



INTERAKCE ROSTLIN S PATOGENY

- Rostliny jsou přisedlé organismy
- Rostliny hostí celou řadu nepatogenních a patogenních mikroorganismů
- Rostliny chrání mechanické bariéry a rozvinul se u nich mnohvrstvý imunitní systém

BIOTICKÝ STRES

Hmyz →

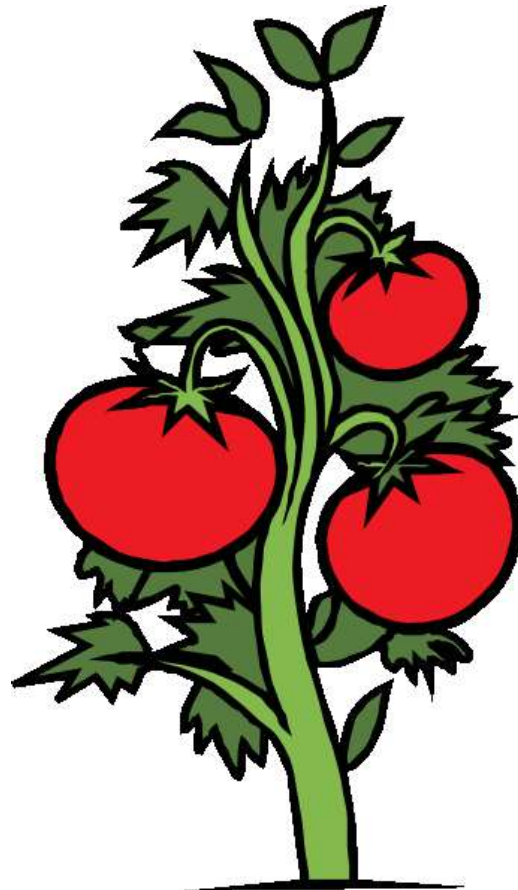
Viry →

Bakterie →

Oomycety →

Houby →

Poranění →



ABIOTICKÝ STRES

← Teplotní stres (teplo, chlad, mráz)

← Sucho

← Záplavy

← Zasolení

← Ozón

← Intenzivní světlo

← Těžké kovy

- **Rostlinný patogen – organismus, jehož část životního cyklu se odehrává uvnitř rostliny**
- **Škůdce – herbivorní hmyz, nematoda savec nebo pták živící se vegetativními částmi rostliny**
- **Původ rostlinných patogenů**
 - předchůdce suchozemských rostlin přinesl patogeny sebou z moře
 - po přechodu z moře některé druhy přešly k patogennímu způsobu života
 - příchod suchozemských rostlin poskytl nové útočiště již existujícím patogenům
- **Počátky zemědělství (před cca. 10 tis. lety)**
 - nový vztah mezi domestikovanými druhy a jejich škůdci a patogeny
 - objevení se geneticky identických jedinců v monokulturách
 - šlechtění za účelem výnosu a specifických vlastností



- **Plíseň bramborová - oomyceta *Phytophthora infestans***
 - velký hladomor v Irsku (1840)
- **Rez travní (černání stonků) – houba *Puccinia graminis***
 - kolaps pěstitelů pšenice (1950, USA)
 - vyšlechtění nové rezistentní variety
 - v Africe (1999) se objevil nový virulentní kmen Ug99
 - na Sicílii (2016) se objevil nový virulentní kmen TTTTF
- **Černá Sigatoka – askomyceta *Mycosphaerella fijiensis***
 - ohrožuje pěstování kultivarů Cavendish (*Musa acuminata Colla* a *M. balbisiana Colla*)
 - až 50% ztráta výnosu – předčasné zrání plodů a hnědnutí listů
- **Rez kávovníku – houba *Hemileia vastatrix***
 - zdecimovala produkci kávovníků na Srí Lance (1870)
 - vedla ke konzumaci čaje v Británii místo kávy



- v minulosti hlavní kritéria pro šlechtění – výnos, vzhled, velikost
- rezistence – nebyl bod zájmu = chemie to vyřeší
- hlavní problém zemědělství = monokulturní plodiny
- GMO – v Evropě problematické
k září 2016, 55 GMO plodin bylo schváleno
- Molekulární křížení – QTL (Quantitative Trait Loci) mapování



Solanum habrochaites



Solanum pimpinellifolium



Solanum lycopersicum cv. Money maker



Nekrotrofní: patogen zabíjí rostlinou buňku

Biotrofní: rostlinná buňka přežívá

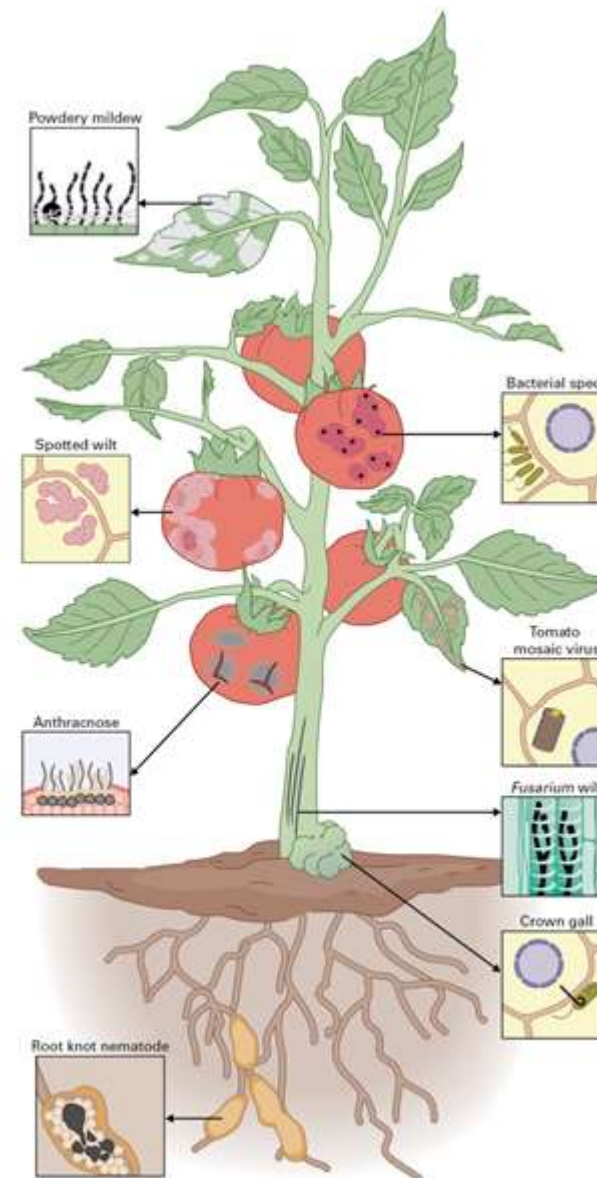
Hemibiotrofní: na počátku infekce patogen udržuje buňky živé, ale v pozdější fázi infekce je zabíjí

Patogen není schopen rostlinu infikovat

- Rostlina obsahuje strukturní bariéry nebo toxické látky
- Aktivace obranných mechanismů
- Změna okolních podmínek

Úspěšná infekce patogenu

- Příznivé okolní podmínky
- Rostlina není schopna patogen rozpoznat
- Obranná odpověď vůči patogenu je neúčinná

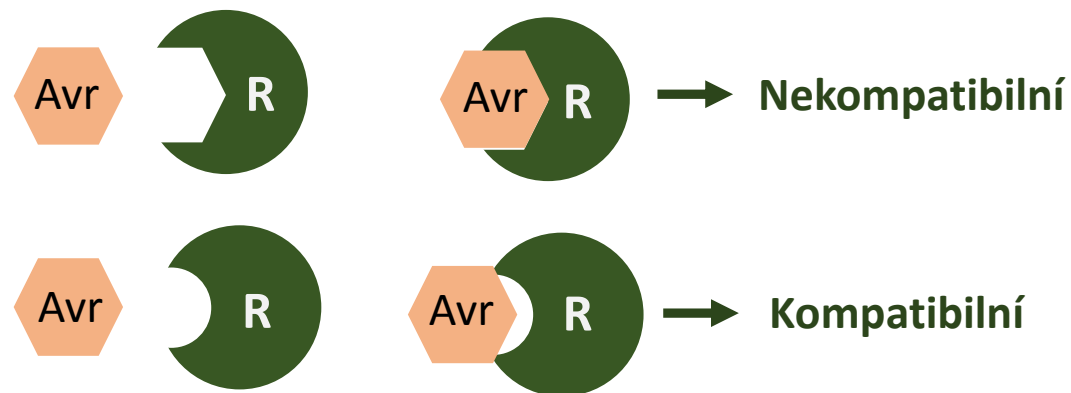


“for each gene conditioning rust reaction in the host there is a specific gene conditioning pathogenicity in the parasite”



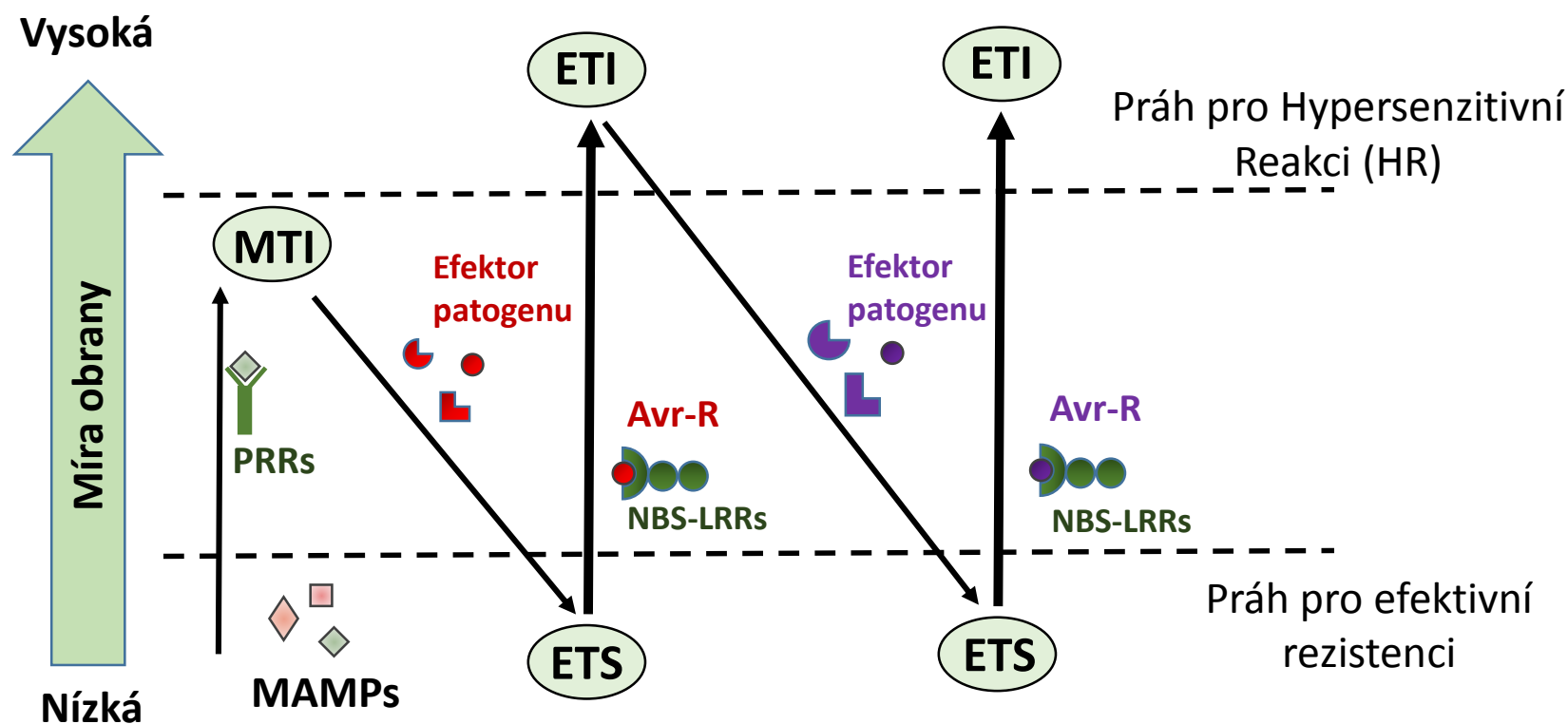
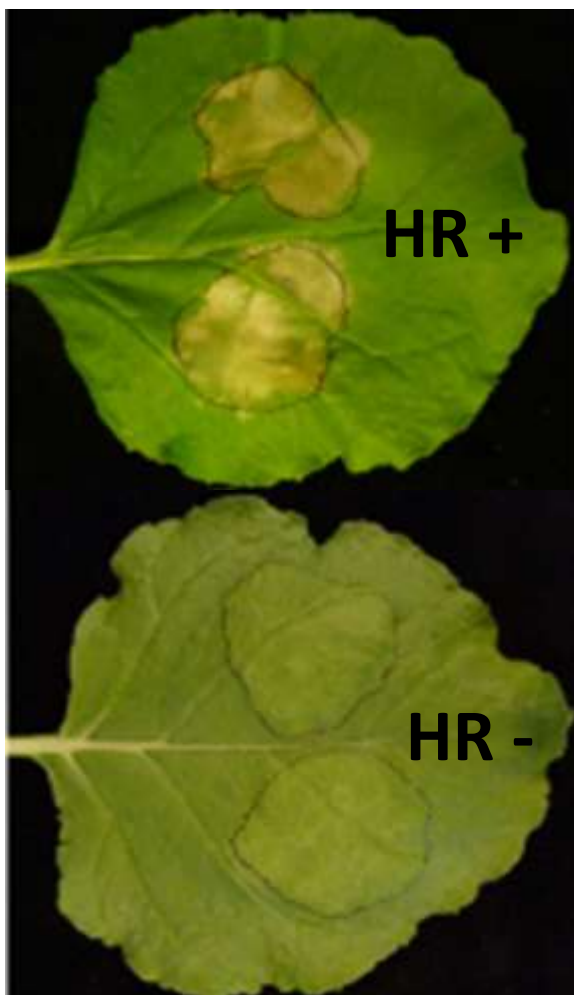
Harold Henry Flor, 1900–1991

Genotyp patogenu	Genotyp hostitele	
	<i>R1</i>	<i>r1</i>
<i>AVR1</i>	-	+
<i>avr1</i>	+	+



- nekompatibilní interakce vedoucí k rezistenci
- + kompatibilní interakce vedoucí k onemocnění

- Všechny patogeny mající vztah gen proti genu jsou po určitou část života biotrofové
- 1990 - První Avr gen klonován z *Pseudomonas syringae* (Staskawicz *et al.*, 1990)
- 1993 – Naklonován příslušný R gen (PTO) (Martin, G.B. *et al.*, 1993)
- 1996 – Prokázání fyzické interakce AvrPTO - PTO (Tang *et al.*, 1996 Scofield *et al.*, 1996)



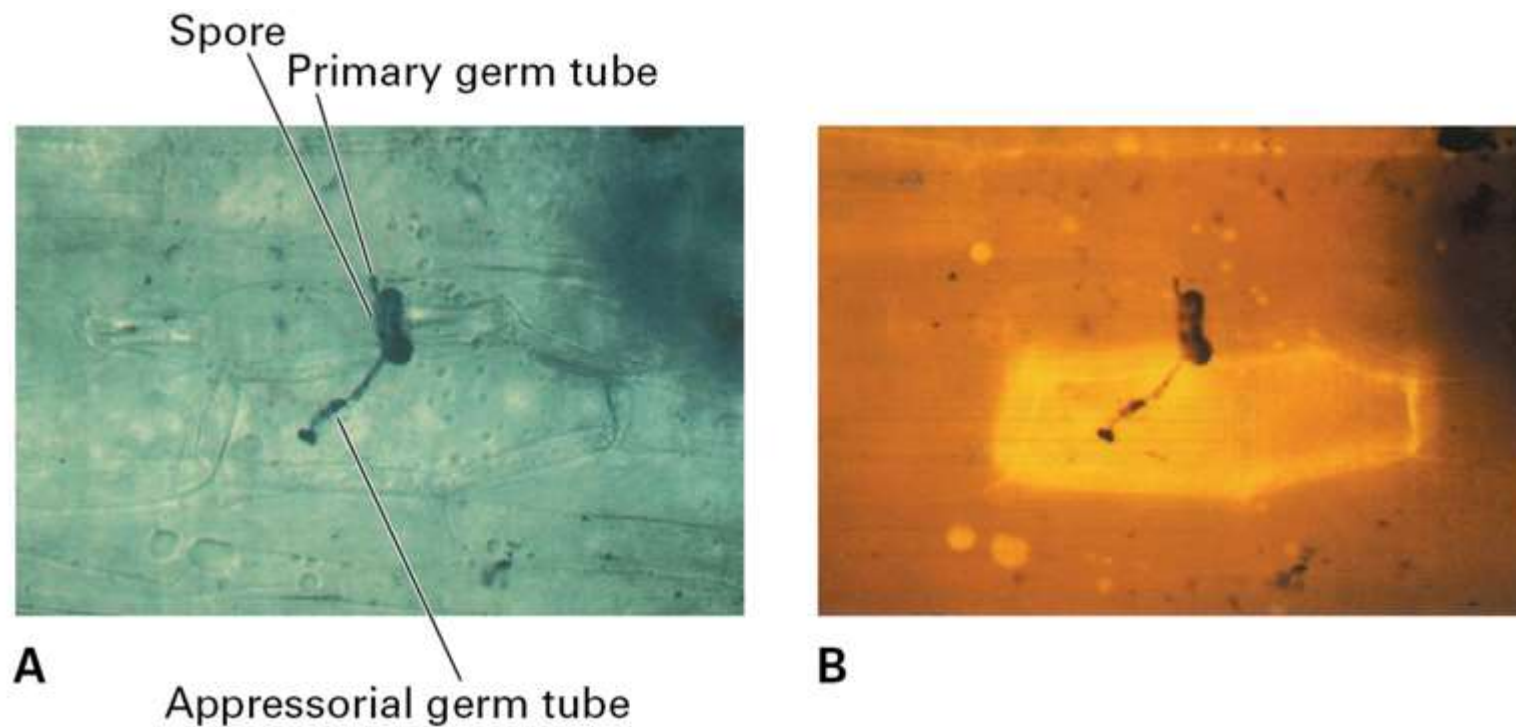
MAMPs – Molekulární vzory spojené s mikroby (flagelin, chitin nebo oligogalakturonidy)

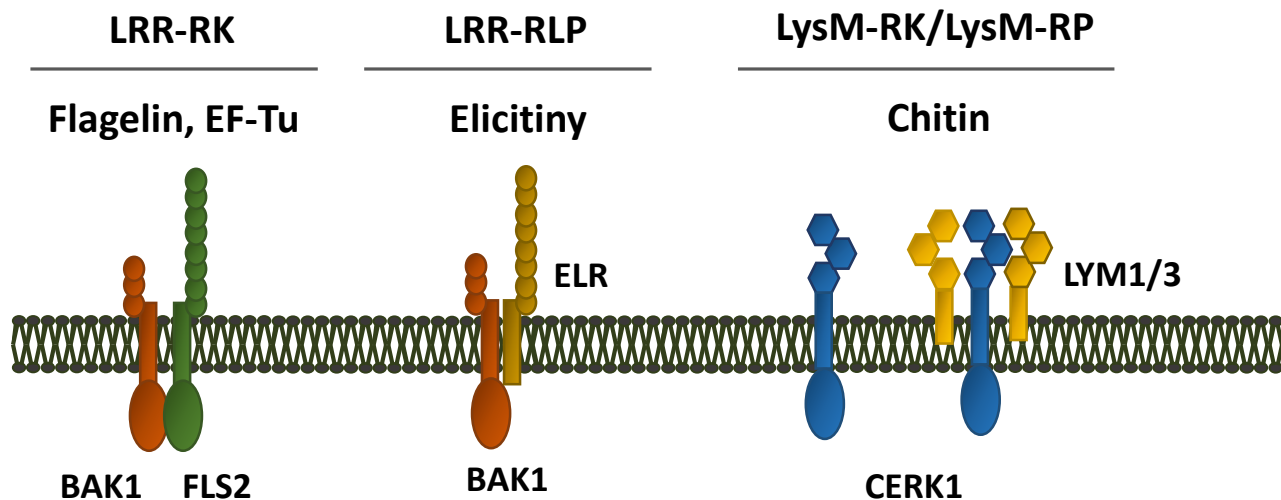
PRRs – Receptory rozpoznávající molekulární vzory

NBS-LRRs – intracelulární receptory obsahující nukleotid vázající místo a leucin bohaté repetice

MTI/ETI – MAMPs/Efektory vyvolaná imunita

- Programovaná buněčná smrt
- Slouží k restrikci šíření patogenu a jeho usmrcení



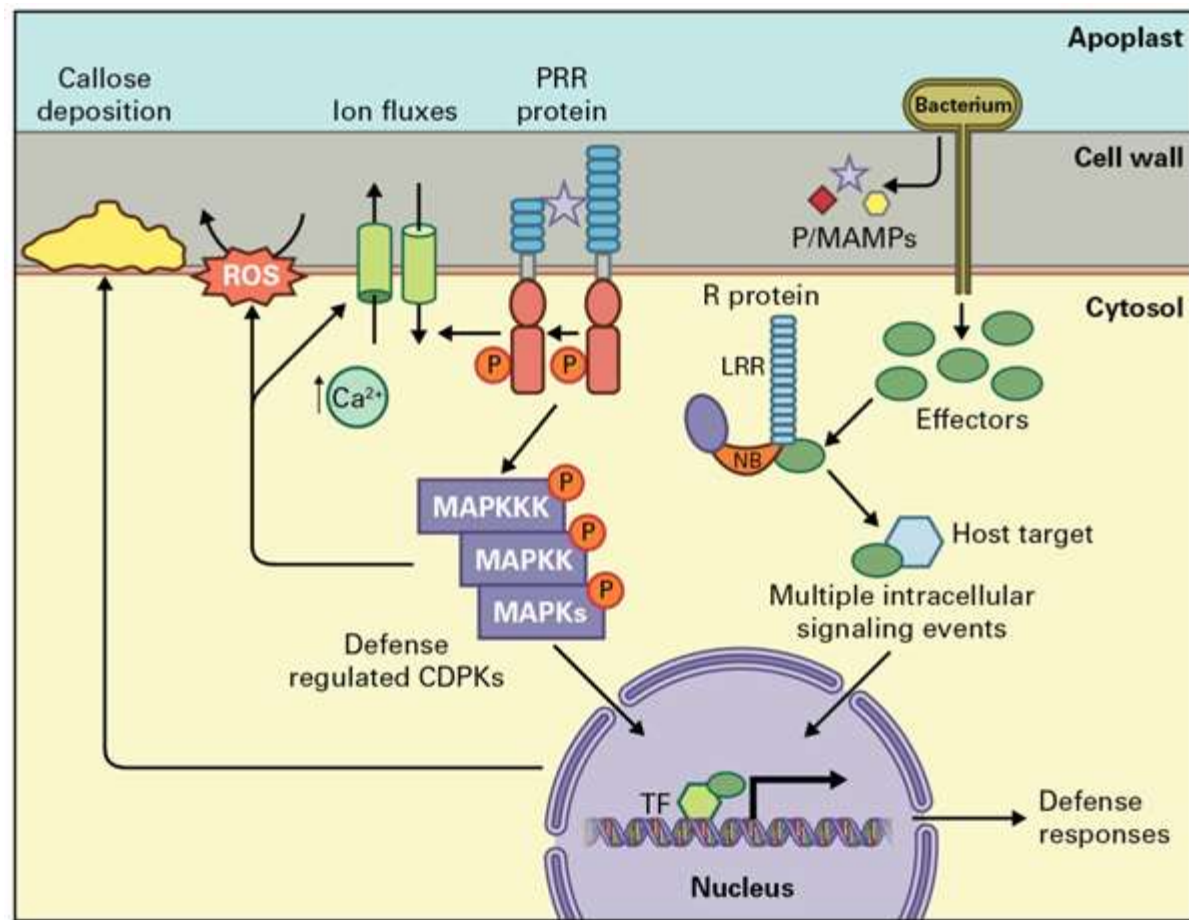


Exprese proteinů spojených s patogenezí



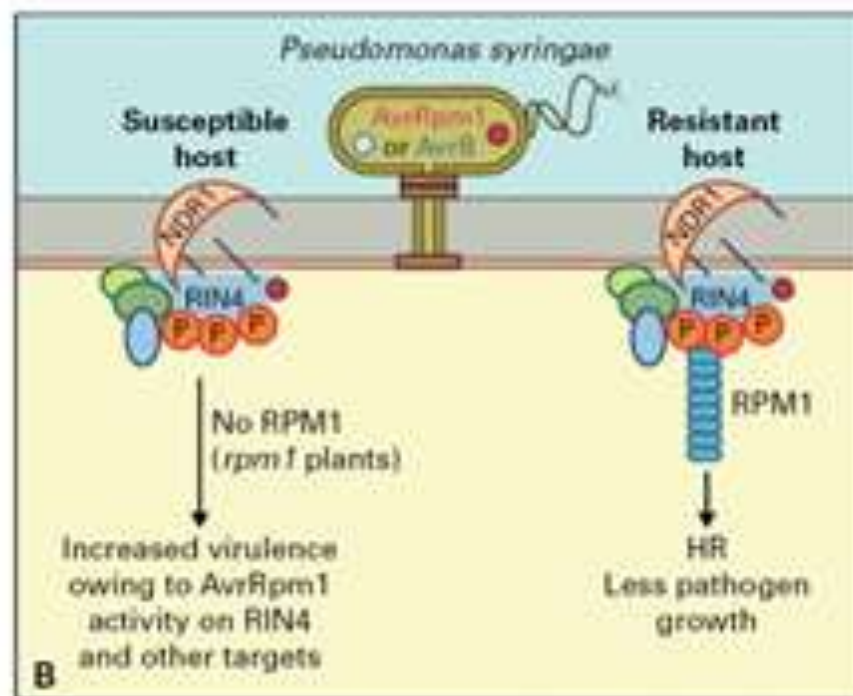
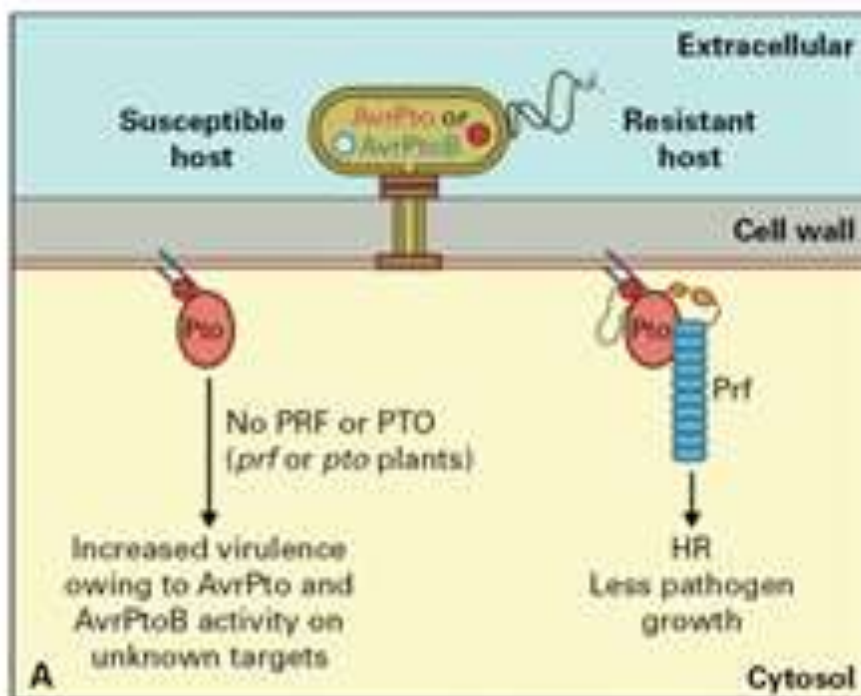
Proteiny spojené s patogenezí (PR)

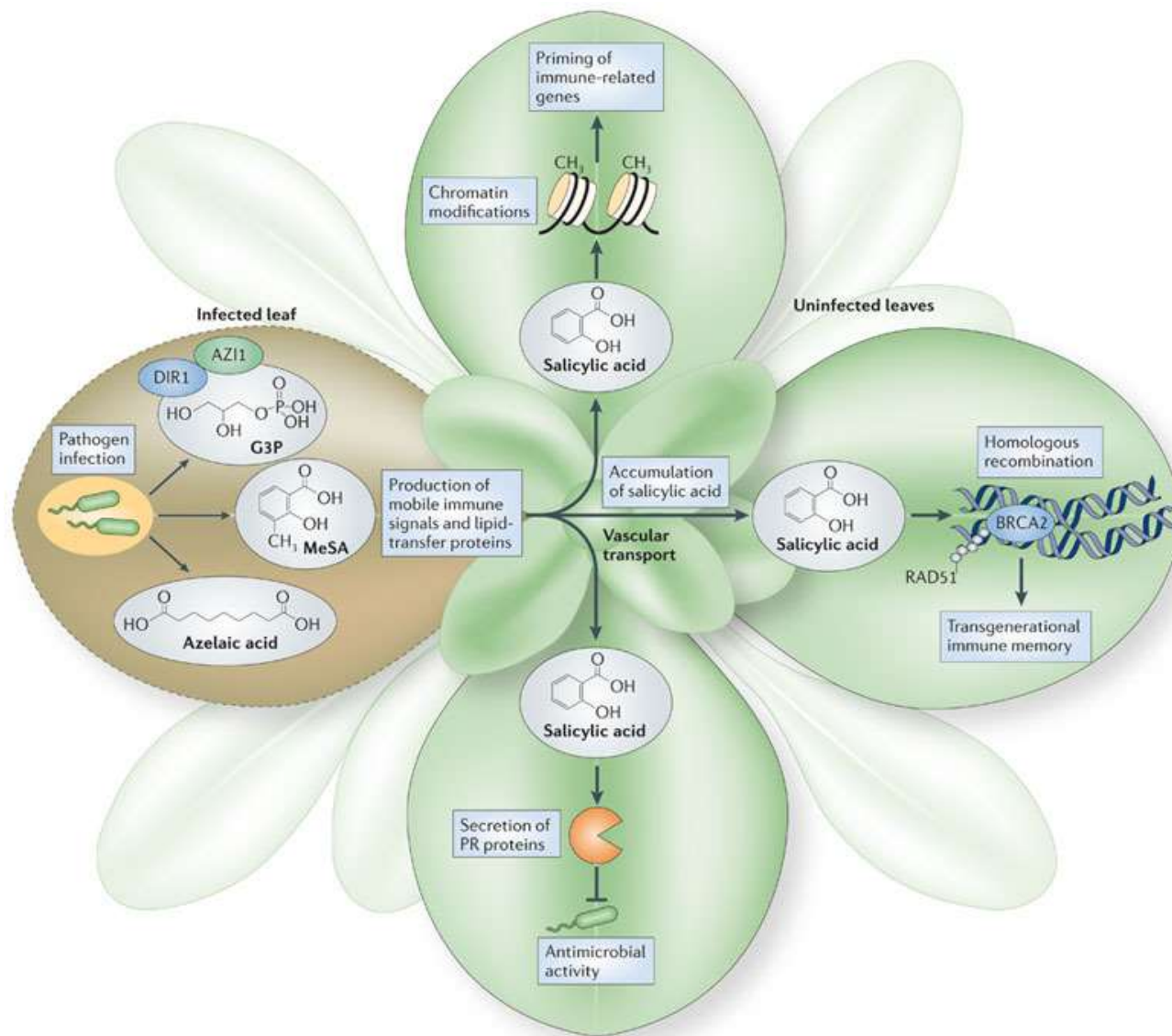
Rodina	Funkce
PR-1	Neznámá
PR-2	β -1,3-glukanáza
PR-3	chitináza
PR-4	chitináza
PR-5	podobné thaumatinu
PR-6	inhibitory proteináz
PR-7	endoproteináza
PR-8	chitináza
PR-9	peroxidáza
PR-10	podobné ribonukleáze
PR-11	chitináza
PR-12	defensin
PR-13	thionin
PR-14	lipid-transfer protein
PR-15	oxalát oxidáza
PR-16	podobné oxalát oxidáze
PR-17	Neznámá



- Pto – serin/threonin proteinová kináza
- Prf – NB-LRR protein
- AvrPto/AvrPtoB – efektorové molekuly *P. syringae*

- AvrRpm1/AvrB – efektorové molekuly *P. syringae*
- Rpm1 – NB-LRR protein



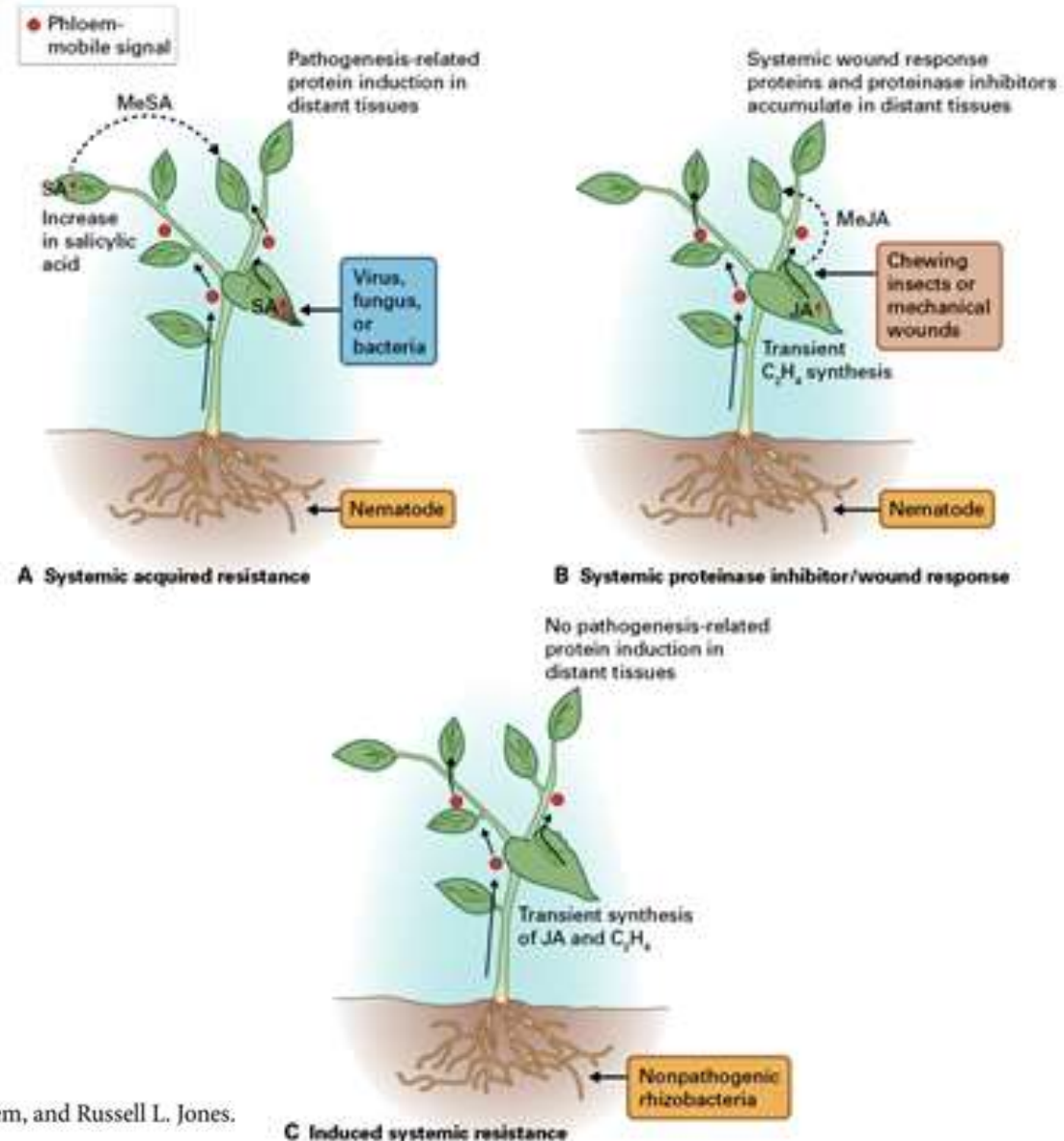
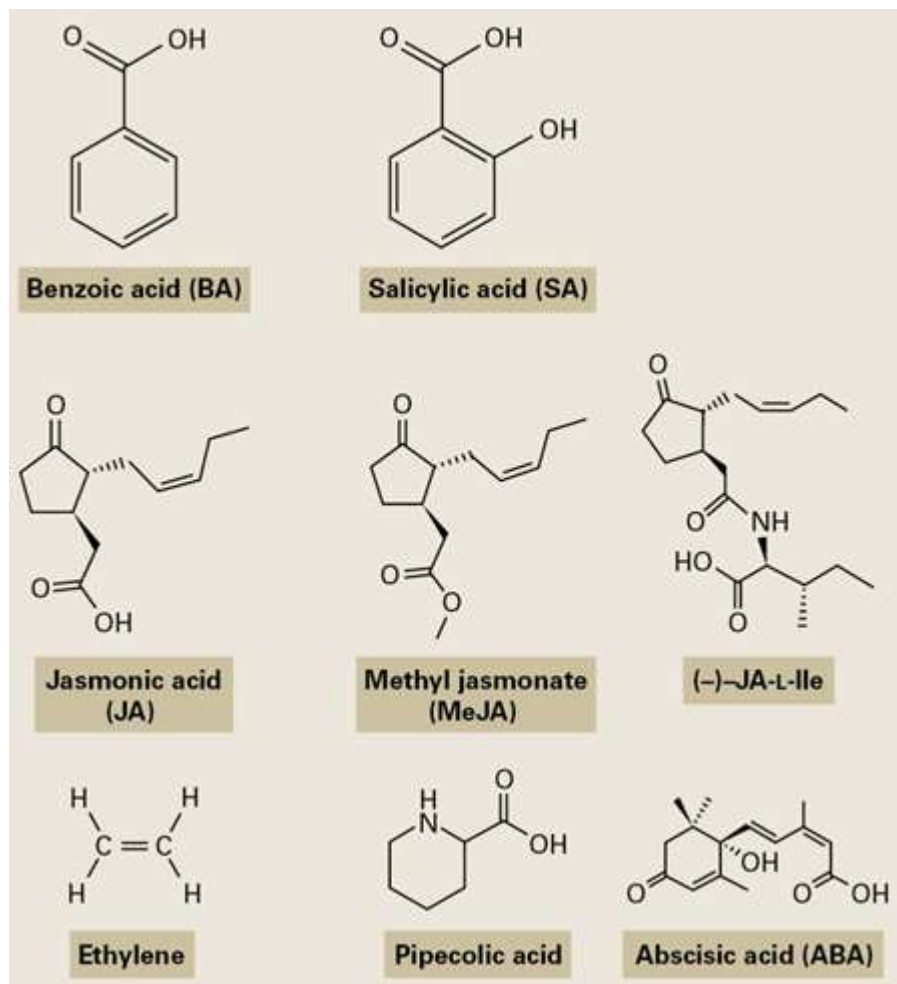


SAR (Systemově navozená rezistence)

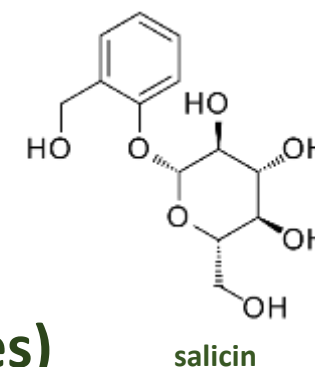
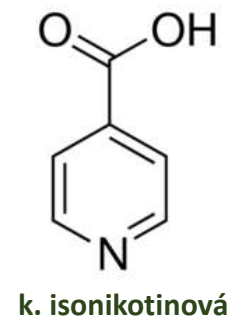
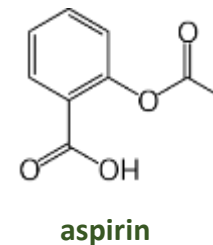
- Slouží k obraně rostliny před biotrofními patogeny
- Je spojena s dráhou kyseliny salicylové
- Je spojena s akumulací SA-responzivních PR proteinů

ISR (Indukovaná systémová rezistence)

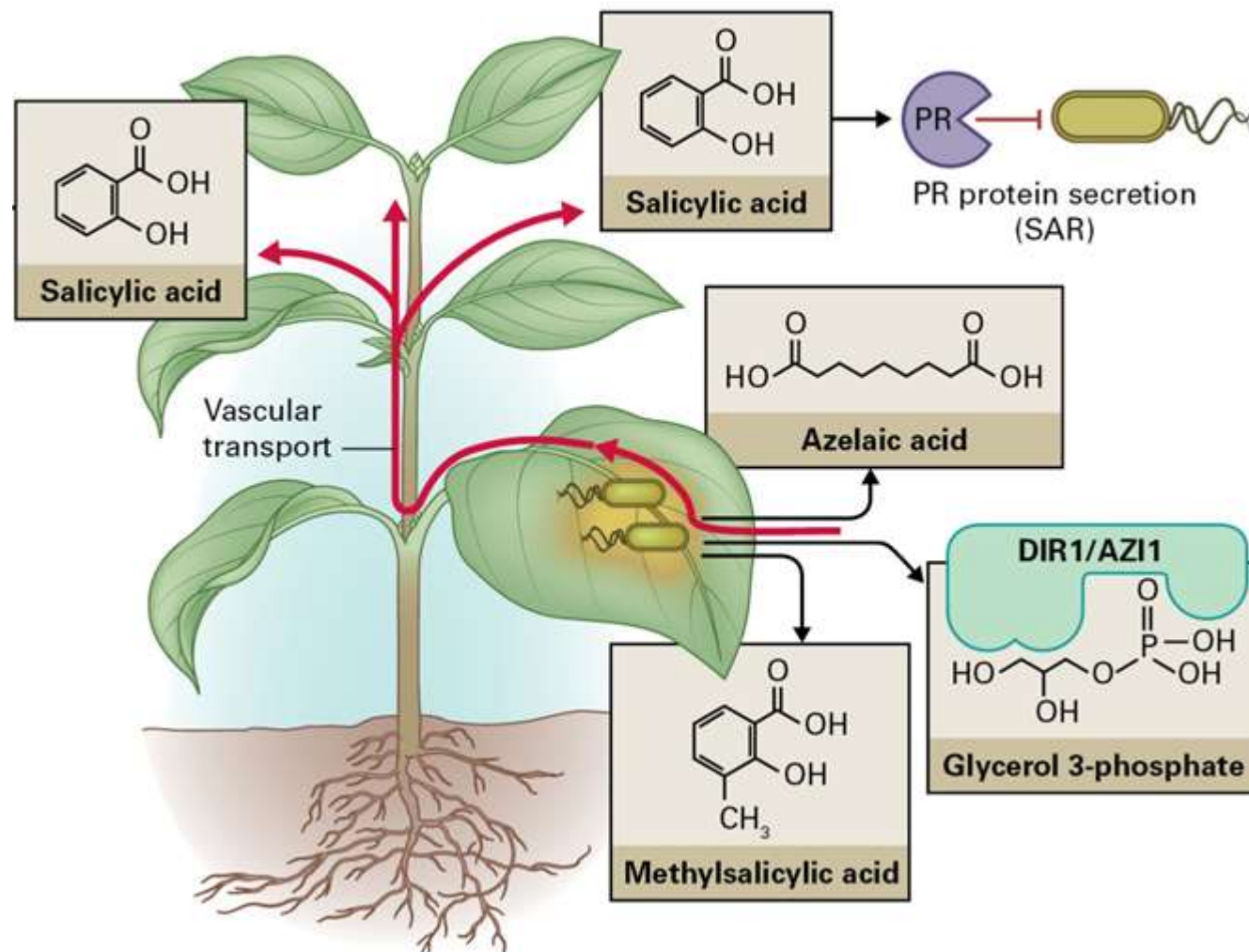
- Indukované symbiotickými bakteriemi a houbami kořenového systému
- Je spojena s dráhou kyseliny jasmonové/ethylenu
- Nedohází k akumulaci PR proteinů ale po napadení patogenem je jejich exprese silně akcelerována
- Je spojena s tzv. “Defence Priming” fenoménem



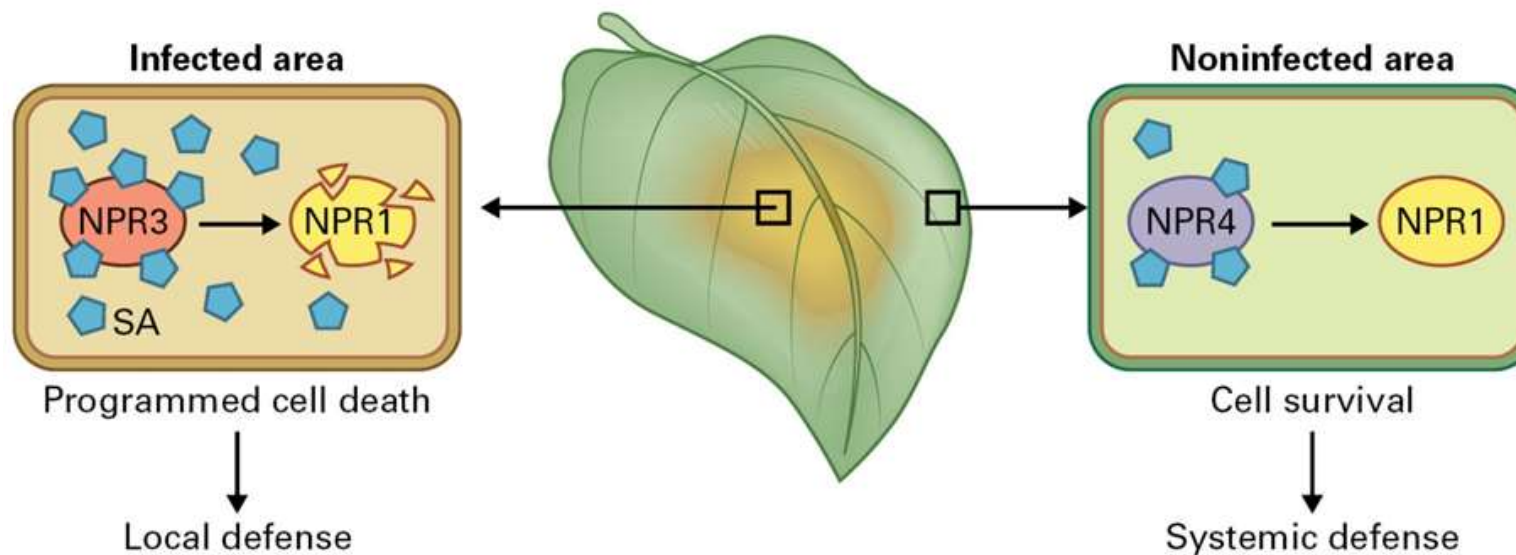
- Počátek infekce musí být doprovázen nekrotickými lézemi
- Silně indukována ETI a slabě PTI
- Aktivace kyselých forem PR proteinů
- Nutná přítomnost KYSELINY SALICYLOVÉ (INA, BTH)
- Prokázána úloha DIR1 proteinu – apoplastický Lipid Transfer Protein
- Prokázána role glycerol-3-fosfátu a kyseliny azaleové
- Klíčový protein v SAR je NPR1 (nonexpressor of pathogenesis-related genes)



SAR (Systémově navozená rezistence)



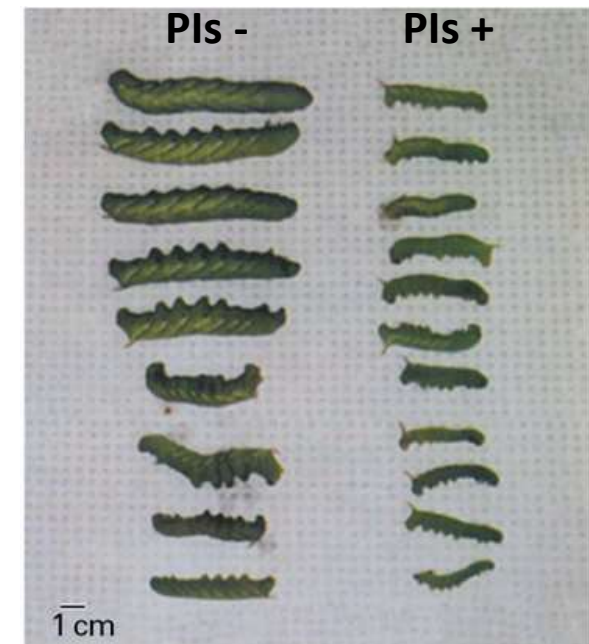
- *npr1* mutantní rostliny neexprimují PR proteiny, i když akumulují SA a vykazují silnou HR
- NPR1 – pozitivní regulátor SAR a negativní regulátor efekty spouštěné HR
- Ve zdravé rostlině je v oligomerní formě (inaktivní) - oligomeraci napomáhá S-nitrosylace
- Po napadení thioredoxin odstraňuje S-nitrosylaci a uvolňuje so monomer
- Monomerní NPR1 aktivuje TGA transkripční faktor (SA-responzivní elementy)
- Fosforylace NPR1 v jádře urychluje jeho degradaci proteasomem
- U Arabidopsis dva SA receptory – NPR3 nízkofinitní a NPR4 vysokoafinitní



- Indukce mechanickým poraněním nebo ožerovým hmyzem
- U rajčete spojená s polypeptidem SYSTEMINEM (18 AK, účinný ve femto-molární koncentraci)
 - syntéza odštěpením C-konce pro-systeminu (200 AK) v místě poranění
 - aktivuje signální dráhy k. jasmonové a ethylenu
- Při napadení syntéza proteinázových inhibitorů
 - serin, cystein a aspartyl inhibitory proteináz
 - interagují s proteinázami v žaludku hmyzu/nematod
 - inhibice jejich rozvoje/smrt

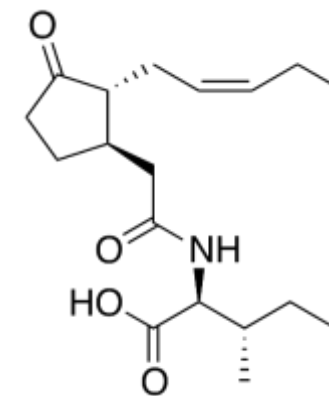
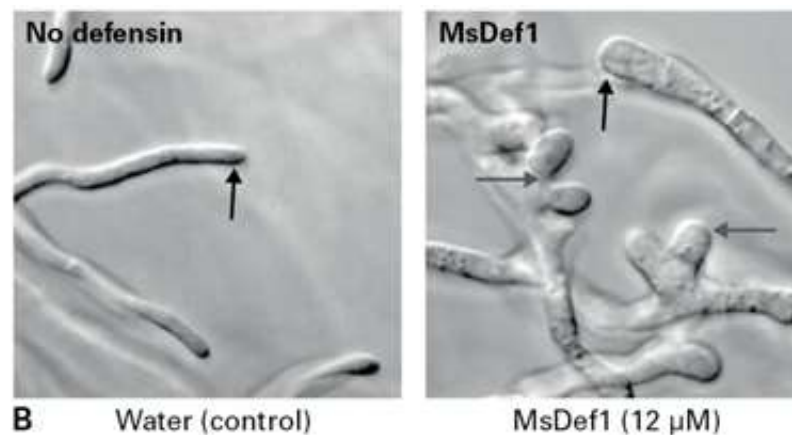
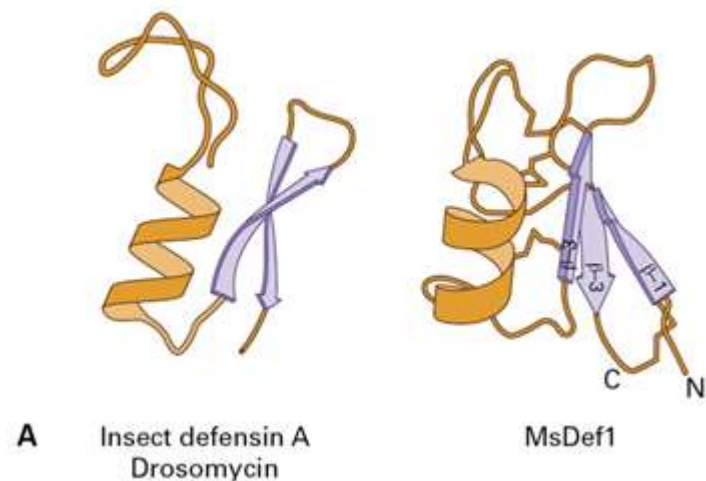
<https://www.youtube.com/watch?v=5keqSZdPXpE>

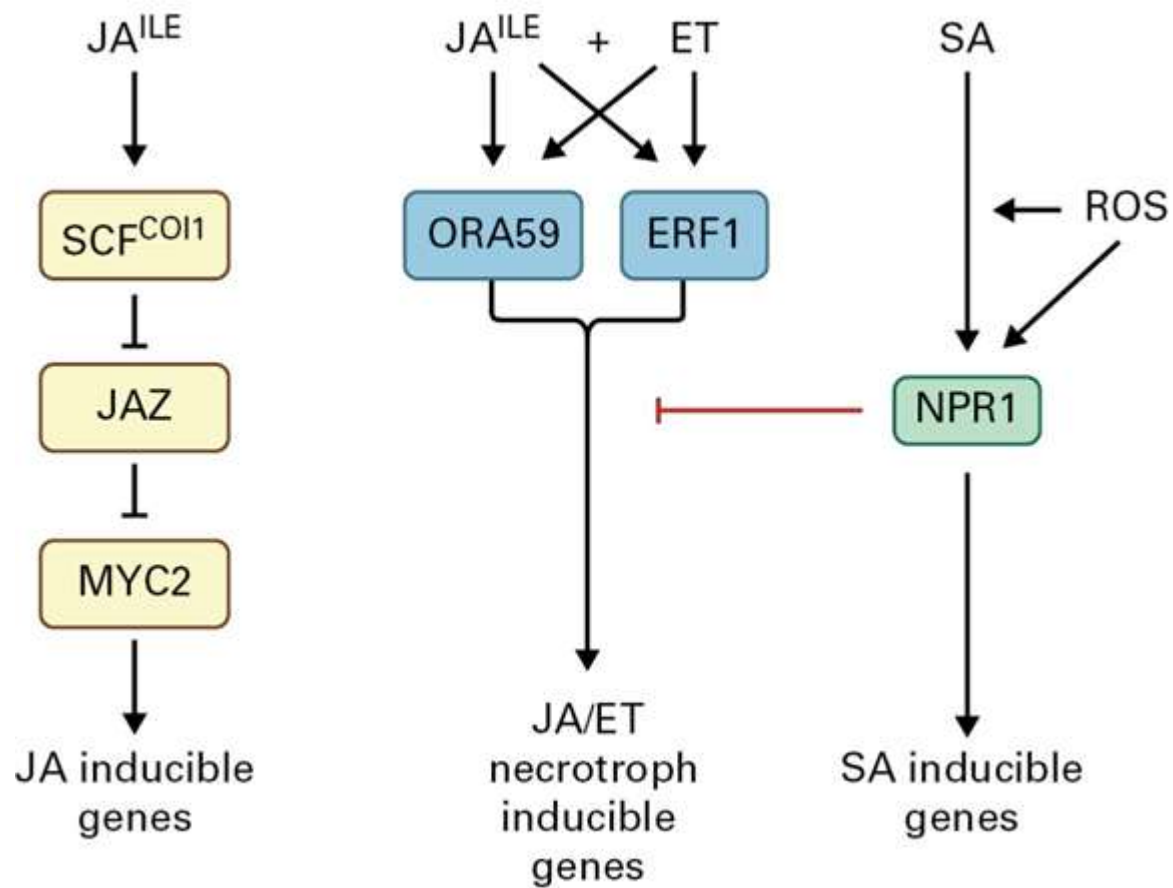
<https://www.youtube.com/watch?v=TKQ-CIX9afA>



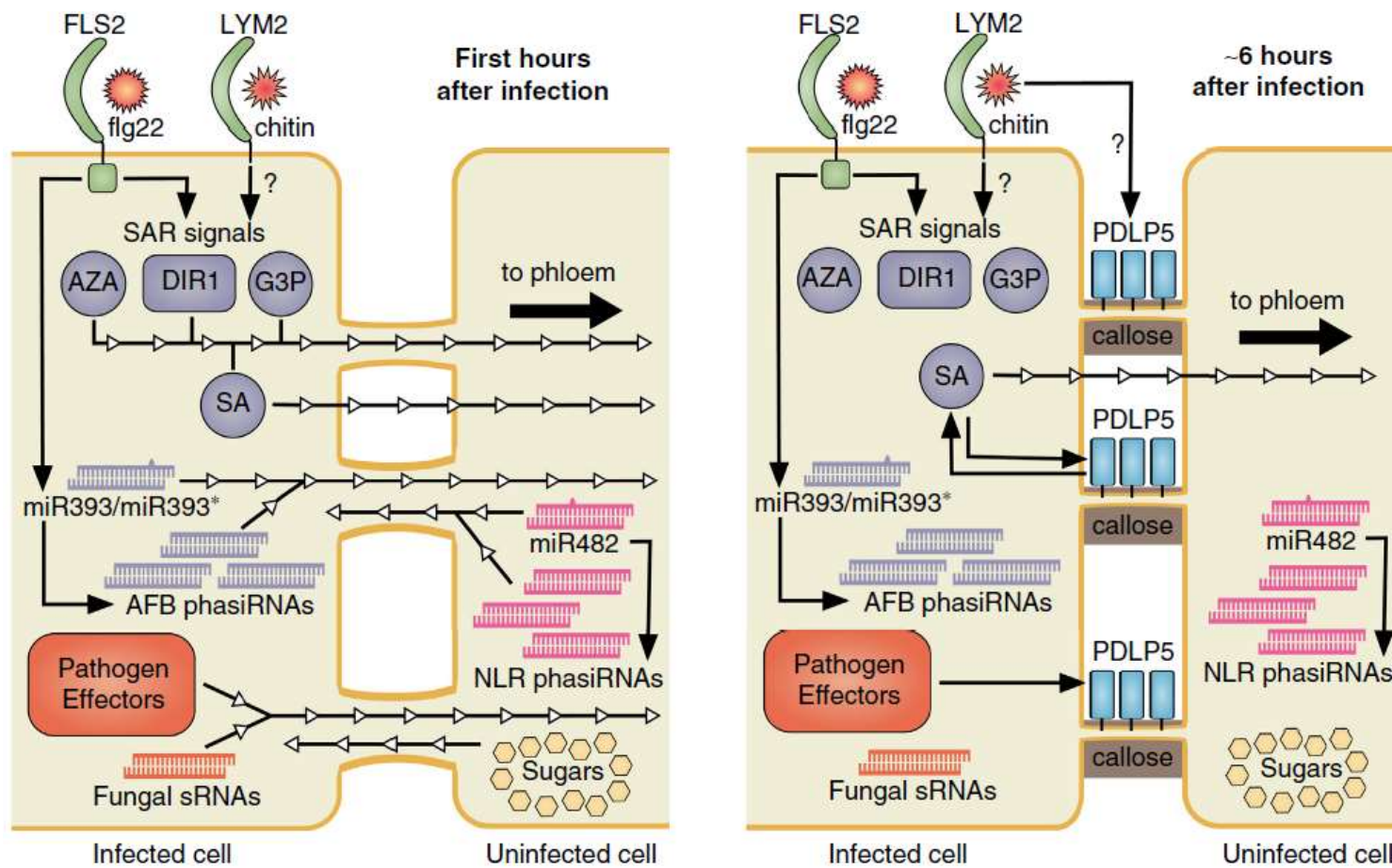
Larvy *Manduca sexta* (Lišaj)

- Zprostředkovaná kyselinou jasmonovou a ethylenem
- Spojená s expresí defensinů
 - malé 7 kDa bazické proteiny bohaté na cystein
 - anti-mikrobiální aktivita
 - strukturně podobné proteinu u ptáků, savců a hmyzu
- JA-izoleucin důležitý derivát rozpoznávaný F-box proteinem COI (Coronatinsensitive 1)
- Klíčový regulátor JA odpovědi – AtMYC2 transkripční faktor a JAZ protein

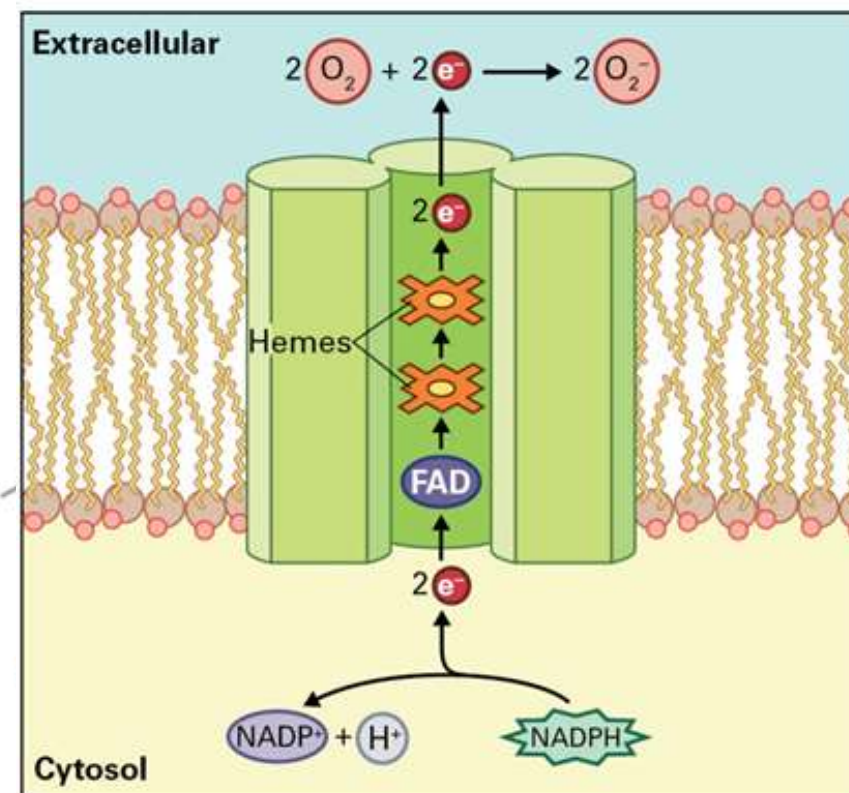
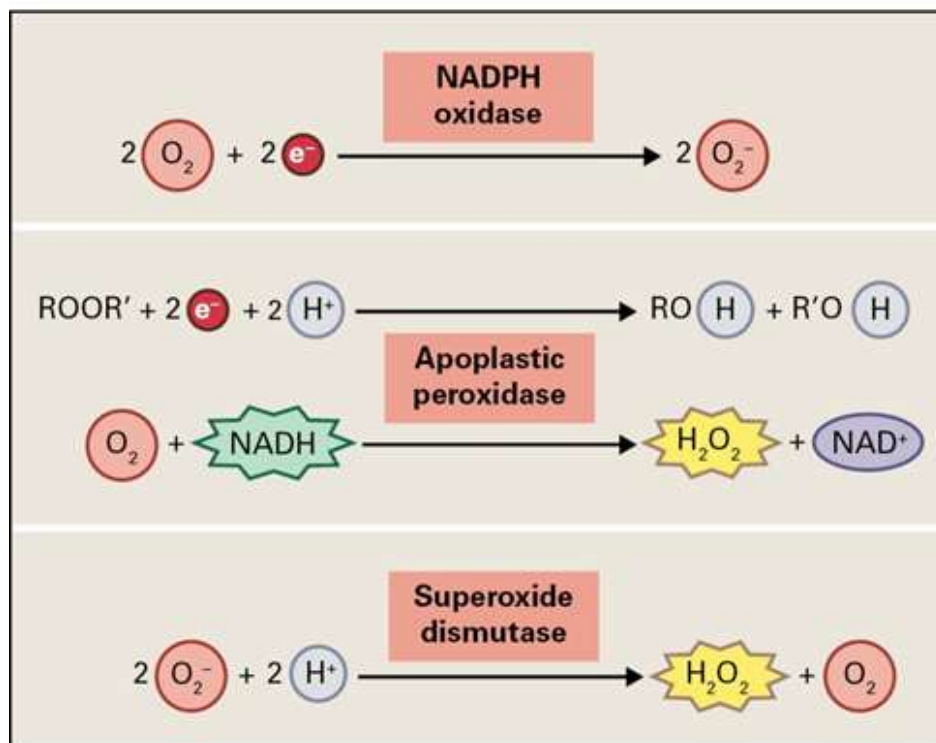




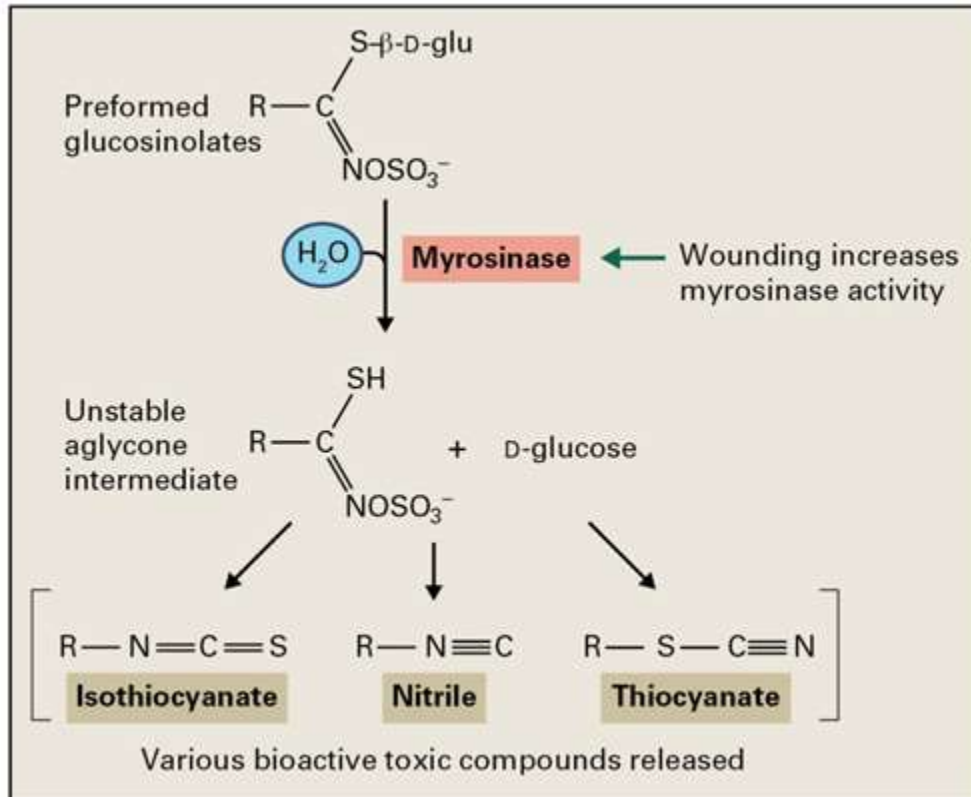
- **Důležitá role plasmodezmat v procesu vývoje a patogeneze**
 - transport signálních molekul do a z floému
 - v procesu patogeneze rychlé uzavření depozicí kalózy (achilova pata obrany)



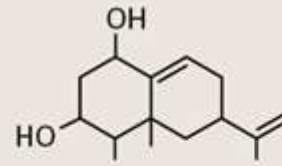
- Klíčová role NADPH oxidázy a extracelulární peroxidázy
- NADPH oxidáza kódována *rboh* genem
 - pro produkci ROS jsou potřeba proteiny rbohD a rbohF
 - k aktivaci potřeba fosforylační kaskáda a vápník
 - superoxidový anion rychle konvertován superoxid dismutázou



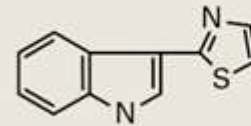
Glukosinoláty



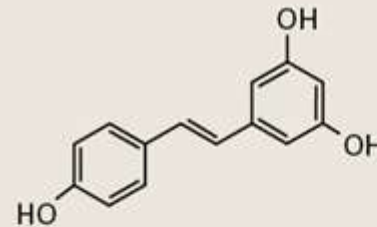
Phytoalexiny



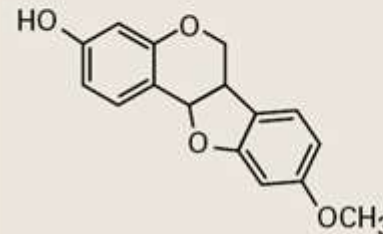
Capsidiol, a sesquiterpene from pepper (*Capsicum*) and tobacco (*Nicotiana tabacum*)



Camalexin, a nitrogen- and sulfur-containing compound from *Arabidopsis*



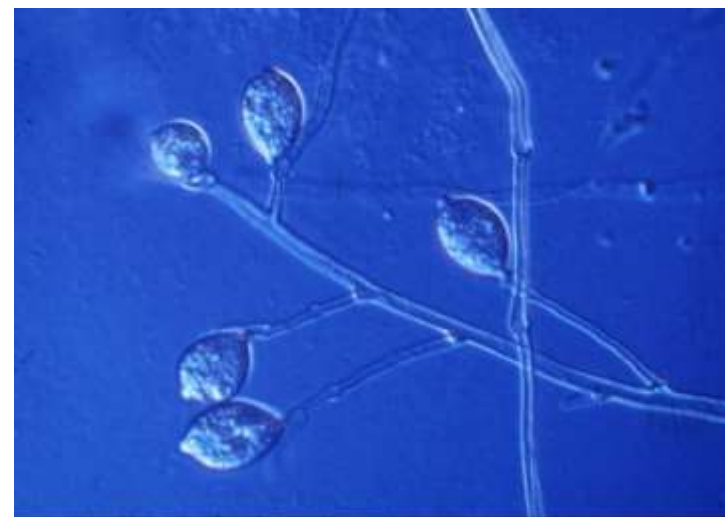
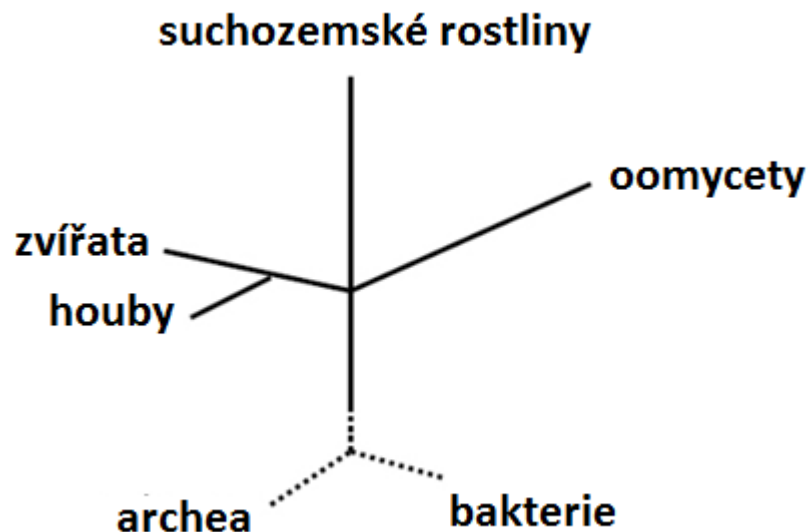
Resveratrol, a grape stilbene derived from phenylpropanoid metabolism



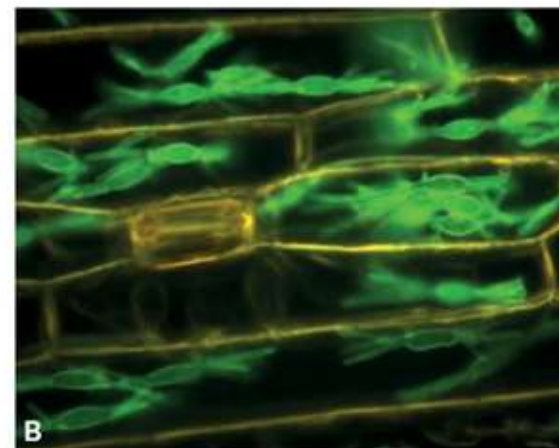
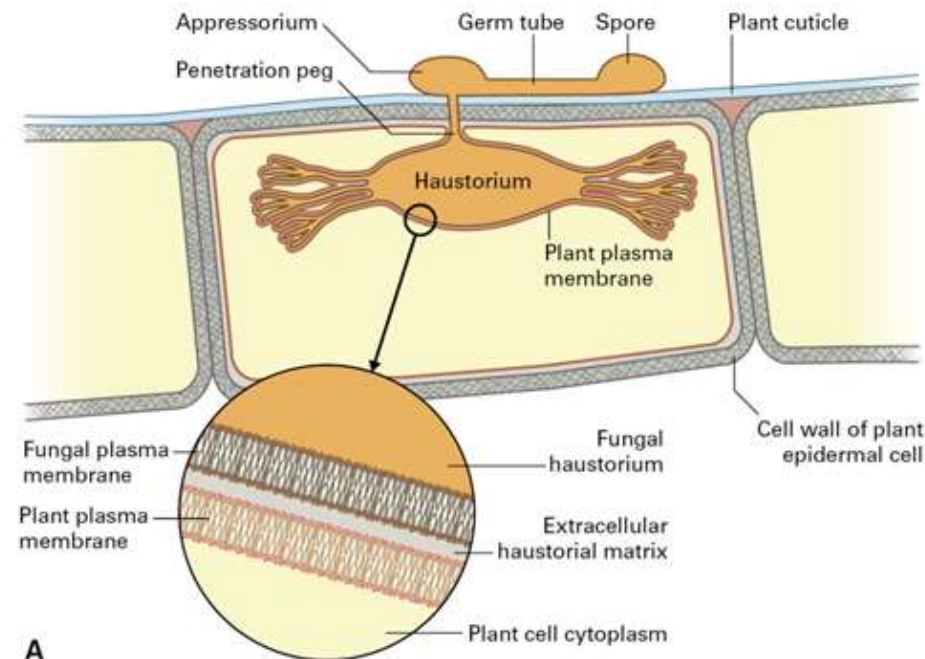
Medicarpin, a *Medicago* isoflavonoid derived from phenylpropanoid metabolism

	Nekrotrofie	Biotrofie	Hemibiotrofie
Strategie útoku	Sekrece enzymů degradujících buněčnou stěnu a/nebo toxinů	Těsný Intracelulární kontakt s rostlinou buňkou	Počáteční biotrofní fáze
Specifikum interakce	Zabít rostlinné pletivo a kolonizovat; výrazný rozklad patogenem	Rostlinná buňka zůstává živá s minimálním poškozením	V počáteční fázi infekce zůstávají rostlinné buňky živé, v pozdější fázi značné poškození pletiva
Spektrum hostitelů	Široké	Úzké, pouze konkrétní druhy	Střední
Příklady	Bakteriální hniloba (<i>Erwinia</i> spp.), houbová hniloba (<i>Botrytis cinerea</i>)	Houbové plísně a rzi, viry, endoparazitické nematody, bakterie <i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Phytophthora infestans</i> (plíseň bramborová)

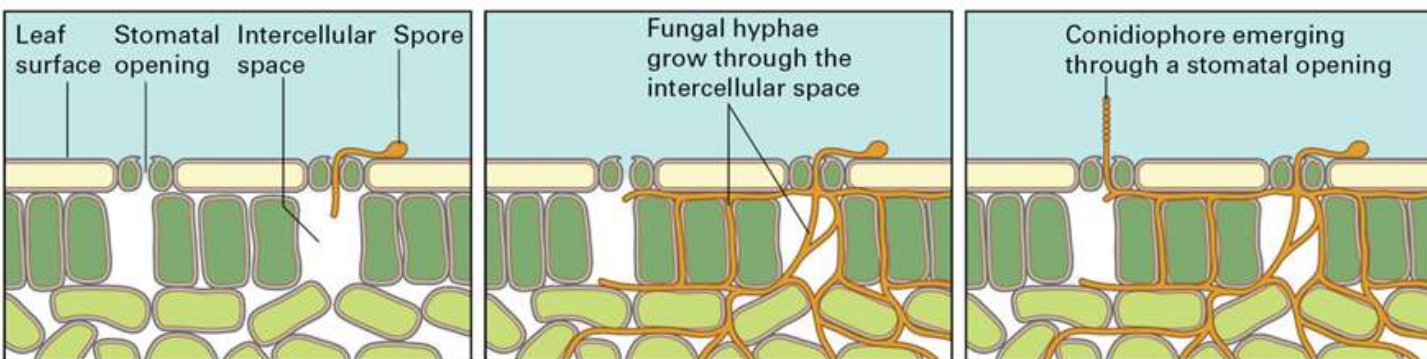
- oomycety (řasovky) jsou fylogeneticky odděleny od hub
- jsou to jedny z nejvíce devastujících rostlinných patogenů
- v houbových vláknech (hyfy) téměř chybí přepážky
- buněčná stěna neobsahuje chitin, pouze β -1,3, and β -1,6 glukany
- tvoří sporangia, ze kterých se uvolňují zoospory (nemají buněčnou stěnu, umí plavat)



- Využívají živé buňky jako zdroj živin
- Během patogeneze prochází třemi vývojovými stupni
 - Buněčnou stěnu penetrují pomocí appresoria
 - Tvorba apresoriálního infekčního lalůčku (penetration peg)
 - Formace haustoria
- Haustorium se tvoří po invaginaci plazmatické membrány
- Opouzdření extrahaustoriální membránou (EHM)
- Někteří biotrofové netvoří apresorium
 - *Cladosporium fulvum* – prochází přes průduchy
 - Roste v apoplastickém prostoru
- Hemibiotrofové - přepnutí na nekrotrofní stádium
 - vysoké nároky na živiny
 - asexuální reprodukce
 - u *P. infestans* přepnutí po několika dnech infekce

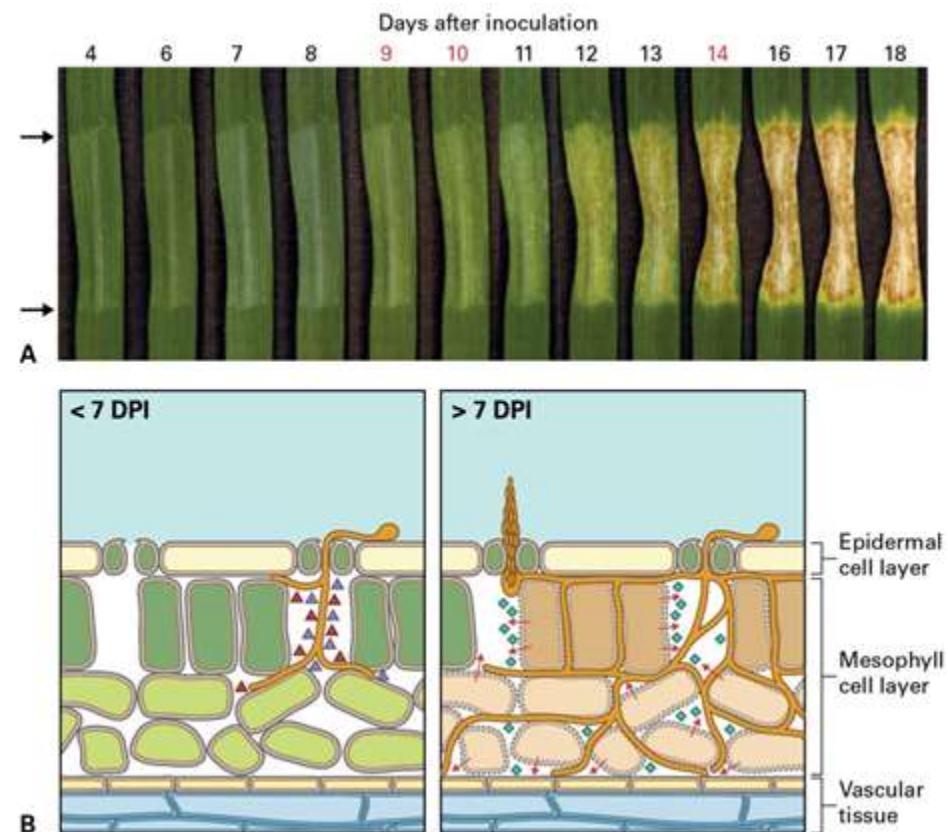


Infekce plísni *Cladosporium fulvum* (biotrof)



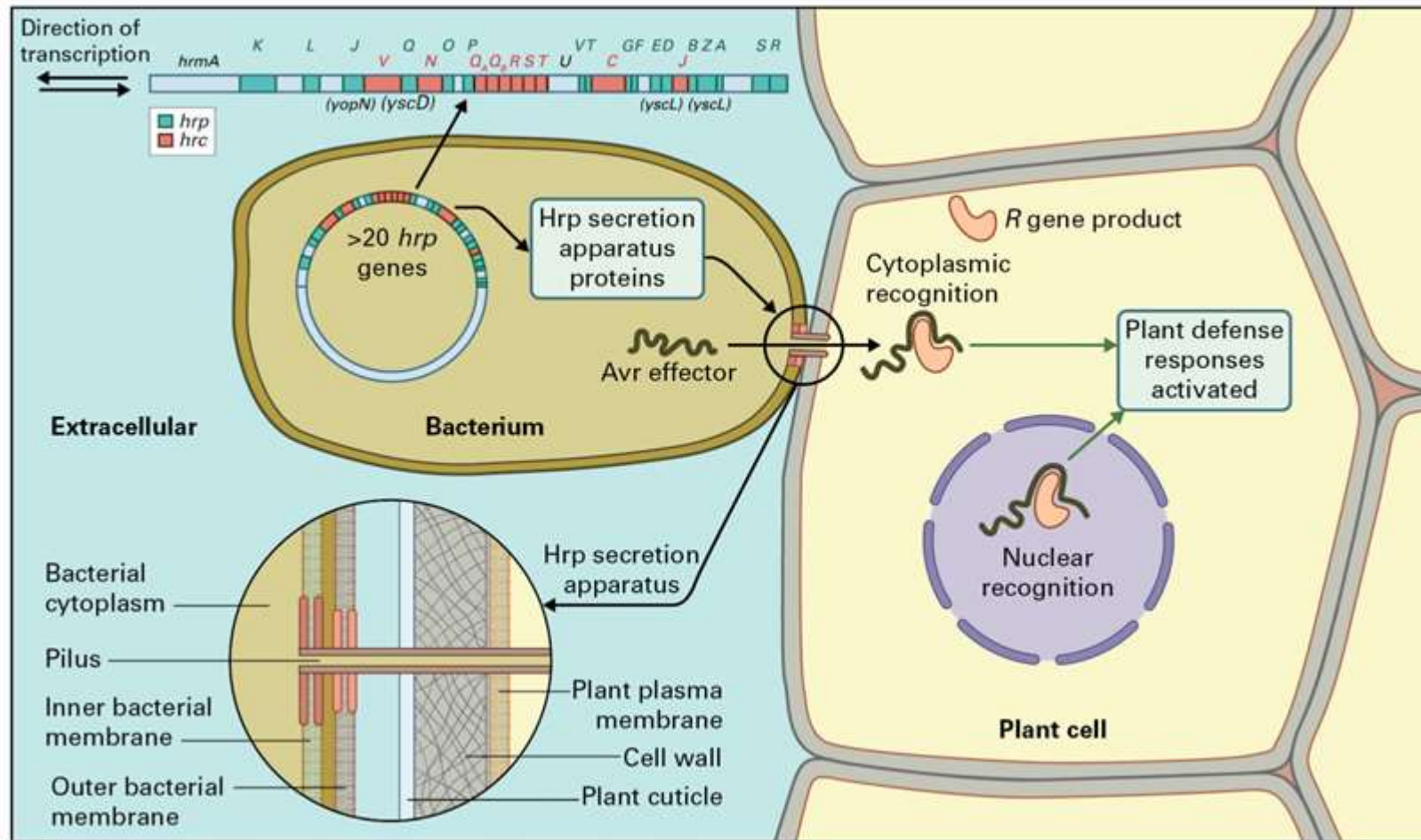
Biochemistry & Molecular Biology of Plants, Second Edition. Edited by Bob B. Buchanan, Wilhelm Gruissem, and Russell L. Jones. © 2015 John Wiley & Sons, Ltd. Published 2015 by John Wiley & Sons, Ltd. Companion website: www.wiley.com/go/buchanan/biochem

Infekce houbou *Mycosphaerella graminicola* (hemibiotrof)

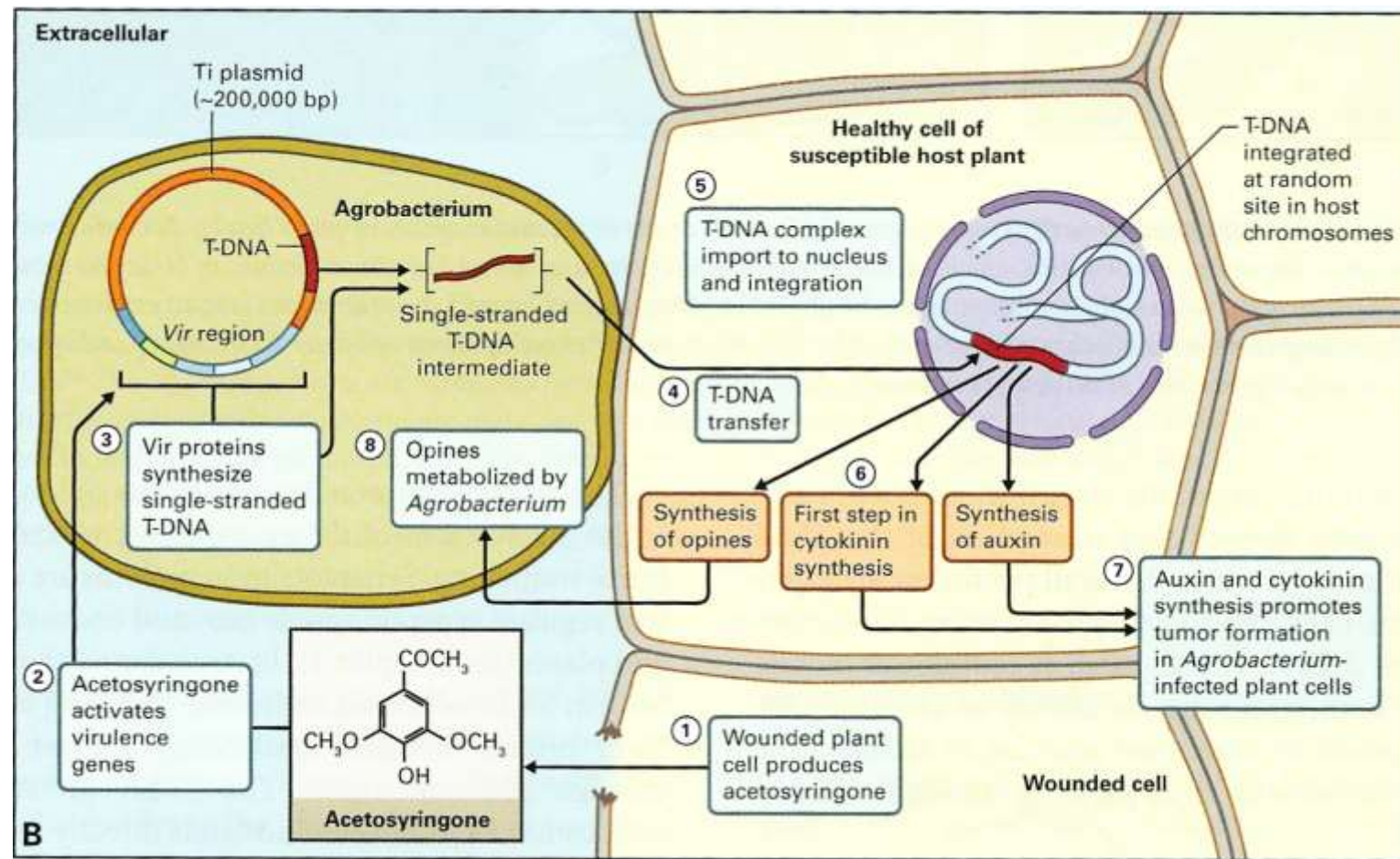
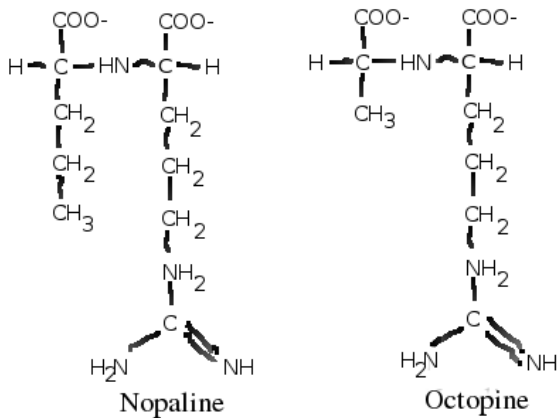


Biochemistry & Molecular Biology of Plants, Second Edition. Edited by Bob B. Buchanan, Wilhelm Gruissem, and Russell L. Jones. © 2015 John Wiley & Sons, Ltd. Published 2015 by John Wiley & Sons, Ltd. Companion website: www.wiley.com/go/buchanan/biochem

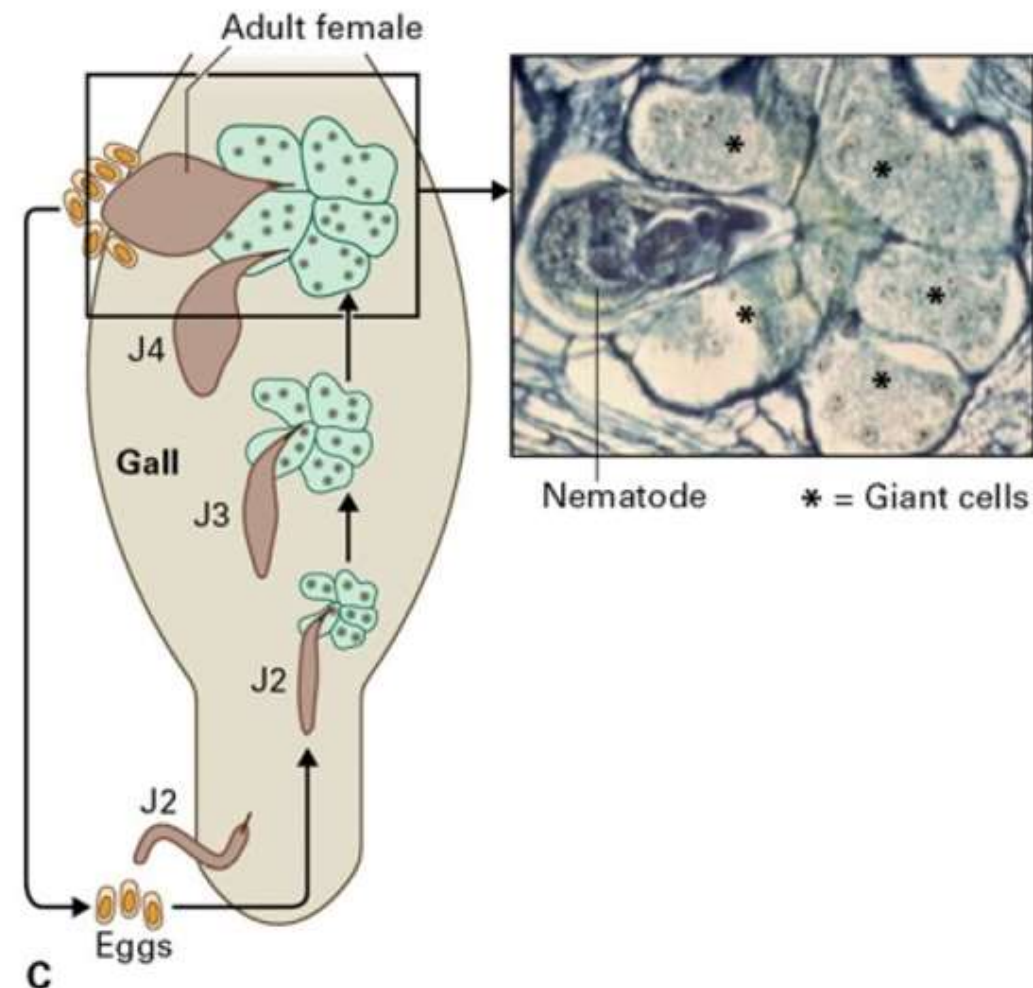
- většinou gram-negativní tyčky rodů *Pseudomonas*, *Agrobacterium*, *Xanthomonas* nebo *Erwinia*
- vzácně penetrují přes buněčnou stěnu
- Penetrace často zprostředkovaná hmyzem
- po většinu života v mezibuněčném prostoru nebo xylému
- sekretují toxiny, extracelulární polysacharidy (EPS) nebo enzymy degradující buněčnou stěnu
 - nejsou zcela nutné pro patogenezí – pouze napomáhají
 - coronathin – toxin *P. syringae*, mimikuje JA-Ile – otevírání průduchů, interference s SA odpovědí
 - rozklad buněčné stěny – polygalakturonidáza (hydroláza), pektin lyáza (lyáza)
- často účast tzv. „kvórum detekčního“ mechanismu
 - N-acyl homoserin lakton (*Erwinia*), protein Ax21 (*Xanthomonas oryzae*)
 - faktory virulence spouštěny až při dostatečném nárůstu
 - rychlé usmrcení buňky – předejití aktivní obranné reakci rostliny
- Během infekce použití sekrečního systému typu III pro doručení efektoru do buňky
 - strukturní komponenty kódovány v rámci *hrp* genového klastru



Agrobacteriem zprostředkovaná transformace – nástroj pro rostlinou transformaci



- Všechny nematody jsou obligátní biotrofové na kořenech
- Ektoparasitické (vně) x endoparasitické (uvnitř)
- Mezi nejvíce devastující nematody patří:
 - nematody tvořící cysty (rody *Heterodera* a *Globodera*)
 - nematody tvořící uzly (rod *Meloidogyne*)
- Životní cyklus:
 - dormantní vajíčko obdrží rostlinný signál
 - vylíhnutí se juvenilní nematody
 - migrace do pletiva za kořenovou špičkou
 - napíchnutí rostlinné buňky – modifikace metabolismu buňky
 - tvořící cysty – tvorba nádorových struktur
 - tvořící uzly – tvorba obřích buněk
 - vývoj nematody = zrání vajíček
- Důležitý prvek – výživové vlákno
 - součást sosáku
 - tvoří se pokaždé při krmení (hromadí se v buňce)
 - molekulový cut-off (20-40 kDa)



- **OŽEROVÝ**

- velké poškození pletiv
- napadení závisí na vývojovém stádiu

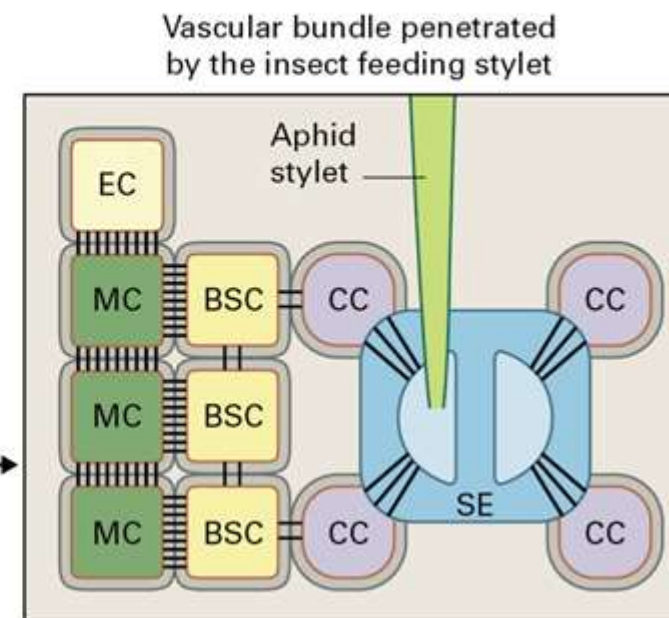
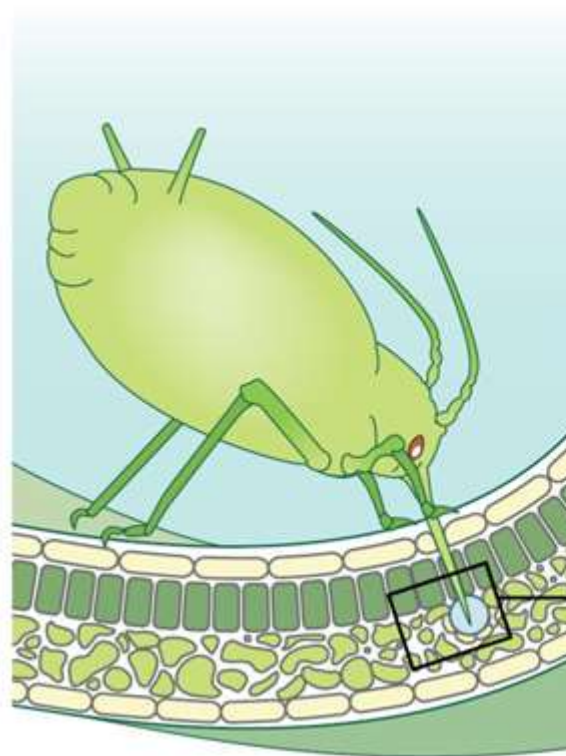
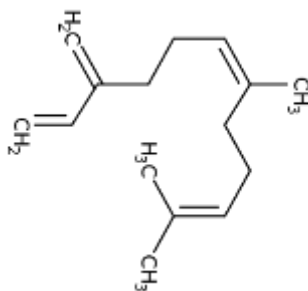
- **SAVÝ**

- minimální poškození pletiv
- pomocí sosáku nabodnou floém
- může vést k inhibici růstu

- **Přenos celé řady patogenů**

- **Rostlina uvolňuje volatilní látky**

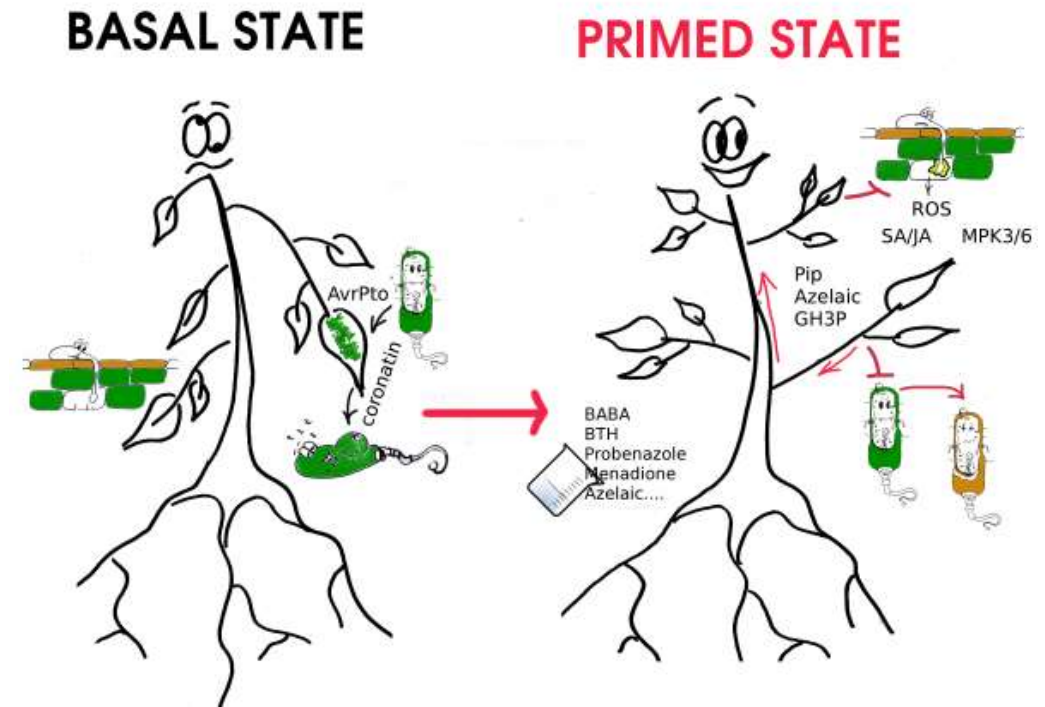
- slouží k přilákání/odlákání
- největší skupina terpenoidní látky
- produkce (E)- β -farnesenu - ochrana



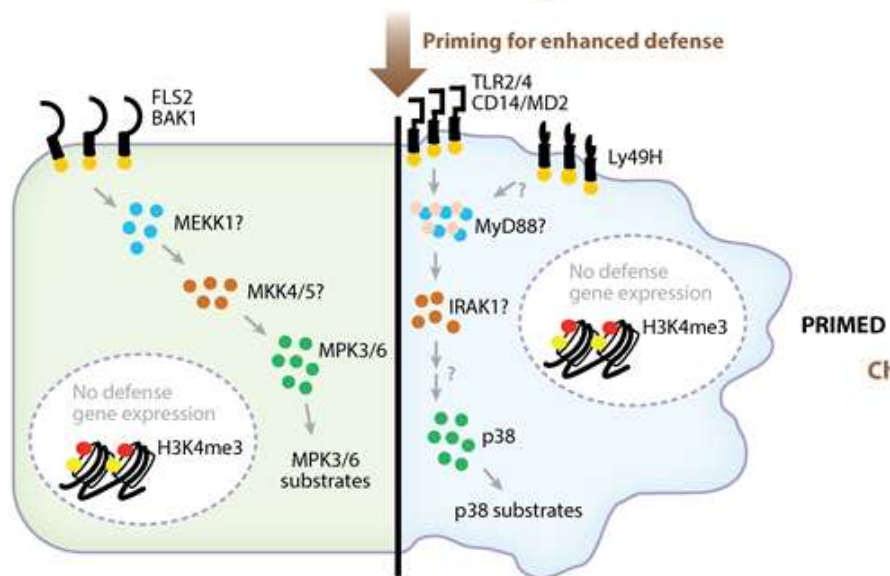
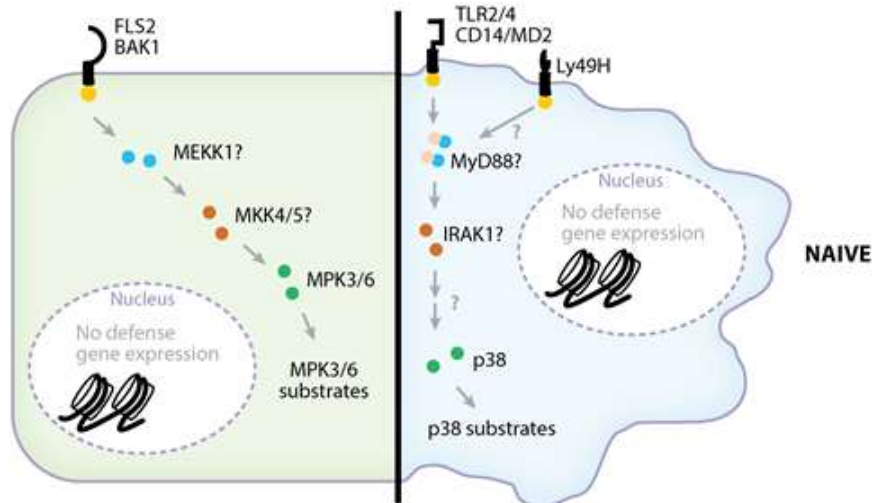
- aktivace multi-genových obranných mechanismů poskytujících dlouhotrvající rezistenci
- Spojen především z rezistencí indukovanou mykorrhizními houbami, poraněním nebo chemikáliemi (beta-aminomáselná kyselina)
- Molekulární mechanismy spojené s tímto fenoménem jsou popsány pouze z části

ZÁKLADNÍ MOLEKULÁRNÍ MECHANISMY

- Mitogen-aktivované protein kinázy
- Obohacení plazmatické membrány receptory rozpoznávající molekulární vzory
- Epigenetické změny



Chimeric plant-mammalian innate immunity cell



Challenging stimulus

