

MONIKA CZECH-KOZŁOWSKA

POINFEKCYJNE ZMIANY W PRZEPUSZCZALNOŚCI BŁON CYTOPLAZMATYCZNYCH

Termin — przepuszczalność w odniesieniu do błon cytoplazmatycznych, oznacza w ujęciu klasycznym zdolność do przepuszczenia substancji lub taki stan, który uniemożliwia przenikanie przez nie substancji.

Przedmiotem niniejszego artykułu będą zmiany w przepuszczalności błon cytoplazmatycznych wywołane przez czynniki infekcyjne, głównie grzyby, oraz przez ich metabolity — toksyny.

Pierwsze badania dotyczące zmian przepuszczalności błon komórkowych roślin zainfekowanych chorobotwórczymi grzybami przeprowadził w latach 40-tych Thatcher (1939, 1942, 1943).

W ostatnich latach można zauważyć ponowne zainteresowanie się patofizjologów tą problematyką, co pozostaje niewątpliwie w związku z dokładniejszym poznaniem budowy membran oraz rozwojem metod pomiaru zmian przepuszczalności i zmian ultrastruktury membran.

W badaniach zmian przepuszczalności membran zainfekowanej rośliny stosuje się następujące metody:

- a) pomiar zdolności deplazmolizy komórek w roztworach hipertonicznych;
- b) konduktometryczny pomiar wpływu elektrolitów z tkanki;
- c) pomiar różnic potencjału elektrochemicznego pomiędzy komórką a otoczeniem;
- d) badania przemieszczania się substancji do i z komórek techniką chemiczną, histochemiczną bądź izotopową;
- e) pomiar natężenia ultrasłabej biochemiluminescencji lub fotosyntetycznej luminescencji;
- f) technika mikroskopii elektronowej do śledzenia zmian ultrastrukturalnych.

Wspomniane wyżej pionierskie badania Thatchera dotyczyły chorób grzybowych takich jak rdze, pleśnie, suche i mokre zgnilizny oraz wędnięcia naczyniowe. Wyniki jakie uzyskał autor, pozwoliły na wysunięcie następujących wniosków. Komórki patogenów wykazują wyższy potencjał osmotyczny niż komórki rośliny — gospoda-

rza. Choroba prowadzi do zmian przepuszczalności komórek gospodarza. U roślin reagujących wrażliwie następuje wzrost przepuszczalności. Dwa pierwsze wnioski są wystarczająco przekonujące i zostały potwierdzone dalszymi badaniami. Natomiast wniosek trzeci, a zwłaszcza stwierdzenie mówiące o obniżeniu przepuszczalności komórek reagujących odpornie budzi pewne wątpliwości. Thatcher uważa, że zwiększenie przepuszczalności komórek rośliny wrażliwej prowadzi do udostępnienia patogenowi składników pokarmowych, co prowadzi do wrażliwości, podczas gdy spadek przepuszczalności u form odpornych może ograniczyć rozwój patogena, prowadząc tym samym do odporności. Wspomniane wątpliwości pogłębia fakt, że pomiary przepuszczalności były wykonywane w późniejszych stadiach rozwoju choroby. Ponadto zmiany przepuszczalności błon opierano na zdolności splazmolizowanych komórek do deplazmolizy w roztworze hipertonicznym. Pod wpływem rozwoju choroby mogły ulec modyfikacji także ściany komórkowe, co z pewnością nie pozostało bez wpływu na zmianę zdolności do deplazmolizy.

Jak wspomniano, w ostatnich latach poinfekcyjne zmiany przepuszczalności budzą ponowne zainteresowanie. Badania na fasoli zaatakowanej *Uromyces phaseoli* prowadzone w pracowni Heitefussa (Hoppe, Heitefuss 1974a) potwierdziły dane Thatchera o wzroście przepuszczalności w przypadku zgodnego układu roślina-patogen, natomiast nie potwierdziły danych o spadku przepuszczalności u roślin reagujących nadwrażliwie. Dane uzyskane dla jabłoni porażonej *Venturia inaequalis* (Pellizzari i wsp. 1970) świadczą o wzroście przepuszczalności komórek reagujących nadwrażliwie. W późniejszych badaniach Heitefussa (Elnaghy, Heitefuss 1976a) stwierdzono zwiększenie przepuszczalności u odpornej odmiany fasoli, jednak było ono późniejsze niż wzrost aktywności peroksydazy oraz nekroza komórek. Stąd też jest mało prawdopodobne, aby wzrost przepuszczalności dla układu niezgodnego był przejawem reakcji odpornościowej.

Dobrze udokumentowanym faktem jest wytwarzanie u fasoli w wyniku infekcji substancji typu fitoaleksyn. Czy fitoaleksyny wywierają jakiś wpływ na przepuszczalność? Elnaghy i Heitefuss (1976b) sądzą, że tworzenie fitoaleksyn w przypadku niezgodnego układu fasola — *Uromyces phaseoli* jest następstwem nadwrażliwej śmierci komórek gospodarza i poprzedza wzrost przepuszczalności membran. Przyjmują nawet, że nie jest wykluczony udział tych związków w indukowaniu zmian przepuszczalności. Bowiem infiltracja fitoaleksyny — faseoliny do liści fasoli spowodowała zwiększony wpływ elektrolitów.

Białkowo-Lipidowy charakter błon a ich przepuszczalność

Jak wspomniano, infekcja tkanek roślinnych przez różne patogeny powoduje zmiany w przepuszczalności błon plazmatycznych. Zachodzi zatem pytanie, które elementy błony zostają uszkodzone i w jaki sposób? Badania ze sztucznymi błonami wykazały, że przyczyną obserwowanego efektu mogą być zmiany w fosfolipidach. W wyniku hamowania systemu acylacyjnego lub aktywności specyficznych fosfolipaz dochodzi do akumulacji lizofosfolipidów, które mogą zmieniać przepuszczal-

ność membran lub powodować ich destrukcję (Hitchcock, Nichols 1971). Również badania prowadzone z naturalnymi systemami membranowymi dowiodły, że przepuszczalność związana jest z nienasyeniem i długością łańcucha kwasów tłuszczowych w fosfolipidach. Ogólna zależność jest następująca: przepuszczalność wzrasta wraz ze wzrostem stopnia nienasyenia lub skracaniem się długości łańcucha (Hoppe, Heitefuss 1974c).

Szereg autorów (Raa, Kaars Sijpersteijn 1968; Kaars Sipersteijn 1971; Dijkman 1972) jest zdania, że zmiany w składzie fosfolipidów lub kwasów tłuszczowych, które przypuszczalnie zachodzą w tkance reagującej nadwrażliwie, mogą prowadzić do zmian integralności biologicznej membran i w końcu do ich destrukcji, a w rezultacie do śmierci komórek. Jednak Hoppe i Heitefuss (1974b, 1975a) badając 6 odmian fasoli różniących się wrażliwością na *Uromyces phaseoli*, nie stwierdzili poinfekcyjnych różnic w fosfolipidach i w składzie kwasów tłuszczowych. Berkeley i Galliard (1974) cytują niepublikowane dane Olivera, który zaobserwował u bulw ziemniaka po ich infekcji grzybami wywołującymi gnicie, wzrost aktywności lipooksygenazy, enzymu związanego z degradacją wielonienasyconych kwasów tłuszczowych. Heinen i Brand (1963) stwierdzili znaczny wzrost aktywności lipooksygenazy w uszkodzonych liściach *Gasteria verrucosa* a Hall i Morris (1970) (cyt. za Hitchcock i Nichols) wykazali, że hormon przyranny — kwas traumatynowy jest pochodną produktów degradacji kwasu linolowego lub linolenowego. Sugeruje się więc udział tego enzymu w mechanizmie obronnym rośliny.

Interesujące wydają się wyniki Kato i Misawy (1976), które wskazują na nieznany dotąd aspekt nadwrażliwej reakcji, to jest na peroksydatywne utlenianie lipidów membranowych. W tkankach *Vigna sinensis* zainfekowanych wirusem CMV stwierdzono spadek wielonienasyconych kwasów tłuszczowych, przy jednoczesnym wzroście ilości wolnych rodników i malonyloaldehidów. Poza tym zaobserwowano hamowanie rozwoju plam nekrotycznych przy zastosowaniu bądź substancji usuwających wolne rodniki bądź też inhibitorów lipooksygenazy. Stwierdzony jednocześnie znaczny wpływ elektrolitów z chorej tkanki wskazywał na uszkodzenie membran. Na tej podstawie autorzy wysunęli przypuszczenie, że w zainfekowanych komórkach dochodzi do aktywacji lipooksygenazy, co prowadzi do enzymatycznego utleniania wielonienasyconych kwasów tłuszczowych z utworzeniem wolnych rodników i hydroksynadtlenków. Z kolei te wolne rodniki lub hydroksynadtlenki podlegają wtórnemu samoutlenianiu lub też dalszemu utlenianiu enzymatycznemu dając malonyloaldehydy i inne produkty pośrednie. Końcowe produkty utleniania reagują z białkami, niszczą białkowo-lipidową integralność membran i uszkadzają cały system membran komórkowych. Taka dezorganizacja zainfekowanych komórek może prowadzić do nekrozy i nadwrażliwej śmierci komórek gospodarza.

Istotną rolę w stabilizacji dwuwarstwowej konfiguracji membran biologicznych i utrzymaniu ich właściwości półprzepuszczalnych przypisuje się sterolom (Demel i wsp. 1968; De Gier i wsp. 1968). Stąd, wyższa zawartość steroli w zainfekowanej tkance wskazywać mogłaby na ich działanie ochronne. Jednakże Hoppe i Heitefuss (1975b) stwierdzili nawet wyższą zawartość steroli w zainfekowanych rdzą tkankach fasoli odmiany wrażliwej na tego patogena w porównaniu z tkankami

zdrowymi, przy jednoczesnym wzroście przepuszczalności tkanek chorych. Natomiast skład jakościowy steroli w tkance zdrowej i chorej odmiany odpornej był bardzo podobny do składu w liściach odmiany wrażliwej. Jennings i wsp. (1970) stwierdzili w liściach kukurydzy zainfekowanych *Helminthosporium carbonum* spadek zawartości steroli. W liściach pszenicy infekowanych rdzą brak było istotnych różnic w zawartości steroli (Nowak i wsp. 1972). Trudno na tej podstawie wyciągnąć wniosek o ewentualnym ochronnym wpływie steroli na membrany.

Toksyny a zmiany przepuszczalności

W patologii roślin zjawiskiem powszechnym jest tworzenie przez patogena substancji toksycznych w stosunku do rośliny. Substancje te nie zawsze biorą bezpośredni udział w wywołaniu objawów chorobowych, natomiast mogą być czynnikiem indukującym zmiany w metabolizmie gospodarza (Pringle, Schaffer 1964; Wood i wsp. 1972).

W ostatnich latach pojawiło się szereg danych wskazujących na indukowane toksyną zmiany w przepuszczalności błon komórek gospodarza. Podstawowe zainteresowanie budzą toksyny specyficzne w stosunku do gospodarza, z których najlepiej poznane są toksyny wytwarzane przez następujące grzyby: 1) *Helminthosporium victoriae* powodujący zgorzel liści u niektórych odmian owsa; 2) *Periconia circinata* — grzyb patogenny w stosunku do niektórych odmian sorga; 3) *H. carbonum* rasa I i 4) *H. maydis* rasa T powodujące plamistość liści kukurydzy; 5) *H. sacchari* powodujący plamistość liści trzciny cukrowej; 6) *Alternaria kikuchiana* powodujący czarną plamistość gruszy japońskiej.

W większości badanych przypadków specyficzne toksyny indukowały zwiększony wpływ elektrolitów z tkanek roślin (Wheeler, Black 1962; Wheeler, Black 1963; Mausor 1968; Scheffer, Samaddar 1970; Yoder 1970). Wiktoryna — toksyna *H. victoriae* i toksyna *H. maydis* rasy T powodowały również zwiększony wpływ nieelektrolitów (Black, Wheeler 1966; Halloin i wsp. 1973). Wiktoryna blokowała ponadto w tkankach korzenia owsa akumulację elektrolitów (Helder 1956), oraz hamowała pobieranie fosforu (Samaddar, Scheffer 1976). Dane te wskazują na podwójny efekt wiktoryny; z jednej strony komórki zwiększały swoją nieuszczelnność, a z drugiej strony było utrudnione pobieranie.

Jakie jest miejsce działania toksyny oraz jaki mechanizm indukowanych toksyną zmian w przepuszczalności komórek? Scheffer i Yoder (1972) uważają, iż miejscem działania toksyny jest plazmalemma, przy czym receptorem dla tej substancji mają być pewne białka. Odmiany odporne charakteryzują się brakiem takich receptorów. Z badań Kecka i Hodgesa (1973) wynika, że już po 20—30 minutach działania wiktoryną zarówno plazmalemma, jak i tonoplast wykazały zwiększoną przepuszczalność dla radioaktywnego ^{86}Rb . Na tej podstawie autorzy sugerują, że albo obydwie membrany wykazują wrażliwość na toksynę lub, że tonoplast podlega wtórnym uszkodzeniom przez bliżej nieokreślony produkt reakcji pierwotnej. Należy sądzić, że pierwotnemu uszkodzeniu podlega plazmalemma, gdyż

membrana ta kontaktuje się najwcześniej z egzogenną toksyną. Miller i Koepe (1971) badając wpływ toksyny wytwarzanej przez *H. maydis* na mitochondria komórek liści kukurydzy dochodzą do wniosku, że nie tylko plazmalemma jest miejscem działania toksyny, bowiem zwiększony wpływ elektrolitów może być również efektem działania toksyny na mitochondria lub inne elementy komórki.

Jeżeli powyższe hipotezy są prawdziwe, w komórkach gospodarza traktowanych toksyną powinny wystąpić zmiany w ich ultrastrukturze. Park i wsp. (1976) badali ultrastrukturalne modyfikacje w komórkach liścia wrażliwej odmiany gruszy traktowanych toksyną *A. kikuchiana*. Po jednej godzinie ekspozycji zaobserwowano pierwsze zmiany w plazmalemmie w postaci wgłębień. Po kilkugodzinnym czasie ekspozycji, w przestrzeni między ścianą komórkową a plazmalemmą widoczne były fragmenty membran i pęcherzykowate struktury, które pochodziły od plazmalemmy. Zmiany ultrastrukturalne obserwowano także w korzeniach i liściach owsa pod wpływem wiktoryny (Hanchey, Wheeler 1969; Hanchey i wsp. 1968; Luke i wsp. 1966). Dotyczyły one ściany komórkowej, plazmalemmy, retikulum endoplazmatycznego, błony jądrowej i błon chloroplastów. Luke i wsp. (1966) sugerowali, że pierwotnym miejscem działania wiktoryny nie jest protoplast, lecz wewnętrzna powierzchnia ściany komórkowej lub zewnętrzna powierzchnia plazmalemmy, bowiem w tych elementach stwierdzono modyfikacje. Natomiast Hanchey i wsp. (1968) zaobserwowali indukowane wiktoryną ciemno wybarwiający się nadmanganianem pęcherzykowate struktury na powierzchni ścian komórkowych. Pozostaje jednak otwarta kwestia, czy są to bezpośrednie efekty działania toksyny. Wspomniane zmiany obserwowano bowiem z pewnym opóźnieniem w stosunku do zwiększonego wpływu elektrolitów. Poza tym, pomimo użycia mikroskopu elektronowego, nie można było stwierdzić zmian występujących na poziomie molekularnym.

Pretraktowanie tkanek roślinnych niektórymi związkami chemicznymi lub traktowanie nimi łącznie z toksyną modyfikuje działanie tej toksyny. Takie związki jak octan i azotan uranylu (które wiążą się z błonami) lub aminomocznik i wodorosiarczyn hydroksyloaminy (związki przyłączające się do grup karboksylowych) działały ochronnie na membrany (Hanchey 1969; Samaddar 1968; Samaddar, Scheffer 1971). Ponadto ochronny wpływ wykazywały związki wiążące grupy sulfohydrylowe jak arsenian, jodoocetan, dwunitrofluorobenzen (Gardner, Scheffer 1969; Gardner, Scheffer 1970). Gardner i Scheffer (1970) także wykazali, że pretraktowanie tkanek korzenia owsa przez 12 godzin cykloheksaimidem zmniejszyło wrażliwość na wiktorynę. Sterole natomiast nie zmieniły wrażliwości badanych tkanek.

Jaki jest mechanizm działania toksyny? Czy istnieje bezpośrednia interakcja z elementami błon, czy też dochodzi do zachwiania bliżej nieokreślonych funkcji metabolicznych odpowiedzialnych za utrzymanie struktury membrany. Na podstawie dotychczasowych danych można powiedzieć, że nie istnieje jeden wspólny mechanizm dla wszystkich toksyn. Jakkolwiek wiktoryna, toksyna *H. victoriae*, oraz toksyny *A. kikuchiana*, *A. maydis* i *P. circinata* wykazują bezwzględną specyficzność w stosunku do gospodarza, to Keck i Hodges (1973) stwierdzili, że ekstrakt zawierający toksynę *A. mali* powodował wzrost przepuszczalności zarówno

u wrażliwego jak i odpornego mieszańca kukurydzy. Poza tym, ta toksyna nie powodowała zmian w przepuszczalności tonoplastu. Ponadto Kohmoto i wsp. (1976) stwierdzili, że toksyna *A. mali*, uważana za specyficzną w stosunku do pewnych odmian jabłoni (wrażliwych), powodowała znaczne zwiększenie wpływu elektrolitów z liści gruszy odmiany wrażliwej na *A. kikuchiana*.

Wapń a rozpuszczalność błon

Wapń wywiera istotny wpływ zarówno na przepuszczalność membran, jak i na utrzymanie ich struktury (Epstein 1961; Hanson 1965; Brandt, Freeman 1967). Marinosa (1962, 1963) w badaniach nad wpływem niedoboru pierwiastków na strukturę błon w epikotylach jęczmienia stwierdził, że tylko brak Ca prowadzi do ich uszkodzenia. Natomiast Hanchey i wsp. (1968) po raz pierwszy wykazali, że wiele ultrastrukturalnych efektów w komórkach owsa wrażliwego na *H. victoriae* jest podobnych do efektów spowodowanych brakiem Ca i przedstawionych przez Marinosa (1962). Te obserwacje zgadzają się z innymi danymi o roli Ca w chorobach roślin (Bateman, Millar 1964; Kuć 1966).

Douppnik (1968) badał wpływ różnych soli na objawy chorobowe indukowane wiktoryną i stwierdził, że młode liście owsa traktowane roztworem wiktoryny łącznie z 0.1 M solą Ca nie wykazały objawów choroby. Te liście uwalniały równie mniejsze ilości elektrolitów. Podobne efekty dawał stront, natomiast takie pierwiastki jak Mg, Mn, Na, K i Ba nie wywierały ochronnego działania. Powyższy efekt wapnia nie był jednak obserwowany przez Douppnika w doświadczeniach z liśćmi starszymi oraz wtedy, gdy Ca aplikowano po traktowaniu toksyną. Dalsze badania wykazały, że poziom Ca w liściach odmiany wrażliwej owsa był niższy oraz, że ta odmiana silniej reagowała na niedobór wapnia. Natomiast Luke i Barnett (1974) donoszą, że niedobór Ca powodował wypływ elektrolitów tylko w liściach odmiany wrażliwej owsa. Jaki jest mechanizm ochronnego działania niektórych pierwiastków dwuwartościowych, czyli w jaki sposób obniżają one bądź hamują działanie wiktoryny (badania dotyczyły tylko tej toksyny). Zgodnie z danymi Ruesinka (1971), na powierzchni protoplastu występują ładunki ujemne, które utrzymują jego integralność. Ładunki te w warunkach normalnych są okupowane przez kationy dwuwartościowe, które tworzą charakterystyczne połączenia z centrami ujemnymi ściany komórkowej. Tę integralność mogą niszczyć detergenty lub białka zasadowe, które wiążąc się z ładunkami ujemnymi plazmalemmy, osłabiają w ten sposób łączność między ścianą komórkową a protoplastem. Fakt, że działanie wiktoryny związane jest z plazmalemmą oraz, że wiktoryna indukuje tzw. pseudoplazmolizę — plazmolizę w roztworze hypotonicznym, czyli w warunkach kiedy protoplast winien przylegać do ściany komórkowej, nie budzi wątpliwości (Halloin i wsp. 1973; Hanchey, Wheeler 1969; Hanchey i wsp. 1968). Saftner i wsp. (1976) próbowali wyjaśnić na czym polega ochronne działanie Ca oraz specyficzne działanie wiktoryny. Z ich badań wynika, że zarówno wiktoryna, jak i wapń były specyficznie i odwracalnie związane z membranami wyodrębnionymi z wrażliwych i odpornych na wiktorynę koleoptyli

owsa. Oprócz tego, stwierdzono, że wiktoryna tworzy kompleks z Ca, który w tym samym stopniu wiąże się z membranami odmiany odpornej jak i wrażliwej. Dlaczego więc, jak to wykazano wielokrotnie w doświadczeniach, wiktoryna powoduje drastyczne zmiany tylko w tkance wrażliwej? Aby to wyjaśnić wykonano dalsze badania nad zdolnością membran do wiązania Ca, liczbą miejsc wiążących wapń oraz zawartością Ca w badanych tkankach. Stwierdzono, że u odmian odpornych względem wiktoryny początkowy poziom Ca jest wyższy niż u wrażliwych oraz, że również powinowactwo membran plazmatycznych względem Ca jest wyższe u odmian odpornych.

U odmian podatnych poziom wyjściowy wapnia jest niższy, zaś membrany plazmatyczne charakteryzują się stosunkowo dużą liczbą miejsc o wysokim powinowactwie względem Ca. W oparciu o te dane wysunięto hipotezę, że w obecności wiktoryny, u form odpornych większość miejsc wykazujących powinowactwo względem Ca jest wysyconych tym pierwiastkiem, pomimo tworzenia kompleksu Ca-wiktoryna. Tym samym zagwarantowana jest integralność membran i ich normalna funkcja. U form podatnych po utworzeniu kompleksu Ca-wiktoryna, ilość wolnego wapnia będzie niewystarczająca do wysycenia w membranach plazmatycznych miejsc o wysokim powinowactwie względem Ca i w efekcie nastąpi uszkodzenie tych membran. Z tą hipotezą trudno pogodzić równoległe opublikowane przez Gracena i wsp. (1976) dane, z których wynika, że Ca działał ochronnie tylko gdy był stosowany jednocześnie z wiktoryną. Pretraktowanie tkanki wapnem nie chroniło przed późniejszym działaniem wiktoryny.

Podobnie jak wapń ochronne działanie wykazują sole uranylewe. W tym przypadku pretraktowanie uranylem było efektywne już przy znacznie niższych stężeniach (Rothestein 1962). Rothestein (1961, 1962) wykazał także, że zarówno jony Ca, jak i uranylewe są wiązane z grupami fosforanowymi i karboksylowymi na powierzchni plazmalemy, uniemożliwiając wiązanie wiktoryny w tym miejscu. Jeżeli taki mechanizm istotnie funkcjonuje, to należy przyjąć, że jest on wysoce specyficzny, bowiem inne kationy okazały się nieefektywne.

Uwagi końcowe

Podsumowując przytoczone badania można stwierdzić, że zmiany przepuszczalności komórek rośliny — gospodarza stanowią niewątpliwie jedno z pierwszych objawów choroby. Dobrze udokumentowany fakt dotyczący wpływu toksyn na zmiany przepuszczalności wskazuje na udział metabolitów patogena w indukcji tych zmian.

Wyjątkowo interesujące, choć na razie wstępne i najmniej doświadczalnie udokumentowane, wydają się sugestie o roli produktów peroksydatywnego utleniania kwasów tłuszczowych w destrukcji błon cytoplazmatycznych i zmianie ich przepuszczalności. Natomiast trudno w tej chwili orzec, jaki wpływ na odporność

wywierają czynniki chroniące błony przed ich uszkodzeniem. Mając na uwadze wyniki badań z wapniem należałoby przyjąć, iż mechanizm ten winien być bardzo specyficzny.

LITERATURA

- Bateman D. F., Millar R. L., 1964. *Pectic enzymes in tissue degradation*. Ann. Rev. Phytopath., **4**, 119—146.
- Barkley H. D., Galliard T., 1974. *Lipids of potato tubers. IV. Effect of growth and storage on the lipid-degrading enzymes of the potato tuber*. J. Sci. Fd Agric., **25**, 869—783.
- Black H. S., Wheller H., 1966. *Biochemical effects of victorin on oat tissues and mitochondria*. Am. J. Bot., **53**, 1108—1112.
- Brandt P. W., Freeman A. R., 1967. *Plasma membrane. Substructural changes correlated with electrical resistance and pinocytosis*. Science, **155**, 582—585.
- Demel R. A., Kinsky S. C., Kinsky C. B., Van Deenen L. L. M., 1968. *Effects of temperature and diolesterol on the glucose permeability of liposomes prepared with natural and synthetic lecithins*. Biochim. Biophys. Acta, **150**, 655—665.
- De Gier J., Mandersloot J. G., Van Deenen L. L. M., 1968. *Lipid composition and permeability of liposomes*. Biochim. Biophys. Acta, **150**, 666—675.
- Dijkman A. Van., 1972. *Natural resistance of tomato plants to Cladosporium fulvum*. A Biochemical Study. Dissertation, Utrecht.
- Dijkman A. Van., Kaars Sijpesteijn A., 1971. *A biochemical mechanism for the gene-for-gene resistance of tomato to Cladosporium fulvum*. Neth. J. Plant Pathol. **77**, 14—24.
- Doupnik B., 1968. *The suppression of victorin — induced disease by calcium*. Phytopathology, **58**, 215—218.
- Elnaghy M. A., Heitefuss R., 1976a. *Permeability changes and production of antifungal compounds in Phaseolus vulgaris infected with Uromyces phaseoli. I. Role of the spore germination self-inhibitor*. Physiol. Plant Pathol., **8**, 253—267.
- Elnaghy M. A., Heitefuss R., 1976b. *Permeability changes and production of antifungal compounds in Phaseolus vulgaris infected with Uromyces phaseoli. II. Role of phytoalexins*. Physiol. Plant Pathol., **8**, 269—277.
- Epstein E., 1961. *The essential role of calcium in selective cation transport by plant cells*. Plant Physiol. **36**, 437—444.
- Gardner J. M., Scheffer R. P., 1969. *Chemical protection against electrolyte losses induced by Helminthosporium victoriae (HV) and Periconia circinata (PC) toxins*. Phytopathology, **59**, 1027 (Abst).
- Gardner J. M., Scheffer R. P., 1970. *Protection against Helminthosporium victoriae toxin and evidence for proteins as toxin receptor*. Phytopathology, **60**, 1292 (Abst).
- Goodman R. N., 1968. *The hypersensitive reaction in tobacco: a reflection of changes in host cell permeability*. Phytopathology, **58**, 872—873.
- Gracen V. E., Luke H. H., West S. H., Wallace A. T., 1976. *The use of labelled cations to measure victorin-induced permeability changes*. Can. J. Bot., **54**, 395—398.
- Hall S. W., Marrinos L. J., 1970. Dane niepublikowane (cyt. za Hitchcock C., Nichols B. W., 1971. Plant Lipid Biochemistry. Academic Press, London and New York.).
- Halloin J. M., Comstock J. C., Martinson C. A., Tipton L. C., 1973. *Leakage from corn tissue induced by Helminthosporium maydis race T toxin*. Phytopathology, **63**, 640—642.
- Hanchey P., 1969. *Suppression of victorin toxicity in oats by uranyl salts*. Phytopathology, **59**, 1960—1962.
- Hanchey P., Wheeler H., 1969. *Pathological changes in ultrastucture: false plasmolysis*, Can. J. Bot., **43**, 675—678.

- Hanchey P., Wheeler H., Luke H. H., 1968. *Pathological changes in ultrastructure effects of victorin on oat roots*. Am. J. Bot., **55**, 53—61.
- Hanson J., 1965. *Metabolic of ion transport*. In *Genes to Genus: a Symposium on Plant Growth*, 63—74. (Greer F. H., Army T. J., Eds., Intern. Mineral Chemical Corp., Skokie).
- Heinen W., Brand I., 1963. *Enzymatische Aspekte zur Biosynthese des Blatt-Cutins bei Gasteria verrucosa Blättern nach Verletzung*. Z. Naturf., **18 B**, 67—79.
- Heitefuss R., Williams P. H., 1976. *Physiological Plant Pathology*, Springer — Verlag Berlin, Heidelberg, New York, (Encyclopedia of Plant Physiology, New Series, 4.).
- Helder R. J., 1956. *The of substances by cell and tissues (salt glands)*. In Encyclopedia of Plant Physiology, 468—488 (Ruhland W., Ed., Springer — Verlag, Berlin).
- Hoppe H. H., Heitefuss R., 1974 a. *Permeability and membrane lipid metabolism of Phaseolus vulgaris infected with Uromyces phaseoli*. I. *Changes in the efflux of cell constituents*. Physiol. Plant Pathol., **4**, 5—10.
- Hoppe H. H., Heitefuss R., 1974 b. *Permeability and membrane lipid metabolism of Phaseolus vulgaris infected with Uromyces phaseoli*. II. *Changes in lipid concentration and ³²P-incorporation into phospholipids*. Physiol. Plant Pathol., **4**, 11—23.
- Hoppe H. H., Heitefuss R., 1974 c. *Permeability and membrane lipid metabolism of Phaseolus vulgaris infected with Uromyces phaseoli*. III. *Changes in relative concentration of lipid bound fatty acids and phospholipase activity*. Physiol. Plant Pathol., **4**, 25—35.
- Hoppe H. H., Heitefuss R., 1975 a. *Permeability and membrane lipid metabolism of Phaseolus vulgaris infected with Uromyces phaseoli*. IV. *Phospholipids and phospholipid fatty acids in healthy and rust — infected bean leaves resistant and susceptible to Uromyces phaseoli*. Physiol. Plant Pathol., **5**, 263—271.
- Hoppe H. H., Heitefuss R., 1975 b. *Permeability and membrane lipid metabolism of Phaseolus vulgaris infected with Uromyces phaseoli*. V. *Sterols in healthy and rust-infected bean leaves resistant and susceptible to Uromyces phaseoli*. Physiol. Plant Pathol., **5**, 273—281.
- Jeng-Sheng Huang., Goodman R. N., 1970. *The relationship of phosphatidase activity to the hypersensitive reaction in tobacco induced by bacteria*. Phytopathology, **60**, 1020—1021.
- Jennings P. H., Zschelle P. P., Brannaman B. L., 1970. *Sterol changes in maize leaves infected with Helminthosporium carbonum*. Plant Physiol., **45**, 634—635.
- Kaars Sijpersteijn A., 1969. *Aspects of natural disease resistance*. Medelingen Rijksfaculteti Landbouwwetenschappen te Gent, **24**, 379—391.
- Kato S., Misawa T., 1976. *Lipid peroxidation during the appearance of hypersensitive reaction in cowpea leaves infected with cucumber mosaic virus*. Ann. Phytopath. Soc. Japan, **42**, 472—480.
- Keck R. W., Hodges T. K., 1973. *Membrane permeability in plants: changes induced by host-specific pathotoxins*. Phytopathology, **63**, 226—230.
- Kohmoto K., Khan I. D., Renbutsu Y., Taniguchi T., Nishimura S., 1976. *Multiple hostspecific toxins of Alternaria mali and their effect on the permeability of host cells*. Physiol. Plant Pathol., **8**, 141—153.
- Kuč J., 1966. *Resistance of plants to infections agents*. Ann. Rev. Microbiol., **20**, 337—370.
- Mansour J. S., 1968. Ph. D. Thesis, Michigan State University East Lansing 48823.
- Marinos N. G., 1963. *Studies on the submicroscopic aspects of mineral deficiencies*. II. *Nitrogen, potassium, sulfur, phosphorus and magnesium deficiencies in the shoot apex of barley*. Am. J. Bot., **50**, 998—1005.
- Marinos N. G., 1962. *Studies on the submicroscopic aspects of mineral deficiencies*. I. *Calcium deficiency in the shoot apex barley*. Am. J. Bot., **49**, 834—841.
- Miller R. J., Koeppe D. E., 1971. *Southern corn leaf blight; susceptible and resistant mitochondria*. Science, **173**, 67—69.
- Murkowski A., 1973. *Biochemiluminescencja — wskaźnikiem stanu fizjologicznego rośliny i jej odporności na ekstremalne czynniki zewnętrzne*. Postępy Nauk Rol., **4**, 3—16.
- Murkowski A., 1974. *Fotosyntetyczna luminescencja — wskaźnikiem stanu fizjologicznego rośliny i jej odporności na ekstremalne czynniki zewnętrzne*. Postępy Nauk Rol., **2**, 3—21.
- Nishimura S., Kohmoto K., Otani H., Fukami H., Ueno T., 1975. *The involvement of host-specific*

- toxins in early step of infection by *Alternaria kikuchiana* and *A. mali*. Proc. First International Cong. Internat. Assoc. Microbiol. Soc., Tokyo 3, 41—45.
- Nowak R., Kim W. K., Rohringer R., 1972. Sterols of healthy and rust — infected primary leaves of wheat and non — germinated and germinated uredospores of wheat stem rust. Can. J. Bot., 50, 185—190.
- Luke H. H., Barnet R. D., 1974. Calcium nutrition and sensitivity of oat leaf tissue to victorin. Plant Disease Reporter, 58, 3—6.
- Luke H. H., Warmke H. E., Hanchey P., 1966. Effects of the pathotoxin victorin on ultrastructure of root and leaf tissue of *Avena* species. Phytopathology, 56, 1178—1183.
- Otani H., Nishimura S., Kohmoto K., 1973. Nature of specific susceptibility to *Alternaria kikuchiana* in *Nijisseiki* cultivar among Japanese pears. II. Effect of host — specific toxin on permeability of pear leaves. J. Fac. of Agr., Tottori University, 8, 14—20.
- Otani H., Nishimura S., Kohmoto K., Yano K., Seno T., 1975. Nature of susceptibility to *Alternaria kikuchiana* in *Nijisseiki* cultivar among Japanese pears. V. Role of host — specific toxin in early step of infection. Annals Phytopathol. Soc. Japan, 41, 467—476.
- Park P., 1977. Origin of inclusive materials between cell walls and invaginated plasma membranes in cells of susceptible leaves of Japanese pear treated with a host — specific toxin from *Alternaria kikuchiana* Tanaka. Physiol. Plant Pathol., 11, 39—42.
- Park P., Fukutomi M., Akai S., 1976. Effect of the host-specific toxin from *Alternaria kikuchiana* on the ultrastructure of plasma membranes of cells in leaves of Japanese pear. Physiol. Plant Pathol., 9, 167—174.
- Pellizzari E. D., Kuć J., Williams E. B., 1970. The hypersensitive reaction in *Malus* species: changes in the leakage of electrolytes from apple leaves after inoculation with *Venturia inaequalis*. Phytopathology, 60, 373—376.
- Pringle R. B., Scheffer R. P., 1964. Host — specific plant toxins. Ann. Rev. Phytopath., 2, 133—156.
- Raa J., Kaars Sijpesteijn A., 1968. A biochemical mechanism of natural resistance of Apple to *Venturia inaequalis*. Neth. J. Plant Pathol., 74, 229—231.
- Rothstein A., 1961. Interrelationships between the ion transporting systems of the yeast cell. In: Symposium of Membrane. Transport and Metabolism, 270—284. Kleinzeeler A., Kotyk A., Eds., Academic Press New York.
- Rothstein A., 1962. Functional implications of interactions of extracellular ions with ligands of the cell membrane. Circulation, 27, 1189—1200.
- Ruesink A. W., 1971. The plasma membrane of *Avena* coleoptile protoplasts. Plant Physiol., 47, 192—195.
- Saftner A. R., Evans M. L., Hollander P. B., 1976. Specific binding of victorin and calcium: evidence for calcium binding as a mediator of victorin activity. Physiol. Plant Pathol., 8, 21—34.
- Samaddar K. R., 1968. Protection against membrane effects of *Helminthosporium victoriae* toxin by chemical treatments. Phytopathology, 58, 1065 (Abst).
- Samaddar K. R., Scheffer R. P., 1971. Early effects of *Helminthosporium victoriae* toxin on plasma membranes and counteraction by chemical treatment. Physiol. Plant Pathol. 1, 319—328.
- Samaddar K. R., Scheffer R. P., 1976. Effect of *Helminthosporium victoriae* toxin on germination, secretion and P-uptake by oat seeds. Phytopathology, 57, 828—831.
- Scheffer R. P., Pringle R. B., 1963. Respiratory effects of the selective toxin of *Helminthosporium victoriae*. Phytopathology, 53, 465—468.
- Scheffer R. P., Samaddar K. R., 1970. Host-specific toxins as determinants of pathogenicity. Recent Advances in Phytoch., 3, 123—142.
- Scheffer R. P., Yoder O. C., 1972. Host-specific toxins and selective toxicity. In: Phytotoxins in Plant Diseases. Ed. by R. K. S. Wood., A. Ballie., A. Graniti., 251—272. Academic Press, New York.
- Thatcher F. S., 1939. Osmotic and permeability relations in the nutrition of fungus parasites. Am. J. Bot., 26, 449—458.
- Thatcher F. S., 1942. Further studies of osmotic and permeability relations in parasitism. Can. J. Res. sec. C., 20, 283—311.
- Thatcher F. S., 1943. Cellular changes in relation to rust resistance. Can. J. Res., sec. C., 21, 151—172.
- Wheeler H., Black H. S., 1962. Changes in permeability induced by victorin. Science, 137, 983—984.

- Wheeler H., Black H. S., 1963. *Effects of Helminthosporium victoriae and victorin upon permeability*. Am. J. Bot., **50**, 686—693.
- Wood R. K. S., Ballio A., Graniti A., 1972. *Phytotoxins in plant diseases*. Academic Press, London, New York.
- Yoder O. C., 1970. *Effect of Helminthosporium carbonum toxin on nitrate reductase activity in susceptible corn embryonic axes*. Phytopathology, **60**, 1320 (Abst).

Adres autora:

Mgr MONIKA CZECH-KOZŁOWSKA

Instytut Przyrodniczych Podstaw Produkcji Roślinnej, Zakład Fizjologii Roślin AR, ul. Wołyńska 35,
60-637 Poznań