

CEZARY SEMPRUCH

*Katedra Biochemii i Biologii Molekularnej
Wydział Przyrodniczy, Akademia Podlaska
Prusa 12, 08-110 Siedlce
E-mail: cezar@ap.siedlce.pl*

ROLA ZWIĄZKÓW AZOTOWYCH W INTERAKCJACH MIĘDZY ROŚLINAMI A ROŚLINOŻERNYMI OWADAMI

WPROWADZENIE

Jednym z najważniejszych czynników regulujących interakcje między roślinożernymi owadami i ich żywicielami jest skład chemiczny roślin żywicielskich. Szacuje się, że w tkankach roślin występuje ponad 200 000 metabolitów, a ich liczba w poszczególnych gatunkach oscyluje na poziomie ok. 15 000 (FERNIE 2007). Spośród tak wielkiej liczby biomolekuł szczególne znaczenie w interakcjach między fitofagami i ich żywicielami mają związki azotowe. Nadmierne nagromadzenie w tkankach roślinnych azotu pochodzenia antropogenicznego, w następstwie przemysłowego lub rolniczego zanieczyszczenia środowiska, w znacznym stopniu modyfikuje interakcje zachodzące między poszczególnymi składnikami ekosystemów (THROOP i LERDAU 2004, JONES i PAINE 2006). Mechanizm tych oddziaływań jest często związany ze zmianami w dostępności i wartości odżywczej tkanek roślinnych. Powszechnie panuje pogląd, iż wzrost zawartości azotu w tkankach roślin jest korzystny dla roślinożerców, poprzez „polepszanie” składu chemicznego rośliny żywicielskiej. Dotyczy to wzrostu zawartości azotowych biomolekuł, tj. aminokwasów białkowych, białek i niektórych witamin, oraz spadku stężenia substancji obronnych, których cząsteczki zbudowane są głównie z węgla. Azot może więc stymulować rozwój populacji owadów, a w interakcjach roślina-roślinożerca może wpływać na przebieg procesów zachodzących zarówno w poszczególnych populacjach, jak i w całych ekosystemach.

Z drugiej jednak strony, rośliny często wytwarzają swoiste związki azotowe, tj. aminokwasy niebiałkowe, aminy, alkaloidy, związki cyjanogenne, kwasy hydroksamowe oraz glukozynolany, wykazujące właściwości detektorów lub toksyn w stosunku do roślinożernych owadów (DOMÍNGEZ i współaut. 2008, CAI i współaut. 2009, SEMPRUCH i współaut. 2009). Przykładowo, wartość odżywcza tkanek roślin żywicielskich dla *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Homoptera, Alerodidae) w mniejszym stopniu zależy od zawartości azotowych składników pokarmowych, niż od obecności toksyn i zdolności fitofaga do ich tolerancji lub detoksykacji (DOWELL i STEINBERG 1990). Niektóre składniki azotowe mogą regulować przebieg reakcji obronnych na atak patogenów lub roślinożernych stawonogów, które w zależności od sposobu żerowania mogą uruchamiać kaskady reakcji obronnych na zranienia (np. owady gryzące) lub szlaki metaboliczne, indukowane przez odpowiednie elicytory chemiczne (np. patogeny i owady kłująco-ssące) (KUSANO i współaut. 2007, RAJU i współaut. 2009, HEIL 2009, MOLOI i VAN DER WESTHUISEN 2009). Do substancji takich należą przede wszystkim niskocząsteczkowe biomolekuły sygnalizacyjne oraz białka enzymatyczne i kwasy nukleinowe. Efektem ich aktywności może być generowanie reaktywnych form tlenu (ang. reactive oxygen species, ROS) lub azotu (ang. reactive nitrogen species, RNS), indukujących programowaną śmierć komórek (ang. pro-

grammed cell death, PCD) w miejscu ataku, ekspresja genów *R* (ang. resistance) odpowiedzialnych za produkcję roślinnych białek obronnych (ang. pathogenesis - related proteins, PR), wzmożona biosynteza wtórnych metabolitów szkodliwych dla roślinożerców, bądź zmiany w strukturze tkanek roślinnych, utrudniające żerowanie owadów i wnikanie patogenów. Według obecnego stanu wiedzy kaskady reakcji obronnych roślin mają złożony charakter, a dodatkowo interferując

ze sobą tworzą skomplikowane sieci sygnalizacyjne. Z powyższych informacji wynika, iż związki azotowe są ważnym elementem interakcji zachodzących pomiędzy roślinami a owadami roślinożernymi, a ich oddziaływanie może mieć bardzo zróżnicowany charakter. Ze względu na szeroki zakres tych oddziaływań, niniejsza praca skupia się jedynie na niektórych ich aspektach, ze szczególnym uwzględnieniem mechanizmów biochemiczno-molekularnych.

ZNACZENIE AZOTU W KONTEKŚCIE WARTOŚCI ODŻYWCZEJ ROŚLIN ŻYWICIELSKICH DLA OWADÓW

Azot występuje w tkankach roślin w postaci różnych form, tj. azot ogólny (całkowity), obecny we wszystkich rodzajach biomolekuł azotowych, lub azot białkowy, rozpuszczalny, aminowy, amidowy, glutaminowy, asparaginowy, azotanowy, czy azotynowy, występujący tylko w poszczególnych typach związków organicznych. Dlatego udział poszczególnych form azotu w interakcjach między roślinami a zasiedlającymi je owadami może być zróżnicowany. Według PENNING i SIMPSON (2008) tkanki zwierzęce odznaczają się zdecydowanie wyższym stężeniem azotu niż tkanki roślinne, stąd składnik ten limituje często wartość odżywczą pokarmu roślinnego dla fitofagów. Przykładowo, przyrost masy ciała i składowanie jaj przez *Ageneotettix deorum* Scuder (Orthoptera: Acrididae) są stymulowane, gdy stężenie azotu w pożywce osiąga 4-5% (JOERN i BELUNER 1997). Wysoka zawartość azotanów w liściach dębu *Quercus kelloggii* Newb. dodatkowo koreluje z masowym pojawianiem się owadów ssących, gąsienic motyli oraz tantnisiowatych (Plutellidae) (JONES i współaut. 2008).

Zawartość azotu w tkankach roślin użytkowych uzależniona jest w dużym stopniu od ilości nawozów azotowych stosowanych w uprawie. Niski poziom nawożenia azotowego powoduje spadek tempa fotosyntezy i zawartości azotu ogólnego w liściach bawełny (*Gossypium hirsutum* L.). Znajduje to odzwierciedlenie w obniżaniu zawartości wolnych aminokwasów, a zwłaszcza glutaminy w tkankach żerującego na niej mączlika ostroskrzydłego (*Bemisia tabaci* Gennadius) (CRAFTS-BRANDER 2002). Osobniki *B. tabaci*, występujące na roślinach bawełny nawożonej wysokimi dawkami azotu, wydalały wraz ze spadzią większe ilości aminokwasów, a

w szczególności asparaginy. Wzrastający poziom nawożenia azotowego bawełny wywoływał także wzrost liczebności dorosłych i młodocianych stadiów rozwojowych mączlika srebrzystolistnego (*Bemisia argentifolii* Bellows & Perring) (Bi i współaut. 2001). BRODBECK i współaut. (2001) podają, że poziom nawożenia azotowego pomidora zwyczajnego (*Lycopersicon esculentum* L.) korelował dodatnio z liczebnością wciornastka zachodniego (*Frankliniella occidentalis* Pergande). Rośliny otrzymujące wyższe dawki nawozów wytwarzały kwiaty odznaczające się wyższym stężeniem azotu ogólnego oraz korzystniejszym składem aminokwasowym w okresie występowania maksymalnej liczebności populacji *F. occidentalis*.

Do owadów bardzo wrażliwych na zawartość różnych form azotu w tkankach roślin należą mszyce, dla których źródłem pokarmu jest najczęściej sok floemowy, odznaczający się stosunkowo wysoką zawartością cukrów i niskim stężeniem związków azotowych, deterrentów i toksyn (DOUGLAS 2006). Wykazano, że zawartość azotu w tkankach roślin żywicielskich determinuje liczebność, wzrost, rozwój i rozmnażanie mszyce brzoskwiniowej (*Myzus persicae* Sulz.), mszyce kapuścianej (*Brevicoryne brassicae* L.), mszyce ogórkowej (*Aphis gossypii* Glov.), mszyce różano-trawowej (*Metopolophium dirhodum* Walk.) i mszyce zbożowej (*Sitobion avenae* F.) (HARREVIJN 1970, WEARING 1972, BANERJEE i RAYCHUNDHURI 1987, JANSON i współaut. 1987, ZHOU i CARTER 1992, CIEPIELA i SEMPRUCH 1993). Obniżenie poziomu nawożenia azotowego roślin wpływał niekorzystnie na biologię takich gatunków mszyc, jak: *Toxoptera graminum* Rond., *Acyrtosiphum pisum* Harris, *Rhopalosiphum maidis* Fitch,

Aphis spiraecola Path., *Diuraphis noxia* Mordvilko, *S. avenae*, *Rhopalosiphum padi* (L.) i *Sipha flava* Forbes (HUREJ 1990, KAAKEH i współaut. 1992, ARCHER i współaut. 1995, MORALES i współaut. 2001, SEMPRUCH i współaut. 2004, MIJASAKA i współaut. 2007, SCHÜTZ i współaut. 2008). Schyłek ubiegłego wieku dostarczył wielu danych na temat relacji między zawartością różnych form azotu a podatnością roślin na mszyce. Zdaniem DIXON'A (1971) szczególnie przydatnym biochemicznym kryterium podatności zbóż na mszyce jest stężenie azotu rozpuszczalnego, którego wysoką zawartością odznaczały się podatne odmiany pszenicy i pszenżyta (SEMPRUCH i CIEPIELA 1999). Z kolei, według ŻURAŃSKIEJ i współaut. (1994), niska zawartość azotu azotanowego w tkankach niektórych gatunków traw była przyczyną słabego zasiedlenia przez mszyce, a zwłaszcza przez *S. avenae*.

Azotany są podstawową formą azotu pobieraną przez rośliny wyższe z gleby, jednak ich wbudowanie w strukturę biomolekuł jest możliwe dopiero po dwustopniowej redukcji do jonów amonowych z udziałem reduktazy azotanowej (NR; EC 1.6.6.1-3) i reduktazy azotynowej (NiR; EC 1.7.7.1). Aktywność obu tych enzymów w nadziemnych częściach pszenżyta dodatnio korelowała z liczebnością *S. avenae* i mszycy czeremchowo-zbożowej (*Rhopalosiphum padi* L.) (SEMPRUCH i współaut. 2007). O dużym znaczeniu azotanów w interakcjach między mszycą zbożową a jej roślinami żywicielskimi świadczą także wyniki badań CIEPIELI i SEMPRUCHA (2000), które uwiaryściły zwiększoną podatność pszenżyta na *S. avenae*, wiążącą się z wysoką zawartością azotu ogólnego, rozpuszczalnego, azotanowego i glutaminowego oraz niskim stężeniem azotu białkowego w kłosach.

ZWIĄZKI AZOTOWE UCZESTNICZĄCE W INTERAKCJACH MIĘDZY ROŚLINAMI I ROŚLINOŻERNYMI OWADAMI

Związki azotowe mogą odgrywać różną rolę w oddziaływaniach między roślinami a fitofagami. Poniżej przedstawiona została krótka charakterystyka najważniejszych grup substancji, biorących udział w interakcjach rośliny-owady.

AMINOKWASY

Aminokwasy białkowe odgrywają kluczową rolę jako substancje odżywcze dla owadów posiadających różne aparaty gębowe (HOLLISTER i MULLIN 1998, SANDSTRÖM i MORAN 1999, MEVI-SULTZ i ERHARDT 2003, SEMPRUCH 2009). Na szczególną uwagę zasługują aminokwasy egzogenne, które nie mogą być syntetyzowane w ciele owada i muszą być pobrane wraz z pokarmem (SEMPRUCH i CIEPIELA 1998, WILKINSON i DOUGLAS 2003). W przypadku pluskwiaków równoskrzydłych, czerpiących pokarm głównie z wiązek sitowych, niedobór aminokwasów egzogennych w soku floemowym spowodował wykształcenie specyficznych adaptacji. Do takich przystosowań należy zaliczyć obecność w przewodzie pokarmowym obligatoryjnych symbiotycznych bakterii z rodzaju *Buchnera*, zapopatrzających mszyce w niezbędne substancje odżywcze (DOUGLAS 2006). Pomimo, iż genomy *Buchnera* należą do najmniejszych (0,50 do 0,65 Mbp), mikroorganizmy te zachowały zdolność do biosyntezy wszystkich aminokwasów egzogennych, tracąc jednocześnie

możliwość wytwarzania aminokwasów endogennych (DALE i MORAN 2006, MORAN 2006). Według DOUGLAS (2007), obligatoryjne endosymbionty występują głównie u mszyc, powikłków i mączlikowatych oraz u owadów żywiących się krwią, tj. wszy, pluskwowate, czy mucha tse-tse.

W interakcjach rośliny-owady ważną rolę spełniają także aminokwasy niebiałkowe, które w odróżnieniu od ich analogów białkowych zaliczane są do grupy wtórnych metabolitów. Substancje te, jako specyficzne metabolity poszczególnych gatunków roślin, często wykazują właściwości toksyczne w stosunku do ich fitofagów. Jedną z dobrze poznanych ich funkcji są oddziaływania, jako inhibitorów konkurencyjnych, w przemianach metabolicznych aminokwasów białkowych (ZOGRAFOU i współaut. 1998, CIEPIELA i SEMPRUCH 1999).

BIAŁKA I PEPTYDY

Białka są dla roślinożerców głównym źródłem aminokwasów, warunkując tym samym ich wzrost i rozwój (SEMPRUCH i CIEPIELA 2002, BABIC i współaut. 2008). Wykazano, że ślina wydzielana przez *Creontiades dilutus* Stål (Hemiptera: Miridae) odznacza się silną aktywnością proteolityczną, co umożliwia żerującym owadom hydrolizę cząsteczek białek jeszcze przed ich wniknięciem do przewodu pokarmowego (COLLEBATCH i współaut.

2001). W ślinie mszyc zbożowych *S. avenae* i *R. padi* stwierdzono obecność takich proteaz, jak: trypsyna, chymotrypsyna, karboksypeptydaza A i B oraz leucynoaminopeptydaza (URBAŃSKA i NIRAZ 1990).

W ostatnich latach szczególne zainteresowanie budzą białka PR, które są syntetyzowane w następstwie ekspresji genów *R*, w reakcjach typu nabytej odporności indukowanej (ang. systemic acquired resistance, SAR) i systemicznej odporności indukowanej (ang. induced systemic resistance, ISR) (ZŁOTEK i WÓJCIK 2007). W oparciu o właściwości biochemiczne i aktywność biologiczną, białka PR podzielono na 17 rodzin (BYCZKOWSKI i współaut. 2009), spośród których w interakcjach roślina-roślinożerca szczególnie ważną rolę odgrywają enzymy katalizujące biosyntezę roślinnych allomonów i toksyn (np. lipoksygenaza, amoniakoliaza L-fenylalaniny, oksydazy aminowe) i/lub białka zakłócające trawienie pokarmu roślinnego, tj. inhibitory proteaz i lektyny (BURGESS i współaut. 2008; SEALS i współaut. 2008; SEMPRUCH 2008, 2009; SPRAWKA 2008; ZAVALA i współaut. 2009).

W tkankach wielu gatunków roślin aktywatorami biosyntezy inhibitorów proteaz jest peptyd systemina i/lub bogate w hydroksyprolinę glikopeptydy (CONSTABEL i współaut. 1998, NARVÁEZ-VÁSQUEZ i współaut. 2007). Geny kodujące białka odpowiedzialne za syntezę wymienionych molekuł są aktywowane w następstwie zranień tkanek roślinnych (np. przez żerujące owady) lub przez kwas jasmonowy (JA). Ponadto tripeptyd glutation, przy udziale peroksydazy, reduktazy i transferazy glutationowej uczestniczy w detoksykacji ROS zarówno w tkankach roślinnych jak i zwierzęcych (LESZCZYŃSKI 2001). Związek ten zaliczany jest w związku z tym do antyoksydantów, a jego podstawowa rola związana jest ograniczaniem skutków oddziaływania ROS, generowanych w reakcjach obronnych roślin typu nadwrażliwości (ang. hypersensitive response, HR).

Polimorficzne geny *R*, charakteryzują się obecnością fragmentów wiążących nukleotydy (ang. nucleotide-binding, NB) oraz powtarzających się sekwencji kodujących powtórzenia bogate w leucynę (ang. leucine-rich repeat, LRR), co umożliwia im rozpoznawanie specyficznych efektorowych białek, pochodzących od organizmów inwazyjnych (GOGGIN 2007). W zaatakowanych tkankach roślin indukowane są kaskady sygnalizacyjne zapoczątkowywane przez takie związki, jak: JA, kwas salicylowy (SA), etylen i inne fitohor-

mony oraz kinazy, chaperoniny i ROS. W ich wyniku występuje wzrost odporności roślin na patogeny i szkodliwe stawonogi (WALLER i współaut. 2008, RASMANN i AGRAWAL 2009, SILFVER i współaut. 2009). Przebieg reakcji obronnych roślin z udziałem genów *R* jest wysoce specyficzny i jest wynikiem interakcji między fitofagiem i żywicielem. Według LAWRENS i współaut. (2008) zranienia tkanek ziemniaka (*Solanum tuberosum* L.), wywołane żerowaniem stonki ziemniaczanej (*Leptinotarsa decemlineata* Say), aktywowały 73 geny kodujące białka, uczestniczące w metabolizmie pierwotnym i wtórnym, ekspresji białek, regulacji transkrypcyjnej oraz w reakcjach roślin na stres i patogeny, hamując jednocześnie ekspresję 54 genów, spośród których przeważająca większość kodowała białka związane z fotosyntezą. W roślinach lucerny *Medicago truncatula* Gaertn. zaatakowanej przez światłowkę ziemnicę (*Spodoptera exigua* Hübner) wyciszana była ekspresja genów: *MtRCA*, kodującego karboksylazę/oksygenazę rybulozo-1,5-disfosforanu (ang. ribulose biphosphate carboxylase-oxygenase, RUBISCO); *MtSTR*, odpowiedzialnego za syntazę stryktozydyny i *MtRFP*, kodującego białko „palca cynkowego” (ang. zinc RING finger protein) oraz indukowana ekspresja genu *MtRPK*, kodującego receptor zbliżony do kinazy białkowej (DARWISH i współaut. 2008). Żerowanie mszycy zbożowej w tkankach pszenicy (*Triticum aestivum* L.) także uruchamiało szereg reakcji obronnych, jednak innego typu niż odpowiedź na zranienia (ZHAO i współaut. 2009). Wystąpiła indukcja transkrypcji genu *fps*, kodującego syntetazę pirofosforanu farnezyli, genu *aos*, odpowiedzialnego za biosyntezę syntazy tlenu allenu i genu *pal*, kodującego amoniakolizę L-fenylalaniny. Reakcjom tym towarzyszył także wzrost aktywności enzymów związanych ze szlakami sygnalizacyjnymi JA i SA.

TLENEK AZOTU (NO)

Tlenek azotu (NO) jest wolnym rodnikiem, który w komórkach roślinnych uczestniczy w procesach fizjologicznych związanych ze wzrostem i rozwojem, dojrzewaniem i starzeniem, a także w metabolizmie oddechowym oraz w reakcji obronnych przed patogenami i roślinożercami (GNIAZDOWSKA 2004). NO pełni w tych procesach funkcję sygnalizacyjną, współpracując z cGMP (cykliczny guanozynomonofosforan) oraz aktywując cyklazę guanylanową. Ponadto, dzięki obecności niesparowanego elektronu, może on wchodzić w reakcje z DNA i białkami, co

w konsekwencji prowadzi do biodegradacji struktur komórkowych. W ten sposób NO, podobnie jak ROS, może indukować PCD w miejscu ataku patogenów i roślinożerców lub w jego bezpośrednim sąsiedztwie, co stanowi podstawę reakcji obronnych roślin typu nadwrażliwości (WANG i współaut. 2006). Z drugiej jednak strony, NO może reagować z ROS, zapobiegając rozprzestrzenianiu się uszkodzeń oksydacyjnych, a jego działanie pro- lub antyoksydacyjne uzależnione jest od stężenia NO i ROS (GNIAZDOWSKA 2004). Tlenek azotu wykazuje wysoką aktywność już w stężeniach rzędu 10^{-10} - 10^{-6} M.

Zagadnienie udziału NO w reakcjach obronnych roślin jest badane dopiero od 1998 r. (Durner i współaut. 1998 za GNIAZDOWSKA 2004), stąd dane na temat znaczenia tej cząsteczki dla interakcji między roślinożercami i ich żywicielami nie są jeszcze zbyt liczne. Wyniki dotychczasowych badań wskazują, że NO może uczestniczyć zarówno w odpowiedzi roślin na zranienia powodowane przez żerujące stawonogi, jak i na chemiczne elicytory reakcji obronnych. Wykazano bowiem, iż dostarczenie NO do zranionych tkanek liści ziemniaka indukowało wytwarzanie kalozy, odpowiedzialnej za zabliznianie zranionych miejsc. Indukcji tej towarzyszył wzrost ekspresji genów powiązanych z reakcją na zranienie, kodujących PAL i ekstensynę (PARÍS i współaut. 2007). Kaloza, oprócz udziału w tolerancji roślin na zranienia, podobnie jak lektyny i jony wapnia, może czopować wiązki sitowe roślin, blokując przepływ soku floemowego do miejsc żerowania owadów (VASCONCELOS i OLIVEIRA 2004). Według MOLOI i VAN DER WESTHUSENA (2009) NO uczestniczy w reakcji nadwrażliwości pszenicy na mszycę *D. noxia*, a jego biosynteza może zależeć od aktywności NR.

Oprócz NO rolę roślinnych molekuł sygnalizacyjnych mogą spełniać azotany, a w niektórych przypadkach także jony amonowe NH_4^+ (STARCK 2006). Jony NO_3^- uczestniczą w regulacji metabolizmu związków azotowych i cukrowców u rzodkiewnika pospolitego (*Arabidopsis thaliana* L.), indukując bądź wyciszając ekspresję prawie 600 genów. Jednak ich rola w interakcjach między roślinożercami i ich roślinami żywicielskimi nie została dotychczas wyjaśniona.

AMINY

W omawianych interakcjach ważną rolę odgrywają poliaminy, czyli aminy alifatyczne, np. putrescyna, spermidyna, spermina,

kadaweryna i agmatyna, występujące powszechnie w tkankach roślin. Poliaminy są syntetyzowane na drodze dekarboksylacji aminokwasów zasadowych. Te, zaliczane do hormonów roślinnych związki, mogą podwyższać tolerancję na stres, zabezpieczając przed degradacją makrocząsteczki kwasów nukleinowych, fosfolipidów i białek, bądź uczestniczyć w reakcjach obronnych, indukując PCD podczas reakcji nadwrażliwości i/lub aktywując ekspresję genów *R* w reakcjach systemicznych typu SAR i/lub ISR (KUSANO i współautorzy 2007, 2008; SEMPRUCH 2008). Poliaminy nanoszone na siewki pszenżyta, hamowały żerowanie i ograniczały przeżywalność *S. avenae* (SEMPRUCH i współaut. 2009). Aktywność taką wykazywały spermidyna, agmatyna i spermina, stosowane w stężeniach od 490 do 770 μM oraz putrescyna, kadaweryna, spermidyna, spermina i agmatyna w stężeniach od 4,90 do 11,40 mM.

W interakcjach rośliny-roślinożerco biorą ponadto udział aminy aromatyczne, tj. tyramina, czy katecholoaminy, które podobnie jak związki fenolowe, są toksyczne dla roślinożernych stawonogów (FACCHINI i współaut. 2000; KULMA i SZOPA 2007; SEMPRUCH 2008).

W ograniczaniu skutków infekcji patogennych i uszkodzeń powodowanych przez roślinożerne owady uczestniczą także pochodne amin alifatycznych i aromatycznych. Powstają one jako amidowe połączenia z kwasami fenylopropenowymi (ang. hydroxycinnamic acid amides, HCAA) i wykazują często właściwości fitoaleksyn, fitoantycypin i/lub neurotoksyn w stosunku do roślinożernych stawonogów (GUILLET i DE LUCA 2006, MORTIARI i współaut. 2007). Zranienie tkanek liści pomidora powoduje akumulację HCAA, powiązaną ze szlakami sygnalizacyjnymi JA (PEARCE i współaut. 1998, CHEN i współaut. 2006, GUILLET i DE LUCA 2006). Ponadto, pochodne HCAA tyraminy mogą także kondensować w obrębie ścian komórkowych, stwarzając dodatkową barierę mechaniczną, chroniącą rośliny przed wnikaniem patogenów i atakiem roślinożernych owadów (FACCHINI 1998).

ALKALOIDY

Alkaloidy stanowią bardzo liczną grupę ponad 10 000 zróżnicowanych strukturalnie biomolekuł. Ich wspólną cechą jest obecność azotu, związanego w różnego typu pierścieniach heterocyklicznych (LESZCZYŃSKI 2001). Większość alkaloidów wykazuje aktywność biologiczną, dzięki której mogą pełnić funk-

cje regulatorów wzrostu, repelentów lub deterrentów dla roślinożernych owadów (ZÚNIGA i współaut. 1988, BERLANDIER 1996). Przykładowo, akrydyna, kwas arystolochowy, atropina, berberyna, kofeina, nikotyna, skopolamina, sparteina i strychnina są deterrentami w stosunku do larw brudnicy niepar-ki (*Lymantria dispar* L.), a ich toksyczność wzrasta wraz ze wzrostem stężenia (SHIELDS i współaut. 2008). DOMÍNGUEZ i współaut. (2008) stwierdzili, że alkaloidy pirolizydynowe, występujące w tkankach niektórych gatunków roślin z rodziny ogórecznikowatych (Boraginaceae) i astrowatych (Asteraceae), odznaczały się właściwościami deterrentnymi w stosunku do sówki bawełnowki egipskiej (*Spodoptera littoralis* Boisduval), stonki ziemniaczanej oraz mszycy brzoskwiniowej i czeremchowo-zbożowej.

W tkankach tytoniu, akumulacja nikoty-ny i innych alkaloidów jest dodatnio skorelowana z wytwarzaniem etylenu (NUGROHO i współaut. 2002), który należy do związków sygnalizacyjnych, zapoczątkowujących kaskady reakcji obronnych roślin przeciwko patogenom i roślinożercom. Z kolei estry metylowe kwasu jasmonowego (MeJA), jako substancje sygnalizacyjne zaangażowana w reakcje obronne roślin na atak roślinożerców, regulują u *Lolium arundinaceum* Schreb. ekspresję genu *LolC*, odpowiedzialnego za biosyntezę alkaloidów lolinowych (SIMONS i współaut. 2008). W tkankach jęczmienia, pod wpływem JA, indukowana była natomiast ekspresja genu *MT*, kodującego O-metylotransferazę, zaangażowaną w biosyntezę alkaloidów indolowych (LARSSON i współaut. 2006).

W wyniku koewolucji, roślinożerne owady nabyły zdolność tolerancji szkodliwych wtórnych metabolitów, występujących w tkankach roślin, w stosunkowo niewielkich stężeniach. Przykładem takiego przystosowania może być częściowa detoksykacja koniiny i γ -koniceiny (alkaloidów piperydynowych) przez larwy *Trichoplusia ni* Hübner przy udziale cytochromu P450 lub deaktywacja grabiny przez *S. avenae*, przebiegająca z udziałem karboksyloesterazy i S-transferazy glutationowej (CASTELLS i BERENBAUM 2008, CAI i współaut. 2009). Znane są także przypadki pozytywnego oddziaływania alkaloidów na adaptacje środowiskowe roślinożerców. EDGAR i współaut. (2007) zauważyli, że niektóre gatunki owadów posiadają zdolność przekształcania roślinnych alkaloidów pirolizydynowych w tzw. „owadzie alkaloidy

pirolizydynowe” (ang. insect pirrolizidine alkaloids), które są prekursorami biosyntezy feromonu – hydroksydanaidalu. Ponadto, żerujące na kapuście chrząszcze z gatunku *Epilachna paenulata* German (Coleoptera: Coccinellidae), wykorzystują do obrony przed drapieżcami mieszaninę piperydyny, homotropanu i alkaloidów pirolizydynowych (CAMARANO i współaut. 2009).

ZWIĄZKI CYJANOGENNE

Cyjanowodór (HCN) może chronić rośliny przed fitofagami, a zwłaszcza przed roślinożernymi owadami dzięki zdolności do hamowania aktywności oksydazy cytochromowej oraz innych enzymów zawierających metale (SIEGIEŃ 2007). Rośliny, uwalniające ponad 20 mg HCN na 100 g świeżej masy uważane są za trujące (LESZCZYŃSKI 2001). Zdolność do cyjanogenezy, czyli uwalniania cyjanowodoru, posiada ponad 2650 gatunków należących do 550 rodzajów i 130 rodzin, niektóre szczepy bakterii i ponad 30 gatunków grzybów (LESZCZYŃSKI 2001, MALINOWSKI 2008). Podstawowym źródłem HCN w tkankach roślin są glikozydy cyjanogenne, a rzadziej lipidy cyjanogenne, glioksalan lub hydroksyloamina. Niewielkie ilości cyjanowodoru mogą także powstawać podczas syntezy etylenu z kwasu 1-amino-cyklopropano-1-karboksyloowego. Glikozydy cyjanogenne, takie jak: amigdalina i prunasyna, są klasyfikowane jako fitoantycypiny. Są one syntetyzowane z waliny, izoleucyny, leucyny, fenyloalaniny, tyrozyny i 2-cyklopentenylglicyny z udziałem kompleksu multienzymatycznego, złożonego m.in. cytochromu P450 i UDPG-glukozylotransferazy (MORANT i współaut. 2008). Ich rozpad do HCN zapoczątkowywany jest przez β -glukozydazę, a większość roślin zawiera nieznaczne ilości wolnego HCN, pomimo równoczesnej obecności β -glukozydaz i glikozydów cyjanogennych (MALINOWSKI 2008). Dopiero uszkodzenie ich tkanek, np. przez żerujące owady, prowadzi do aktywacji procesu cyjanogenezy. Roślinożercy mogą do pewnego stopnia tolerować obecność glikozydów cyjanogennych w diecie, dzięki różnym mechanizmom ich detoksykacji lub dzięki sposobowi żerowania, minimalizującemu uszkodzenia tkanek roślin cyjanogennych (SIEGIEŃ 2007). Według URBAŃSKIEJ i współaut. (2002) mszyca czeremchowo-zbożowa wykorzystuje do detoksykacji HCN, generowanego w uszkodzonych liściach czeremchy, dwa enzymy: rodanazę (transferaza siarkowa tiosiarczan: cyjanek), przekształcającą cyja-

nian w mniej toksyczny tiocyjanian oraz syntazę β -cyjanoalaninową, włączającej HCN do puli aminokwasów.

GLUKOZYNOŁANY

Pod względem chemicznym glukozynolany są glikozydami, zawierającymi w cząsteczkach atomy siarki i azotu. Występują one w tkankach roślin należących do takich rodzin, jak: Capparaceae, Morningaceae, Resudaceae, Stegnospermaceae, a w szczególności Brassicaceae, gdzie najbardziej znanym ich przedstawicielem jest synigryna (LESZCZYŃSKI 2001). Szkodliwość glukozynolanów dla roślinożernych owadów wiąże się przede wszystkim z ich rozkładem przebiegającym z udziałem myrozynazy (tioglukozydaza) i epitiospecyficznych białek, w wyniku którego uwalniane są m.in. lotne izotiocyaniany i nityle, które w rezultacie dalszych przekształceń generować mogą HCN. Wytwarzanie i rozpad glukozynolanów w tkankach roślin indukowane są często uszkodzeniem tkanek roślinnych przez żerujące owady (TEXTOR i GERSHENZON 2009), przy czym wyniki dotychczasowych badań dowodzą, że izotiocyaniany są bardziej szkodliwe dla roślinożerców niż nityle (BUROW i WITTSTOCK 2009). MORANT i współaut. (2008) podają, że osobniki *T. ni* chętniej żerowały na roślinach wytwarzających nityle niż izotiocyaniany, a larwy bielinka rzepnika (*Pieris rapae* L.) neutralizowały izotiocyaniany przekształcając je w nityle. W przypadku interakcji między rzodkiewnikiem pospolitym a larwami *P. rapae*, obie wymienione grupy biomolekuł uczestniczyły zarówno w mechanizmach odporności bezpośredniej jak i pośredniej, oddziałując jako atraktanty na parazytoidy z gatunku *Cotesia rubecula* Marshall (MUMM i współaut. 2008). Ponadto wykazano, że wzrost zawartości alifatycznych i aromatycznych glukozynolanów w tkankach zaatakowanych roślin jest powią-

zany z kaskadami reakcji sygnalizowanych przez JA, SA i etylen. W ich efekcie nastąpiło zwiększenie transkrypcji genów zaangażowanych w biosyntezę wtórnych metabolitów (MEWIS i współaut. 2006, TEXTOR i GERSHENZON 2009).

CYKLICZNE KWASY HYDROKSAMOWE

Cykliczne kwasy hydroksamowe stanowią grupę wtórnych metabolitów heterocyklicznych, występujących przede wszystkim w tkankach młodych roślin z rodziny Poaceae (LESZCZYŃSKI 2001). Najważniejszymi ich przedstawicielami są: 2,4-dihydroksy-1,4-benzoksazyn-3-on (DIBOA), obecny w roślinach żyta i pszenżyta oraz 2,4-dihydroksy-7-metoksy-1,4-benzoksazyn-3-on (DIMBOA) występujący w kukurydzy i pszenicy. Cykliczne kwasy hydroksamowe w tkankach roślin występują na ogół w postaci 2-O- β -glukozydów, które pod wpływem β -glukozydazy ulegają hydrolizie do glukozy i wolnych aglikonów (NIEMEYER 1988). LESZCZYŃSKI i współaut. (1989) podają, że DIMBOA już w bardzo niewielkich stężeniach odwracalnie hamuje syntezę ATP i obniża aktywność ATP-azy. Wyższa zawartość tego związku może także hamować transport elektronów w łańcuchu oddechowym roślinożernych owadów. Według MUKANGANYANA i współaut. (2003), DIMBOA hamował aktywność esterazy i transferazy glutationowej w tkankach *R. padi*. Z drugiej strony żerowanie mszyc zbożowych z gatunków *R. padi* i *S. avenae* indukowało akumulację cyklicznych kwasów hydroksamowych w siewkach pszenic *Triticum aestivum* L. i *Triticum uniariatum* Vis. (LESZCZYŃSKI i DIXON 1990; GIANOLI i NIEMEYER 1997, 1998). Ponadto udowodniono, że wzrost zawartości DIMBOA w tkankach pszenicy zwyczajnej jest także wywołany przez egzogeny MJ (SLESIAK i współaut. 2001, BLASSIOLLI MORALES i współaut. 2008).

PODSUMOWANIE

W związku z dynamicznym rozwojem metod analitycznych możliwe są coraz bardziej wnikliwe badania nad rolą azotu i związków azotowych w interakcjach między roślinami i owadami roślinożernymi. Obecnie mniej uwagi poświęca się bezpośredniemu udziałowi azotu w kształtowaniu wartości pokarmowej roślin żywicielskich dla fitofagów. Wzrasta natomiast zainteresowanie biomo-

lekulami azotowymi, uczestniczącymi w molekularnych mechanizmach regulacji reakcji obronnych roślin. W prowadzonych badaniach większą uwagę zwraca się na cząsteczki sygnalizacyjne, kwasy nukleinowe oraz białka PR. Dominują zagadnienia związane z identyfikacją i badaniem ekspresji genów, uczestniczących w mechanizmach odporności konstytutywnej i indukowanej. Generują

one nowe pytania i wątpliwości, co indukuje dalszy, dynamiczny rozwój badań nad mole-

kularnym podłożem interakcji między roślinożercami i ich roślinami żywicielskimi.

NITROGEN COMPOUNDS IN INTERACTIONS BETWEEN PLANTS AND HERBIVOROUS INSECTS

Summary

The review is focused on role of nitrogenous plant compounds in chemical interactions between herbivorous insects and their host-plants. Nitrogen is an important factor that limits nutritive value of host plants for herbivores, since animal tissues contain its higher concentration. Especially important are such nitrogenous primary metabolites as amino acids, amides, proteins and some vitamins. On the other hand, many plants also synthesize nitrogenous secondary metabolites, i.e. non-protein amino acids, amines, alkaloids, cyanogenic glycosides, hydroxamic acids and glucosinolates, that may act as repellents,

deterrents and/or toxins for herbivores. At present, research in this area is focused on dual role of the nitrogen in plant nutritive value for herbivores and its participation in molecular mechanisms of regulation plant defense against pathogens and herbivores, including signaling molecules, nucleic acids and PR proteins. The basic problems concern identification and expression of genes participating in mechanisms of constitutive and/or induced resistance. Thus further studies on molecular background of the chemical interactions between plants and herbivores are needed.

LITERATURA

- ARCHER L. T., BYNUM E. D., ONKEN A. B., WENDIT C., W., 1995. *Influence of water and nitrogen fertilizer on biology of the Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae) on wheat*. Crop. Protect. 14, 165-169.
- BABIC B., POISSON A., DARWISH S., LACASSE J., MERKX-JACQUES M., DESPLAND E., BEDE J. C., 2008. *Influence of dietary nutritional composition on caterpillar salivary enzyme activity*. J. Insect Physiol. 54, 286-296.
- BANERJEE T. K., RAYCHUNDHURI D., 1987. *Correlation of nutritional changes with the reproductive potential of Aphis gossypii Glover on egg plants*. Proc. Indian Acad. Sci. Anim. Sci. 3, 239-244.
- BERLANDIER F. A., 1996. *Alkaloid level in narrow-leaved lupin, Lupinus angustifolius, influenced green peach aphid reproductive performance*. Entomol. Exp. Appl. 79, 19-24.
- BI J. L., BALLMER G. R., HENDRIX D. L., HENNEBERRY T. J., TOSCANO N. C., 2001. *Effect of cotton nitrogen fertilization on Bemisia argentifolii population and honeydew production*. Entomol. Exp. Appl. 99, 25-36.
- BLASSIOLLI MORALES M. C., BIRKETT M. A., GORDON-WEEKS R., SMART L. E., MARTIN J. L., PYE B. J., BROMILOW R., PICKETT J. A., 2008. *cis-jasmonate induced accumulation of defense compounds in wheat, Triticum aestivum*. Phytochemistry 69, 9-17.
- BRODBECK B. V., STAVISKY J., FUNDERBURG J. E., ANDERSEN P. C., OLSON S. M., 2001. *Flower nitrogen status and populations of Frankliniella occidentalis feeding on Lycopersicon esculentum*. Entomol. Exp. Appl. 99, 165-172.
- BURGES E. P. J., PHILIP B. A., CHRISTELER J. T., PAGE N. E. M., MARSHALL R. K., WOHLERS M. W., 2008. *Tri-tropic effects of transgenic insect-resistant tobacco expressing a protease inhibitor or biotin-binding protein on adults of the predatory carabid beetle Ctenognathus novaezelandiae*. J. Insect Physiol. 54, 518-528.
- BUROW M., WITTSTOCK U., 2009. *Regulation and function of specifier proteins in plants*. Phytochem. Rev. 8, 87-99.
- BYCZKOWSKI B., MACIOSZEK V. K., KONONOWICZ A. K., 2009. *Roślinne białka PR w odpowiedzi obronnej na atak przez grzyby nekrotroficzne*. Post. Biol. Kom. 36, 121-134.
- CAI Q. N., HAN Y., CAO Y. Z., HU Y., ZHAO X., BI J. L., 2009. *Detoxification of gramine by the cereal aphid Sitobion avenae*. J. Chem. Ecol. 35, 320-325.
- CAMARANO S., GONZÁLEZ A., ROSSINI C., 2009. *Biparential endowment of endogenous defensive alkaloids in Epilachna paenulata*. J. Chem. Ecol. 35, 1-7.
- CASTELLS E., BERENBAUM M. R., 2008. *Resistance of the generalist moth Trichoplusia ni (Noctuidae) to a novel chemical defense in the invasive plant Conium maculatum*. Chemoecology 18, 11-18.
- CHEN H., JONES D. A., HOWE G. A., 2006. *Constitutive activation of the jasmonate signaling pathway enhances the production of secondary metabolites in tomato*. FEBS Lett. 580, 2540-2546.
- CIEPIELA A. P., SEMPRUCH C., 1993. *Zmiany w zawartości wolnych aminokwasów i azotu rozpuszczonego w kłosach wybranych odmian pszenicy ozimej wywołane żerowaniem mszycy zbożowej*. Zesz. Nauk. WSRP w Siedlcach, Ser. Nauki Przyrodnicze 34, 117-129.
- CIEPIELA A. P., SEMPRUCH C., 1999. *Effect of L-3,4-dihydroxyphenylalanine, ornithine and γ-aminobutyric acid on winter wheat resistance to grain aphid*. J. Appl. Entomol. 123, 285-288.
- CIEPIELA A. P., SEMPRUCH C., 2000. *Udział różnych form azotu w odporności konstytucyjnej pszenicy jarego na mszycę zbożową*. Zesz. Biol. WSP Kielce 10, 81-90.
- COLLEBATCH G., EAST P., COOPER P., 2001. *Preliminary characterization of digestive proteases of the green mired, Creontiades dilutus (Hemiptera, Miridae)*. Insect Biochem. Mol. Biol. 31, 415-423.
- CONSTABEL P. C., YIP L., RYAN C. A., 1998. *Prosystemin from potato, black nightshade, and bell pepper: primary structure and biological activity of predicted systemin polypeptides*. Plant Mol. Biol. 36, 55-62.
- CRAFTS-BRANDNER S. J., 2002. *Plant nitrogen status rapidly alters amino acid metabolism and extraction in Bemisia tabaci*. J. Insect Physiol. 48, 33-41.
- DALE C., MORAN N. A., 2006. *Molecular interactions between bacterial symbionts and their hosts*. Cell 126, 453-465.
- DARWISH S. A., PAN L., IDE C., BEDE J. C., 2008. *Caterpillar-specific gene expression in the legume,*

- Medicago truncatula*. Plant Mol. Biol. Rep. 26, 12–31.
- DIXON A.F.G., 1971. The life-cycle and host preferences of the bird cherry-oat aphid *Rhopalosiphum padi* and their bearing on the theories of host alternation in aphids. Ann. Appl. Biol. 68, 147–153.
- DOMÍNGEZ D. M., REINA M., SANTOS-GUERRA A., SANTANA O., AGULLÓ T., LÓPEZ-BALBOA C., GONZÁLEZ-COLOMA A., 2008. Pyrrolizidine alkaloids from *Canarian endemic plants and their biological effect*. Bioch. System. Ecol. 36, 153–166.
- DOUGLAS A. E., 2006. Phloem-sap feeding by animals: problems and solutions. J. Exp. Bot. 57, 747–754.
- DOUGLAS A. E., 2007. Symbiotic microorganisms: untapped resources for insect pest control. Trends Biotech. 25, 338–342.
- DOWELL R.V., STEINBERG B., 1990. Influence of host plant characteristics and nitrogen fertilization on development and survival of immature *citrus blackfly*, *Aleurocanthus woglumi* Ashby (Hom., Aleyrodidae). J. Appl. Ent. 109, 113–119.
- EDGAR J.A., BOPPRE M., KAUFMANN E., 2007. Insect-synthesized retronecine ester alkaloids: Precursor of the common arctiine (Lepidoptera) pheromone *hydroxydanaidal*. J. Chem. Ecol. 33, 2266–2280.
- FACCHINI P. J., 1998. Temporal correlation of tyramine metabolism with alkaloid and amide biosynthesis in elicited opium poppy cell cultures. Phytochemistry 49, 481–490.
- FACCHINI P. J., HUBNER-ALLANACH K. L., TARI L. W., 2000. Plant aromatic L-amino acid decarboxylases: evolution, biochemistry, regulation and metabolic engineering applications. Phytochemistry 54, 121–138.
- FERNIE A. R., 2007. The future of metabolic phytochemistry: larger number of metabolites, higher resolution, greater understanding. Phytochemistry 68, 2861–2880.
- GIANOLI E., NIEMEYER H. M., 1997. Characteristics of hydroxamic acids induction in wheat triggered by aphid infestation. J. Chem. Ecol. 23, 2695–2705.
- GIANOLI E., NIEMEYER H. M., 1998. Allocation of herbivory-induced hydroxamic acids in the wild wheat *Triticum uniaristatum*. Chemoecology 8, 19–23.
- GNIAZDOWSKA A., 2004. Rola tlenku azotu w metabolizmie komórki roślinnej. Kosmos 53, 343–353.
- GOGGIN F. L., 2007. Plant-aphid interactions: molecular and ecological perspectives. Cur. Opinion Plant Biol. 10, 399–408.
- GUILLET G., DE LUCA V., 2006. Wound inducible biosynthesis of phytoalexin hydroxycinnamic acid amides of tyramine in tryptophan and tyrosine decarboxylase transgenic tobacco lines. Plant Physiol. 137, 692–699.
- HARREVIJN P., 1970. Reproduction of the aphid *Myzus persicae* related to the mineral nutrition of potato plants. Entomol. Exp. Appl. 13, 307–319.
- HEIL M., 2009. Damaged-self recognition in plant herbivore defence. Trends Plant Sci. 14, 356–363.
- HOLLISTER B., MULLIN C. A., 1998. Behavioral and electrophysiological dose-response relationships in adult western corn rootworm (*Diabrotica virgifera* LeConte) for host pollen amino acids. J. Insect Physiol. 44, 463–470.
- HUREJ M., 1990. Wpływ nawożenia mineralnego na mszyce. Ochr. Rośl. 10, 7–10.
- JANSSON R. K., ELLIOTT G. C., SMOLOWITZ Z., COLE R. H., 1987. Influence of cultivar maturity time and foliar nitrogen on population growth of *Myzus persicae* on potato. Entomol. Exp. Appl. 43, 297–300.
- JOERN A., BEHMER S., 1997. Importance of dietary nitrogen and carbohydrates to survival, growth, and reproduction in adults of the grasshopper *Ageneotettix deorum* (Orthoptera: Acrididae). Oecologia 112, 201–208.
- JONES M. E., PAINE T. D., 2006. Detecting changes in insect herbivore communities along a pollution gradient. Environ. Pollution 143, 377–387.
- JONES M. E., PAINE T. D., FENN M. E., 2008. The effect of nitrogen addition on oak foliage and herbivore communities at sites with high and low atmospheric pollution. Environ. Pollution 151, 434–442.
- KAAKEH W., PFEIFFER D. G., MARINI R. P., 1992. Combined effects of spirea aphid (Homoptera: Aphididae) and nitrogen fertilization on net photosynthesis, total chlorophyll content, and greenness of apple leaves. J. Econ. Ent. 85, 939–946.
- KULMA A., SZOPA J., 2007. Catecholamines are active compounds in plants. Plant Sci. 172, 433–440.
- KUSANO T., YAMAGUCHI K., BARBERICH T., TAKAHASHI Y., 2007. Advances in polyamine research in 2007. J. Plant Res. 120, 345–350.
- KUSANO T., BARBERICH T., TATEDA C., TAKAHASHI Y., 2008. Polyamines: essential factors for growth and survival. Planta 228, 367–381.
- LARSSON K. A. E., ZETTERLUND I., DELP G., JONSSON L. M. V., 2006. N-methyltransferase involved in gramine biosynthesis in barley: Cloning and characterization. Phytochemistry 67, 2002–2008.
- LAWRENS S. D., NOVAK N. G., JU C. J. T., COOKE J. E. K., 2008. Potato, *Solanum tuberosum*, defense against Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata* (Say): Microarray gene expression profiling of potato by Colorado potato beetle regurgitant treatment of wounded leaves. J. Chem. Ecol. 34, 1013–1025.
- LESZCZYŃSKI B., 2001. Charakterystyka oddziaływań środowiskowych. [W:] Wybrane zagadnienia z biochemii i toksykologii środowiska. Wyd. Akademii Podlaskiej, Siedlce 105–155.
- LESZCZYŃSKI B., DIXON A. F. G., 1990. Resistance of cereals to aphids: Interaction between hydroxamic acids and aphid *Sitobion avenae* (Homoptera: Aphididae). Ann. Appl. Biol. 117, 21–30.
- LESZCZYŃSKI B., WRIGHT L. C., BĄKOWSKI T., 1989. Effect of secondary plant substances on winter wheat resistance to grain aphid. Entomol. Exp. Appl. 52, 135–139.
- MALINOWSKI H., 2008. Mechanizmy obronne roślin drzewiastych przed szkodliwymi owadami. Progress Plant Protect. 48, 25–33.
- MEVI-SCHUTZ J., ERHARDT A., 2003. Larval nutrition affects female nectar amino acid preference in the map butterfly (*Araschnia levana*). Ecology 84, 2788.
- MEWIS I., TOKUHISA J. G., SCHULZ J. C., APPEL H. M., ULRICH C., GARSHENZON J., 2006. Gene expression and glucosinolate accumulation in *Arabidopsis thaliana* in response to generalist and specialist herbivores of different feeding guilds and the role of defense signaling pathways. Phytochemistry 67, 2450–2462.
- MIJASAKA S. C., HANSEN J. D., McDONALD T. G., FUKUMOTO G. K., 2007. Effect of nitrogen and potassium in kikuyu grass on feeding by yellow sugarcane aphid. Crop. Protect. 26, 511–517.
- MOLOI M.J., VAN DER WESTHUSEN A.J., 2009. Involvement of nitric oxide during the Russian wheat aphid resistance. South African J. Bot. 75, 412.
- MORALES M., PERFECTO I., FERGUSON B., 2001. Traditional fertilization and its effect on corn insect

- populations in the Guatemalan highlands. *Agric. Ecosyst. Environ.* 84, 145–155.
- MORAN N. A., 2006. *Symbiosis*. *Cur. Biol.* 16, 866–871.
- MORANT A. V., JØRGENSEN K., JØRGENSEN C., PAQUETTE S. M., SÁNCHEZ-PÉREZ R., MØLLER B. R., BAK S., 2008. β -glucosidases as detonators of plant chemical defense. *Phytochemistry* 69, 1795–1813.
- MORTIARI M. R., CUNHA A. O. S., FERREIRA L. B., FERREIRA DOS SANTOS W., 2007. *Neurotoxins from invertebrates as anticonvulsants: from basic research to therapeutic application*. *Pharmacol. Therap.* 114, 171–183.
- MUKANGANYANA S., FIGYEROA C. C., HASLER J. A., NIEMEYER H. M., 2003. *Effect of DIMBOA on detoxification enzymes of the aphid Rhopalosiphum padi (Homoptera: Aphididae)*. *J. Insect. Physiol.* 49, 223–229.
- MUMM R., BUROW M., BUKOWINSKINE'KISS G., KAZANZIDOU E., WITTSTOCK U., DICKE M., GERSHENZON J., 2008. *Formation of simple nitriles upon glucosinolate hydrolysis affect direct and indirect defense against specialist herbivore, Pieris rapae*. *J. Chem. Ecol.* 34, 1311–1321.
- NARVÁEZ-VÁSQUEZ J., OROZCO-CÁRDENAS M., RYAN C. A., 2007. *Systemic wound signaling in tomato leaves is cooperatively regulated by systemin and hydroxyproline-rich glycopeptide signals*. *Plant Mol. Biol.* 65, 711–718.
- NIEMEYER H. M., 1988. *Hydroxamic acids (4-hydroxy-1,4-benzoxazin-3-ones, defense chemicals from Graminae)*. *Phytochemistry* 27, 3349–3357.
- NUGROHO L. H., PELTENBURG-LOOMAN A. M. G., DE VOS H., VERBERNE C., VERPOORTE R., 2002. *Nicotine and related alkaloids accumulation in constitutive salicylic acid producing tobacco plants*. *Plant Sci.* 162, 575–581.
- PARÍS R., LAMATTINA L., CASALONGUÉ C. A., 2007. *Nitric oxide promotes the wound-healing response of potato leaflets*. *Plant Physiol. Biochem.* 45, 80–86.
- PEARCE G., MARCHAND P. A., GRISWOLD J., LEWIS N. G., RYAN C. A., 1998. *Accumulation of feruloyltyramine and p-coumaroyltyramine in tomato leaves in response to wounding*. *Phytochemistry* 47, 659–664.
- PENNINGS S. C., SIMPSON J. C., 2008. *Like herbivores, parasitic plants are limited by host nitrogen content*. *Plant Ecol.* 196, 245–250.
- RAJU S., JAYALAKSHMI S. K., SREERAMULU K., 2009. *Differential elicitation of proteases and protease inhibitors in two different genotypes of chickpea (Cicer arietinum) by salicylic acid and spermine*. *J. Plant Physiol.* 166, 1015–1022.
- RASMANN S., AGRAVAL A. A., 2009. *Plant defense against herbivory: progress in identifying synergism, redundancy, and antagonism between resistance traits*. *Cur. Opin. Plant Biol.* 12, 473–478.
- SANDSTRÖM J., MORAN N., 1999. *How nutritionally imbalanced is phloem sap for aphids?* *Ent. Exp. Appl.* 91, 203–210.
- SCHÜTZ K., BONKOWSKI M., SCHEU S., 2008. *Effects of Collembola and fertilizers on plant performance (Triticum aestivum) and aphid reproduction (Rhopalosiphum padi)*. *Basic Appl. Ecol.* 9, 182–188.
- SEALS J., MATHYS J., DE CONINK B. M. A., CAMMUE B. P. A., BOLLE M. F. C., 2008. *Plant pathogenesis-related (PR) proteins: a focus on PR peptides*. *Plant Physiol. Biochem.* 46, 941–950.
- SEMPRUCH C., 2008. *Znaczenie amin alifatycznych i aromatycznych w reakcjach obronnych roślin przeciwko patogenom*. *Post. Nauk Rol.* 334, 17–33.
- SEMPRUCH C., 2009. *Znaczenie aminokwasów w interakcjach mszyce-rośliny żywicielskie*. *Post. Nauk Rol.* 338, 89–101.
- SEMPRUCH C., CIEPIELA A. P., 1998. *Free amino acids of winter triticale ears settled by grain aphid*. *Aphids and Other Homopterous Insects* 6, 55–62.
- SEMPRUCH C., CIEPIELA A. P., 1999. *The role of nitrogen and soluble carbohydrates in the interactions between selected species of winter cereals, and grain aphid (Sitobion avenae (F.), Homoptera: Aphididae)*. *Ann. Agricult. Sci., Ser. E, Plant Prot.* 28, 29–35.
- SEMPRUCH C., CIEPIELA A. P., 2002. *Changes in content and amino acids composition of protein of winter triticale selected cultivars caused by grain aphid feeding*. *J. Plant Protec. Res.* 1, 37–44.
- SEMPRUCH C., STARCZEWSKI J., CIEPIELA A. P., 2004. *Liżebność mszyc zbożowych na pszenżycie ozimym uprawianym w warunkach zróżnicowanego nawożenia azotowego*. *Ann. UMCS, Sec. E* 59, 1771–1778.
- SEMPRUCH C., CIEPIELA A. P., ZAWADZKA W., FRAŃCZUK A., 2007. *The activity of nitrate reductase and nitrite reductase in winter triticale cultivars with different susceptibility to cereal aphids*. *Pestycydy* 1–2, 47–54.
- SEMPRUCH C., LESZCZYŃSKI B., CHRZANOWSKI G., KOZIK A., 2009. *The influence of selected plant polyamines on feeding and survival of grain aphid (Sitobion avenae F.)*. *Pestycydy (w druku)*.
- SHIELDS V. D. C., SMITH K. P., ARNOLD N. S., GORDON I. M., SHOW T. E., WARANCH D., 2008. *The effect of varying alkaloid concentrations on the feeding behavior of gypsy moth larvae, Lymantria dispar (L.) (Lepidoptera: Lymantridae)*. *Arthropod-Plant Interact.* 2, 101–107.
- SIEGIŃ I., 2007. *Cyjanogeneza u roślin i jej efektywność w ochronie roślin przed atakiem roślinożerców i patogenów*. *Kosmos* 56, 274–275.
- SILFVER T., ROININEN H., OKSANEN E., ROUSI M., 2009. *Genetic and environmental determinants of silver birch growth and herbivore resistance*. *Forest Ecol. Manag.* 257, 2145–2149.
- SIMONS L., BULTMAN T. L., SULLIVAN T. J., 2008. *Effects of methyl jasmonate and an endophytic fungus on plant resistance to insect herbivores*. *J. Chem. Ecol.* 34, 1511–1517.
- SLESÁK E., SLESÁK M., GABRYŚ B., 2001. *Effect of methyl jasmonate on hydroxamic acids content, protease activity, and bird cherry-oat aphid Rhopalosiphum padi (L.) probing behavior*. *J. Chem. Ecol.* 27, 2529–2543.
- SPRAWKA I., 2008. *Toxicity of phytohemagglutinin (PHA) from Phaseolus vulgaris L., to the bird cherry-oat aphid (Rhopalosiphum padi L.)*. *Pesticides* 3–4, 101–108.
- STARCK Z., 2006. *Różnorodność funkcji węgla i azotu w roślinach*. *Kosmos*, 55, 243–257.
- TEXTOR S., GERSHENZON J., 2009. *Herbivore induction of the glucosinolate-myrosinase defense system: major trends, biochemical bases and ecological significance*. *Phytochem. Rev.* 8, 149–170.
- THROOP H. L., LERDAU M. T., 2004. *Effects of nitrogen deposition on insect herbivory: implications for community and ecosystem processes*. *Ecosystem* 7, 109–133.
- URBAŃSKA A., NIRAZ S., 1990. *Anatomiczne i biochemiczne aspekty żerowania mszyc zbożowych*. *Zesz. Prob. Post. Nauk Rol.* 392, 200–213.
- URBAŃSKA A., LESZCZYŃSKI B., MATOK H., DIXON A. F. G., 2002. *Cyanide detoxifying enzymes of bird cherry-oat aphid*. *EJPAU* 5, Issue 2 (<http://www.ejpaau.media.pl/volume5/issue2/biology/art-01.html>).

- VASCONCELOS I. M., OLIVEIRA J. T. A., 2004. *Antinutritional properties of plant lectins*. Toxicon 44, 385–403.
- WALLER F., MUKHERJEE K., DESHMUKH S. D., ACHATZ B., SHARMA M., SCHÄFER P., KOGEL K. H., 2008. *Systemic and local modulation of plant responses by Piriformospora indica and related Sebacinales species*. J. Plant Physiol. 165, 60–70.
- WANG J. W., ZHENG L. P., WU J. Y., TAN R. X., 2006. *Involvement of nitric oxide in oxidative burst, phenylalanine ammonia-lyase activation and Taxol production induced by low-energy ultrasound in Taxus yunnanensis cell suspension cultures*. Nitric Oxide 15, 351–358.
- WEARING C. H., 1972. *Responses of Myzus persicae and Brachicoryne brassicae to leaf age and water stress in Brussels sprout grown in pots*. Entomol. Exp. Appl. 15, 61–80.
- WILKINSON T. L., DOUGLAS A. E., 2003. *Phloem amino acids and the host plant range of the polyphagous aphid, Aphis fabae*. Ent. Exp. Appl. 106, 103–113.
- ZAVALA J. A., CASTEEL C. L., NABITY P. D., BERENBAUM M. R., DELUCIA E. H., 2009. *Role of cysteine proteinase inhibitors in preference of Japanese beetles (Popillia japonica) for soybean (Glycine max) leaves of different ages and grown under elevated CO₂*. Oecologia 161, 35–41.
- ZHAO L. Y., CHEN J. L., CHENG D. F., SUN J. R., LIU Y., TIAN Z., 2009. *Biochemical and molecular characterization of Sitobion avenae-induced wheat defense responses*. Crop Prot. 28, 435–442.
- ZHOU X., CARTER N., 1992. *Effect of temperature, feeding position and crop growth stage on population dynamic of the rose-grain aphid, Metopolophium dirhodum (Hemiptera: Aphididae)*. Ann. Appl. Biol. 121, 27–37.
- ZŁOTEK U., WÓJCIK W., 2007. *Wybrane aspekty nabywania u roślin odporności typu SAR*. Acta Sci. Pol. ser. Biotechnologia 6, 3–12.
- ZOGRAFOU E. N., TSIROPOULOS G. J., MARGARITIS L. H., 1998. *Survival, fecundity and fertility of Bactrocera oleae, as affected by amino acid analogues*. Ent. Exp. Appl. 87, 125–132.
- ZÚÑIGA G. E., VARANDA E. M., CORUREA L. J., 1988. *Effect of gramine on the feeding of the aphids Shizaphis graminum and Rhopalosiphum padi*. Entomol. Exp. Appl. 47, 161–165.
- ŻURĄŃSKA J., KORDAN B., ŚLEDŹ D., 1994. *Badania nad występowaniem mszyc (Homoptera, Aphididae) na trawach nasiennych*. Pol. Pismo Ent. 63, 369–378.