Salicilna kiselina: biosinteza, metabolizam i i fiziološka uloga

Jakovac, Elizabeta

Undergraduate thesis / Završni rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Department of biology / Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku, Odjel za biologiju**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:181:094637

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

ODJEL ZA BIOLOGIJU
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku

Repository / Repozitorij:

Repository of Department of biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

zir.nsk.hr

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU

dabar
DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJI

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
ODJEL ZA BIOLOGIJU
Preddiplomski studij biologije

Elizabeta Jakovac

Salicilna kiselina: biosinteza, metabolizam i fiziološka uloga u biljkama

Završni rad

Mentor: doc.dr. sc. Vesna Peršić

Osijek, 2017. godina

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA
Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku Odjel za biologiju
Završni rad
Preddiplomski studij biologije

Znanstveno područje: Prirodne znanosti
Znanstveno polje: Biologija

Salicilna kiselina: biosinteza, metabolizam i fiziološka uloga u biljkama

Elizabeta Jakovac

Rad je izrađen: Zavod za biokemiju i ekofiziologiju biljaka, Odjel za biologiju, Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku
Mentor: doc.dr.sc. Vesna Peršić

Sažetak: Salicilna kiselina pripada skupini fenolnih fitohormona visoke metaboličke i fiziološke aktvnosti. Dva su predložena puta biosinteze salicilne kiseline u biljaka: od fenilalanina deriviranim korizmatom pretvara se u trans-cimetnu kiselinu pomoću fenilalanin-amonij-lijaze (PAL) i iz korizmata, putem izokorizmata u reakciji s dva koraka koja je katalizirana izokorizmat sintazom (ICS) i izokorizmat-piruvat lijazom (IPL). Jednom sintetizirana salicilna kiselina u biljkama prolazi kroz niz biološki relevantnih kemijskih modifikacija uključujući glukoziliranje, metiliranje i konjugaciju aminokiselina. Salicilna kiselina ima važnu ulogu u različitim procesima u biljkama kao što su rast i razvoj, termogeneza, fotosinteza, cvjetanje, unos i transport iona te stomatalna transpiracija. Salicilna kiselina ima ključnu ulogu kao signalna molekula u abiotičkom i biotičkom odgovoru na stres. Uključena je u endogenu signalizaciju, posredujući u obrani biljaka od patogena inducirajući proizvodnju proteina povezanih s patogenezom. Uključuje sustavnu stečenu otpornost u kojoj patogeni napad na jedan dio biljke inducira otpornost na drugim dijelovima, a prevođenjem salicilne kiseline u metil salicilat, hlapljivi ester, signal se može premjestiti i u obližnje biljke.

Broj stranica: 18
Broj slika: 9
Broj literaturnih navoda: 25
Jezik izvornika: Hrvatski

Ključne riječi: salicilna kiselina, biosinteza, metabolizam, rast, razvoj, fotosinteza, respiracija, signalna molekula, sustavna stečena otpornost

Rad je pohranjen u: knjižnici Odjela za biologiju Sveučilišta Josipa Jurja Strossmayera u Osijeku i u Nacionalnoj sveučilišnoj knjižnici u Zagrebu, u elektroničkom obliku, te je objavljen na web stranici Odjela za biologiju

BASIC DOCUMENTATION CARD
Josip Juraj Strossmayer University of Osijek Bachelor's thesis Department of Biology
Undergraduate studies in Biology

Scientific Area: Natural science
Scientific Field: Biology

Salicylic acid: Biosynthesis, Metabolism and Physiological Role in Plants

Thesis performed at: Subdepartment of plant ecophysiology and biochemistry, Department of Biology,Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

Supervisor: Vesna Peršić, Assistant Professor

Abstract: Salicylic acid (SA) is a phenolic phytohormone high metabolic and physiological activity. Two pathways of SA biosynthesis have been proposed in plants: from cinnamate produced by the activity of phenylalanine ammonia lyase (PAL) and from chorismate through two reactions catalysed by isochorismate synthase (ICS) and isochorismate pyruvate lyase (IPL).Once synthesized salicylic acid in plants passes through a series of biologically relevant chemical modification including glycosylation, methylation, and amino acid conjugation. Salicylic acid has physiological roles in plant growth and development, photosynthesis, transpiration, thermogenesis, flowering, ion uptake and transport and stomatal transpiration. SA is an important signal molecule in plants, mediating in plant defence against pathogens. It plays a role in the resistance to pathogens by inducing the production of pathogenesis-related proteins. It is involved in the systemic acquired resistance in which a pathogenic attack on one part of the plant induces resistance in other regions. The signal can also move to nearby plants by salicylic acid being converted to the volatile ester, methyl salicylate.

Number of pages: 18
Number of figures: 9
Number of references: 25
Original in: Croatian

Keywords: salicylic acid, biosynthesis, metabolism, growth, development, photosynthesis, respiration, signal molecule, systemic acquired resistance

Thesis deposited in: Library of the Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek and in the National University Library in Zagreb in an electronic form. It is also available on the web site of Department of Biology, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek

Sadržaj

1. Uvod 1

2. Osnovni dio 3

2.1. Biosinteza salicilne kiseline 3

2.2. Metabolizam salicilne kiseline 4

2.3. Fiziološke uloge salicilne kiseline 5

2.3.1. Učinak SA na rast i razvoj biljaka 5

2.3.2. Učinak SA na fotosintezu 7

2.3.3. Učinak SA na respiraciju 8

2.3.4. Učinak SA na proizvodnju topline u biljkama 8

2.3.5. Učinak SA na produkciju etilena 8

2.3.6. Učinak SA na cvjetanje biljaka 9

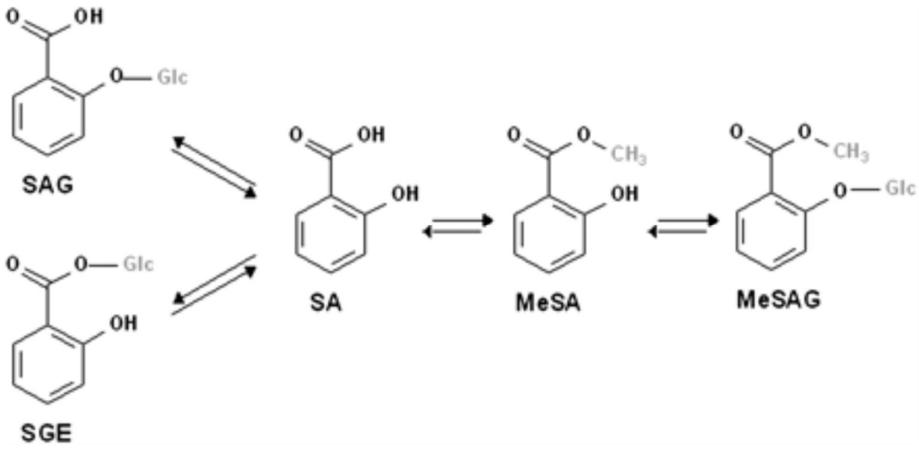
2.3.7. Učinak SA u borbi protiv patogena 10

3. Zaključak 14

4. Popis literature 15

1. UVOD

Zdrave biljke rezultat su integriranih metaboličkih funkcija kojima upravljaju brojni čimbenici, uključujući hormone poput auksina, giberelina, citokinina, apscizinske kiseline, etilena i brasinosteroida sa svojim dobro poznatim regulatornim funkcijama. Međutim, postoje spojevi koji se ne mogu isključiti iz popisa hormona poput fenolnihfitohormona, kao što je salicilna kiselina, zatimpoliamina i jasmonata upravo zbog njihovog sudjelovanja u metabolizmu biljaka. Salicilna kiselina(prema lat. salix, genitiv salicis: vrba, jer je prvi put dobivena iz vrbine kore)je organska kiselina koja nastaje biosintezom iz aminokiseline fenilalanina. Svrstana je u skupinu fenolnihfitohormonačija se struktura sastoji od aromatskog prstena na kojeg je vezana hidroksilna skupina ili njeni funkcionalni derivati te imaju različite uloge u metabolizmu biljaka. Nalazi se u prirodi u mnogim biljkama (biljni hormon), i to slobodna, vezana na šećere ili u obliku estera (Slika 1).

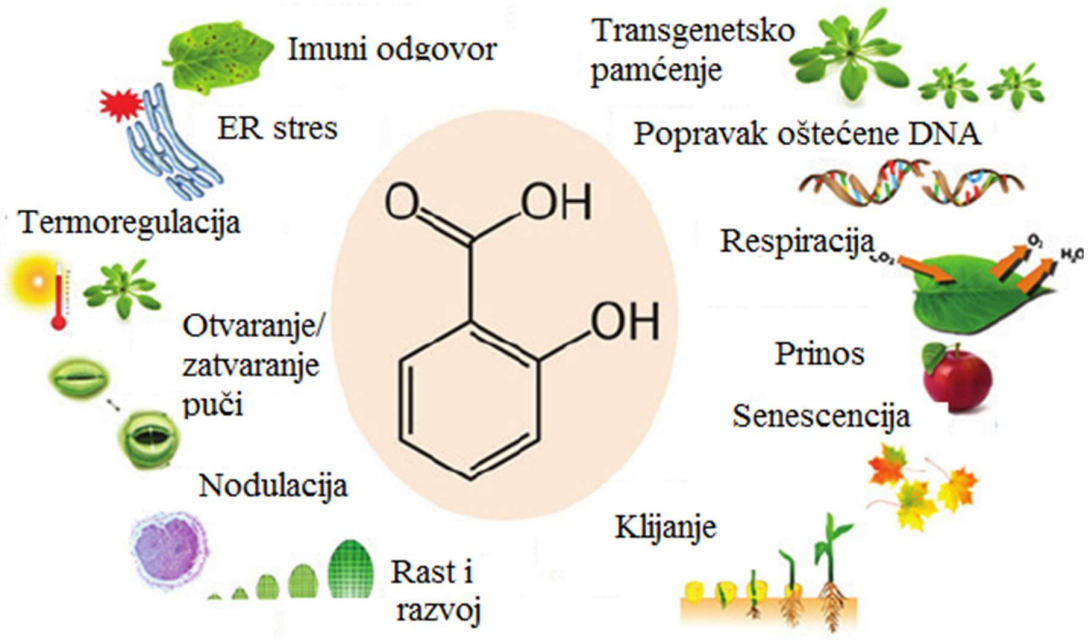


Slika 1. Struktura salicilne kiseline i njenih derivata. SA, salicilna kiselina; SAG, SA 2-O-β-D-glukozid; SGE, SA glukozni ester; MeSA, metilsalicilat; MeSAG, metil salicilat 2-O-β-D-glukoze. (Izvor: Rivas-San Vincente i Plasencia, 2011)

U prošlosti su mnoge drevne civilizacije koristile dijelove ljekovitih biljaka poput kore vrbe za liječenje različitih stanja. Naime, farmakološki, ekstrakt kore vrbe pokazuje protuupalna, antireumatska, antipiretska i antiseptička svojstva. Godine 1828. u Njemačkoj je Johan Andreas Buchner iz kore vrbe izolirao bijeli prašak gorkog okusa koji je nazvao salicin, po sastavu β-glukozid sa aglikonskimsaligeninom. Deset godina kasnije Raffaele Piria pretvara salicin u šećer i kiselinu koju naziva salicilna kiselina (SA), a 1859. HermannKolbe i

suradnici kemijski sintetiziraju salicilnu kiselinu. Nakon toga, 1897. godine kemičar Felix Hoffmanza Bayer proizvodi sintetski derivat salicilne kiseline, acetilsalicilnu kiselinu (ASA), također poznatu kao aspirin (Vlotetal., 2009).

Dugo se smatralo da salicilna kiselina, i drugi fenolni spojevi sintetizirani u biljkama, nisu bitni za primarne procese i stoga su se nazivali sekundarnim metabolitima (Hadaceki sur., 2011). Međutim, istraživanja su pokazala da salicilnu kiselinu karakterizira visoka metabolička i fiziološka aktivnost. Salicilna kiselina ne samo da regulira različite aspekte rasta i razvoja biljaka, već ima i ključnu ulogu kao signalna molekula u abiotičkom i biotičkom odgovoru na stres. Također, ima ulogu u fotosintezi, transpiraciji, apsorpciji i transportu ionate inducira specifične promjene u anatomiji lista i strukturi kloroplasta (Slika 2).

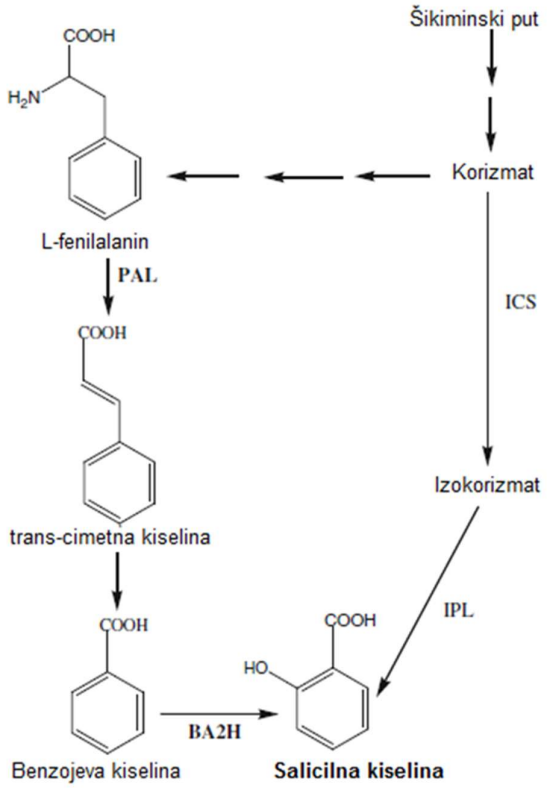


Slika 2. Biološke uloge salicilne kiseline u biljaka (Preuzeto i modificirano iz Liu i sur., 2015)

2. OSNOVNI DIO

2.1.Biosinteza salicilne kiseline

Salicilna kiselina je prirodni derivat cimetne kiseline,međuprodukta u putu šikiminske kiseline u kojem nastaju fenolne komponente. U biljkama se sintetizira kroz dva različita enzimska puta, koja zahtijevaju korizmat kao primarni metabolit (Bandurska i Stroiński, 2005; Slika 3). Prvi je sinteza salicilne kiseline lokalizirane u kloroplastu iz korizmata, putem izokorizmata u reakciji s dva koraka koja je katalizirana izokorizmatsintazom i izokorizmat-piruvatlijazom (Wildermuth i sur., 2001). Taj put je izuzetno bitan za biljke jer im omogućava obranu od patogena.



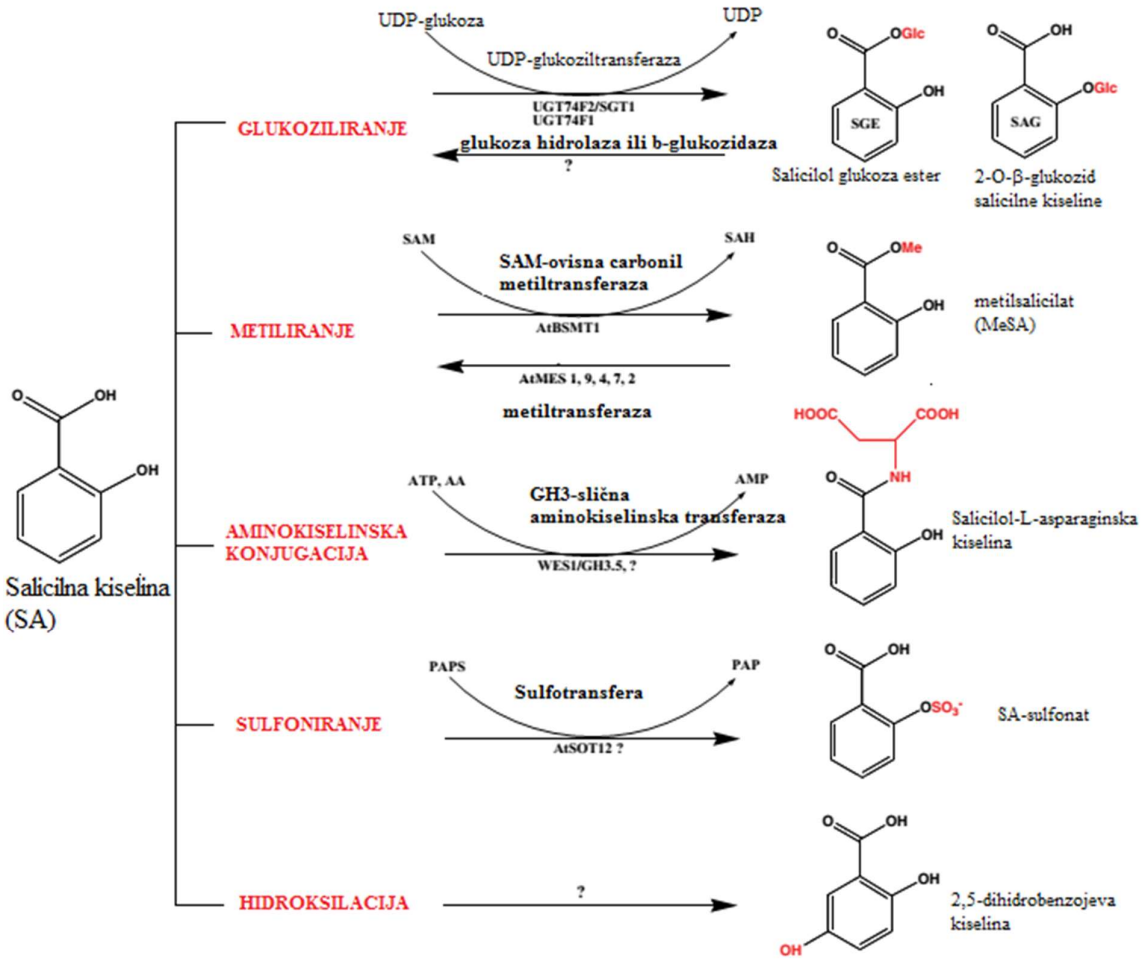
Slika 3. Pojednostavljeni shematski prikaz biosintetskog puta salicilne kiseline (SA). Kratice: PAL- fenilalanin-amonij-lijaza, ICS- izokorizmatsintaza, IPL- izokorizmat-piruvatlijaza, BA2H- benzoil-2-hidroksilaza (Preuzeto i modificirano iz Bandurska i Stroiński, 2005)

Alternativni put biosinteze salicilne kiseline je put fenilalanina koji je lokaliziran u citoplazmi. Fenilalanin (Phe) deriviran korizmatom pretvara se u trans-cimetnu kiselinu (t-CA) pomoću fenilalanin-amonij-lijaze (PAL). Zatim slijedi dekarboksilacija bočnog lanca t-

CA i stvaranje benzojeve kiseline (BA) koja podliježe hidroksilaciji aromatskog prstena na ugljikovom atomu C-2 te uz benzoil-2-hidroksilazu (BA2H) nastaje salicilna kiselina (Slika 3).

2.2.Metabolizam salicilne kiseline

Jednom sintetizirana salicilna kiselina u biljkama prolazi kroz niz biološki relevantnih kemijskih modifikacija uključujući glukoziliranje, metiliranje i konjugaciju aminokiselina (Slika 4). Tako su glukozni esteri salicilne kiseline pronađeni u kulturama soje, graha i suncokreta te u mnogim drugim višim biljkama(Dempsey i sur. 2011).Enzim SA-glukoziltransferazakatalizira metabolizam salicilne kiselinedo ß-glukozida-salicilne kiseline.



Slika 4. Modifikacije salicilne kiseline u biljkama. (Preuzeto i modificirano iz Dempsey i sur, 2011)

Iako je SA-2-O-ß-D-glukozid (SAG) dominantan konjugat u biljkama, i ostali metaboliti se mogu stvarati esterifikacijom ili dodatnom hidroksilacijom aromatskog prstena, npr. 2,3-dihidroksibenzojeva kiselina (O-pirokatehinska) i 2,5-dihidroksibenzojeva kiselina (genistinska) u listovima vrsta *Astilbechinensis*L. i *Lycopersiconesculentum* L. (Dempsey i sur. 2011).

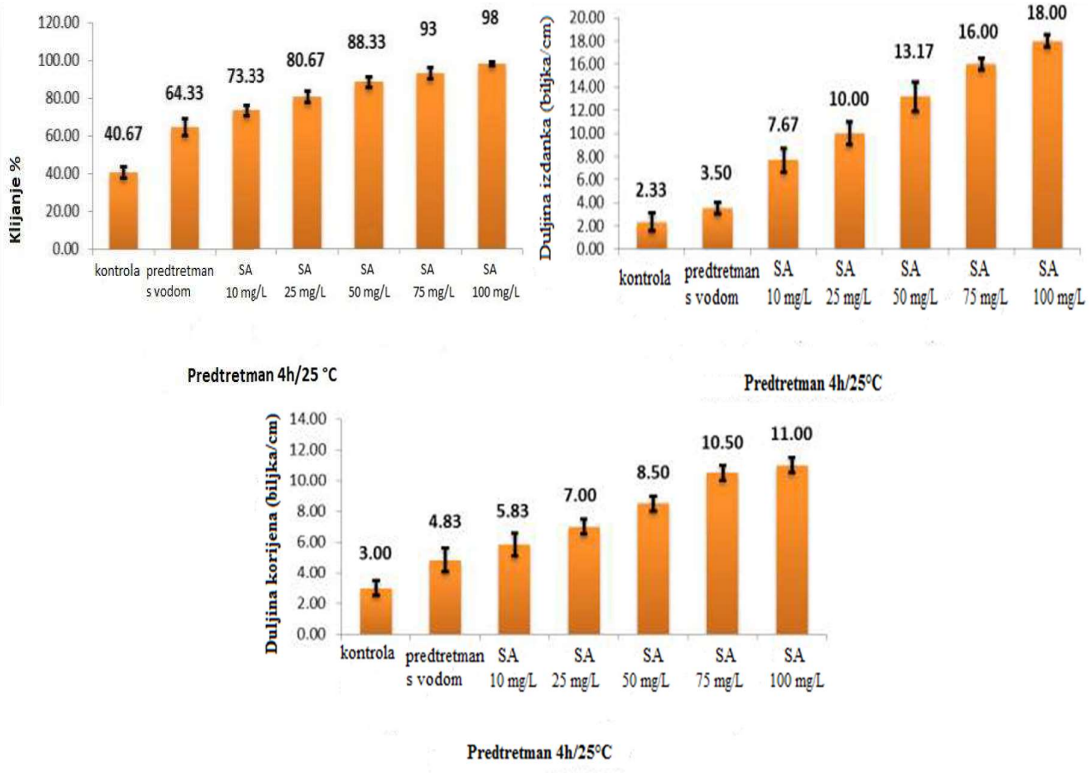
2.3.Fiziološke ulogesalicilne kiseline

Salicilna kiselina je ubikvitorna signalna molekula uključena u različite fiziološke procese, kao što je klijanje, cvjetanje, otvaranje/zatvaranje puči i patogeneza (Lucas i Lee, 2004). Endogena SA je ključni signal uključen u aktivaciju odgovora biljke na napade gljiva, bakterija i virusa. Također, salicilna kiselina ima važnu ulogu u rastu biljaka, termogenezi, cvjetanju i unosu hranjivih tvari. Utječe na biosintezu etilena, zatvaranje i otvaranje puči te također poništava učinke apscizinske kiseline (ABA) na opadanje listova (Taiz i Zeiger, 2010).

2.3.1. Učinak SA na rast i razvoj biljaka

Salicilna kiselina je u središtu intenzivnog istraživanja zbog svoje ključne uloge u regulaciji fizioloških i biokemijskih procesa tijekom cijelog životnog vijeka biljaka te zbog ključne uloge u reguliranju njihovog rasta. Uloga SA u klijavosti sjemena je diskutabilna jer postoje nedosljedni rezultati koji upućuju na to da može inhibirati klijavost ili povećati vigor sjemena. Dokazano je da učinak salicilne kiseline na rast ovisi o biljnoj vrsti, razvojnoj fazi i koncentraciji salicilne kiseline (Slika 5).

Primjerice, kod Arabidopsisa koncentracije SA od 1 mM odgađaju ili čak inhibiraju klijavost. Koncentracije od 0,25 mM SA inhibiraju klijavost sjemena ječma, dok je klijanje kukuruza potpuno inhibirano SA u rasponu od 3 do 5 mM. S druge strane, povećanje klijavosti i rasta klijanaca zabilježeni su kod bamije (*Abelmoschusesculentus*L.), Slika 5, pšenice (*Triticumaestivum* L.) i arabidopsisa (*Arabidopsisthaliana* L.), kada je sjeme tretirano namakanjem u salicilnoj kiselini prije sijanja(Hayat i sur., 2013, Lee i sur., 2014, Hussein, 2015).



Slika 5. Učinak pred-tretmana sjemenki salicilnom kiselinom na % klijavosti, duljinu izdanaka i korijena bamije,*Abelmoschusesculentus*L.(Preuzeto i modificirano iz Hussein, 2015)

Prema tome, kada se primjenjuju niske koncentracije egzogeno, SA značajno poboljšava klijavost sjemena i rast klijanaca (Slika 5), a osobito u različitim uvjetima abiotskog stresa (Slika 6).



Slika 6.Rast klijanacaTorreyagrandiscv. Merrillii u uvjetima različite zaslanjenosti i egzogeno dodane SA. Tretmani: T1, destilirana voda bez SA; T2, destilirana voda s 0,5 mmol SA; T3, 0,2% NaClbez SA; T4, 0,2% NaCls 0,5 mmol SA; T5, 0,4% NaClbez SA; T6, 0,4% NaCls 0,5 mmol SA. (Izvor: Lee i sur., 2014)

Ova očita odstupanja posljedica su antioksidacijskog učinka katehola, produkta salicilathidroksliaze koji se akumulira u sjemenkama i klijancima. Osim toga, utvrđeno je da salicilna kiselina u uvjetima primjerice visoke zaslanjenostitla zapravo utječe na smanjenje oksidativnog oštećenja(Lee i sur., 2014; Slika 6). S druge strane, učinak SA kao negativnog regulatora klijavosti sjemena vjerojatno je posljedica oksidacijskog stresa uzrokovanog samom salicilnom kiselinom (Hayat i sur. 2013).

Uloga SA u rastu biljka slabije je proučavana u usporedbi s drugim biljnim hormonima. Pretpostavlja se da učinci promicanja rasta salicilnom kiselinom mogu biti povezani s promjenama u hormonskom statusu ili s poboljšanjem učinka fotosinteze, transpiracije i stomatalne provodljivosti.

2.3.2. Učinak SA na fotosintezu

Metabolički aspekti biljaka koje su tretirane salicilnom kiselinom ili njezinim derivatima razlikuju se ovisno o vrsti biljke i načinu primjene SA. Poznato je da SA utječe na strukturu listova i kloroplasta, zatvaranje puči, sadržaj klorofila i karotenoida te aktivnost enzima kao što je RuBisCO (ribuloza-1,5-bisfosfat karboksilaza / oksigenaza) i karbonska anhidraza. I u ovim istraživanjima primijećeno je da se učinci egzogene SA na parametre fotosinteze razlikuju ovisno o ispitivanoj koncentraciji i biljnoj vrsti(Hayat i sur., 2013). Visoke koncentracije SA (1-5 mM) uzrokuju smanjenje neto fotosinteze i aktivnosti RuBisCO-a, te smanjen sadržaj klorofila što je posljedica učinka SA na tilakoidne membrane i reakcije koje se odvijaju na njima (Hayat i sur., 2013).S druge strane, u istraživanju Fariduddin i sur. (2003.) su utvrdili da niske koncentracije SA utječu na povećanje neto asimilacije CO_2, te kako se povećava efikasnost fotosinteze i efikasnost karboksilacije, sadržaj klorofila i aktivnosti ugljikove anhidraze i nitratnereduktaze također su regulirane. Ovi blagotvorni učinci niskih koncentracija SA u fotosintezi mogu biti povezani sa sprječavanjem oksidacije auksina salicilnom kiselinom, budući da povišene razine auksina povećavaju fotosintetsku učinkovitost i aktivnost nitratnereduktaze.

Zatvaranje/otvaranje puči je još jedan važan čimbenik koji utječe na fotosintezu i pod kontrolom je različitih fitohormona. Istraživanja povezuju stomatalno zatvaranje s imunološkim sustavom biljaka, ističući ulogu SA u funkcioniranju stanica zapornica. Poznato je da endogene razine SA potiču zatvaranje puči odmah nakon napada patogenai da je za to potrebna kompleksna međusobna interakcija između SA i ABA. Zatvaranje puči koje promiče

ABA uključuje kalcij (Ca^{2+}) i sfingozin-1-fosfat, pa je zanimljivo proučavati odnos ili zavisnost SA-induciranog zatvaranja puči na tim signalnim molekulama budući da bliski odnos između metabolizma sfingolipida i signalizacije SA značajno utječe na rast biljaka (Rivas-San Vicente i Plasencia, 2011).

Dakle, egzogena primjena SA povećavaučinkovitost fotosinteze, unutarnju koncentraciju CO_2, učinkovitost korištenja vode i veću stopu transpiracije (Fariduddin i sur. 2003). Osim toga,Wang i sur. (2010) su utvrdili da pred tretman salicilnom kiselinom ublažava gubitak neto stope fotosinteze u uvjetima temperaturnog stresa, očito djelomično kroz održavanje višeg stupnja aktivacije RuBisCO-a i veće učinkovitosti fotosustavaPSII.

2.3.3. Učinak SA na respiraciju

Pored indukcije alternativnog respiracijskog puta, koji ovisi o ekspresiji gena alternativne oksidacije (AOX), SA može kontrolirati transport elektrona i oksidativnu fosforilaciju u mitohondrijama biljaka. Alternativni put prijenosa elektrona usmjerava elektrone iz ubikinona izravno do kisika. Djeluje obično u uvjetima niske aktivnosti osnovnog lanca transporta elektrona održavajući brzinu prijenosa elektrona i osiguravajući brzu oksidaciju respiratornih supstrata. Alternativni put oksidacije ometa prekomjernu akumulaciju reaktivnih kisikovih čestica (ROS). Stoga, s jedne strane SA inhibira transport elektrona, favorizirajući akumulaciju ROS-a, a s druge strane aktivira AOX koja usporava ovaj proces. Primjerice, SA u koncentracijama do 20 μM inhibira i sintezu ATP-a i unosO_2 u samo nekoliko minuta inkubacije u kulturama duhanskih stanica, iako se značajna inhibicija pojavljuje samo pri koncentracijama SA > 50 μM. Tretman s 500 μM SA smanjuje razinu ATP-a za 50% unutar prvih 30 minuta inkubacije, nakon čega se razine ATP-a nastavljaju smanjivati na čak 15% u odnosu na kontrolu. Dakle, SA-inducirana inhibicija (od 20 μM do 500 μM) ATP sinteze u kulturama duhanskih stanica vjerojatno ne ovisi o indukciji alternativnog puta jer se pojavljuje unutar nekoliko minuta nakon dodavanja SA te ne zahtijeva sintezu proteina *de novo*. S druge strane, indukcija alternativnog disanja salicilnom kiselinom povezana je sa sintezom AOX-a *de novo* i zahtijeva vrijeme da se postigne maksimalna razina. Prema tome, tretiranjem salicilnom kiselinom narušava se prijenos elektrona putem citokromoksidaze pri čemu dolazi do inhibicije oksidativne fosforilacije i smanjenja razine ATP-a u stanicama (Maxwell i sur., 2002). Moguće je da inhibicijski učinak SA u disanju djeluje na smanjenje razine ATP-au stanicama koje akumuliraju SA, ograničavajući njihov rast.

2.3.4. Učinak SA na produkciju topline u biljkama

Korištenjem modernijih analitičkih metoda dokazano je da je SA proizvođač te integralni endogeni regulator topline kod biljaka. Mehanizam aktivnosti SA kod termogenih vrsta npr. listova duhana povezan je sa njezinim učinkom na respiraciju, čija povećana razina podiže površinsku temperaturu (Van-Straten i sur., 1995). Primjena 0,5 mM salicilne kiseline u otopinu za hidroponski uzgoj mladih biljaka kukuruza (*Zeamays L.*) pri normalnim uvjetima rasta osigurala je zaštitu od naknadnog stresa uzrokovanog niskim temperaturama (Janda i sur., 1999).

2.3.5. Učinak SA na produkciju etilena

Dokazano je da SA i ASA inhibiraju produkciju etilena te je utjecaj salicilne kiseline recipročno ovisan o pH medija određene kulture i ne zahtjeva stalnu opskrbu salicilatom. Inhibitorna svojstva SA slična su onima od dinitrofenola, poznatog inhibitora enzima koji katalizira stvaranje etilena (Leslie i Romani, 1988). Proizvodnja etilena u jabukama učinkovito je inhibirana salicilnom kiselinom. Inhibicija je pH ovisna, najveća od pH 3,5-5,5 i minimalna pri pH 6,5 i iznad. Pri većim koncentracijama salicilna kiselina također inhibira pretvorbu 1-aminociklo-propan-l-karboksilne kiseline u etilen u kruškama i jabukama (Romani i sur., 1989).

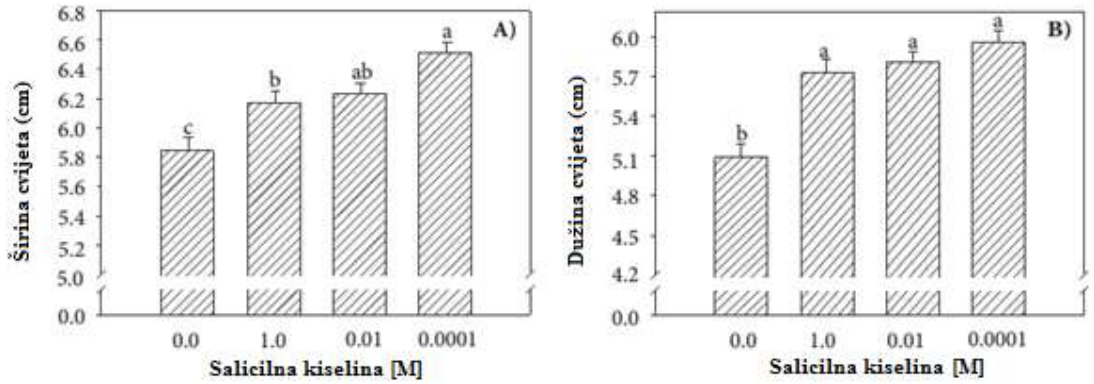
2.3.6. Učinak SA na cvjetanje biljaka

Nakon razdoblja vegetativnog rasta slijedi reproduktivna faza. U nekih biljaka taj je prijelaz vrlo očit, a u drugih su vrsta istovremeno prisutni i vegetativni rast i cvjetanje. Cvjetanje nekih vrsta neovisno je o okolišnim uvjetima, ali postoje vrste koje zahtijevaju izlaganje točno određenim okolišnim uvjetima kao što je to duljina dana ili temperatura(Taiz i Zeiger, 2010). Prvi fiziološki odgovor u biljkama povezan sa salicilnom kiselinom bio je utjecaj na cvjetanje kod duhana. Kasnije je taj utjecaj zabilježen i kod mnogih drugih vrsta. SA je tako ubrzala cvjetanje kod vrste *Xanthiumstrumarium*. Isto tako cvjetanje kod vrste *Pisitastratiotes* (*Aceraceae*) ubrzano je primjenom medija sa SA. Znanstvenici su zaključili da SA djeluje kao endogeni regulator cvjetanja. Također je dokazano da SA ima najveći učinak kada djeluje u kombinaciji sa genistinskom kiselinom (GA) u usporedbi s ostalim hormonima – sinergističko djelovanje.Istraživanja su potvrdila da biljke tretirane SA cvjetaju

ranije u usporedbi s ne tretiranim biljkama. Tako na primjer, dekorativnoj vrsti kao što je gloksinjia (*Sinningiaspeciosa*) treba trideset dana da procvjeta, ali primjenom salicilne kiseline vrijeme cvjetanja je skraćeno na dvadeset i četiri dana (Tablica1, Slika 7), Martin-Mex i sur., 2005.

Tablica 1. Utjecaj SA na cvjetanje afričke ljubice, gloksinije i habanero papričice. (Preuzeto i modificirano iz Martin-Mex i sur., 2005)

Vrste biljaka	Vrijeme cvjetanja u danima	
	Tretman SA	Kontrola (bez SA)
Sainpauliaionantha	80 ± 2	89 ± 5
Sinningiaspeciosa	24 ± 1	30 ± 2
Capsicumchinense	36 ± 2	42 ± 2



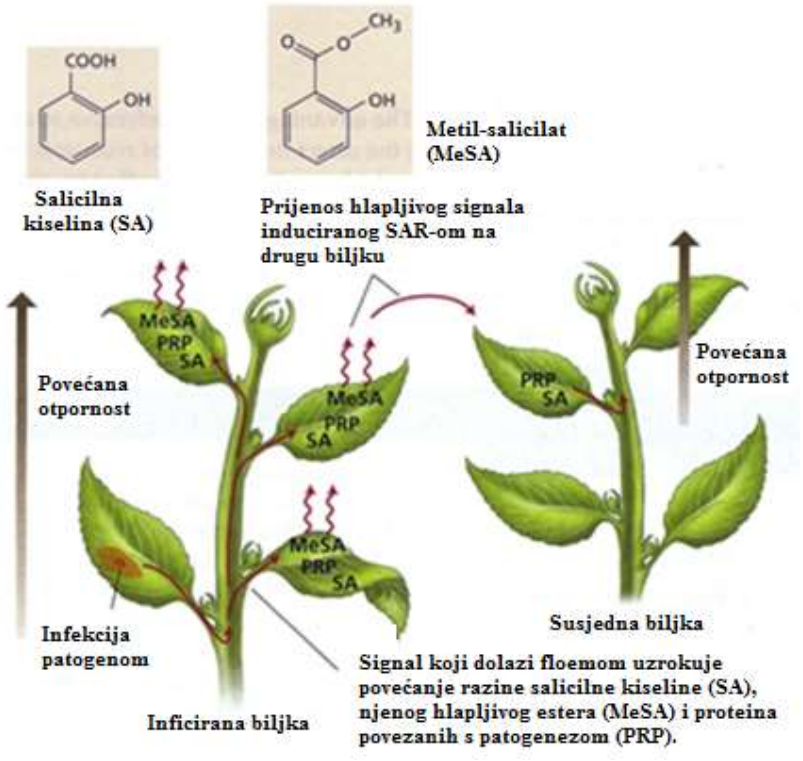
Slika 7. Utjecaj primjene salicilne kiseline prskanjem na stabljiku gloksinije(*Sinningiaspeciosa*) na veličinu cvijeta. (Preuzeto i modificirano izMartín-Mex i sur., 2005)

2.3.7. Učinak SA u borbi protiv patogena

Otpornost u širem smislu definiramo kao sposobnost biljke da spriječi ili uspori štetnu aktivnost patogena. Biljke posjeduju različite obrambene mehanizme kojima se štite od napada patogena. Te mehanizme možemo podijeliti na pasivne i aktivne, ovisno o tome jesu li prisutni u biljci ili se aktiviraju nakon infekcije. Aktivna otpornost inducirana je otpornost koja predstavlja fiziološko stanje povećane obrambene sposobnosti biljaka i može biti

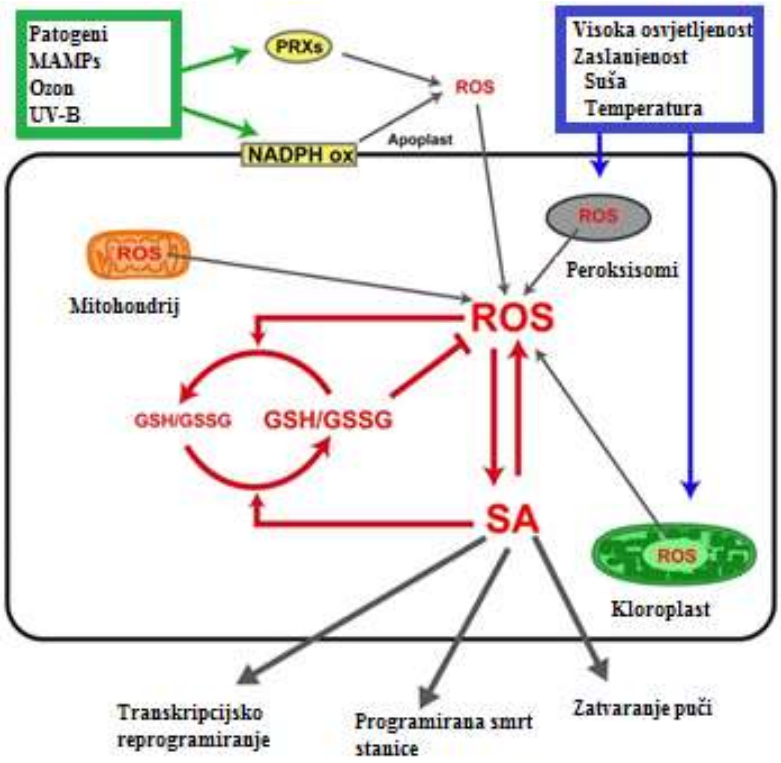
izazvana biotičkim ili abiotičkim čimbenicima. Prema signalnom putu i efikasnosti, razlikujemo sustavno stečenu otpornost (SystemicAcquiredResistance - SAR) koja se ispoljava u svim dijelovima biljke kao posljedica aktivacije obrambenog mehanizma u kontaktu s parazitom. Pri ovoj otpornosti dolazi do akumulacije salicilne kiseline kao signalne molekule i povećane sinteze proteina povezanih s patogenezom (PathogenicityRelated – PR). Drugi tip, induciranu sustavnu otpornost (InducedSystemicResistance - ISR) izazivaju nepatogene rizosferne bakterije (PlantGrowthPromotingRhizobacteria - PGPR). Ovaj tip otpornosti regulira jasmonska kiselina i etilen, a prinjenom ispoljavanju ne dolazi do sinteze PR proteina (Taiz i Zeiger, 2010).

Salicilna kiselina je okarakterizirana visokom metaboličkom i fiziološkom aktivnošću koje omogućuju obavljanje regulatorne funkcije u biljnom razvoju i reakciji na biotičke i abiotičke čimbenike stresa. U uvjetima bez stresa, salicilna kiselina je prisutna u biljnim tkivima u količinama od nekoliko mg do nekoliko ng/g svježe mase.Prema tome, salicilna kiselina je važna kao signalna molekula koja je uključena u aktivaciju odgovora biljke na napade gljiva, bakterija i virusa (Slika 8).



Slika 8. Inicijalna infekcija uzročnikom može povećati otpornost na budući napad patogena kroz razvoj sustavno stečene otpornosti. (SAR) (Preuzeto i modificirano izTaiz i Zeiger, 2010)

Veliki značaj i uska povezanost sinteze proteina povezanih s patogenezom (PR) i ispoljavanja sustavno stečene otpornosti (SAR) proučavana je na biljkama u čiji je genom ugrađen gen nahG. Ove biljke ne akumuliraju salicilnu kiselinu ili PR proteine i ne induciraju SAR kao odgovor na napad patogena. Naime, funkcija nahG gena je kodiranje enzima salicilat-hidroksilaze koji hidrolizira salicilnu kiselinu u katehol. Biljke koje poseduju ovaj gen ne mogu akumulirati salicilnu kiselinu i samim tim ne ispoljavaju SAR. Eksperimenti sa nahG transformiranim biljkama pokazali su da je salicilna kiselina esencijalna signalna molekula koja omogućava ispoljavanje SAR nakon infekcije (Taiz i Zeiger, 2010).



Slka 9. Interakcija između salicilne kiseline (SA), reaktivnih kisikovih jedinki (ROS) i glutationa (GSH) u obrambenim odgovorima na biotički i abiotički stres. Stresni uvjeti kao što su infekcija s patogenima, izlaganje mikrobima (MAMP), ozonu i UV-B tretmanu, potiču proizvodnju ROS-a uglavnom uapoplastu. Ova produkcija ROS-a posredovana je NADPH oksidazama (NADPH ox) i peroksidazama (PRXs). Drugi izvori stresa, kao što su visoka osvjetljenost, zaslanjenost, suša i temperatura, pokreću produkciju ROS uglavnom u kloroplastima i peroksisomima. Mitohondriji su također važan izvor ROS-a. SA ima antioksidativnu ulogu, povećava razinu GSH i smanjuje snagu, što zauzvrat uključuje uklanjanje ROS. Međusobno djelovanje unutarstaničnih razina SA, H_2O_2 i GSH određuje transkripcijsko reprogramiranje, programiranu smrt stanice i zatvaranje puči, tri glavna obrambena odgovora.

Aktivnost salicilne kiseline usko je povezana sa proizvodnjom raznih reaktivnih kisikovih jedinki (ROS). To je posebno važno kada se ROS proizvode na mjestu infekcije zato što mogu aktivirati apoptozu i smrt patogena. SA i ROS pokazuju međusobnu ovisnost u kontroli mnogih staničnih procesa. Istraživanja provedena na biljkama duhana, zaraženim virusom mozaika duhana pokazala su znatnu akumulaciju SA, stjecanje otpornosti te razvoj sustavne otpornosti kod ovih biljaka. Nadalje, tretman biljaka salicilnom kiselinom jedan je od najučinkovitijih načina zaštite biljaka od nepoželjnih abiotičkih i biotičkih čimbenika. Iz mnogih istraživanja proteklih godina dokazana je uloga SA kao sekundarnog glasnika u prepoznavanju i pojačavanju vanjskih signala (Krasavina, 2007). Ova kiselina se osim u citoplazmi, pojavljuje i u apoplastu. Dobro je poznata sposobnost biljke u izlučivanju hlapljivog derivata metilsalicilata (MeSA), što se može povezati s mogućom izvan staničnom lokalizacijom SA u biljnom tkivu.

Za istraživanja koja su usmjerena na proučavanje uloge salicilne kiselina u odgovoru biljaka na stresne čimbenike najčešće se upotrebljavaju tri eksperimentalna pristupa. Prvi je pristup ispitati otpornost na stres biljaka tretiranih s različitim koncentracijama salicilne kiseline. Drugi je pristup proučavanje utjecaja pojedinih čimbenika stresa na razinu salicilne kiseline u biljnim tkivima i njegovom odnosu s drugim biokemijskim i fiziološkim parametrima odgovornima za otpornost. Posljednji pristup sastoji se u testiranju otpornosti transgenih biljaka koje imaju povećane ili smanjene razine salicilne kiseline ovisno o čimbenicima stresa.

Primjeri takvih istraživanja su mnogobrojni. Ispitujući učinak nedostatka vode na akumulaciju salicilne kiseline te aktivnost dva enzima koji su uključeni u sintezu SA iz fenilalanina, tj. PAL i BA2H,Bandurska i Cieślak (2012)su utvrdili da umjereni deficit vode povećava aktivnost oba enzima kao i razinu salicilne kiseline u listovima i korijenima sadnica kukuruza, ukazujući na aktivaciju alternativnog puta biosinteze salicilne kiseline u biljkama koje su izložene suši. Nadalje, salicilna kiselina akumulirana u biljkama koje rastu u uvjetima nestašice vode može se uključiti u regulaciju mehanizama odgovornih za otpornost na sušu kroz kontrolu ravnoteže vode i aktivaciju antioksidacijskog sustava. Daljnjim je istraživanjima utvrđeno da egzogena primjena salicilne kiseline učinkovito utječe na metaboličke i fiziološke procese biljaka koji mogu povećati njihovu otpornost na sušu. Salicilna kiselina ublažava negativni učinak vodnog deficita na vodni status tkiva, provodnost vode, sadržaj klorofila, svojstva membrana i fiziološke aktivnosti biljaka (Hayat i sur., 2010).

Prema tome, salicilna kiselina bi se mogla koristiti kao potencijalni regulator rasta za poboljšanje prinosa usjeva pri ograničenoj količini vode u tlu.

Otpornost biljaka na deficit vode može biti posljedica dvije strategije odgovorne za preživljavanje u uvjetima stresa: strategija izbjegavanja dehidracije i strategija tolerancije dehidracije. U strategiji izbjegavanja dehidracije važnu ulogu ima osmotska prilagodba koja uključuje akumulaciju osmolita što smanjuje vodni potencijal stanice u svrhu sprječavanja dehidracije (Farooq i sur., 2010). Zaštitni utjecaj salicilne kiseline tijekom vodnog stresa u mnogim biljkama očitovao se nakupljanjem različitih osmolita kao što su šećeri, šećerni alkohol i prolin koji su odgovorni za osmotsku prilagodbu (Farooq i sur. 2010). Poboljšanje vodnog statusa u listovima sprječavanjem dehidracije kod vodnog deficita i ograničavanje redukcije provodnosti puči primjenom salicilne kiseline ima pozitivnu ulogu u održavanju fotosintetskih aktivnosti i smanjenju oštećenja. Zatvaranje puči sprječava gubitak vode, ali također ograničava unos ugljikovog dioksida i utječe na smanjenje stope fotosinteze koja štetno utječe na rast i produktivnost biljaka (Pinheiro i Chaves, 2011).

3. ZAKLJUČAK

Salicilna kiselina ili o-hidroksibenzojeva kiselina pripada raznolikoj skupini fenolnih spojeva sintetiziranih u biljkama. Kao prirodni derivat cimetne kiseline, sintetizira se izšikiminske kiseline. Endogena salicilna kiselina je ključna signalna molekula uključena u aktivaciju odgovora biljke na napade gljiva, bakterija i virusa. Također, ima važnu ulogu u različitim procesima u biljkama kao što surast i razvoj, termogeneza, fotosinteza, cvjetanje, asimilacija i transport iona te stomatalna transpiracija. Egzogena primjena nižih koncentracija salicilne kiseline pokazala se korisnom u povećanju stope fotosinteze i raznih drugih svojstava biljaka dok primjena prekomjernih koncentracija SA inhibitoran učinak. SA djeluje kao regulator rasta i razvoja biljaka, a njezin učinak ovisi o biljnoj vrsti, razvojnoj fazi i koncentraciji. Osim već navedenih uloga, salicilna kiselina također inhibira produkciju etilena, endogeni je regulator topline te ubrzava cvjetanje kod mnogih biljnih vrsta i to posebice sinergističkim djelovanjem s genistinskom kiselinom. Važan je i utjecaj na rast izdanka i korijena što dokazano rezultira većom bioproduktivnošću biljaka.

U uvjetima bez stresa, salicilna kiselina je prisutna u biljnim tkivima u količinama od nekoliko mg do nekoliko ng/g svježe mase. No, njezina se razina znatno povećava u biljkama izloženim stresnim uvjetima kao što je vodni deficit. Poboljšanje vodnog statusa u listovima sprječavanjem dehidracije kod vodnog deficita i ograničavanje redukcije provodnosti puči primjenom salicilne kiseline ima pozitivnu ulogu u održavanju fotosintetskih aktivnosti i smanjenju oštećenja.Iz svega navedenog, može se zaključiti da je salicilna kiselina jedna od ključnih komponenti za normalno funkcioniranje biljaka, ali i za opstanak biljaka u uvjetima biotičkog i abiotičkog stresa.

4. POPIS LITERATURE

1. Bandurska, H., &Cies´lak, M. (2012). Theinteractiveeffectof water deficit and UV-B radiation on salicylicacidaccumulationinbarleyrootsandleaves. *EnvironmentalandExperimental Botany.*
2. Bandurska, H., &Stroin´ski, A. (2005). Theeffectofsalicylicacid on barleyresponse to water deficit. Acta PhysiologyPlant, 27, 379–386.
3. Dempsey, D. A., Vlot, A. C., Wildermuth, M. C., &Klessig, D. F. (2011). SalicylicAcidBiosynthesisandMetabolism. TheArabidopsisBook /American SocietyofPlantBiologists, 9, e0156.
4. Fariduddin, Q., Hayat, S., andAhmad, A., 2003. Salicylicacidinfluencesnetphotosynthetic rate, carboxylationefficiency, nitrate reductaseactivityandseedyieldinBrassicajuncea. Photosynthetica, 41: 281-284.
5. Farooq, M., Wahid, A., Lee, D. J., Cheema, S. A., & Aziz, T. (2010). Comparative time courseactionofthefoliarappliedglycinebetaine, salicylicacid, nitrousoxide, brassinosteroidsandspermineinimprovingdroughtresistanceof rice. Journal Aron Crop Science, 196, 336–345.
6. Hadacek, F., Bachmann, G., Engelmeier, D., &Chobot, V. (2011). Hormesisand a chemicalraisond'ětre for secondaryplantmetabolites. *Dose-response*, *9*(1).
7. Hayat, S., Ahmad, A. &Alyemeni, M.N. (2013). SalicylicAcid: PlantGrowthand Development. Springer, Dordrecht, TheNetherlands.
8. Hayat, Q., Hayat, S., Ifran, M., &Ahmad, A. (2010). Effectofexogenoussalicylicacidunderchangingenvironment: a review. EnvironmentalandExperimental Botany, 68, 14–25.
9. Hussein, J.H.(2015). EffectofSeedPrimingtreatmentwithSalicylicAcid on ViabilityofOkra (Abelmoschusesculentus L.) Seeds. Euphrates Journal ofAgriculture Science Z (2): 1-9.
10. Janda, T., Szalai, G., Tari, I., &Paldi, E. (1999). Hydroponictreatmentwithsalicylicaciddecreasestheeffectsofchillinginjuryinmaize (Zeamays L.) plants. Planta, 208(2), 175-180.
11. Krasavina, M. S. (2007). Effectofsalicylicacid on solute transport inplants. In *Salicylicacid: A plant hormone* (pp. 25-68). SpringerNetherlands.

12. Lee, S.Y., Damodaran, P.N., andRoh, K.S. (2014) Influence ofsalicylicacid on rubiscoandrubiscoactivaseintobaccoplantgrownundersodiumchlorideinvitro.Saudi J. Biol. Sci. 2014; 21: 417–426.
13. Leslie, C. A., and Romani, R. J., 1988. Inhibitionofethylenebiosynthesisbysalicylicacid. PlantPhysiol., **88**: 833-837
14. Liu, X.,Rockett, K.S., Kørner, C.J. &Pajerowska-Mukhtar, P.M. (2015)Salicylicacidsignalling: newinsightsandprospects at a quarter-centurymilestone. Essaysinbiochemistry 58, 101-113.
15. Lucas, W. J., and Lee, J.-Y., 2004. Plasmodesmata as a supracellularcontrol network inplants. Nat. Rev. Mol. CellBiol., 5: 712-726.
16. Martín-Mex, R., Villanueva-Couoh, E., Herrera-Campos, T., andLarqué-Saavedra, A. 2005. Positiveeffectofsalicylates on thefloweringofAfricanviolet. Sci. Hort., 103: 499-502.
17. Maxwell, D. P., Nickels, R., andMcIntosh, L., 2002. Evidenceofmitochondrialinvolvementinthetransductionofsignalsrequired for theinductionofgenesassociatedwithpathogenattackandsenescence. Plant J., 29: 269-279.
18. Pinheiro, C., &Chaves, M. M. (2011). Photosynthesisanddrought: canwe make metabolicconnectionsfromavailable data? Journal ofExperimental Botany, 62, 869–882.
19. Rivas-San, V., &Plasencia, J. (2011). Salicylicacidbeyonddefence: its role inplantgrowthand development. Journal ofExperimental Botany, 62, 3321–3338.
20. Romani, R. J., Hess, V. M., andLeslie, C. A., 1989. Salicylicacidinhibitionofethyleneproductionbyappliscsandotherplanttissues. J. PlantGrowthRegul., 8: 62-69.
21. Taiz, L. andZeiger, E. (2010) PlantPhysiology, Fifth Edition. SinauerAssociates. Sunderland, MA.
22. Van derStraeten, D., Chaerle, L., Sharkov, G., Lambers, H., and Van Montagere, M., 1995. Salicylicacidenhancestheactivityofthe alternative pathwayofrespirationintobaccoleavesandinducesthermogensity. Planta, 196: 421-419.
23. Vlot, A. C., Dempsey, D. M. A., &Klessig, D. F. (2009). Salicylicacid, a multifaceted hormone to combatdisease. *Annualreviewofphytopathology*, *47*, 177-206.

24. Wang L. J., Fan L., Loescher W., Duan W., Liu G. J., Cheng J. S. (2010). Salicylicacidalleviatesdecreasesinphotosynthesisunderheatstressandacceleratesrecoveryingrapevineleaves. BMC PlantBiol. 10:34
25. Wildermuth, M. C., Dewdoney, J., Wu, G., &Ausubed, F. M. (2001). Isochorismatesynthaseisrequired to synthesizesalicylicacid for plantdefence. Nature, 414, 562–565.