoną podatnością na patogeny, takie jak wirulentne szczepy *P. syringae*, *Phytophthora brassicae* czy grzyby nekrotroficzne *B. cinerea* i *P. cucumerina*. Ostatnie badania wykazały, że białko *PAD2* koduje syntetazę γ -glutamylcysteinową, odpowiedzialną za biosyntezę glutationu, wskazując na rolę tego związku w biosyntezie kamaleksyny [24]. Indukcja biosyntezy kamaleksyny następuje także przez RFT. Mutanty niezdolne do prawidłowej percepcji RFT – *ups1* (ang. *Underinducer After Pathogen and Stress1*) i *esal* (ang. *Enhanced Susceptibility to Alternaria*), cechuje również obniżony poziom produkcji kamaleksyny w odpowiedzi na patogeny *P. syringae*, *B. cinerea* i *A. brassicicola* [12]. Ponadto, do indukcji syntezy kamaleksyny nieodzowna jest aktywacja ekspresji MAP kinaz – MPK3/MPK6. Po uruchomieniu kaskady MAP kinaz dochodzi do gwałtownego wzrostu ekspresji genów, kodujących

enzymy szlaku biosyntezy kamaleksyny. Mutanty *A. thaliana mpk3/mpk6* nie są zdolne do akumulacji kamaleksyny, a tym samym do skutecznej obrony przeciw *B. cinerea* [33]. Kamaleksyna, tak jak inne fitoaleksyny, może być też syntetyzowana w odpowiedzi na stres abiotyczny wywołany jonami metali ciężkich, np. miedzi (Cu^{2+}) [26]. Interesującym odkryciem jest fakt, że zranienie *A. thaliana* nie indukuje produkcji kamaleksyny, ale promuje szybsze i wzmożone wytwarzanie tego związku po infekcji *B. cinerea*, zapewniając efektywniejszą obronę przed patogenem [5].

Patogeny, jeśli mają odpowiednie enzymy, mogą detoksyfikować kamaleksynę na kilka sposobów. *Rhizoctonia solani* hydroksyluje kamaleksynę, przekształcając ją w 5-hydroksykamaleksynę, natomiast *S. sclerotiorum* przeprowadza glikozylację kamaleksyny, która prowadzi do powstania N-glikozylokamaleksyny lub 6-glikozylokamaleksyny. W każdym przypadku powstały metabolit cechuje się bardziej obniżoną toksycznością niż związek wyjściowy, co świadczy o zdolności patogena do przełamania linii obrony, jaką stanowi produkcja tej fitoaleksyny [18].

PODSUMOWANIE

Przedstawione mutanty *A. thaliana* wskazują, że grzyby nekrotroficzne mogą zabijać komórki roślinne nie tylko poprzez wydzielanie toksyn i zaburzenie metabolizmu tych komórek, ale są także zdolne, przynajmniej w niektórych przypadkach, do manipulacji szlakami sygnałowymi gospodarza, które prowadzą do pożądanej dla patogenów nekrotroficznych śmierci komórek gospodarza.

LITERATURA

- [1] BALBI V, DEVOTO A. Jasmonate signaling network in *Arabidopsis thaliana*: crucial regulatory nodes and new physiological scenarios. *New Phytol* 2007; **177**: 301–318.
- [2] BRODERSEN P, PETERSEN M, NIELSEN HB, ZHU S, NEWMAN M-A, SHOKAT KM, RIETZ S, PARKER J, MUNDY J. *Arabidopsis* MAP kinase 4 regulates salicylic acid- and jasmonic acid/ethylene-dependent response via EDS and PAD4. *Plant J* 2006; **47**: 532–546.
- [3] BROWN RL, KAZAN K, MCGRATH KC, MACLEAN DJ, MANNERS JM. A role for the GCC-box in jasmonate-mediated activation of *PDF1.2* gene of *Arabidopsis*. *Plant Physiol* 2003; **132**: 1020–1032.
- [4] BROWSE J. Jasmonate passes muster: A receptor and targets for the defense hormone. *Annu Rev Plant Biol* 2009; **60**: 183–205.
- [5] CHASSOT C, BUCHALAA, SCHOONBEEK H, MÉTRAUX J-P, LAMOTTE O. Wounding of *Arabidopsis* leaves causes a powerful but transient protection against *Botrytis infection*. *Plant J* 2008; **55**: 555–567.
- [6] CHINI A, BOTER M, SOLANO R. Plant oxylipins: COI1/JAZs/MYC2 as the core jasmonic acid-signalling module. *FEBS J* 2009; **276**: 4682–4692.
- [7] DEVOTO A, TURNER J. Regulation of jasmonate-mediated plant responses in *Arabidopsis*. *Ann Bot* 2003; **92**: 329–337.
- [8] DOMBRECHT B, XUE GP, SPRAGUE SJ, KIRKEGAARD JA, ROSS JJ, REID JB, FITT GP, SEWELAM N, SCHENK PM, MANNERS JM, KAZAN K. MYC2 differentially modulates diverse jasmonate-dependent functions in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2007; **19**: 2225–2245.
- [9] FLORS C, NONELL S. Light and singlet oxygen in plant defense against pathogens: phototoxic phenalenone phytoalexins. *Accounts Chem Res* 2005; **39**: 293–300.

- [10] FLORS V, TON J, VAN DOORN R, JAKAB G, GARCÍA-AGUSTÍN P, MAUCH-MANI B. Interplay between JA, SA and ABA signaling during basal and induced resistance against *Pseudomonas syringae* and *Alternaria brassicicola*. *Plant J* 2008; **54**: 81–92.
- [11] FONSECA S, CHICO JM, SOLANO R. The jasmonate pathway: the ligand, the receptor and the core signalling molecule. *Curr Opin Plant Biol* 2009; **12**: 539–547.
- [12] GLAWISCHNIG E. Camalexin. *Phytochemistry* 2007; **68**: 401–406.
- [13] GLAZEBROOK J. Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. *Annu Rev Phytopathol* 2005; **43**: 205–227.
- [14] GURANOWSKIA, MIERSCH O, STASWICK PE, SUZA W, WASTERNAK C. Substrate specificity and products of side-reactions catalyzed by jasmonate:amino acid synthetase (JAR1). *FEBS Lett* 2007; **581**: 815–820.
- [15] KATSIR L, CHUNG HS, KOO AJK, HOWE GA. Jasmonate signaling: a conserved mechanism of hormone sensing. *Curr Opin Plant Biol* 2008; **11**: 428–435.
- [16] KATSIR L, SCHILMILLER AL, STASWICK PE, HE SY, HOWE GA. COI1 is a critical component of a receptor for jasmonate and the bacterial virulence factor coronatine. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; **105**: 7100–7105.
- [17] KLIEBENSTEIN DJ, ROWE HC, DENBY KJ. Secondary metabolites influence *Arabidopsis/Botrytis* interactions: variation in host production and pathogen sensitivity. *Plant J* 2005; **44**: 25–36.
- [18] KLIEBENSTEIN DJ. Secondary metabolites and plant/environment interactions: a view through *Arabidopsis thaliana* tinted glasses. *Plant Cell Environ* 2004; **27**: 675–684.
- [19] LEONELLI S. *Arabidopsis*, the botanical *Drosophila*: from mouse cress to model organism. *Endeavour* 2007; **31**: 34–38.
- [20] LORENZO O, PIQUERAS R, SÁNCHEZ-SERRANO JJ, SOLANO R. ETHYLENE RESPONSE FACTOR1 integrates signals from ethylene and jasmonate pathways in plant defense. *Plant Cell* 2003; **15**: 165–178.
- [21] LORENZO O, SOLANO R. Molecular players regulating the jasmonate signaling network. *Curr Opin Plant Biol* 2005; **8**: 532–540.
- [22] ŁAŻNIEWSKA J, MACIOSZEK VK, LAWRENCE CB, KONONOWICZ AK. Fight to the death: *Arabidopsis thaliana* defense response to fungal necrotrophic pathogens. *Acta Physiol Plant* 2009; doi 10.1007/s11738-009-0372-6.
- [23] NICKSTADT A, THOMMA BPHJ, FEUSSNER I, KANGASJÄRVI J, ZEIER J, LOEFFLER C, SCHEEL D, BERGER S. The jasmonate-insensitive mutant *jin1* shows increased resistance to biotrophic as well as necrotrophic pathogens. *Mol Plant Pathol* 2004; **5**: 425–434.
- [24] PARISY V, POINSSOT B, OWSIANOWSKI L, BUCHALAA, GLAZEBROOK J, MAUCH F. Identification of PAD2 as a c-glutamylcysteine synthetase highlights the importance of glutathione in disease resistance of *Arabidopsis*. *Plant J* 2007; **49**: 159–172.
- [25] PAUW B, MEMELNIK J. Jasmonate-responsive gene expression. *J Plant Growth Regul* 2005; **23**: 200–210.
- [26] PEDRAS MSC, ADIO AM. Phytoalexins and phytoanticipins from the wild crucifers *Thellungiella halophila* and *Arabidopsis thaliana*: rapalexin A, wasalexins and camalexin. *Phytochemistry* 2008a; **69**: 889–893.
- [27] PEDRAS MSC, AHIAHONU PWK. Metabolism and detoxification of phytoalexins and analogs by phytopathogenic fungi. *Phytochemistry* 2005; **66**: 391–411.
- [28] PEDRAS MCS, GADAGI RS, JHA M, SARMA-MAMILLAPALLE VK. Detoxification of the phytoalexin brassinin by isolates of *Leptosphaeria maculans* pathogenic on brown mustard involves an inducible hydrolase. *Phytochemistry* 2007; **68**: 1572–1578.
- [29] PEDRAS MSC, OKANGA FI, ZAHARIA IL, KHAN AQ. Phytoalexins from crucifers: synthesis, biosynthesis, and biotransformation. *Phytochemistry* 2000; **53**: 161–176.
- [30] PEDRAS MSC, ZHENG Q-A, GADAGI RS, RIMMER SR. Phytoalexins and polar metabolites from the oilseeds canola and rapeseed: Differential metabolic responses to the biotroph *Albugo candida* and to abiotic stress. *Phytochemistry* 2008; **69**: 894–910.
- [31] PETERS RJ. Uncovering the complex metabolic network underlying diterpenoid phytoalexin biosynthesis in rice and other cereal crop plants. *Phytochemistry* 2006; **67**: 2307–2317.
- [32] POZO MJ, VAN LOON LC, PIETERSE CMJ. Jasmonates – signals in plant-microbe interactions. *J Plant Growth Regul* 2005; **23**: 211–223.

- [33] REN D, LIU Y, YANG K-Y, HAN L, MAO G, GLAZEBROOK J, ZHANG S. A fungal-responsive MAPK cascade regulates phytoalexin biosynthesis in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; **105**: 5638–5643.
- [34] SELLAMA, IACOMI-VASILESCU B, HUDHOMME P, SIMONEAUA P. *In vitro* antifungal activity of brassinin, camalexin and two isothiocyanates against the crucifer pathogens *Alternaria brassicicola* and *Alternaria brassicae*. *Plant Pathol* 2007; **56**: 296–301.
- [35] SHINDO C, BERNASCONI G, HARDTKE CS. Natural genetic variation in *Arabidopsis*: tools, traits and prospects for evolutionary ecology. *Ann Bot* 2007; **99**: 1043–1054.
- [36] SOMERS DE, FUJIWARA S. Thinking outside the F-box: novel ligands for novel receptors. *Trends Plant Sci* 2009; **14**: 206–213.
- [37] TAKAHASHI F, YOSHIDA R, ICHIMURA K, MIZOGUCHI T, SEO S, YONEZAWA M, MARUYAMA K, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K, SHINOZAKI K. The mitogen-activated protein kinase cascade MKK3-MPK6 is an important part of the jasmonate signal transduction pathway in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2007; **18**: 805–818.
- [38] THATCHER LF, MANNERS JM, KAZAN K. *Fusarium oxysporum* hijacks COI1-mediated jasmonate signaling to promote disease development in *Arabidopsis*. *Plant J* 2009; doi: 10.1111/j.1365-313X.2009.03831.x
- [39] TRUSOV Y, ROOKES JE, CHAKRAVORTY D, ARMOUR D, SCHENK PM, BOTELLA JR. Heterotrimeric G proteins facilitate *Arabidopsis* resistance to necrotrophic pathogens and are involved in jasmonate signaling. *Plant Physiol* 2006; **140**: 210–220.
- [40] TRUSOV Y, ROOKES JE, TILBROOK K, CHAKRAVORTY D, MASON MG, ANDERSON D, CHEN JG, JONES AM, BOTELLA JR. Heterotrimeric G protein gamma subunits provide functional selectivity in Gbetagamma dimer signaling in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 2007; **19**: 1235–1250.
- [41] VAN BAARLEN P, WOLTERING EJ, STAATS M, VAN KAN JAL. Histochemical and genetic analysis of host and non-host interactions of *Arabidopsis* with three *Botrytis* species: an important role for cell death control. *Mol Plant Pathol* 2007; **8**: 41–54.
- [42] VAN WEES SCM, CHANG H-S, ZHU T, GLAZEBROOK J. Characterization of the early response of *Arabidopsis* to *Alternaria brassicicola* infection using expression profiling. *Plant Physiol* 2003; **132**: 606–617.
- [43] WASTERNAK C. Jasmonates: an update on biosynthesis, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. *Ann Bot* 2007; **100**: 681–697.
- [44] WEBER H. Fatty acid-derived signals in plants. *Trends Plant Sci* 2002; **7**: 1360–1385.
- [45] YAN J, ZHANG C, GU M, BAI Z, ZHANG W, QI T, CHENG Z, PENG W, LUO H, NAN F, WANG Z, XIE D. The *Arabidopsis* CORONATINE INSENSITIVE1 protein is a jasmonate receptor. *Plant Cell* 2009; **21**: 2220–2236.

Prof. dr hab. Andrzej K. Kononowicz,
Katedra Genetyki Ogólnej, Biologii Molekularnej i Biotechnologii Roślin,
Uniwersytet Łódzki, ul. S. Banacha 12/16, 90-237 Łódź
E-mail: akononow@biol.uni.lodz.pl