

## Respuesta de Hipersensibilidad, una Muerte Celular Programada para Defenderse del Ataque por Fitopatógenos

### Hypersensitive Reaction, a Programmed Cell Death to Defend from Attack by Plant Pathogens

Diana Sanzón Gómez y Emma Zavaleta Mejía, Instituto de Fitosanidad, Colegio de Postgraduados, Km. 36.5 Carr. México-Texcoco, Montecillo, Edo. de México, CP 56230, México. Correspondencia: zavaleta@colpos.mx

(Recibido: Junio 21, 2010 Aceptado: Junio 14, 2011)

---

Sanzón GD y Zavaleta ME. 2011. Respuesta de Hipersensibilidad, una muerte celular programada para defenderse del ataque por fitopatógenos. *Revista Mexicana de Fitopatología* 29:154-164.

**Resumen.** La muerte celular programada (MCP) o “suicidio” celular, ocurre en los seres vivos como un proceso normal que tiene lugar de una manera perfectamente organizada y regulada, que es fundamental para su desarrollo y supervivencia, y que también se dispara en respuestas a estrés por factores bióticos o abióticos en animales, plantas y en organismos unicelulares. La MCP es un fallecimiento genéticamente controlado, que requiere de una participación activa del organismo e involucra una secuencia de eventos metabólicos celulares que conducen a la destrucción de la célula. Actualmente con base en las características morfológicas que presentan las células que fallecen y en el tipo de organelo celular involucrado se han definido tres categorías de MCP: apoptosis, muerte lisosomal o autofagia, y muerte no lisosomal. La reacción de hipersensibilidad (RH) es considerada como la máxima expresión de resistencia de las plantas al ataque por patógenos y se define como una muerte rápida de las células vegetales asociada con la restricción del crecimiento del patógeno, que generalmente se reconoce por la presencia de una o varias células muertas con coloración café en el sitio de infección. El fallecimiento de células que ocurre durante la RH se considera una MCP de tipo lisosomal o autofagia.

Palabras clave adicionales: Mecanismos de defensa en plantas, interacciones planta-patógeno compatibles e incompatibles, necrosis, resistencia en plantas.

La reacción de hipersensibilidad (RH) se considera como la máxima expresión de resistencia de las plantas al ataque por patógenos. Durante la RH las células que rodean el sitio donde penetró el patógeno se suicidan con la intención de detener su avance y la infección. Así la RH forma parte de los mecanismos de defensa de la planta (Greenberg, 1997; Mur *et al.*, 2008). El fallecimiento de células que ocurre durante la RH se considera una muerte celular programada (MCP). Normalmente muchas de las células de los

**Abstract.** Programmed cell death (PCD) or “cellular suicide” occurs in all organisms as a normal process that takes place in an organized and perfectly regulated way, which is essential for the development and survival of the organisms and it is also expressed in response to biotic or abiotic stresses in animals, plants and unicellular organisms. The PCD is a genetically controlled cell death which requires an active participation of the organism and involves a sequence of cellular metabolic events that lead to the destruction of the cell. Currently, based upon the morphological characteristics that the dying cells display and in the kind of cellular organelle involved, three categories of PCD death have been defined: apoptosis, lysosomal death or autophagy ('self-eating'), and non-lysosomal death. The hypersensitive reaction (HR) is considered the maximum expression of plant resistance to pathogen attack and is defined as a fast death of the plant cells associated with the restriction of the pathogen growth, which usually is recognized by the presence of one or several brown-colored dead cells at the infection site. The death of cells that happens during the HR is considered a lysosomal type PCD or autophagy.

Additional keywords: Plant defense mechanisms, compatible and incompatible plant-pathogen interactions, necrosis, plant resistance.

The hypersensitive reaction (HR) is considered the ultimate expression of plant resistance to pathogen attack. During the HR cells surround the site where the pathogen penetrated and commit suicide with the intention of stopping its progress and infection. Thus, the HR forms part of the plant's defense mechanisms (Greenberg, 1997; Mur *et al.*, 2008). The cell death that occurs during the HR is considered a Programmed Cell Death (PCD). Normally many of the cells of eukaryotic organisms die and are removed on a programmed basis through a series of sophisticated biochemical and morphological changes. PCD is fundamental in processes that are related to both growth and normal development of the organism as a response to stress caused by biotic and abiotic factors; it occurs in animals, plants and unicellular organisms (Guimarães and Linden,

organismos eucariontes mueren y son removidas de manera programada a través de una serie de cambios bioquímicos y morfológicos sofisticados. La MCP es fundamental en procesos relacionados tanto con el crecimiento y desarrollo normal del organismo, como con la respuesta a estreses por factores bióticos y abióticos; se presenta en animales, plantas y en organismos unicelulares (Guimarães y Linden, 2004; Williams y Dickman, 2008; Zandbergen *et al.*, 2010). La MCP es un fallecimiento genéticamente controlado, que requiere de una participación activa del organismo (Greenberg, 1997; Williams y Dickman, 2008) e involucra una secuencia de eventos metabólicos que conducen a la destrucción de la célula (Guimarães y Linden, 2004; Williams y Dickman, 2008). Se sugiere que a través de la evolución se han conservado en animales y plantas al menos parte, tanto de las rutas de la muerte celular, como de las características morfológicas (Ameisen, 2002; Jiménez *et al.*, 2009; Reape y McCabe, 2010; Kaczanowski *et al.*, 2011).

Aunque la mayoría de los trabajos de investigación sobre los mecanismos de la MCP, se han llevado a cabo en animales y relativamente poco se ha investigado en plantas, por ahora se ha documentado que la muerte celular en plantas presenta similitudes con la muerte celular en animales. Con anterioridad, Camarena (2006) publicó en México una revisión sobre muerte celular programada como una respuesta al estrés ambiental, pero no aborda de manera amplia este tipo de MCP en la interacción planta-patógeno.

La presente revisión complementa la realizada por Camarena (2006), al enfatizar aquella que involucra la muerte celular hipersensitiva en la interacción planta-patógeno, particularmente con hongos, oomicetos y bacterias. Además, se menciona y se resalta la información de los últimos años sobre los cambios morfológicos y ultraestructurales que sufren las células en este tipo de muerte celular, tema poco abordado en otros documentos que enfatizan los cambios bioquímicos.

**Muerte celular programada en plantas.** Las células de los organismos pueden fallecer por suicidio o por asesinato (Figura 1). La MCP es una autodestrucción ("suicidio") celular que se presenta como un proceso normal en los seres vivos, que tiene lugar de una manera perfectamente organizada y regulada, que es fundamental para su desarrollo y supervivencia, y que también se dispara en respuestas a estrés por factores bióticos o abióticos (Lakimova *et al.*, 2005; Williams y Dickman, 2008; Zandbergen *et al.*, 2010). En contraste con la MCP, la necrosis en un sentido figurado es un "asesinato" en el que la muerte celular resulta de la exposición a compuestos tóxicos, estrés severo por frío o calor, o daño severo que causa un deterioro inmediato e irreversible a la membrana u organelos celulares (Reape *et al.*, 2008; Williams y Dickman, 2008).

En plantas, el suicidio celular o MCP, se presenta en varias etapas de su desarrollo como un proceso normal de diferenciación de tejidos y órganos, y de adaptación a condiciones ambientales; las evidencias obtenidas en varios sistemas modelo, tanto *in vitro* como *in vivo*, soportan la hipótesis de que una variedad de MCPs pueden ser

2004; Williams and Dickman, 2008; Zandbergen *et al.*, 2010). PCD is a genetically controlled death, which requires the active participation of the organism (Greenberg, 1997; Williams and Dickman, 2008) and involves a sequence of metabolic events that lead to the destruction of the cell (Guimarães and Linden, 2004; Williams and Dickman, 2008). It is suggested that animals and plants have conserved, at least in part, both cell death pathways and morphological characteristics through evolution (Ameisen, 2002; Jimenez *et al.*, 2009; Reape and McCabe, 2010; Kaczanowski *et al.*, 2011).

Although most of the research work on PCD mechanisms has been carried out in animals and relatively little has been investigated in plants, it has been documented that the cell death in plants has similarities with cell death in animals. Previously, Camarena (2006) published in Mexico a review on programmed cell death as a response to environmental stress, but it did not comprehensively address this type of PCD in plant-pathogen interactions.

This review complements the studies made by Camarena (2006), by emphasizing on PCD that involves hypersensitive cell death in the plant-pathogen interaction, particularly with fungi, oomycetes and bacteria. Furthermore, information from recent years on the morphological and ultrastructural changes experienced by cells in this type of cellular death are mentioned and highlighted, a topic scarcely discussed in other documents that emphasize the biochemical changes.

**Programmed cell death in plants.** The cells of organisms can die from "suicide" or "murder" (Figure 1). The PCD is a cellular self-destruction ("suicide") that presents itself as a normal process in living organisms, that takes place in a perfectly organized and regulated manner, which is fundamental for development and survival, and that is also triggered in response to biotic and abiotic stress factors (Lakinova *et al.*, 2005; Williams and Dickman, 2008; Zandbergen *et al.*, 2010). In contrast with the PCD, necrosis in a figurative way is a "murder" in which the cellular death results from the exposition to of toxic compounds, severe stress from heat or cold, or severe damage that causes immediate and irreversible deterioration to membrane and cellular organelles (Reape *et al.*, 2008; Williams and Dickman, 2008).

In plants, cellular suicide or PCD, is present in various stages of its development as a normal process of differentiation of tissues and organs, and the adaptation to environmental conditions; the evidence obtained in several models, both *in vitro* and *in vivo*, support the hypothesis that a variety of PCD's may be triggered in different circumstances (Guimarães and Linden, 2004; Wang *et al.*, 2010; Nakaba *et al.*, 2011; Wang and Zhang, 2011) and consequently, there are differences in the morphological changes experienced by dying cells. Some examples of PCD that commonly occur in plants are: 1) the degeneration of specific cells that occur during the growth of the embryo and germination (the suspensor cells of the embryo and or endosperm die), the death of the cotyledons, petals, carpels and other floral parts, and the parenchymal cells in the formation of the aerenchyma; 2) the differentiation of male

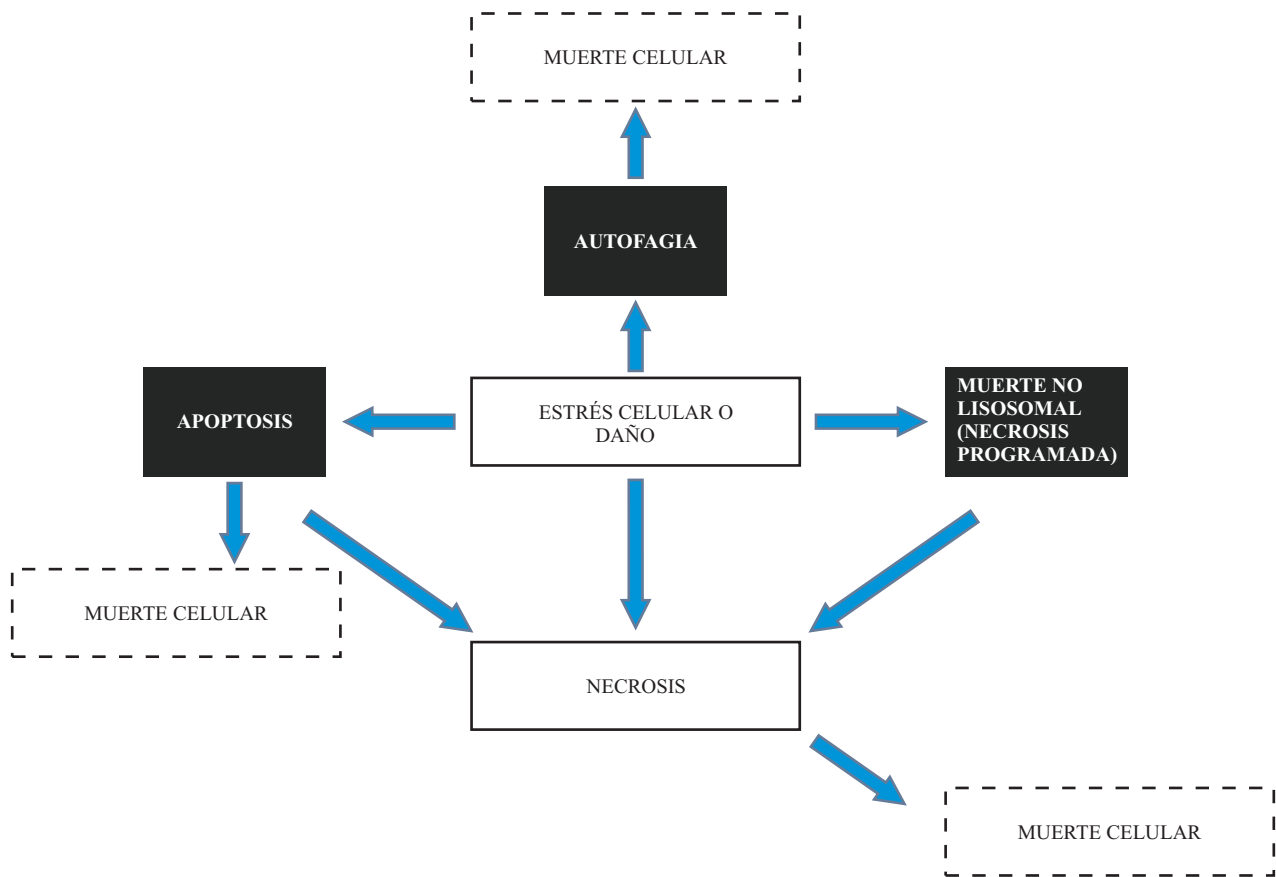


Figura 1. Tipos de degeneración celular que ocurren en células sujetas a estrés o daño. Los tipos de muerte celular programada se indican en los rectángulos negros. El fallecimiento de la célula (muerte celular, indicada en los rectángulos con líneas discontinuas) puede ocurrir por suicidio (muerte celular programada) o por asesinato (la muerte celular resulta de la exposición a compuestos tóxicos, estrés severo por frío o calor, o daño severo que causa un daño inmediato irreversible a la membrana u organelos celulares).

Figure 1. Types of cell degeneration that occur in cells subjected to stress or damage. The types of programmed cell death are indicated in black rectangles. The death of a cell (cell death, indicated in rectangles with dotted lines) can occur by "suicide" (programmed cell death) or by "murder" (the cell death results from exposure to toxic compounds, severe stress caused by heat or cold, or severe damage that causes irreversible immediate harm to the membrane or cellular organelles).

disparadas en circunstancias distintas (Guimarães y Linden, 2004; Wang *et al.*, 2010; Nakaba *et al.*, 2011; Wang y Zhang, 2011) y por consiguiente existen diferencias en los cambios morfológicos que sufren las células que mueren. Algunos ejemplos de MCP que comúnmente se presentan en plantas se pueden mencionar: 1) la degeneración de células específicas que ocurre durante el crecimiento del embrión y germinación (las células suspensoras del embrión y las del escutelum y endospermo mueren), la muerte de los cotiledones, pétalos, carpelos y otras partes florales y de células parenquimatosas en la formación del aerénquima; 2) la diferenciación de flores masculinas y femeninas, usualmente las flores son originalmente bisexuales y el desarrollo de flores masculinas involucra la MCP del estigma, estilo y ovario; y la formación de la flor femenina resulta de la muerte de los estámenes desarrollados; 3) la prevención de autofecundación por MCP de las células del estigma y/o del tubo de polen; y 4) la formación de xilema por muerte de elementos de los vasos y de las células que se

andfemale flowers, usually the flowers are originally bisexual and the development of male flowers involves the PCD of the stigma, style and ovary; and the formation of the feminine flower results from the death of the developed stamens; 3) self-fertilization is prevented by PCD of the stigma cells and/or the pollen tube; and 4) the formation of xylem by the death of vessels and cells that constitute tracheids, fibers and sclereids.

The information that has been generated in studies concerning PCD in metazoans, has provided the basis for grouping the different types of PCD into three categories, considering both morphological characteristics presented by cells that die, as well as the type of cellular organelle involved in the death: 1) apoptosis; 2) lysosomal death (autophagy); and 3) non-lysosomal death (Schweichel and Merkel, 1973; Baehrecke, 2003; Williams and Dickman, 2008). In apoptosis, the cell destined to die is devoured by a live cell (a kind of "cannibalism") which is degraded in its lysosome (cellular organelle in which hydrolytic enzymes

constituyen en traqueidas, fibras y esclereidas.

La información que se ha generado en estudios concerniente a la MCP en metazoarios, ha proporcionado las bases para agrupar en tres categorías a los diferentes tipos de MCP, considerando tanto las características morfológicas que presentan las células que fallecen, como el tipo de organelo celular involucrado en el fallecimiento: 1) apoptosis; 2) muerte lisosomal (autofagia) y 3) muerte no lisosomal (Schweichel y Merkel, 1973; Baehrecke, 2003; Williams y Dickman, 2008). En la apoptosis, la célula destinada a fallecer es devorada por una viva (es una especie de "canibalismo") que la degrada en su lisosoma (organelo celular en el que almacenan enzimas hidrolíticas que llevan a cabo la digestión intracelular o extracelular de macromoléculas); en la autofagia o muerte celular lisosomal la célula que muere se autodestruye utilizando su propio sistema lisosomal; y en la muerte no lisosomal no está involucrada la degradación lisosomal y es un tipo de MCP menos frecuente (van Doorn y Woltering, 2005). En varias investigaciones indican que la mayoría de los ejemplos documentados de MCP durante el desarrollo de la planta se ubican en la categoría de muerte autofágica, no teniendo a la fecha ejemplos de muerte del tipo apoptótico y algunos casos no corresponden ni a apoptosis ni a autofagia (van Doorn y Woltering, 2005; 2008; Woltering *et al.*, 2010; Yoshimoto, 2010).

**Respuesta de hipersensibilidad (RH).** La RH se define como una muerte rápida de células vegetales asociada con la restricción del crecimiento de patógenos (Mur *et al.*, 2008; Vidhyasekaran, 2008) y generalmente se reconoce por la presencia de una o varias células muertas con coloración café en el sitio de infección. La lesión café puede visualizarse a nivel macroscópico cuando involucra a un número suficiente de células; no obstante, en algunos casos la necrosis solamente es visible al microscópico cuando son pocas las células involucradas en la RH. Se ha consignado que las plantas en las que se dispara la RH, muestran cierto grado de resistencia a patógenos en tejidos distantes al sitio donde ocurrió la reacción; este tipo de protección se le conoce como resistencia sistémica adquirida (RSA) y el ácido salicílico (AS) es, al parecer esencial para su inducción (Vlot *et al.*, 2008; Hammerschmidt, 2009).

Inicialmente se consideró que la RH era una respuesta característica de plantas resistentes y que se disparaba solamente en aquellas situaciones en la que existía una relación gen a gen. Por otro lado, se asumía que el producto del gen de avirulencia (*avr*), que actúa como elicitador específico de raza, interactuaba con el producto del gen de resistencia (*R*) correspondiente; esto es, que únicamente se presentaba en interacciones de tipo incompatible. Sin embargo, en la actualidad se sabe que la RH se expresa tanto en plantas hospedantes como en no hospedantes y es controversial si el control genético es el mismo en ambos casos (Heath, 2000; Lenk y Thordal-Christensen, 2009; Lipka *et al.*, 2010). Estudios con mutantes de maíz (*Zea mays*), tomate (*Solanum lycopersicum*) y *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh, han revelado que la RH también depende de genes adicionales que parecen estar presentes tanto en individuos resistentes

that carry out intracellular or extracellular digestion of macromolecules are stored); in autophagy or lysosomal cell death the dying cell self-destructs using its own lysosomal system; and in the non-lysosomal death lysosomal degradation is not involved and is a kind of less common PCD (van Doorn and Woltering, 2005). Several studies indicate that most documented examples of PCD during plant development fall into the category of autophagic death, having no examples to date of apoptosis or autophagy (van Doorn and Woltering, 2005; 2008; Woltering *et al.*, 2010; Yoshimoto, 2010).

**Hypersensitivity response (HR).** HR is defined as a rapid death of plant cells associated with the restriction of pathogen growth (Mur *et al.*, 2008; Vidhyasekaran, 2008) and is generally recognized by the presence of one or several dead cells with brown coloration at the infection site. The brown lesion can be seen at the macroscopic level when it involves a sufficient number of cells, however, in some cases necrosis is only visible at a microscopic level when few cells are involved in the HR. It has been recorded that plants in which HR, has been triggered show a certain degree of resistance to pathogens in tissues distant from the site where the reaction occurred, this type of protection is known as systemic acquired resistance (SAR) and salicylic acid (SA) is apparently essential for its induction (Vlot *et al.*, 2008; Hammerschmidt, 2009).

It was initially considered that HR was a characteristic response of resistant plants and that it only went off in situations where there was a gene to gene relationship. On the other hand, it was assumed that the product of the avirulence gene *avr*, which acts as a race specific elicitor, interacted with the corresponding resistance gene (*R*) product; that is, that it was only present in incompatible type interactions. However, we now know that the HR is expressed both in host as well as in non-host plants and is controversial if the genetic control is the same in both cases (Heath, 2000; Lenk and Thordal-Christensen, 2009; Lipka *et al.*, 2010). Studies with mutants of maize (*Zea mays*), tomato (*Solanum lycopersicum*) and *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh, have revealed that HR also depends on additional genes that appear to be present in both resistant and susceptible individuals, and give the plant the ability to hypersensitively respond even in situations where there is no *R-avr* relationship (Heath, 2000; Lipka *et al.*, 2010). Furthermore, to date a few specific elicitors have been isolated and also several oomycete fungi produce a variety of metabolites, that form part of their component or secretions (carbohydrates from the cell wall, proteins and glycoproteins), known as non-specific elicitors, which can induce the plant's defense responses, and in some cases cellular death (Heath, 2000; Mishra *et al.*, 2009). Phytopathogenic bacteria such as *Pseudomonas syringae*, *Erwinia amylovora* and *Ralstonia solanacearum*, amongst others, have protein elicitors that trigger the HR (Grant and Mansfield, 1999; El-Maarouf *et al.*, 2001; Gimenez-Ibanez and Rathjen, 2010). The oomycetes *Phytophthora cryptogea* and *P. capsici* produce the proteins cryptogein and capsicein, respectively, which act as elicitors (Nespoulous *et al.*, 1999; Sawai *et al.*, 2010).

como susceptibles, y que le confieren a la planta la habilidad de responder hipersensitivamente aún en situaciones donde no existe la relación *R-avr* (Heath, 2000; Lipka *et al.*, 2010). Asimismo, a la fecha se han aislado pocos elicitors específicos y también algunos hongos oomicetos producen una variedad de metabolitos, que forman parte de sus componentes o secreciones (carbohidratos de la pared celular, proteínas y glicoproteínas), conocidos como elicitors no específicos, que pueden inducir las respuestas de defensa de las plantas, y en algunos casos la muerte celular (Heath, 2000, Mishra *et al.*, 2009). Bacterias fitopatógenas como *Pseudomonas syringae*, *Erwinia amylovora* y *Ralstonia solanacearum*, entre otras, poseen elicitors proteínicos que disparan la RH (Grant y Mansfield, 1999; El-Maarouf *et al.*, 2001; Gimenez-Ibanez y Rathjen, 2010). Los oomicetos *Phytophthora cryptogea* y *P. capsici* producen las proteínas criptogeína y capsiceína, respectivamente, que actúan como elicitors (Nespoulous *et al.*, 1999; Sawai *et al.*, 2010).

Aún cuando se considera que la RH en plantas es la máxima expresión de resistencia al ataque por patógenos, esta no siempre resulta efectiva para protegerla del ataque de éstos. Su eficacia para detener el avance del patógeno esta en gran medida determinada por el hábito alimenticio de éste, biotrófico, hemibiotrófico o necrotrófico y si crece intra o extracelularmente (Grenville-Briggs y van West, 2005; Kliebenstein y Rowe, 2008; Münch *et al.*, 2008). La colonización exitosa del tejido hospedante por el patógeno depende de si éste tiene la capacidad de ejercer por lo menos alguna de las siguientes estrategias: 1) tener la capacidad de evadir el sistema de detección (vigilancia) de la planta no produciendo moléculas elicitoras que lo puedan delatar, o si las produce "camuflajearlas" de forma que no sean detectadas por el hospedante; 2) aún cuando produzca las moléculas elicitoras, poder interferir con las respuestas de defensa, por ejemplo mediante detoxificación de compuestos antimicrobianos; 3) poseer una tasa alta de crecimiento (o de movilización como los fitonematodos) de modo que pueda alejarse rápidamente del sitio en el que se están dando con mayor intensidad las respuesta de defensa; 4) tener un hábito alimenticio que se acerque más al extremo de los necrotróficos (organismos que asesinan a las células para utilizarlo como substrato alimenticio), de manera que al asesinar un área extensiva de células hospedantes, mediante la producción de grandes cantidades de toxinas o enzimas, interfiera con las respuestas de defensa activa (producción de fitoalexinas y otros metabolitos antimicrobianos, engrosamiento de paredes celulares y acumulación de calosa, entre otras) que llevan a cabo las células vivas vecinas.

En la actualidad las evidencias que se tienen de que la RH resulta de procesos de MCP son: la activación del fallecimiento celular en ausencia de patógenos por mutación de ciertos genes que se considera están involucrados en la ruta de muerte; la activación de la muerte cuando elicitors producidos por el patógeno son reconocidos; y la activación de la RH por transgenes en plantas (Mittler y Rizhsky, 2000; Rostoks *et al.*, 2003; Lenk y Thordal-Christensen, 2009; Mishra *et al.*, 2009; Sawai *et al.*, 2010). El hecho de que una

Even when it is considered that HR in plants is the maximum expression of resistance to pathogen attack, it is not always effective to protect them from the attack. Its efficiency to stop the advance of the pathogen is largely determined by its dietary habit, if it is biotrophic, hemibiotrophic or necrotrophic and if it grows intra or extracellularly (Grenville-Briggs and van West, 2005; Kliebenstein and Rowe, 2008; Münch *et al.*, 2008). The successful colonization of the host tissue by the pathogen will depend on whether it has the ability to draw on at least one of the following strategies: 1) have the ability to evade the detection system (surveillance) of the plant by not producing elicitor molecules that could give it away, or if it does produce them, "camouflage" them in a way that they are not detected by the host; 2) even when it produces elicitor molecules, it can interfere with the defense responses, for example through detoxification of antimicrobial compounds; 3) have a high rate of growth (or mobilization such as phytonematodes) so that it can get away quickly from the site where the highest defense response is taking place; 4) have a feeding habit that is as close to necrotrophic as possible (organisms that kill cells to use as a food substrate), so that by killing an extensive area of host cells, through the production of large quantities of toxins or enzymes, it will interfere with the active defense responses (production of phytoalexins and other antimicrobial metabolites, cell wall thickening and callose accumulation, among others) that the neighboring living cells perform.

Currently, the evidences we have that show that HR is a result from PCD processes are: the activation of cellular death in absence of pathogens by the mutation of certain genes that are considered to be involved in the death pathway; the activation of the death when elicitors produced by the pathogen are recognized; and the activation of the HR by transgenes in plants (Mittler and Rizhsky, 2000; Rostoks *et al.*, 2003; Lenk and Thordal-Christensen, 2009; Mishra *et al.*, 2009; Sawai *et al.*, 2010). The fact that a death similar to HR can be activated in the absence of the pathogen suggests that this type of cellular death is not directly caused by the invading pathogen, but rather results from the activation of a specific PCD pathway in the host (Lakimova *et al.*, 2005). Several studies indicate that the existence of mutants, that spontaneously activate the HR in absence of a pathogen, is the strongest evidence that the HR is a PCD process. These mutants known as "disease lesion mimics" and mutations that cause HR lesions in the absence of pathogens probably occur in genes that control PCD; for this, such mutants constitute a powerful tool in the study of HR in plants (Rostoks *et al.*, 2003; Lakimova *et al.*, 2005; Love *et al.*, 2008; Lenk and Thordal-Christensen, 2009).

**Morphological and structural changes that occur in the HR.** The morphological and structural changes accompanying the PCD during the plant-microorganism interactions have been studied in a few plant-pathogen interactions. In those models that have been studied, the stopping of the cytoplasmic stream followed by the dismantling of the protoplast and the fragmentation of the nuclear deoxyribonucleic acid (DNA) are early events that take place consistently during the HR.

muerte similar a la RH pueda activarse en la ausencia del patógeno, sugiere que este tipo de fallecimiento celular no es directamente causado por el patógeno invasor sino que resulta de la activación de una ruta específica determinada de MCP en el hospedante (Lakimova *et al.*, 2005). En varias investigaciones se indica que la existencia de mutantes que espontáneamente activan la RH en ausencia de un patógeno, constituye la evidencia más contundente de que la RH es un proceso de MCP. Estos mutantes conocidos como “mutantes que imitan lesiones de enfermedad” (“disease lesion mimics”) y las mutaciones que causan la aparición de lesiones de RH en la ausencia de patógenos probablemente ocurren en genes que controlan la MCP; por lo anterior, tales mutantes constituyen una herramienta poderosa para el estudio de la RH en plantas (Rostoks *et al.*, 2003; Lakimova *et al.*, 2005; Love *et al.*, 2008; Lenk y Thordal-Christensen, 2009).

**Cambios morfológicos y estructurales que ocurren en la RH.** Los cambios morfológicos y estructurales que acompañan a la MCP durante las interacciones planta-microorganismo han sido investigados en pocas interacciones planta-patógeno. En aquellos modelos que se han estudiado, el detenimiento de la corriente citoplasmática seguido por el desmantelamiento del protoplasto y la fragmentación del ácido desoxirribonucleico (ADN) nuclear son eventos tempranos que se presentan consistentemente durante la RH.

En células de soya (*Glycine max*) en suspensión e inoculadas con una cepa avirulenta de *P. syringae* pv. *glycinea* se observó una MCP; acompañada de fragmentación del ADN, globulación de la membrana plasmática, condensación del núcleo y citoplasma, y contracción de la célula (Levine *et al.*, 1996). Cuando la bacteria se inoculó se hizo en hojas completas, estos mismos autores observaron que la estructura interna del cloroplasto se perdió y se acumularon granos de almidón en el estroma, y las células del mesófilo mostraron contracción y fragmentación del protoplasto. Tales cambios no fueron observados en la interacción compatible con la cepa virulenta, la cual no provocó una RH. Células de tabaco (*Nicotiana tabacum*), no hospedante del oomiceto *P. cryptogea*, tratadas con criptogea también sufrieron cambios morfológicos similares a los observado en células de soya con la cepa avirulenta de *P. syringae* pv. *glycinea*. En un cultivar de calabacita (*Cucurbita maxima*) resistente a *P. capsici* las células del parénquima del tallo infectado sufrieron plasmolisis de su membrana plasmática, y el material citoplásmico y el núcleo se agregaron en el sitio de contacto de la hifa del oomiceto. Por otro lado, en el cultivar susceptible la membrana plasmática de las células infectadas fue desorganizada, las células se plasmolizaron y sus cloroplastos se deformaron y mostraron desorganización en su sistema de membranas (Lee *et al.*, 2001). Cambios morfológicos y estructurales similares han sido reportados también en frutos respondiendo hipersensitivamente; así frutos de chile (*Capsicum baccatum*) resistentes a *Colletotrichum gloeosporioides* (*Glomerella cingulata*), mostraron varias características citológica típicas de la MCP como separación de la

In soybean (*Glycine max*) cells in suspension and inoculated with an avirulent strain of *P. syringae* pv. *glycinea* a PCD was observed; accompanied by DNA fragmentation, blebbing of the plasma membrane, condensation of the nucleus and cytoplasm, and cell shrinkage (Levine *et al.*, 1996). When the inoculation of the bacteria took place in full leaves, these authors observed that the internal structure of the chloroplast was lost and starch grains had accumulated in the stroma, and mesophyll cells showed shrinkage and fragmentation of the protoplast. Such changes were not observed in the interaction compatible with the virulent strain, which did not cause a HR. Also, cells in tobacco (*Nicotiana tabacum*), not hosting the oomycete *P. cryptogea*, treated with cryptogea suffered morphological changes similar to those observed in soybean cells with the avirulent strain of *P. syringae* pv. *glycinea*. In a cultivar of pumpkin (*Cucurbita maxima*) resistant to *P. capsici* the parenchymal cells of the infected stem suffered plasmolysis of the plasma membrane and the cytoplasmic material, and the nucleus were attached in the contact site of the hyphae of the oomycete. On the other hand, in the susceptible cultivar the plasma membrane of infected cells was disorganized, the cells plasmolyzed and their chloroplasts were deformed and showed disorganization in their membrane system (Lee *et al.*, 2001). Similar morphological and structural changes have also been reported in fruits that have a hypersensitive response; the fruit of chile (*Capsicum baccatum*) resistant to *Colletotrichum gloeosporioides* (*Glomerella cingulata*), showed several cytological characteristics typical of PCD such as separation of the plasma membrane from the cellular wall, cytoplasm condensation, dilation of endoplasmic reticulum, the presence of numerous small vacuoles, heterochromatic and less osmophilic nucleus, and DNA fragmentation. In contrast, in susceptible fruit (*C. annuum*) degradation of the cell wall, vacuole fragmentation, degradation of the cytoplasm and nucleus, and condensation of the cytoplasm was observed (Kim *et al.*, 2004). Several researchers have proposed that in compatible interactions, the death of host cells could also eventually be a PCD and involve similar mechanisms. However, it is convenient to comment that the structural changes that the researchers observed in the compatible interactions in pumpkin-*P. capsici* and *C. annuum*-*C. gloeosporioides*, such as the disorganization of the cell membrane, plasmolization of the cytoplasm, deformation of the chloroplasts and disorganization of the membrane system in the first case and the degradation of the cell walls in susceptible fruit in the second; these clearly show that the mechanisms that lead to the death of the cells were totally different from those that occurred in the HR, and that the host cells were killed by the pathogen, by the introduction of toxins and/or enzymes that degrade the cell walls and structural compounds of the cell membranes and whose direct harmful effects on the structural components or the host cell's metabolic pathways have been widely documented (Hückelhoven, 2007; Eichmann and Hückelhoven, 2008; Ribot *et al.*, 2008).

The DNA fragmentation in oligonucleotides of different sizes, has been observed during the HR in several plant-pathogen interactions; for example, in tobacco leaf

membrana plasmática de la pared celular, condensación del citoplasma, dilatación del retículo endoplasmico, presencia de numerosas vacuolas pequeñas, núcleo heterocromático y menos osmofílico, y fragmentación del ADN. En contraste, en frutos susceptibles (*C. annuum*) se observó degradación de la pared celular, fragmentación de vacuolas, degradación del núcleo y citoplasma, y condensación del citoplasma (Kim *et al.*, 2004). Algunos investigadores han propuesto que en interacciones compatibles, la muerte de células hospedantes podría también finalmente constituir una MCP e involucrar mecanismos similares. Sin embargo, es conveniente comentar que los cambios estructurales que los investigadores observaron en las interacciones compatibles calabacita-*P. capsici* y *C. annuum*-*C. gloeosporioides*, tales como la desorganización de la membrana plasmática, plasmolización del citoplasma, deformación de los cloroplastos y desorganización de su sistema de membranas en el primer caso, y la degradación de paredes celulares en los frutos susceptibles en el segundo; son situaciones que claramente evidencian que los mecanismos que condujeron al fallecimiento de las células fueron totalmente diferentes de aquellos que ocurrieron en la RH, y que las células hospedantes fueron asesinadas por el patógeno por la producción de toxinas y/o enzimas que degradan paredes celulares y compuestos estructurales de las membranas celulares y cuyos efectos nocivos directos sobre componentes estructurales o rutas metabólicas de las células hospedantes ha sido ampliamente documentados (Hückelhoven, 2007; Eichmann y Hückelhoven, 2008; Ribot *et al.*, 2008).

La fragmentación del ADN en oligonucleótidos de diferentes tamaños, se ha observado durante la RH en varias interacciones planta-patógeno; por ejemplo, en células de hojas de tabaco con el gen *N* (que confiere resistencia al virus mosaico del tabaco=VMT) e infectadas con VMT se observaron fragmentos de ADN de aproximadamente 50,000 pares de bases (pb); asimismo, Levine *et al.* (1996) observaron que en la MCP que se presentó en una interacción incompatible soya-*P. syringae* pv. *glycinea* el ADN se rompió en fragmentos de tamaño similar. Por otro lado, la RH en hojas de frijol caupí (*Vigna unguiculata*) inoculadas con *Uromyces vignae* (Ryerson y Heath, 1996; Heath *et al.*, 1997), y en las interacciones avena (*Avena sativa*)-*Puccinia coronata* y *A. thaliana*-*P. syringae*, la división del ADN nuclear generó fragmentos pequeños consistentes en múltiplos de 180 pb (Greenberg y Yao, 2004).

Las caspasas son las moléculas ejecutoras de la MCP en animales (Khurana *et al.*, 2005; Fernando y Megeney, 2007; Chowdhury *et al.*, 2008; Woltering, 2010). Estas proteinasas poseen un sitio activo a base de cisteína y separan a los residuos de ácido aspártico rompiendo el enlace que lo mantiene unido al substrato polipeptídico (Hengartner, 2000; Sanmartín *et al.*, 2005; Woltering, 2010). Los resultados de estudios moleculares y bioquímicos, apoyan la hipótesis de que enzimas similares a las caspasas están involucradas en la RH de las plantas (Coll *et al.*, 2010), pues la RH fue suprimida cuando se aplicaron péptidos sintéticos inhibidores de las caspasas (del Pozo y

cells with the *N* gene (which gives resistance against the tobacco mosaic virus=TMV) and infected with TMV DNA fragments of approximately 50,000 base pairs (bp) were observed; likewise, Levine *et al.* (1996) observed that in the PCD developed in the incompatible interaction soybean-*P. syringae* pv. *glycinea*, the DNA was broken into similar sized fragments. On the other hand, the HR in cowpea (*Vigna unguiculata*) inoculated with *Uromyces vignae* (Ryerson and Heath, 1996; Heath *et al.*, 1997), and in the oat (*Avena sativa*)-*Puccinia coronata* and *A. thaliana*-*P. syringae* interactions, the division of the nuclear DNA generated small fragments consistent in multiples of 180 bp (Greenberg and Yao, 2004).

The caspases are the executor molecules of the PCD in animals (Khurana *et al.*, 2005; Fernando and Megeney, 2007; Chowdhury *et al.*, 2008; Woltering, 2010). These proteinases possess an active cysteine-based site and separate the aspartic acid residues breaking the bond that keeps it joined the polypeptide substrate together (Hengartner, 2000; Sanmartín *et al.*, 2005; Woltering, 2010). The results from molecular and biochemical, studies support the hypothesis that enzymes similar to the caspases are involved in the HR in plants (Coll *et al.*, 2010), as the HR was suppressed when synthetic peptide inhibitors of the caspases were applied (del Pozo and Lam, 2003) and even though, for now, caspase enzymes have not been identified in plants, there exists information that suggests the existence of proteases that have an active cysteine-based site. This supports the idea that there are proteases with caspase, activity in plants that participate in the PCD. It has also been suggested that small proteins of the Ras, family belonging to the G, superfamily (small proteins that bind to GDP=guanosine diphosphate) and that also function as PCD executing molecules in animals, they could also be involved in PCD in plants. The Ras proteins are important in the plant's, cellular cycle by binding to GDP and to cysteine sensitive proteases Lakimova *et al.*, 2005; Sørmo *et al.*, 2006).

**Cascade of biochemical events that occur in the HR.** Once the interaction of the effector (E) molecule (produced by the pathogen) with the receptor (R) molecule occurs in the surface or inside of the plant cell, it triggers a cascade of events that include the activation of multiple signal transduction pathways into the invaded cell and involve the oxidative burst through which oxygen-reactive species are produced ( $H_2O_2$ , hydrogen peroxide;  $O_2^-$ , superoxide anion; and  $OH^\cdot$ , hydroxyl radical); the flow of ions such as  $H^+$ ,  $K^+$  and  $Ca^{2+}$ ; the activity of kinases and phosphatases that transmit and amplify the signal, whose ultimate target are usually the transcription factors that regulate gene expression. The expressed genes are those that encode for peroxidases and enzymes key to the secondary metabolism pathways (such as PAL=phenylalanine ammonia-lyase and HMG-CoAr=3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase) through which compounds with antimicrobial properties are synthesized (phenols and phytoalexins, for example); pathogenesis-related proteins (such as  $\beta$ -glucanases and chitinases); compounds (phenols and lignin) and proteins that reinforce

Lam, 2003) y aunque a la fecha no se han identificado enzimas caspasas en plantas, existe información que sugiere la existencia de proteasas que poseen un sitio activo a base de cisteína. Lo anterior sustenta la idea de que en plantas existen proteasas con actividad de caspasas, que participan en la MCP. Asimismo, se ha sugerido que proteínas pequeñas de la familia Ras, pertenecientes a la superfamilia G (proteínas pequeñas que se unen a GTP= trifosfato de guanosina) y que funcionan también como moléculas ejecutoras de MCP en animales, podrían igualmente estar involucradas en la MCP en plantas. Las proteínas Ras son importantes en el ciclo celular de las plantas, al unirse a GTP y a proteasas sensitivas a cisteína (Lakimova *et al.*, 2005; Sørmo *et al.*, 2006).

#### Cascada de eventos bioquímicos que ocurren en

la RH. Una vez que ocurre la interacción de la molécula efectora (E, producida por el patógeno) con la molécula receptora (R) en la superficie o interior de la célula vegetal, se desata una cascada de eventos que incluyen la activación de múltiples rutas de transducción de señales hacia el interior de la célula invadida y que involucran la explosión oxidativa a través de la cual se producen especies reactivas de oxígeno ( $H_2O_2$ , peróxido de hidrógeno;  $O_2^-$ , anión superóxido; y  $OH^\cdot$ , radical hidroxilo); flujo de iones como  $H^+$ ,  $K^+$  y  $Ca^{2+}$ ; la actividad de cinasas y fosfatasa que transmiten y amplifican la señal, cuyo blanco último generalmente son los factores de transcripción que regulan la expresión de genes. Los genes expresados son aquellos que codifican para peroxidasa y enzimas clave de las rutas del metabolismo secundario (como PAL=fenilalanina amonio liasa y HMG-CoAr=3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductasa), a través de las cuales se sintetizan compuestos con propiedades antimicrobianas (fenoles y fitoalexinas, por ejemplo); proteínas relacionadas con patogénesis (como  $\beta$ -glucanasas y quitinasas); compuestos (fenoles y lignina) y proteínas que refuerzan y protegen a las paredes celulares contra la actividad de enzimas que degradan paredes celulares, o que interfieren con la actividad de éstas últimas, como las proteínas inhibidoras de poligalacturonasas y glicoproteínas ricas en hidroxiprolina (Soylu, 2006; Cvikrová *et al.*, 2006; Menden *et al.*, 2007; Godínez-Vidal *et al.*, 2008; Sels *et al.*, 2008; Schacht *et al.*, 2011). Entre las señales que se generan y que "alertan", tanto a nivel local en las células vecinas, como de manera sistémica son el etileno y los ácidos salicílico y jasmónico (Figura 2). Todas estas respuestas de defensa en realidad se presentan tanto en interacciones compatibles como en incompatibles y la diferencia radica en la rapidez y la magnitud con la que se expresan en cada interacción.

#### CONCLUSIONES

El énfasis en las investigaciones de la RH, se ha puesto en los cambios bioquímicos y moleculares que ocurren en las células involucradas. Los cambios morfológicos y ultraestructurales que se presentan en las células hipersensitivas, se han estudiado en relativamente pocos modelos planta-patógeno, pues se limitan a describir la colonización y características morfológicas del patógeno, y pocas veces se incluyen los cambios ultraestructurales que

and protect the cell walls against enzyme activity that degrade cell walls or interfere with the activity of these last mentioned such as polygalacturonase-inhibiting proteins and hydroxyproline-rich glycoproteins (Soylu, 2006; Cvikrova *et al.*, 2006; Menden *et al.*, 2007; Godínez-Vidal *et al.*, 2008; Sels *et al.*, 2008; Schacht *et al.*, 2011). Among the signals that are generated and that "sound the alarm", both at a local level in neighboring cells and systemically are ethylene and salicylic and jasmonic acids (Figure 2). These defense responses are actually present in both compatible and incompatible interactions, and the difference lies in the speed and magnitude with which it is expressed in each interaction.

#### CONCLUSIONS

The emphasis on HR, investigations has been on biochemical and molecular changes that occur in the cells involved. The morphological and ultrastructural changes that arise in hypersensitive, cells have been studied in relatively few plant-pathogen models, as they simply describe the colonization and morphological characteristics of the pathogen, and rarely do they include the ultrastructural changes that the organelles in host cells suffer; however, by the structural and morphological characteristics that the suicide cells show in the few models that have been studied, it is considered that the HR is a PCD of the lysosomal or autophagic type. On the other hand, to this day, the existence of caspase proteins has not been demonstrated in plants, these proteins, which have been signaled as the executor molecules of PCD in animals. The molecular and biochemical studies currently available on plants support the hypothesis that enzymes with similar functions to those of the caspases are involved in the execution of the hypersensitive cells, hence it is of fundamental importance to identify the enzymes involved in PCD's in plants and determine their similarity to caspases in animals. Future research on the HR should consider a larger number of plant-pathogen interaction models including those in which there is no clear gene to gene relationship. Also, in addition to comparing and contrasting the morphological and structural changes that occur in compatible (pathogenesis-induced necrosis) and incompatible interactions (HR-induced necrosis), we must deepen the understanding of the fine biochemical mechanisms that lead to cell death, to thereby have sufficient experimental evidence to determine whether there are significant differences at this level when the cell commits suicide (HR) with the "intention" of defending itself from attack by the pathogen and when it is killed by it.

#### LITERATURA CITADA

- Ameisen JC. 2002. On the origin, evolution, and nature of programmed cell death: a timeline of four billion years. *Cell Death and Differentiation* 9:367-393.
- Baehrecke EH. 2003. Autophagic programmed cell death in *Drosophila*. *Cell Death and Differentiation* 10:940-945.
- Chowdhury I, Tharakan B and Bhat GK. 2008. Caspases-an update. *Comparative biochemistry and physiology Part B. Biochemistry and Molecular Biology* 151:10-27.



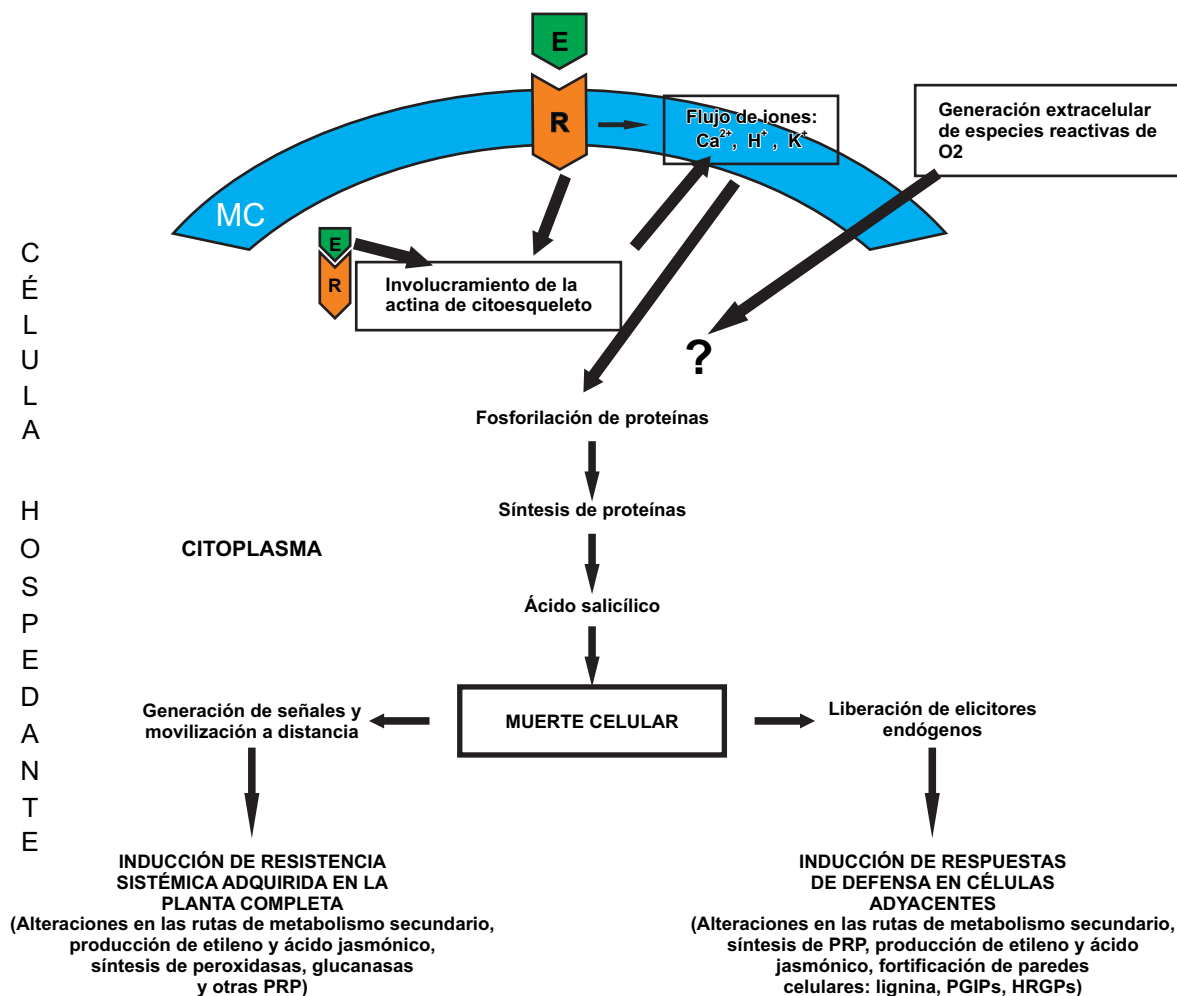


Figura 2. Secuencia de eventos que ocurren en la muerte celular hipersensitiva en algunas interacciones planta-patógeno. E=Elicitor producido por el patógeno y que puede ser específico (producto de un gen de avirulencia, *avr*) o no específico. R=Receptor producto o no de un gen de resistencia (*R*) del hospedante y que puede estar presente en la membrana celular (MC) o en el citoplasma. PRP=Proteínas relacionadas con patogénesis. PGIPs=Proteínas inhibidoras de poligalacturonasas. HRGPs=Glucoproteínas ricas en hidroxiprolina.

Figure 2. Sequence of events that take place in the hypersensitive cell death in some plant-pathogen interactions. E=Elicitor produced by the pathogen and may be specific (product of an avirulence gene, *avr*) or nonspecific. R=Receptor product or not from a resistance gene (*R*) of the host and that may be present in the cell membrane (CM) or in the cytoplasm. PRP=Pathogenesis-related proteins. PGIPs=Polygalacturonase Inhibiting proteins. HRGPs=Hydroxyproline-rich glycoproteins.

sufren los organelos de las células hospedantes; no obstante, por las características estructurales y morfológicas que muestran las células suicidas, en los pocos modelos en los que se han estudiado, se considera que la RH es una MCP del tipo lisosomal o autofágica. Por otro lado, a la fecha no se ha demostrado la existencia de proteínas caspasas en plantas, mismas que en animales se han señalado como las moléculas ejecutoras de la MCP. Los estudios moleculares y bioquímicos por ahora disponibles en plantas, apoyan la hipótesis de que enzimas con similitud funcional a las caspasas, están involucradas en la ejecución de las células hipersensitivas, de ahí que es de fundamental importancia identificar las enzimas involucradas en la MCP en plantas y determinar su semejanza con las caspasas de animales.

Camarena GG. 2006. Muerte celular programada como respuesta al estrés ambiental. Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Ambiente 12:93-99.

Coll NS, Vercammen D, Smidler A, Clover C, Breusegem F, van Dangel JL and Epple P. 2010. *Arabidopsis* type I metacaspases control cell death. Sciences 330:1393-1397.

Cvikrova M, Mala J, Hrubcova M and Eder J. 2006. Soluble and cell wall-bound phenolics and lignin in *Ascochyta blight* infected Norway spruces. Plant Science 170:563-570.

Del Pozo O and Lam E. 2003. Expression of the baculovirus p35 protein in tobacco affects cell death progression and compromises *N*-gene mediated disease

Futuras investigaciones acerca de la RH deberán considerar un mayor número de modelos de interacción planta-patógeno incluyendo aquellas en las que no existe una clara relación gen a gen. También, además de comparar y contrastar los cambios morfológicos y estructurales que se dan en las interacciones compatibles (necrosis por patogénesis) e incompatibles (necrosis por RH), habrá que profundizar en el entendimiento de los mecanismos bioquímicos finos que conducen a la muerte celular, para de esta manera contar con la suficiente evidencia experimental que permita determinar si existen o no diferencias importantes a este nivel cuando la célula se suicida (RH) con la "intención" de defenderse del ataque por el patógeno y cuando es asesinada por éste.

- resistance response to tobacco mosaic virus. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 16:485-494.
- Eichmann R and Hüchelhoven R. 2008. Accommodation of powdery mildew fungi in intact plant cell. *Journal of Plant Physiology* 165:5-18.
- El-Maarouf H, Barny MA, Rona JP and Bouteau F. 2001. Harpin, a hypersensitive response elicitor from *Erwinia amylovora*, regulates ion channel activities in *Arabidopsis thaliana* suspension cells. *FEBS Letters* 497:82-84.
- Fernando P and Megeney L. 2007. Is caspase-dependent apoptosis only cell differentiation take to the extreme? *The FASEB Journal* 21:8-17.
- Gimenez-Ibanez S and Rathjen JP. 2010. The case for the defense: plant versus *Pseudomonas syringae*. *Microbes and Infection* 12:428-437.
- Godínez-Vidal D, Rocha-Sosa M, Sepulveda-García EB, Lara-Reyna J, Rojas-Martínez R and Zavaleta-Mejía E. 2008. Phenylalanine ammonia lyase activity in chilli CM-334 infected by *Phytophthora capsici* and *Nacobbus aberrans*. *European Journal of Plant Pathology* 120:299-303.
- Grant M and Mansfield J. 1999. Early events in host-pathogen interactions. *Current Opinion in Plant Biology* 2:312-319.
- Greenberg JT. 1997. Programmed cell death in plant-pathogen interactions. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 48:525-545.
- Greenberg JT and Yao N. 2004. The role and regulation of programmed cell death in plant-pathogen interactions. *Cellular Microbiology* 6:201-211.
- Grenville-Briggs LJ and van West P. 2005. The biotrophic stages of oomycete-plant interactions. *Advances in Applied Microbiology* 57:217-243.
- Guimarães CA and Linden R. 2004. Programmed cell death. Apoptosis and alternative deathstyles. *European Journal of Biochemistry* 271:1638-1650.
- Hammerschmidt R. 2009. Systemic acquired resistance. *Advances in Botanical Research* 51:173-222.
- Heath MC. 2000. Hypersensitive response-related death. *Plant Molecular Biology* 44:321-334.
- Heath MC, Nimchuk ZL and Xu H. 1997. Plant nuclear migrations as indicators of critical interactions between resistant or susceptible cowpea epidermal cells and invasion hyphae of the cowpea rust fungus. *New Phytologist* 135:689-700.
- Hengartner MO. 2000. The biochemistry of apoptosis. *Nature* 407:770-776.
- Hüchelhoven R. 2007. Cell wall-associated mechanisms of disease resistance and susceptibility. *Annual Review of Phytopathology* 45:101-129.
- Jimenez C, Capasso JM, Edelstein CL, Rivard CJ, Lucia S, Breusegem S, Berl T and Segovia M. 2009. Different ways to die: cell death modes of the unicellular chlorophyte *Dunaliella viridis* exposed to various environmental stresses are mediated by the caspase-like activity DEVDase. *Journal of Experimental Botany* 60:815-828.
- Kaczanowski S, Sajid M and Reece SE. 2011. Evolution of apoptosis-like programmed cell death in unicellular protozoan parasites. *Parasites and Vectors* 4:44.
- Khurana SMP, Pandey SK, Sarkar DA and Chanemougasoundharam A. 2005. Apoptosis in plant disease response: a close encounter of the pathogen kind. *Current Science* 88:740-752.
- Kim KH, Yoon JB, Park HG, Park EW and Kim YH. 2004. Structural modifications and programmed cell death of chili pepper fruit related to resistance responses to *Colletotrichum gloeosporioides* infection. *Phytopathology* 94:1295-1304.
- Kliebenstein DJ and Rowe HC. 2008. Ecological cost of biotrophic versus necrotrophic pathogen resistance, the hypersensitive response and signal transduction. *Plant Sciences* 174:551-556.
- Lakimova ET, Michalczuk L and Woltering EJ. 2005. Hypersensitive cell death in plants-its mechanisms and role in plant defense against pathogens. *Journal of Fruit and Ornamental Plant Research* 13:135-158.
- Lee BK, Hong JK and Hwang BK. 2001. Ultrastructure of compatible and incompatible interactions of pumpkin stems infected with *Phytophthora capsici*. *The Plant Pathology Journal* 17:29-35.
- Lenk A and Thordal-Christensen H. 2009. Nonhost resistance to lesion-mimic mutants: useful for studies of defense signaling. *Advances in Botanical Research* 51:91-121.
- Levine A, Pennell RI, Alvarez ME, Palmer R and Lamb C. 1996. Calcium-mediated apoptosis in a plant hypersensitive disease resistance response. *Current Biology* 6:427-437.
- Lipka U, Fuchs R, Kuhns C, Petutschnig E and Lipka V. 2010. Live and let die-*Arabidopsis* nonhost resistance to powdery mildews. *European Journal of Cell Biology* 89:194-999.
- Love AJ, Milner JJ and Sadanandom A. 2008. Timing is everything: regulatory overlap in plant cell death. *Trends in Plant Science* 13:589-595.
- Menden B, Kohlhoff M and Moerschbacher BM. 2007. Wheat cells accumulate a syringyl-rich lignin during the hypersensitive resistance response. *Phytochemistry* 68:513-520.
- Mishra AK, Sharma K and Misra RS. 2009. Purification and characterization of elicitor protein from *Phytophthora*

- calocasiae* and basic resistance in *Colocasia esculenta*. Microbiological Research 164:688-693.
- Mittler R and Rizhsky L. 2000. Transgene-induced lesion mimic. Plant Molecular Biology 44:335-344.
- Münch S, Lingner U, Floss DS, Ludwig N, Sauer N and Deising HB. 2008. The hemibiotrophic life style of *Colletotrichum* species. Journal of Plant Physiology 165:41-51.
- Mur LAJ, Kenton P, Lloyd AJ, Ougham H and Prats E. 2008. The hypersensitive response; the centenary is upon us but how much do we know? Journal of Experimental Botany 59:501-520.
- Nakaba S, Kubo T and Funada R. 2011. Nuclear DNA fragmentation during cell death of short-lived ray tracheids in the conifer *Pinus densiflora*. Journal of Plant Research 124:379-384.
- Nespoulous N, Gaudemer O, Huet J and Pernollet J. 1999. Characterization of elicitor-like phospholipases isolated from *Phytophthora capsici* culture filtrate. FEBS Letters 452:400-406.
- Reape TJ, Molony EM and McCabe PF. 2008. Programmed cell death in plant: distinguishing between different modes. Journal of Experimental Botany 59:435-444.
- Reape TJ and McCabe PF. 2010. Apoptotic-like regulation of programmed cell death in plants. Apoptosis 15:249-256.
- Ribot C, Hirsch J, Balzergue S, Tharreau D, Notteghem J, Lebrun M and Morel J. 2008. Susceptibility of rice to the blast fungus, *Magnaporthe grisea*. Journal of Plant Physiology 165:114-124.
- Rostoks N, Schmierer D, Kudrna D and Kleinhofs A. 2003. Barley putative hypersensitive induced reaction genes: genetic mapping, sequence analyses and differential expression in disease lesion mimic mutants. Theoretical and Applied Genetics 107:1094-1101.
- Ryerson DE and Heath MC. 1996. Cleavage of nuclear DNA into oligonucleosomal fragments during cell death induced by fungal infection or by abiotic treatments. The Plant Cell 8:393-402.
- Sanmartin M, Jaroszewski L, Raikhel NV and Rojo E. 2005. Caspases. Regulating death since the origin of life. Plant Physiology 137:841-847.
- Sawai Y, Tamotsu S, Kuchits K and Sakai A. 2010. Effects of growth phase and cell density on cryptogin-induced programmed cell death in suspension-cultured tobacco BY-2 cells: development of a model system for 100% efficient hypersensitive cell death. Cytologia 75:389-396.
- Schacht T, Unger C, Pich A and Wydra K. 2011. Endo- and exopolysaccharuronases of *Ralstonia solanacearum* are inhibited by polygalacturonase-inhibiting protein (PGIP) activity in tomato stem extracts. Plant Physiology and Biochemistry 49:377-387.
- Schweichel JU and Merkel HJ. 1973. The morphology of various types of cell death in prenatal tissue. Teratology 7:253-266.
- Sels J, Mathys J, De Coninck BMA, Cammue BPA and De Bolle MFC. 2008. Plant pathogenesis-related (PR) proteins: a focus on PR peptides. Plant Physiology and Biochemistry 46:941-950.
- Soylu S. 2006. Accumulation of cell-wall bound phenolic compounds and phytoalexin in *Arabidopsis thaliana* leaves following inoculation with pathovars of *Pseudomonas syringae*. Plant Science 170:942-952.
- Sørmo CG, Leiros I, Brembu T, Winge P, Os V and Bones AM. 2006. The crystal structure of *Arabidopsis thaliana* RAC7/ROP9: the first RAS superfamily GTPase from the plant kingdom. Phytochemistry 67:2332-2340.
- van Doorn WG and Woltering EJ. 2005. Many ways to exit? Cell death categories in plants. Trends in Plant Science 10:117-122.
- van Doorn WG and Woltering EJ. 2008. Physiology and molecular biology of petal senescence. Journal of Experimental Botany 59:453-480.
- Vidhyasekaran P. 2008. Fungal pathogenesis in plants and crops. Molecular biology and host defense mechanisms. Second Edition. CRC Press. Florida, USA. 509p.
- Vlot AC, Klessing DF and Park S. 2008. Systemic acquired resistance the elusive signal(s). Current Opinion in Plant Biology 11:436-442.
- Wang C and Zhang S. 2011. A cascade signal pathway occurs in self-incompatibility of *Pyrus pyrifolia*. Plant Signaling and Behavior 6:420-421.
- Wang J, Li X, Liu Y and Zhao X. 2010. Salt stress induces programmed cell death in *Thellungiella halophila* suspension-cultured cells. Journal of Plant Physiology 167:1145-1151.
- Williams B and Dickman M. 2008. Plant programmed cell death: can't live with it; can't live without it. Molecular Plant Pathology 9:531-544.
- Woltering EJ. 2010. Death proteases: alive and kicking. Trends in Plant Science 15:185-188.
- Woltering EJ, Iakimova ET, Erkan M and Aksoy U. 2010. Programmed cell death and postharvest deterioration of horticultural produce. Acta Horticulturae 877:991-997.
- Yoshimoto K. 2010. Physiological roles of autophagy in plants: does plant autophagy have a pro-death function? Plant Signaling and Behavior 5:494-496.
- Zandbergen G, van Lüder CGK, Heussler V and Duszenko M. 2010. Programmed cell death in unicellular parasites: a prerequisite for sustained infection? Trends in Parasitology 26:477-483.