

JAKÉ MECHANISMY VYUŽÍVAJÍ ROSTLINY PRO OBRANU PROTI HOUBOVÝM PATOGENŮM

LINDA SALAČOVÁ, ZUZANA FALTUSOVÁ
a JAROSLAVA OVESNÁ

Výzkumný ústav rostlinné výroby, v.v.i., Drnovská 507,
161 06 Praha 6
ovesna@vurv.cz

Došlo 14.8.14, přepracováno 13.1.15, přijato 12.2.15.

Klíčová slova: ječmen, mykotoxin, genové exprese, interakce

Obsah

1. Úvod
2. Imunitní systém rostlin
 - 2.1. Receptory
 - 2.2. Signální molekuly
 - 2.3. Transportní proteiny
 - 2.4. Mitogenem aktivované protein kinasy
3. Interakce hub r. *Fusarium* s obilninami
 - 3.1. Mechanismy odolnosti a tolerance
4. Specifické enzymy obrany rostliny
 - 4.1. UDP-glykosyltransferasa
 - 4.2. Glutathion-S-transferasa
 - 4.3. Cytochrom P450
 - 4.4. Proteiny související s patogenezí
5. Závěr

1. Úvod

Fytopatogenní organismy snižují výnos a ovlivňují kvalitu produkce hospodářsky významných plodin. Tyto organismy negativně působí na vývoj rostlin tím, že využívají jejich živiny, ale také tím, že ovlivňují jejich metabolické aktivity. Rostliny po napadení fytopatogenním organismem zapojují své obranné mechanismy, na které fytopatogenní organismy reagují spuštěním syntézy látek, které jim umožní snáze kolonizovat hostitele¹. Jednotlivé genotypy rostlin se v rámci druhu obecně liší svojí odolností vůči patogenům. Odolnost rostlin k houbovým patogenům je dána jejich morfologickými vlastnostmi, které mohou bránit kolonizaci a také schopností včas rozpoznat fytopatogenní organismus na svém povrchu a přes kaskádu signálních molekul mobilizovat obranné mechanismy². Složkou obrany rostlin proti fytopatogenům jsou proto i jejich povrchové struktury. Příkladem takových struktur jsou papily či trichomy epidermálních

buněk, které kromě toho, že brání adhezi patogena na vnější povrch rostliny, vylučují sekrety znemožňující osídlení povrchu mikroorganismy³. Pokožka rostlin je často chráněna vrstvou vosku, která na jedné straně tvoří ochrannou bariéru, na druhé straně jsou molekuly vosku signálem pro patogenní organismus, který začne produkovat adhezni molekuly³. Patogen se také může omezeně šířit díky určitému složení buněčných stěn, které obsahují β -glukan, lignin, antimikrobiální složky a řadu proteinů se stavební funkcí. Tyto a mnohé další látky jsou schopny akumulovat se kolem místa infekce a zabránit vstupu či šíření patogena. Ten tak nemá přístup k živinám a není schopen dalšího růstu. Poté, co rostlinná buňka rozpozná patogena, aktivuje své obranné molekulární mechanismy. Příkladem aktivních molekul, které jsou u drobnozrnných obilnin aktivovány, jsou chitinasy, antifungální rostlinný defensin nebo polygalakturonasy, které inhibují růst patogena⁴. Zároveň uvnitř buňky hostitele dochází k přesunu cytoskeletu, cytoplasmy a jádra směrem od místa penetrace patogena⁵. Řada patogenů si však vyvinula strategie, jak tyto prvky obrany rostlin využít pro snadnější kolonizaci.

2. Imunitní systém rostlin

V souvislosti s obrannými mechanismy rostlin se hovoří o imunitním systému rostlin. Na rozdíl od savců se ale nejedná o systém mobilních buněk, které specificky likvidují cizorodé látky či částice, ale o schopnost všech buněk reagovat na odpovídající signál, tedy reagovat nepřímo buď na přítomnost faktoru virulence patogena či na molekuly, které patogen typicky produkuje (proteiny bičíku, buněčné stěny apod.). Tato hypotéza je založena na nalezení tzv. proteinů rezistence, které tyto látky rozpoznávají a aktivují signální kaskádu⁶.

2.1. Receptory

Důležitou roli v obraně buněk proti patogenům mají receptory integrované v cytoplazmatické membráně. Tyto transmembránové receptory rozpoznávají malé molekuly, které jsou typické pro povrchy patogenních organismů takzvané PAMPs (patogen-associated molecular patterns)². Jakmile buňka identifikuje patogena na svém povrchu díky interakci transmembránových receptorů s těmito malými molekulami, přijme signál, který vede ke změně hladiny transkripce některých genů a k produkci látek, jako jsou reaktivní kyslíkové částice (ROS – reactive oxygen species), proteinkinasy závislé na Ca-kalmodulinu (CaMK – Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase), mitogenem aktivované protein kinasy (MAPKs – mitogen-activated protein kinase), které stojí na počátku řízení

buněčné smrti. Programovaná buněčná smrt brání šíření infekce díky tomu, že buňka nevyživuje patogena. Na růst patogena pak dále negativně působí proteasy, glukonasy a chitinasy uvolněné z odumřelé rostlinné buňky². Kromě výše zmíněné signalizační funkce mohou tyto látky plnit ještě další funkce, například ROS zároveň modifikují buněčnou stěnu rostlinné buňky.

2.2. Signální molekuly

Příkladem signálních nebo regulačních molekul obranných mechanismů ječmene jsou dále kyselina salicylová, jasmonová a metyljasmonát, jejichž biosyntéza se zvýší, je-li rostlinná buňka vystavena stresorům. Výše uvedené kyseliny spouští signální kaskádu, která pozitivně reguluje transkripci genů stresové odpovědi⁴.

Dalšími proteiny, díky nimž buňky hostitele rozeznají efektorové molekuly patogena, jsou proteiny bohaté na leucin s vazbou na nukleotidy (NB-LRR, nucleotid binding – leucin rich repeat). Tyto proteiny fungují jako receptory rozpoznávající patogena jak v rostlinných, tak v živočišných buňkách⁷, kde následně potlačují jeho virulentní aktivitu. Zároveň tento krok může vést k hypersenzitivní reakci neboli k řízené buněčné smrti buňky hostitele. Rezistence zprostředkované NB-LRR proteiny jsou rostliny schopny jediné tehdy, pokud je patogen obligátní biotrof či hemibiotrof. Nektrotrofní organismy (organismy, které získávají organické látky z usmrcených buněk hostitele⁶) tuto schopnost nemají.

Obecně se po infekci v rostlině zvyšuje exprese genů, jejichž produkty dokáže fytopatogen rozpoznat jako součást obranného systému rostliny. Jedná se o geny kódující proteiny související s patogenezi – PR proteiny (pathogenesis-related proteins). Zvýšenou transkripci vykazují dále geny kódující enzymy, které detoxifikují mykotoxiny [UDP-glykosyltransferasa, glutathion-S-transferasa, proteiny účastnící se vyloučení léků a toxinů – MATE (multidrug and toxic compound extrusion)]⁸, geny pro transportní proteiny tzv. ABC transportéry (kazety vážící ATP – ATP binding cassette) a geny signální transdukce (fosfatasy, kalmodulin). Proteiny kódované výše zmíněnými geny mají významný vliv na účinnost obrany rostlin vůči napadení patogeny⁹.

2.3. Transportní proteiny

Významnou roli v obraně rostlin vůči patogenům hrají i transportní proteiny. Rostlinné transportní proteiny ABC jsou velká, různorodá rodina proteinů zprostředkávající přenos signálů přes biologické membrány. Využívají k tomu různé mechanismy, které např. fungují jako ATP-dependentní pumpy, ale také jako iontové kanály a regulátory těchto kanálů. Do této skupiny řadíme P-glykoprotein, protein spojený s rezistencí k lékům (MRP – multidrug resistance-associated protein) PDR-5 a další proteiny¹⁰.

2.4. Mitogenem aktivované protein kinasy

Jednou z nejdůležitějších signálních kaskád buněčné odpovědi na extracelulární signál je signální kaskáda aktivovaná mitogenem (MAPK – mitogenem aktivované protein kinasy neboli MAP-kinasy), které jsou přítomny ve všech typech eukaryotních buněk. Tato kaskáda sestává ze souboru následně působících kinas¹¹. MAPK kaskáda je řízena několika enzymy s kinasovou aktivitou, které ve svém důsledku aktivují poslední z nich fosforylací na zbytek serinu a threoninu¹². Tyto kinasy fosforylují různé substráty zahrnující transkripční faktory, proteinové kinasy a proteiny spojené s cytoskeletem.

V rostlinných buňkách je MAPK aktivována různými stresy jako je sucho či chlad a rostlinnými hormony. MAPK se také účastní regulace buněčného cyklu a auxinové signální transdukce¹³. Jako příklad může sloužit flagelinová signální dráha *Arabidopsis*, která je indukovaná bakteriálními patogeny. Flagelin je protein bakteriálního bičíku, který rostlinná buňka vnímá jako molekulární vzor typický pro povrch patogena (PAMP) a který se váže na transmembránový receptor PRR kinas bohatých na leucin FLS2 (flagellin-sensitive 2). Tato vazba je signálem pro aktivaci MAPK kaskády, která vede k indukci transkripce genů *WRKY22* a *WRKY29*, jejichž produkty translace jsou DNA-vázající transkripční faktory označené WRKY podle písmenného kódu pro aminokyseliny tvořící aktivní doménu proteinu. Tyto transkripční faktory zastávají především u rostlin různé biologické funkce díky regulaci exprese mnoha genů¹².

Význam MAPK signální dráhy, jako reakce na infekci patogenními činiteli, byl již experimentálně potvrzen u několika rostlinných druhů^{14–16}.

Je zajímavé, že obdobné mechanismy se vyskytují i v savčích buňkách a jsou podobné jako u rostlin aktivovány toxiny produkovanými fytopatogenní houbou r. *Fusarium*. Do skupiny MAPK indukovaných v savčích buňkách fusariovým toxinem deoxynivalenolem se řadí kinasy regulující extracelulární signál (ERK) 1 a 2, stresem aktivované proteinové kinasy (SAPK) neboli Jun N-terminalkinasy 1 a 2 (JNK) resp. kinasy p54, p46, p38 a další^{17,18}. Jako příklad uvádíme mechanismus ribotoxické stresové odpovědi: v první fázi v buňce rapidně vzroste koncentrace deoxynivalenolu, který se váže na ribosomy, následně jsou aktivovány ribosomálně asociované enzymy PKR (protein kinase RNA-regulated) a kinasa hematopoetických buněk Hck (hematopoietic cell kinase). Tyto kinasy fosforylují kinasu MKK3/6. Takto aktivovaná kinasa MKK3/6 může fosforylovat kinasu p38, která interaguje s ribosomem a pomocí transkripčních faktorů a cytosinů indukuje transkripci prozánětlivých genů^{17–19}.

3. Interakce hub r. *Fusarium* s obilninami

Velmi dobře jsou již popsány mechanismy odolnosti obilnin vůči fusariovému vadnutí klasu (FHB – fusarium head blight), které je způsobeno houbou r. *Fusarium*. Houby r. *Fusarium* poškozují obilniny, snižují výnosy a navíc produkují mykotoxiny²⁰, které jsou toxické nejen pro rostlinu samotnou, ale i pro případného konzumenta kontaminovaného produktu.

3.1. Mechanismy odolnosti a tolerance

Obilniny mohou být vůči napadení patogena tolerantní nebo odolné. U tolerantního genotypu není výskyt patogena doprovázen negativními dopady na hostitele. Odolné neboli rezistentní genotypy jsou schopné zabránit ataku infekce. Z hlediska šlechtění jsou tedy perspektivnější genotypy odolné, vzhledem k tomu, že tolerantní genotypy akumulují toxické produkty metabolismu patogena, které jsou nebezpečné pro případné konzumenty.

Mechanismy odolnosti rostlin jsou klasifikovány jak na úrovni celého organismu, tak na molekulární úrovni. Základem odolnosti rostlin může být jejich morfologická stavba, jako je např. výška rostliny a vlastnosti klasu dané hustotou zrn a přítomností osin nebo období kvetení mimo sezonu šíření patogena, vzhledem k tomu, že v období kvetení jsou rostliny k infekci nejcitlivější. Takový typ odolnosti se označuje jako pasivní. Aktivní rezistence je podmíněná řadou mechanismů, které jsou v rostlině aktivovány po jejím napadení patogenem. Tyto mechanismy jsou směřovány proti samotnému napadení a proti šíření infekce. Významným typem aktivní odolnosti je rezistence rostlin vůči mykotoxinům produkovaným patogenem a vůči jejich akumulaci. Tento typ aktivní rezistence zahrnuje rezistenci založenou na chemické modifikaci trichothecenových mykotoxinů a rezistenci založenou na inhibici biosyntézy trichothecenů^{21,22}. Rezistence založená na modifikaci trichothecenů je důležitá z hlediska odolnosti samotné rostliny, ale v konečném důsledku je významnější druhý typ rezistence založený na inhibici biosyntézy trichothecenů, který má pozitivní dopad na případné konzumenty.

Rezistence rostlin vůči napadení houbami r. *Fusarium* je založena polygenně. Molekulárně-genetickými metodami byly identifikovány lokusy kvantitativních znaků (QTL – quantitative trait loci) asociované s rezistencí vůči FHB. V genomu ječmene bylo identifikováno devět lokusů, které jsou spojovány s mírnějšími projevy FHB a nižší akumulací deoxynivalenolu, který je dlouhodobě vnímán jako nejvýznamnější mykotoxin. Tyto QTL byly lokalizovány na různých chromosomech²³.

Pro pochopení mechanismů rezistence rostlin na molekulární úrovni je nezbytné sledovat též procesy, které probíhají v organismu patogena. Jedním z důležitých procesů je produkce mykotoxinů. Mykotoxiny produkované patogenem pomáhají kolonizaci rostliny. Deoxynivalenol (DON) se například účastní aktivace obranných mechanismů rostliny, které vedou k produkci ROS a programované

buněčné smrti²⁴. Role signální dráhy ROS doprovázená indukcí biosyntézy kyseliny salicylové byla prokázána zejména při aktivaci obranných mechanismů rostliny. Druhy hub r. *Fusarium*, které produkují DON, často využívají kyselinu salicylovou jako zdroj uhlíku a tím narušují obranné mechanismy hostitele a snižují expresi PR proteinů, chitinas nebo peroxidasy. To vše umožní další šíření patogena. Studium produkce mykotoxinů houbami r. *Fusarium* a změn transkripce genů jejich syntézy je tedy významnou součástí výzkumu interakcí hostitel-patogen²⁵. Geny kódující enzymy biosyntézy trichothecenových mykotoxinů byly souhrnně popsány u hub r. *Fusarium*²⁶.

Jako významné jsou též dále sledovány MAPK fytopatogena, které jsou důležité pro jeho vývoj, a které mimo jiné ovlivňují produkci jeho makrokonidií. Například MAPK *F. verticillioidea* označená MAP Kinasa 1 negativně reguluje produkci makrokonidií, naproti tomu MAPK s označením Gpmk1 *F. graminearum*, je pro vývoj makrokonidií nepostradatelná. Tento příklad dokumentuje druhovou specifitu MAPK. U hub rodu *Fusarium* regulují MAPK sekundární metabolismus a jsou zodpovědné za vegetativní růst, asexuální reprodukci a infekci rostlin²⁷.

4. Specifické enzymy obrany rostliny

Předpokládá se, že zvýšená exprese některých proteinů může zlepšovat odolnost obilnin vůči fuzariózám. Zvýšení exprese lze dosáhnout jednak tradičním šlechtěním, pokud jsou k dispozici genetické zdroje, nebo lze využít biotechnologické postupy a transformace vhodnými geny²⁸. V případě napadení obilnin houbami r. *Fusarium* se jedná především o enzymy, které se podílí na detoxifikaci mykotoxinu deoxynivalenolu, jako jsou UDP-glykosyltransferasa, cytochrom P450 a glutathion-S-transferasa. Další skupinou proteinů, u níž byl prokázán význam pro obranu rostliny vůči infekci, jsou proteiny související s patogenezi (PR – pathogenesis-related proteins). Tyto proteiny jsou transkribovány bezprostředně po infekci.

4.1. UDP- glykosyltransferasa

Glykosyltransferasy katalyzují přenos cukru z aktivovaných donorových molekul na konkrétní molekuly akceptoru, přičemž vznikají glykosidické vazby. Donorové molekuly jsou v případě UDP-glykosyltransferas (UGT) aktivovány uridindifosfátem (UDP). UGT mají v buňce řadu funkcí, jako např. aktivace rostlinných hormonů. Významnou funkcí UGT je glykosylace substrátu, která ovlivňuje jeho vlastnosti (např. zvyšuje jeho hydrofilní vlastnosti) a funkční aktivitu. Rostlinné UGT preferují jako donor glykosylového zbytku UDP-glukosu, savci pak UDP-glukuronovou kyselinu. Molekula akceptoru může být lipid, protein, heterocyklická sloučenina nebo jiný zbytek sacharidů. Nejpočetnější rodina UGT jsou glykosyltransferasy, které přenášejí cukr na malé lipofilní molekuly^{29–31}. Z hlediska napadení rostlin patogeny produkující mykotoxiny, např. DON, má UGT významnou úlohu

v detoxifikaci těchto produktů.

U ječmene byly identifikovány čtyři geny pro UGT, ale jen UGT kódovaná genem *HvUGT13248* je spojována s obranným mechanismem ječmene proti FHB (cit.³²). Tato UGT katalyzuje přeměnu deoxynivalenolu na derivát deoxynivalenol-3-*O*-glykosid (D3G), který má, na rozdíl od deoxynivalenolu, jen velmi malou schopnost inhibovat proteosyntézu. D3G je transportován do vakuoly a pro rostlinnou buňku již není toxický⁹. Naše experimenty, ve kterých jsme sledovali expresi genu *HvUGT13248* ve vyvíjejícím se klasu ječmene po infekci *F. culmorum*, ukázaly, že zvýšené množství patogena spojené s vyšším obsahem deoxynivalenolu je doprovázeno zvýšenou transkripcí tohoto genu²⁵. Ječmenný gen *HvUGT13248* byl navíc identifikován jako vhodný pro transformace. Pokud byly tímto genem transformovány rostliny *Arabidopsis*, došlo ke zvýšení jejich rezistence vůči deoxynivalenolu bez současných drastických morfologických změn, které byly pozorovány po zvýšení exprese vlastního genu *Arabidopsis* pro UGT označeného *AtUGT73C5* (cit.³³).

Legislativně nejsou hladiny deoxynivalenolu detoxifikovaného na D3G v potravinách a v krmivech ošetřeny, navíc zavedenými kontrolními analytickými metodami není konjugovaný DON možné stanovit, proto se v této souvislosti hovoří o tzv. maskovaných mykotoxinech^{34,35}. D3G je sice mnohem méně toxický pro živočišnou buňku, nicméně hrozí uvolnění deoxynivalenolu z konjugátu během potravinářského zpracování kontaminovaných obilí a v trávicím traktu živočichů^{34,35}. Experiment na potkanech ukázal, že D3G je v jejich trávicím traktu hydrolyzován a následně částečně převeden na de-epoxydeoxynivalenol a deoxynivalenolglukuronid³⁶.

4.2. Gluthation-*S*-transferasa

Gluthation-*S*-transferasa (GST) je značně rozšířený multifunkční enzym, který katalyzuje konjugaci gluthathionu s řadou elektrofilních substrátů. Konjugáty gluthathionu jsou poté transportovány do vakuol pomocí ABC-transportérů³⁷. Rostlinné GST se dělí na tři, event. čtyři typy podle homologie v sekvenci nukleotidů³⁸. Exprese GST je indukována různými faktory, např. napadením patogenem, herbicidy, hormony, těžkými kovy a působením ozónu³⁹. Jeho primární funkcí je detoxifikace xenobiotik, jako jsou např. mykotoxiny a herbicidy, a ochrana proti ROS jak u rostlin, tak u živočichů^{35,39}. GST je označovaná jako marker pro oxidativní stres a produkci ROS (cit.⁴⁰). Dále může mít funkci podobnou gluthathionperoxidase⁴¹, která redukuje peroxidy mastných kyselin, může mít i nekatalytickou roli přenašeče rostlinných metabolitů, jako jsou auxiny, cytokiny a anthokyany. Bylo popsáno šest GST, jejichž exprese v rostlinných buňkách vzrůstá za přítomnosti mykotoxinu deoxynivalenolu, přičemž zároveň dochází k nárůstu dvou cysteinsyntas (CS). CS stojí na počátku biosyntézy gluthathionu, takže se dá předpokládat, že zvýšená transkripce CS souvisí se zvýšenou transkripcí GST a že GST je součástí obranného mechanismu rostliny proti působení mykotoxinu DON.

Dále bylo v případě rostlinných GST zjištěno, že gluthathion nukleofilně neatakuje epoxidovou funkční skupinu, jak se předpokládalo, ale uhlík C8 a C10 (cit.⁹). V případě konjugátu deoxynivalenolu a gluthathionu, který má prokazatelně nižší toxicitu díky dramaticky snížené schopnosti inhibovat proteosyntézu, nehrozí riziko vyvázání deoxynivalenolu z konjugátu v trávicím traktu živočichů³⁹.

4.3. Cytochrom P450

Cytochrom P450 (CYP) jsou monooxygenasy vázající hem jako prosthetickou skupinu. Tyto enzymy katalyzují většinu oxidačních kroků sekundárního metabolismu rostlin. Některé produkty těchto reakcí mají přímou antifungální aktivitu, jiné ovlivňují stresové signály. Oxidační reakcí se CYP rovněž podílí na detoxifikaci exogenních molekul, typicky lipofilních mykotoxinů jako je DON (cit.^{37,39}). Významnou skupinou jsou CYP hydroxylasy mastných kyselin⁴². Ačkoli není obranný mechanismus rostlin stále plně objasněn, je známo, že rostliny napadené patogenem vnímají hydroxylované mastné kyseliny jako klíčové složky indukce rezistence⁴³. Jako příklad lze uvést spojitost genu *CYP709C1* z pšenice s obranným mechanismem rostliny proti napadení houbami r. *Fusarium*³⁷. Protein CYP709C1 katalyzuje metabolismus mastných kyselin, kde hydroxyluje uhlíky na pozici ω1 a ω2 (uhlíky alifatického řetězce). Hydroxylaci mastných kyselin vznikají kyseliny 9,10,18-trihydroxystearová a 18-hydroxy-9,10-epoxystearová. Ty jsou složkami kutikuly, která má zásadní vliv na interakci hostitel-patogen⁴². Zároveň mohou být tyto látky elicitorem obranného mechanismu rostliny proti napadení patogenem⁴⁴. CYP se uplatňuje i v detoxifikaci xenobiotik u zvířat³⁹. Navíc bylo zjištěno, že transgenní rostliny nesoucí CYP z heterologních organismů se lépe vypořádávají s abiotickým stresem. Příkladem jsou transgenní rostliny rýže s vneseným genem pro lidskou cytochrom P450 monooxygenasu *CYP1A1*, které vykazují rezistenci k herbicidům díky schopnosti tyto herbicidy detoxifikovat⁴⁵.

4.4. Proteiny související s patogenezi

Proteiny související s patogenezi (PR – pathogenesis-related proteins) jsou proteiny s malou molekulovou hmotností, které jsou rostlinnými buňkami exprimovány krátce po infekci virem, bakteriemi i houbami a dále jsou transportovány do mezibuněčných prostor⁴⁶. Do této skupiny proteinů patří chitin vázající lecitin, chitinasy, β-1,3-glukanasy, inhibitory amylas a proteas a další^{47,48}. Zvýšená produkce PR nastává díky zvýšení transkripce PR genů, která je vyvolána signálními molekulami, jako jsou deriváty polyakrylové a benzoové kyseliny, či stresové hormony jako methyljasmonát. K nárůstu obsahu PR dochází během hypersenzitivní reakce, nejčastěji v závislosti na indukci nekrózy rostlinného pletiva⁴⁶. Nejvyšší hladina exprese PR v napadené rostlině je tedy nalézána v oblasti kolem nekrotizujícího pletiva. V nenapadených pletivech je sice hladina exprese většiny PR nižší, ale souvisí rovněž

s napadením patogenem⁴⁹. Pokud se pak patogen šíří na další pletiva, vznikají mnohem menší nekrotické léze a projevy choroby jsou celkově mírnější. V souvislosti s tímto jevem se hovoří o systémově získané rezistenci rostliny proti napadení patogenem.

PR se dělí na skupiny, které se liší primární strukturou, sérologickou příbuzností, enzymatickou a biologickou aktivitou⁴⁶. Jako příklad zde uvádíme vlastnosti a funkce některých proteinů ze skupiny PR proteinů. Například proteiny skupiny označené PR4 jsou klasifikovány jako chitin vázající proteiny, které atakují buněčnou stěnu hub současně s proteiny ze skupiny PR3, jenž se vyznačují chitinasovou aktivitou⁵⁰. Geny kódující chitinasu jsou úspěšně využívány jako kandidátní geny pro transformaci rostlin, jejíž cílem je zvýšení odolnosti rostlin vůči napadení patogeny⁵¹. Další významnou skupinou proteinů souvisejících s patogenezi je různorodá skupina PR5. V odborné literatuře se můžeme setkat s různými označeními PR5. Do této skupiny patří proteiny s vysokou homologií s thaumatinem rostliny *Thaumatococcus daniellii*, proto se tyto proteiny označují jako thaumatin-like proteiny. Struktura některých proteinů ze skupiny PR5 se podobá struktuře osmotinu, stresovému proteinu izolovaného z tabáku, odtud pak pochází označení osmotin-like protein⁴⁷. Proteiny PR5 zabraňují růstu houbového patogena⁴⁷ inhibicí jeho enzymů, které štěpí polysacharidy buněčných stěn rostlinných buněk (např. xylanasy). Tímto způsobem znemožní vstup patogena do hostitelské buňky a zabrání mu v přísunu živin⁵². V souvislosti s buněčnou stěnou patogena byla nalezena podobná analogie mezi výše popsanou aktivitou proteinů skupin PR3/PR4 a působením proteinů PR5 s proteiny skupiny PR2. Některé PR5 totiž specificky vážou (1,3)- β -D-glukany, základní složky buněčných stěn hub a proteiny skupiny PR2 jsou (1,3)- β -D-glukan-endohydrolasy⁵⁰. PR5 proteiny jsou transkribovány konstantně bez ohledu na infekci na rozdíl od proteinů skupiny PR4, jejichž transkripce je infekcí indukována⁴⁹.

Výzkum PR proteinů je stále aktuální, jak naznačují práce z posledního roku zabývající se účastí těchto proteinů v reakci rostlin pšenice, kukuřice a manioku na napadení patogeny^{53–55}.

5. Závěr

Rostliny disponují mechanismy, které využívají na svoji obranu vůči patogenům. Jedná se o systém, který je založen na signálních kaskádách a specifických metabolitech. Výsledkem je generace změn ve strukturách molekul, které účinně reagují na přítomnost patogena. Často dochází ke změnám ve struktuře a složení buněčných stěn. Interakce houby a hostitele je rozsáhle zkoumána, protože je třeba najít a zlepšit mechanismy, které mohou hostitele chránit. Jednou z alternativ je tradiční šlechtění nebo využití moderních biotechnologických metod. Je proto nezbytné pochopit přesně jednotlivé stupně infekce a možnosti obranných mechanismů rostlinné buňky.

Práce vznikla za podpory projektu NAZV MZE QI11B044 a výzkumného záměru MZE RO0414.

LITERATURA

- Desprez-Loustau M. L., Saint-Jean G., Barres B., Dantec C. F., Dutech C.: Ann. For. Sci. 71, 563 (2014).
- Faulkner C., Robatzek S.: Curr. Opin. Plant Biol. 15, 699 (2012).
- Lazniewska J., Maciozcek V. K., Kononowitz A. K.: Physiol. Mol. Plant Pathol. 78, 24 (2012).
- Kazan K., Gardiner D. M., Manners J. M.: Physiol. Mol. Plant Pathol. 13, 399 (2012).
- Schmelzer E.: Trends Plant Sci. 7, 411 (2002).
- Jones J. D. G., Dangl J. L.: Nature 444, 323 (2006).
- DeYoung B. J., Qi D., Kim S.-H., Burke T. P., Innes R. W.: Cell. Microbiol. 14, 1071 (2012).
- Karlovsky P.: Appl. Microbiol. Biotechnol. 91, 491 (2011).
- Gardiner S. A., Boddu J., Berthiller J., Hametner C., Stupar R. M., Adam G., Muehlbauer G. J.: Mol. Plant-Microbe Interact. 23, 962 (2010).
- Theodoulou F. L.: Biochim. Biophys. Acta 1465, 79 (2000).
- Robinson M. J., Cobb M. H.: Curr. Opin. Plant Biol. 9, 180 (1997).
- Nakagami H., Pitzschke A., Hirt H.: Trends Plant Sci. 10, 339 (2005).
- Testerink C., Vennik M., Kijne J. W., Wang M., Heijmovaara-Dijkstra S.: FEBS Lett. 484, 55 (2000).
- Bagnaresi P., Biselli C., Orrù L., Urso S., Crispino L., Abbruscato P., Piffanelli P., Lupotto E., Cattivelli L., Valè G., Van Damme E. J. M.: Plos One 7, 1 (2012).
- Abass M., Morris P. C.: J. Plant Physiol. 170, 1353 (2013).
- Sun, Y., Wang C., Yang B., Wu F., Hao X., Liang W., Niu F., Yan J., Zhang H., Wang B., Deyholos M. K., Jiang Y.-Q.: J. Exp. Bot. 65, 2171 (2014).
- Su B., Karin M.: Curr. Opin. Plant Biol. 8, 402 (1996).
- Pestka J. J.: Toxins 2, 1300 (2010).
- Arunachalam C., Doohan F. M.: Toxicol. Lett. 217, 149 (2013).
- Havráňková H., Pazlarová J., Ovesná J.: Czech J. Food Sci. 29, 86 (2011).
- Mesterházy A.: Plant Breed. 114, 377 (1995).
- Foroud N. A., Eudes F.: Int. J. Mol. Sci. 10, 147 (2009).
- Ma Z., Steffenson B. J., Prom L. K., Lapitan N. L. V.: Phytopathology 90, 1079 (2000).
- Ponts N., Pinson-Gadais L., Barreau C., Richard-Forget F., Oullet T.: FEBS Lett. 581, 443 (2007).
- Faltusová Z., Chrpová J., Salačová L., Džuman Z., Pavel J., Zachariášová M., Hajšlová J., Ovesná J.: J. Phytopathol., doi: 10.1111/jph.12359 (2014).
- Havráňková H., Ovesná J.: Chem. Listy 106, 818 (2012).

27. Zhang Y., Choi Y. E., Zou X., Xu J. R.: *Fungal Genet. Biol.* 48, 71 (2011).
28. Kimura M., Takahashi-Ando N., Nishiuchi T., Ohsato S., Tokai T., Ochiai N., Fujimura M., Kudo T., Hamamoto H., Yamaguchi I.: *Pestic. Biochem. Physiol.* 86, 117 (2006).
29. Li Y., Baldauf S., Lim E.-K., Bowles D. J.: *J. Biol. Chem.* 276, 4338 (2001).
30. Bowles D., Lim E.-K., Poppenberger B., Vaistij F. E.: *Annu. Rev. Plant Phys.* 57, (2013).
31. <http://www.Ncbi.Nlm.Nih.Gov/Structure/Cdd/Cddsrv.Cgi?Uid=212618>, staženo 15. listopadu 2013.
32. Schweiger W., Boddu J., Shin S., Poppenberger B., Berthiller F., Lemmens M., Muehlbauer G. J., Adam G.: *Mol. Plant-Microbe Interact.* 23, 977 (2010).
33. Shin S., Torres-Acosta J.A., Heinen S. J., McCormick S., Lemmens M., Kovalsky Paris M. P., Berthiller F., Adam G., Muehlbauer G. J.: *J. Exp. Bot.* 63, 4731 (2012).
34. Lancová K., Hajšlová J., Poustka J., Krplová A., Zachariášová M., Dostálek P., Sachambula L.: *Food Addit. Contam.* 25, 732 (2007).
35. Berthiller F., Crews C., Dall'asta C., Saeger S., Haesaert G., Karlovsky P., Oswald I. P., Seefelder W., Speijers G., Stroka J.: *Mol. Nutr. Food Res.* 57, 165 (2013).
36. Nagl V., Schwartz H., Krska R., Moll W.-D., Knausmüller S., Ritzmann M., Adam G., Berthiller F.: *Toxicol. Lett.* 213, 367 (2012).
37. Edwards R., Dixon D. P., Walbot V.: *Trends Plant Sci.* 5, 1360 (2000).
38. Li X., Zhang J. B., Song B., Li H. P., Xu H. Q., Qu B., Dang F. J., Liao Y. C.: *Phytopathology* 100, 183 (2010).
39. Chen W., Singh K. B.: *Plant J.* 19, 667 (1999).
40. Scalla R., Roulet A.: *Physiol. Plantarum* 116, 336 (2002).
41. Ju H.-W., Koh E.-J., Kim S.-H., Kim K.-I., Lee H., Hong S.-W.: *J. Plant Physiol.* 166, 203 (2009).
42. Kandel S., Morant M., Benveniste I., Blée E., Werck-Reichhart D., Pinot F.: *J. Biol. Chem.* 280, 35881 (2005).
43. Pinot F., Beisson F.: *FEBS J.* 278, 195 (2010).
44. Pinot F., Benveniste I., Salaün J.-P., Loreau O., Noël J.-P., Schreiber L., Durst F.: *Biochem. J.* 342, 27 (1999).
45. Kawahigashi H., Hirose S., Ohkawa H., Ohkawa Y.: *Biotechnol. Adv.* 25, 75 (2007).
46. Van Loon L. C.: *Plant Mol. Biol.* 4, 111 (1985).
47. Hejgaars J., Jacobsen S., Svendsen I.: *FEBS Lett.* 291, 127 (1991).
48. Ferreira R. B., Monteiro S., Freitas R., Santos C. N., Chen Z., Batista L. M., Duarte J., Borges A., Teixeira A. R.: *Mol. Plant Pathol.* 8, 677 (2007).
49. Bertini L., Leonardi L., Caporale C., Tucci M., Cascone N., Di Berardino I., Buonocore V., Caruso C.: *Plant Sci.* 164, 1067 (2003).
50. Osmond R. I. W., Hrmova M., Fontaine F., Imberty A., Fincher G. B.: *Eur. J. Biochem.* 268, 4190 (2001).
51. Cletus J., Balabubramanian V., Vashisht D., Sakthivel N.: *Biotechnol. Lett.* 35, 1719 (2013).
52. Liu J.-J., Sturrock R., Ekramoddoullah A. K. M.: *Plant Cell Rep.* 29, 419 (2010).
53. Lu S., Faris J. D., Sherwood R., Friesen T. L., Edwards M. C.: *Mol. Plant Pathol.* 15, 650 (2014).
54. Wang B., Yu J., Zhu D., Chang Y., Zhao Q.: *Int. J. Mol. Sci.* 15, 9343 (2014).
55. Román V., Bossa-Castro, A. M., Vásquez A., Bernal V., Schuster M., Bernal N., López C.: *Plant Pathol.* 63, 792 (2014).

L. Salačová, Z. Faltusová, and J. Ovesná
(CropResearch Institute, Prague): **Mechanisms Used by Plants for Defence against Fungal Pathogens**

The infection of small-grain cereals by fungal pathogens reduces the yield and quality and can also affect human health due to mycotoxin production. Growing of plant varieties that resist fungal pathogens or that can metabolise the mycotoxins is a possible way of preventing the damage. This review describes general mechanisms of plant defence against fungal pathogens, with a focus on barley and *Fusarium* fungi that produce the mycotoxin deoxynivalenol.