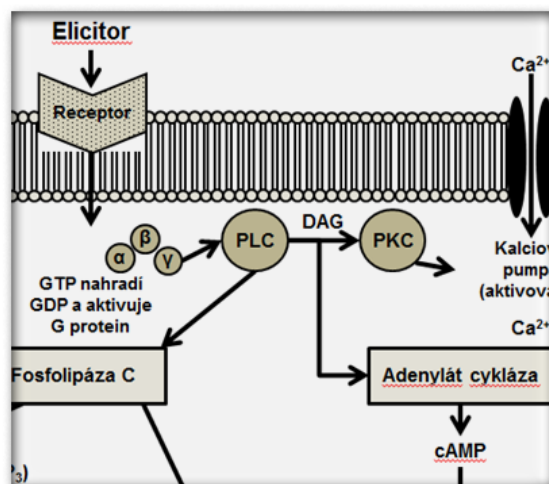


# Bi8240 GENETIKA ROSTLIN

## Prezentace 06 Rezistence rostlin k patogenům



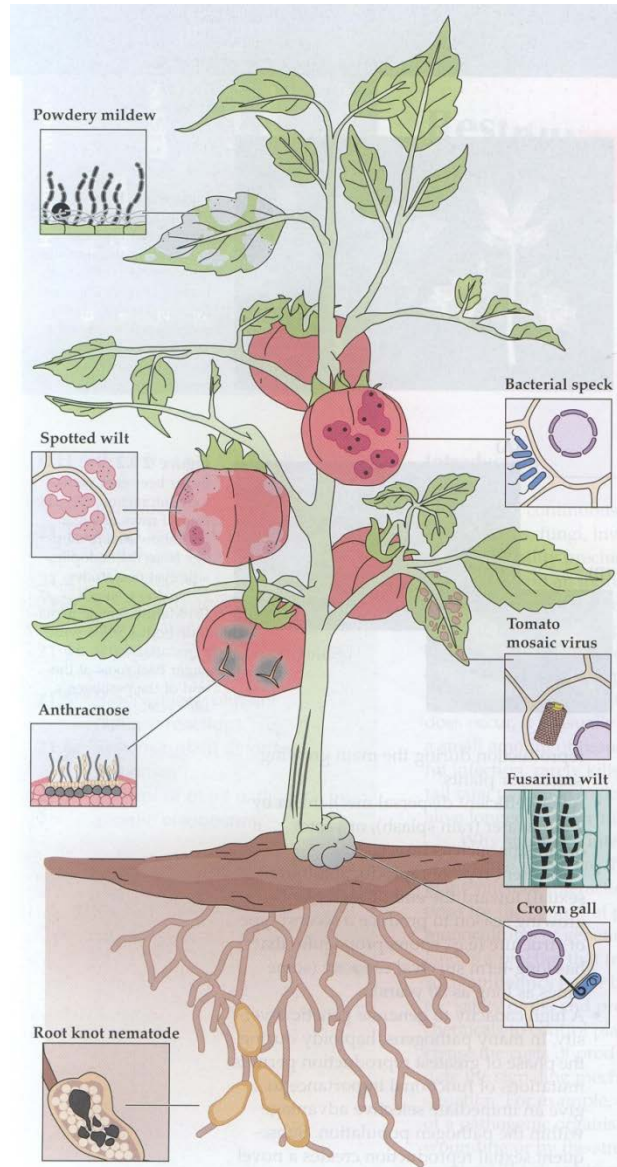
doc. RNDr. Jana Řepková, CSc.  
[repkova@sci.muni.cz](mailto:repkova@sci.muni.cz)

## Biotické faktory prostředí

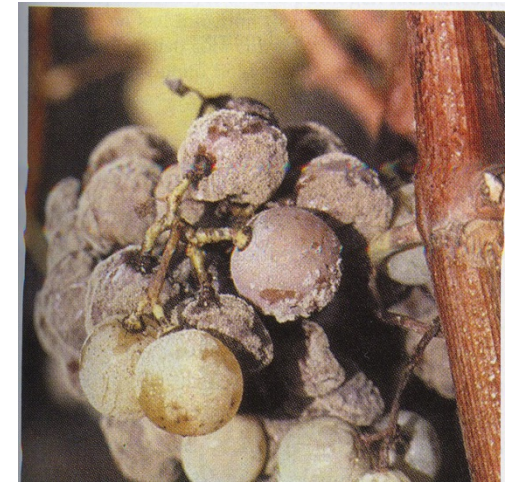
- ➔ **Houbové organizmy (biotrofní, nekrotrofní)**
  - *Blumeria, Erysiphe, Monilinia, Sclerotinia, Ustilago, Melampsora, Puccinia, Uromyces, Fusarium* aj.
  
- ➔ **Bakterie**
  - *Xanthomonas, Pseudomonas, Agrobacterium, Erwinia* aj.
  
- ➔ **Viry a viroidy**
  - Organismy patogenní x nepatogenní
  
- ➔ **Hmyzí škůdci**

## Choroby

- ➔ Listy
- ➔ Plody
- ➔ Stonky  
– krčky  
stonků
- ➔ Kořeny



***Cladosporium fulvum***



***Botrytis cinerea***

## Hostitel – patogen

### 1. Interakce hostitel – patogen

- 1. kontakt, nálet spór (jiných částic)
- infekční tlak, mechanismy zabraňující vniknutí do pletiv rostliny

### 2. Infekce

- patogen v aktivovaném stavu
- obranná reakce látek přítomných, aktivace
- produkce nových, inhibičních látek rostlinou

### 3. Parazitický vztah

- projevy choroby u rostliny

## Virulence patogena



# Mechanismy působení rostlinných patogenů

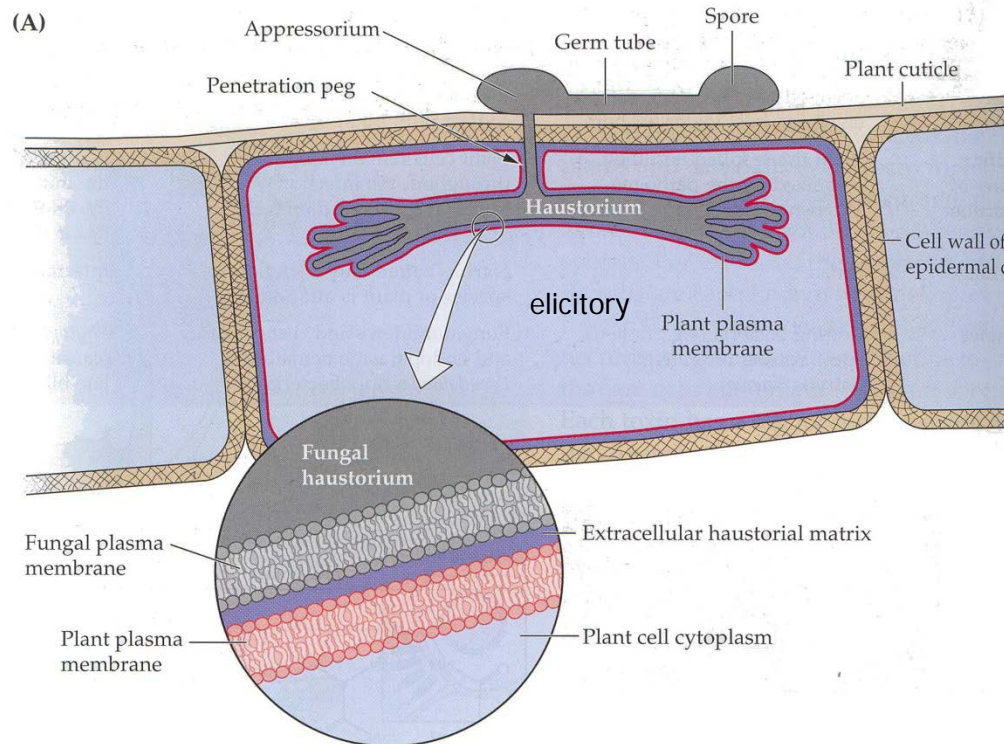
## Houbové patogenní organizmy

- Produkuje enzymy narušující rostlinnou buněčnou stěnu: polygalakturonidázy, pektát lyázy, kutinázy
- V dalším stadiu enzymy hydrolázy, esterázy narušují makromolekulární komponenty rostlinných buněk
- Hostitelsky selektivní toxiny (mykotoxiny), specifický škodlivý účinek  
*např. Cochliobolus carbonum* - HC toxin, inhibuje aktivitu histonové deacetylázy (enzym nezbytný pro aktivaci genů obranného systému)

# 1. Pronikání do rostlinných buněk přes buněčnou stěnu

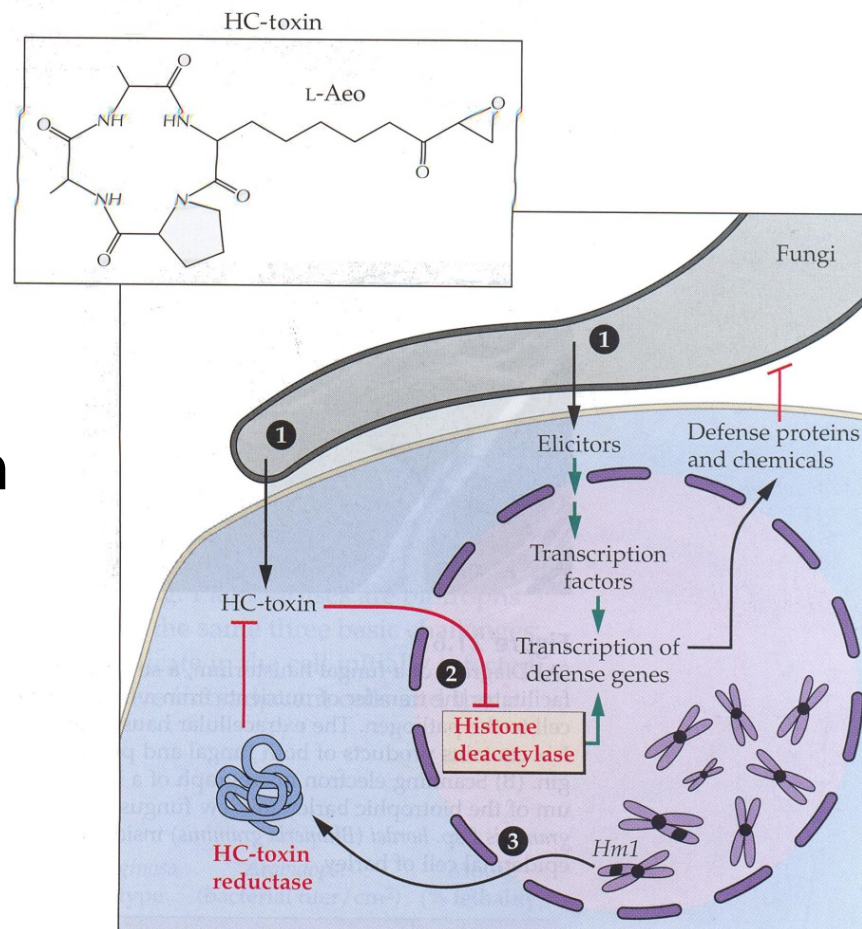
➔ *Blumeria graminis* (padlí travní)

## Tvorba haustoria



## 2. Tvorba toxinů a elicitorů

- ➔ *Cochliobolus carbonum*
- ➔ Elicitory
- ➔ HC-toxin inhibuje aktivitu histonové deacetylázy
- ➔ Gen HM1 tvoří HC-toxin reductázu detoxifikuje HC-toxin





## Bakteriální patogenní organizmy

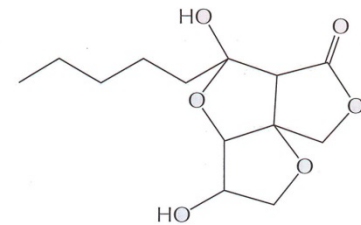
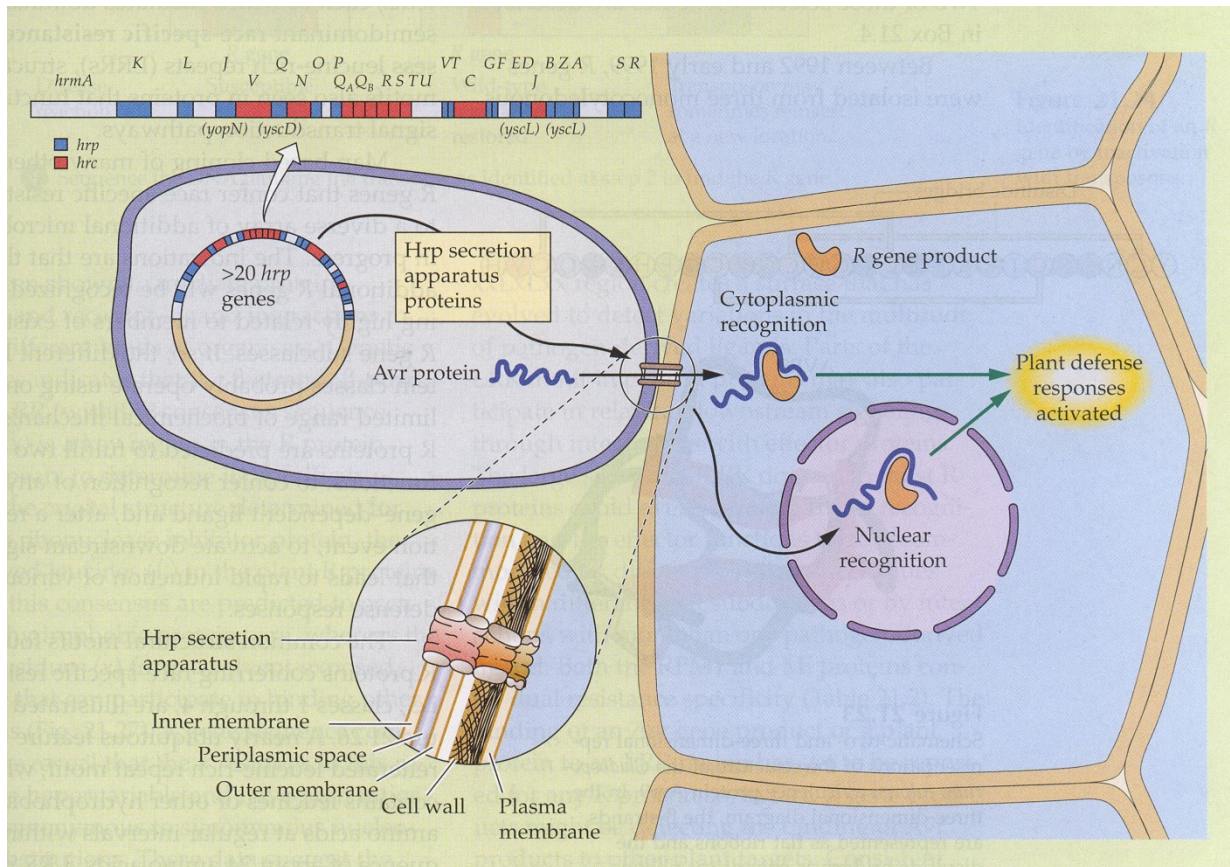
- Většinou gram-negativní
- Degradují pektin aj. složky buněčné stěny rostlin (pektin lyázy, polygalakturonidázy)
- Přežívají v mezibuněčných prostorech různých orgánů nebo v xylemu
- Produkují specifické toxiny, extracelulární polysacharidy

např. *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* – tabtoxin, inhibuje glutamin syntetázu (odbourávání amonných iontů)

- Způsobují cévní vadnutí, rakovinu, sněti, hniloby, plísň
- Geny *hrp* (hypersensitive response and pathogenicity cluster) nezbytné pro patogenezi



- ➔ Geny Hrp produkující proteiny nezbytné pro patogenezi rostlinných patogenních bakterií – transport proteinů Avr.



# Mechanismy rezistence rostlin k patogenům

**A. Konstitutivní a indukované obranné mechanismy**

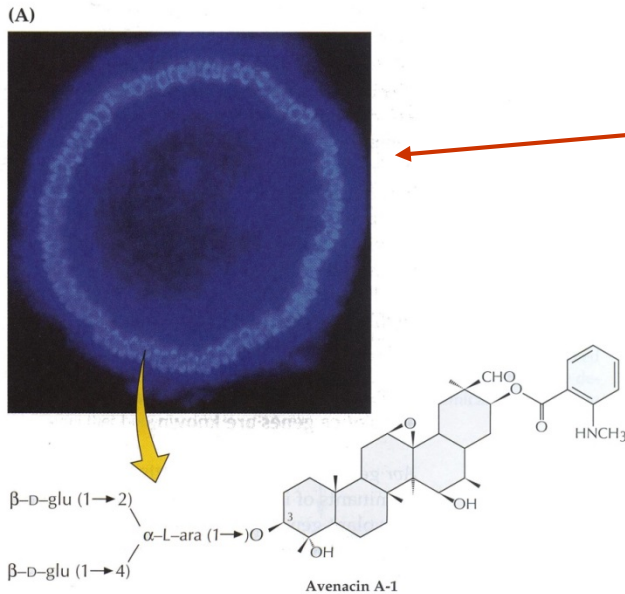
**B. Pasivní a aktivní obranné mechanismy**

➔ **Pasivní obranné mechanismy**

- Kutikula – nerozpustný polyester kutin, suberin, vosky
- Lignin
- Buněčná stěna
- Morfologické bariéry
  - ječmen - spory *Ustilago nuda* f. *hordei* sněť

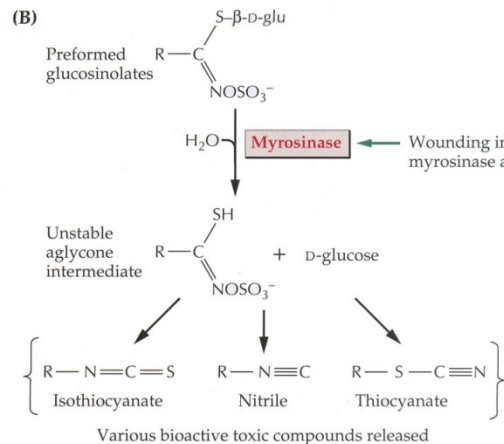
# Pasivní obranné mechanismy

## Konstitutivní inhibiční látky



### ➤ Saponiny – avenacin

- pod povrchem kořenů
- glykosylované látky
- triterpenoidy, steroidy, steroidní glykoalkaloidy
- **Glykoalkaloid tomatin** – rezistence k *Fusarium* u zelených plodů rajčat



### ➤ Glukosinoláty

- Glukosidy obsahující síru
- čeled' *Brassicaceae*
- Poškození kořene – jejich hydrolýza a uvolňování řady toxických látek



## Aktivní obranné mechanismy

### 1. Biopolymery buněčné stěny

- indukce patogenem a elicitory, enzymy peroxidázy
- lignin, suberin, kalóza
- extenziny, thioniny

### 2. Antibakteriální a antivirové látky

- Elicitory (glukany, glukózaminy, polysacharidy, glykoproteiny, ribonukleázy)
- Syntéza inhibičních látek po interakci hostitel – patogen
- Fytoalexiny
  - sekundární metabolity rostliny, antibiotické povahy
  - nízkomolekulární látky, druhově specifické
  - pisatin, fazeolin, zeatin, trifolirhizin, rišitin
  - enzymy fenylalanin lyáza, chalkonsyntetáza



### 3. PR proteiny (pathogen related)

- Indukované infekcí virů, bakterií, houbovými patogeny
- Enzymová aktivita - chitinázy, glukonázy, deproteinázy
- Lokalizace v mezibuněčných prostorech
- Induktor PR proteinů – etylén, prostřednictvím enzymu PAL (fenylalanin lyáza)

### 4. Systémová rezistence (SR)

- Indukce aktivního obranného systému tzv. hypersenzitivní reakce, nekróza
- šíření signálu po rostlině
- endogenní signál při SR - kyselina salicylová,
- změna exprese genů, exprese některých genů pro PR proteiny
- další signální látky – etylén, jasmonová

**Překrývání obranných mechanismů**

**Koordinovaná indukce různých metabolických aktivit**

# Napadení rostliny patogenem

## Fáze obranné reakce rostliny

### Bezprostřední reakce v místě průniku patogena

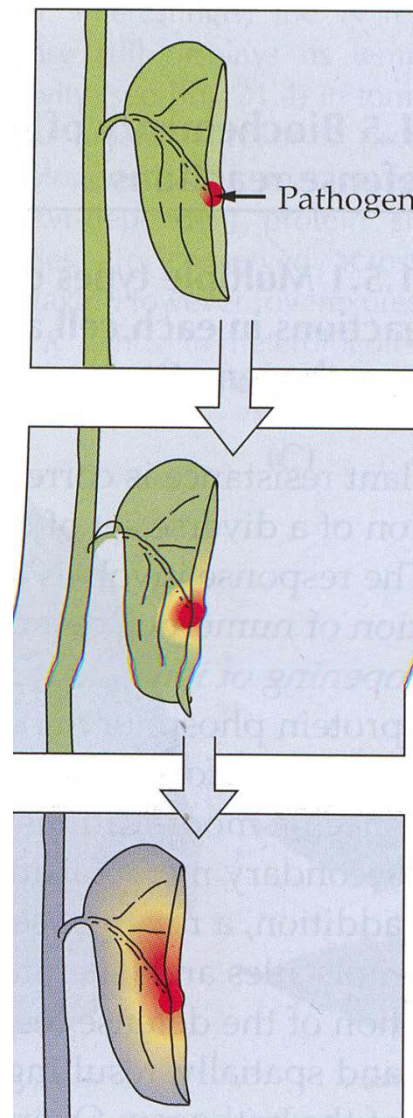
- Tvorba volných radikálů (kyslíku)
- Otevírání iontových kanálů
- Fosforylace a defosforylace proteinů
- Přeuspořádání cytoskeletu
- Hypersenzitivní reakce
- Aktivace exprese genů

### Lokální reakce a aktivace genů

- Změny v biosyntéze sekundárních metabolitů
- Zastavení buněčného cyklu
- Syntéza PR proteinů
- Akumulace kyseliny salicylové 20x – 50x
- Tvorba etylénu a kyseliny jasmonové
- Tvorba ligninu v buněčných stěnách

### Systémová reakce a aktivace genů

- Glukanázy, Chitinázy
- Peroxidázy
- Syntéza dalších PR proteinů



# Systemová rezistence

## ➔ Získaná systémová rezistence SAR



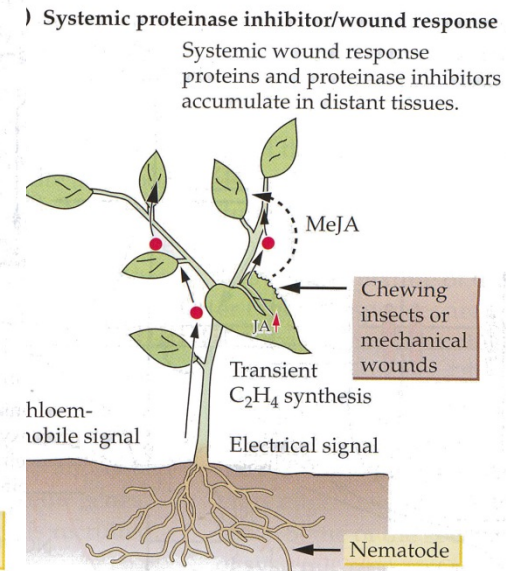
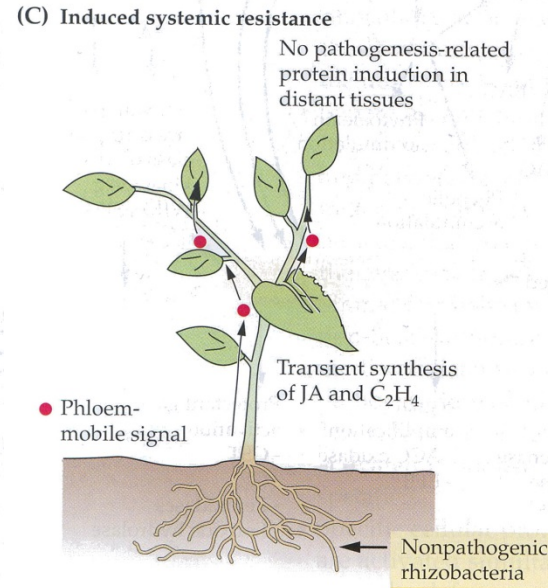
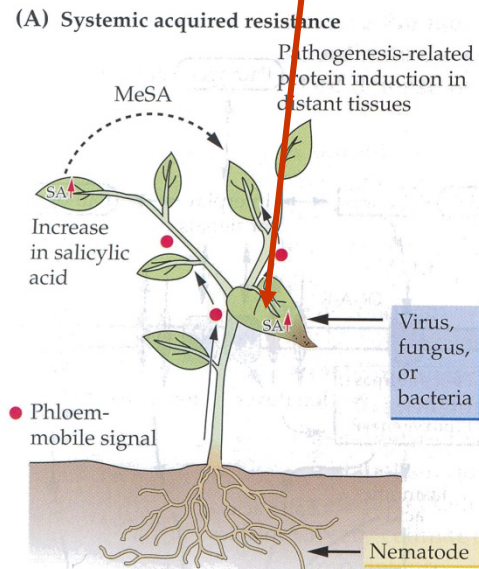
➔ 1 – I. infekce TMV u tabáku

➔ 2 – II. infekce

**Signál – kyselina salicylová**

**Indukovaná systémová rezistence  
Signál – kyselina jasmonová, etylén**

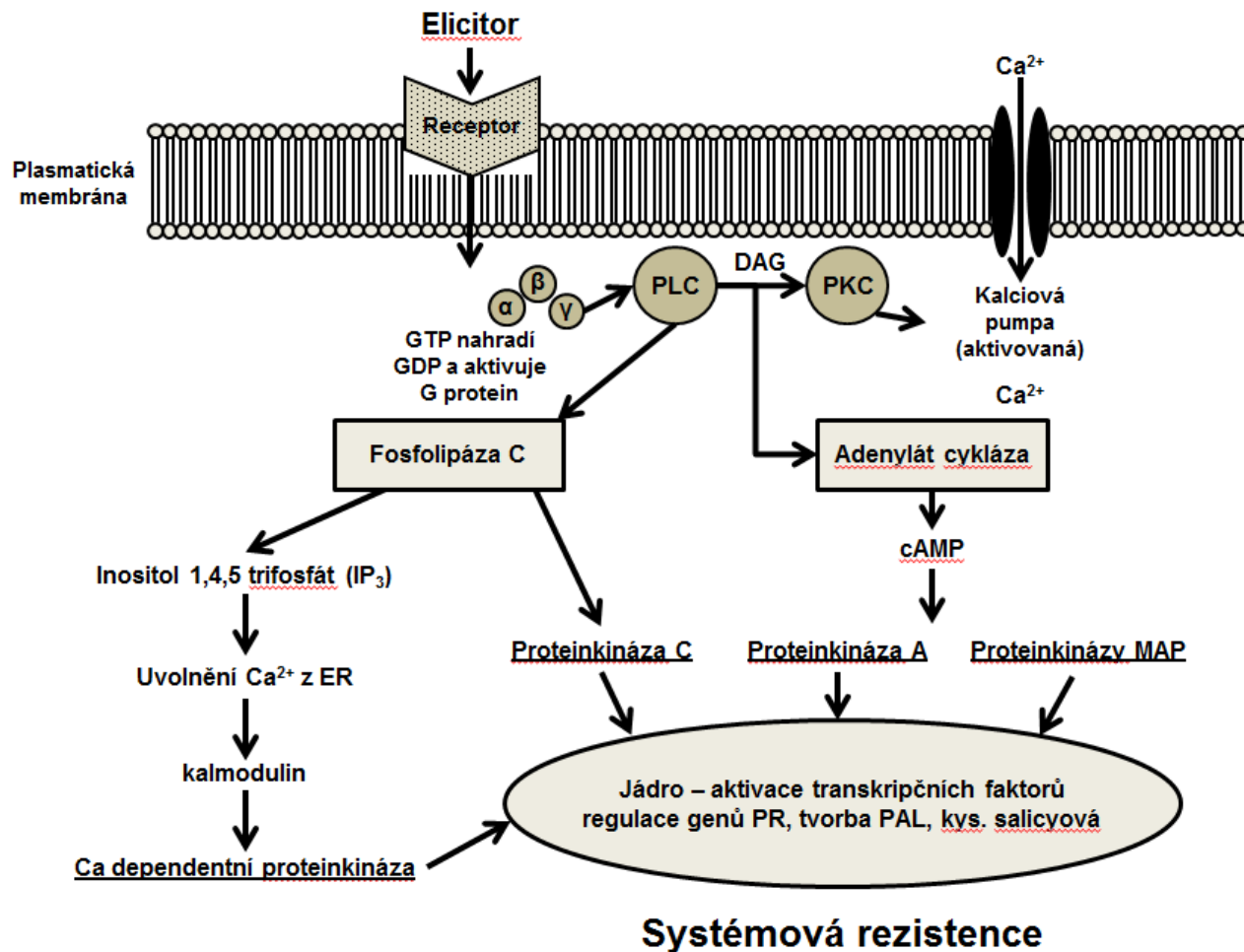
**Okus, poranění  
Kyselina jasmonová  
Etylén**





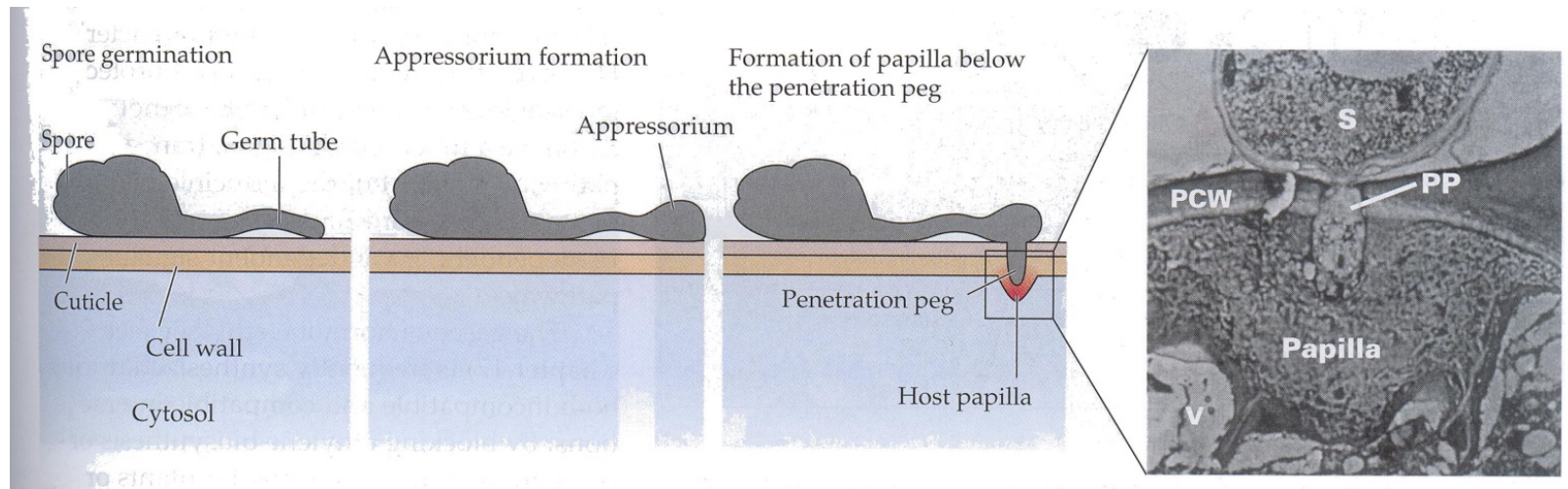
# Signalizační kaskáda a aktivace jaderných genů

➔ Aktivace obranných mechanismů rostliny





# Signalizační kaskáda a aktivace jaderných genů



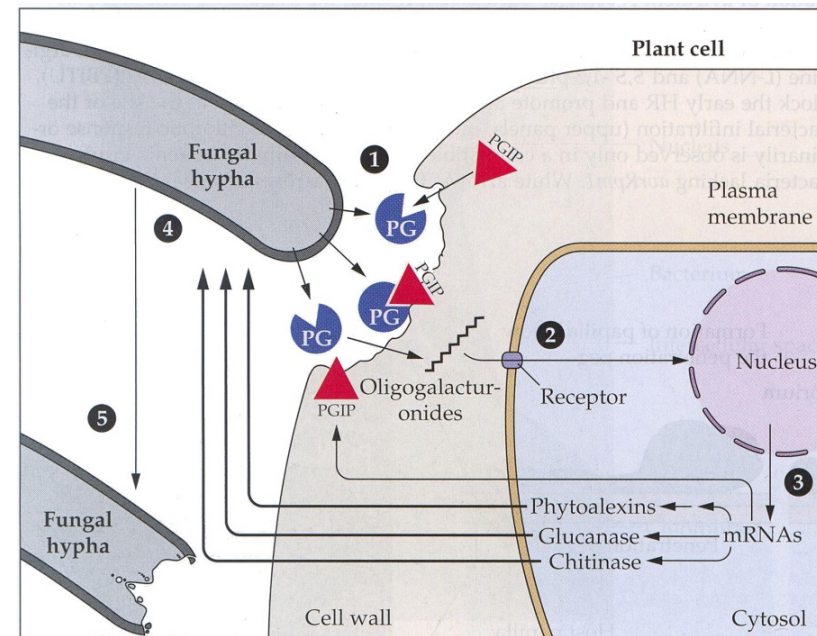
**Klíčící spóra**

**Appressorium**

**Penetrace**

# Signalizační kaskáda a aktivace jaderných genů

1. PG – enzym polygalakturonidáza – pektolytický enzym, naruší buněčnou stěnu
2. PG uvolňují oligogalakturonidy (elicitor), ty reagují s receptory cytopl. mem.
3. Přenos signálu a aktivace exprese jaderných genů pro obranné proteiny
  - včetně PGIP – inaktivace enzymu PG
  - fytoalexiny
  - glukonázy
  - chitinázy



4.–5. Poškození hyf houbového patogena

## Klasifikace rezistence k patogenům

- 1. Vertikální – kódována alelami 1 nebo několika genů**
  - rasově specifická – alela určitého lokusu rezistence R kóduje odolnost vůči 1 genotypu patogena = patotypu  
Flor, 1940 - teorie gen proti genu
- 2. Horizontální – kódována polygenně**
  - rasově nespecifická – účinná vůči širokému spektru patotypů, polní rezistence, silná interakce genotypu a prostředí

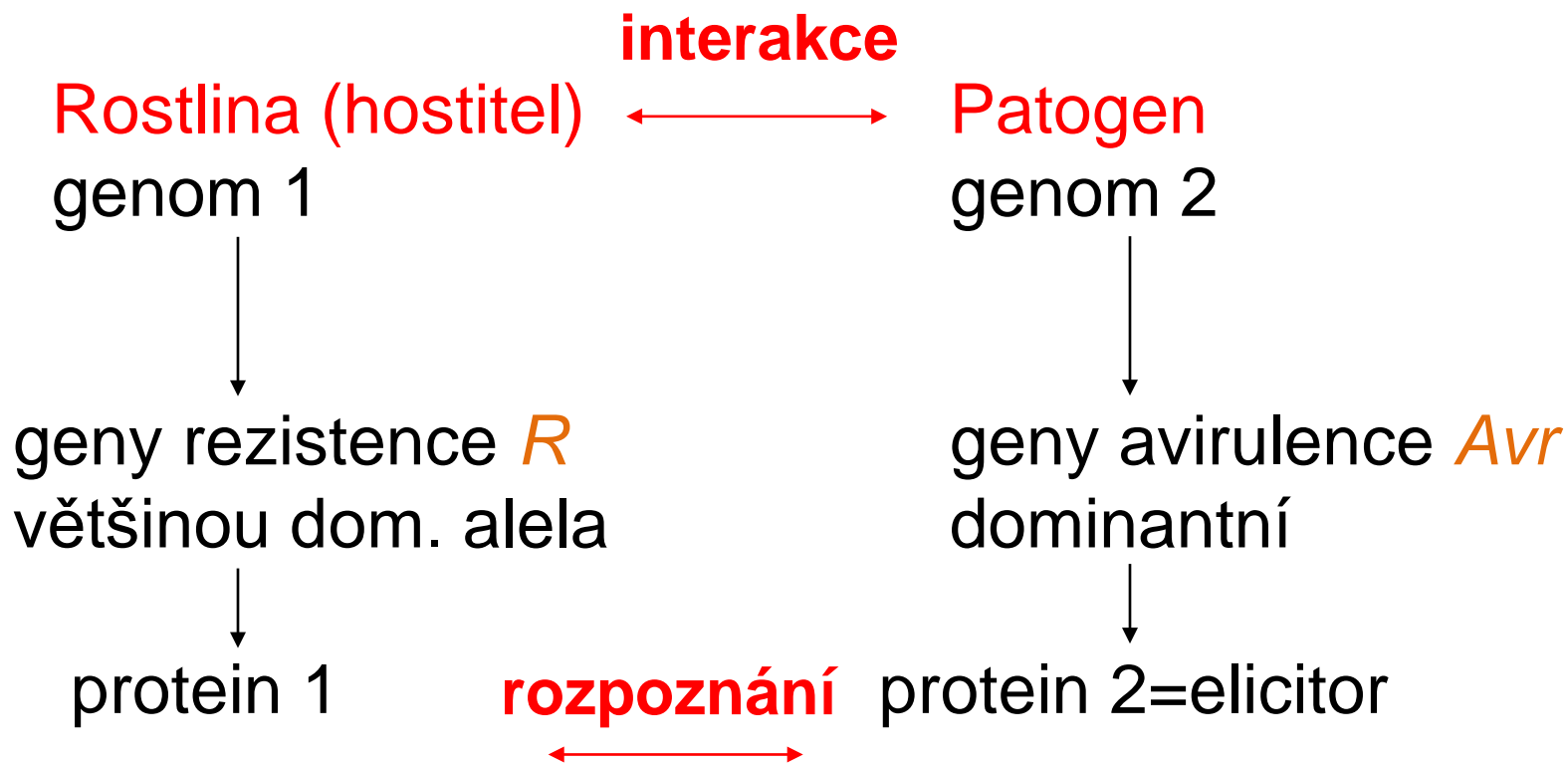
## Vertikální rezistence

- ➔ **Genetická determinace rezistence rostliny**
  - gen rezistence *R/r*
- ➔ **Genetická determinace avirulence patogena**
  - gen avirulence *AVR/avr*

**Koncepce gen proti genu**



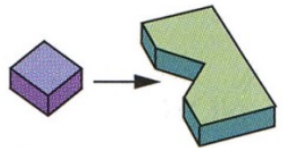
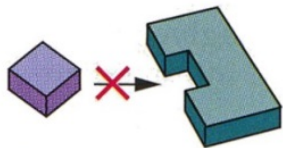
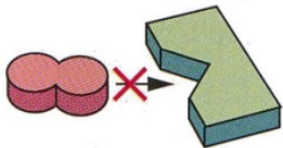
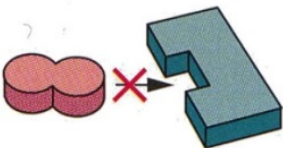
## Genetická determinace rezistence



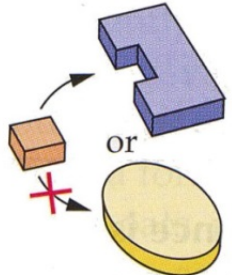
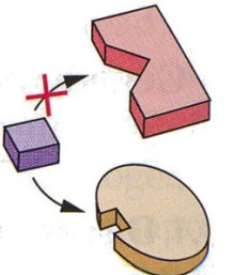
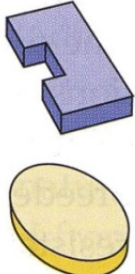
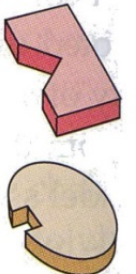
**Výsledkem je rezistence rostliny**

## Rasově specifická rezistence

- ➔ Inkompatibilní a kompatibilní interakce hostitel – patogen

Pathogen genotype	Host plant genotype	
	<i>R1</i>	<i>r1</i>
<i>Avr1</i>	 <p>Avr1 R1 protein</p> <p>No disease (Plant and pathogen are <b>incompatible</b>.)</p>	 <p>Avr1 r1 protein</p> <p>Disease (Plant and pathogen are <b>compatible</b>.)</p>
<i>avr1</i>	 <p>avr1 R1 protein</p> <p>Disease (Plant and pathogen are <b>compatible</b>.)</p>	 <p>avr1 r1 protein</p> <p>Disease (Plant and pathogen are <b>compatible</b>.)</p>

➔ Toxin dependentní kompatibilní interakce hostitel – patogen

Pathogen genotype	Host plant genotype	
	<i>RR</i> or <i>Rr</i>	<i>rr</i>
<i>Tox</i>	<p>Enzymatic detoxification</p>  <p>Insensitive target protein</p> <p><b>No disease</b></p>	<p>No enzymatic detoxification</p>  <p>Sensitive target protein</p> <p><b>Disease</b></p>
<i>tox</i>	<p>No toxin</p>  <p><b>No disease</b></p>	<p>No toxin</p>  <p><b>No disease</b></p>

## Rezistence ke rzi *Melampsora lini* len *Linum usitatissimum*

### ➔ Flor 1940

### ➔ Hostitel (rostlina) geny rezistence *R*

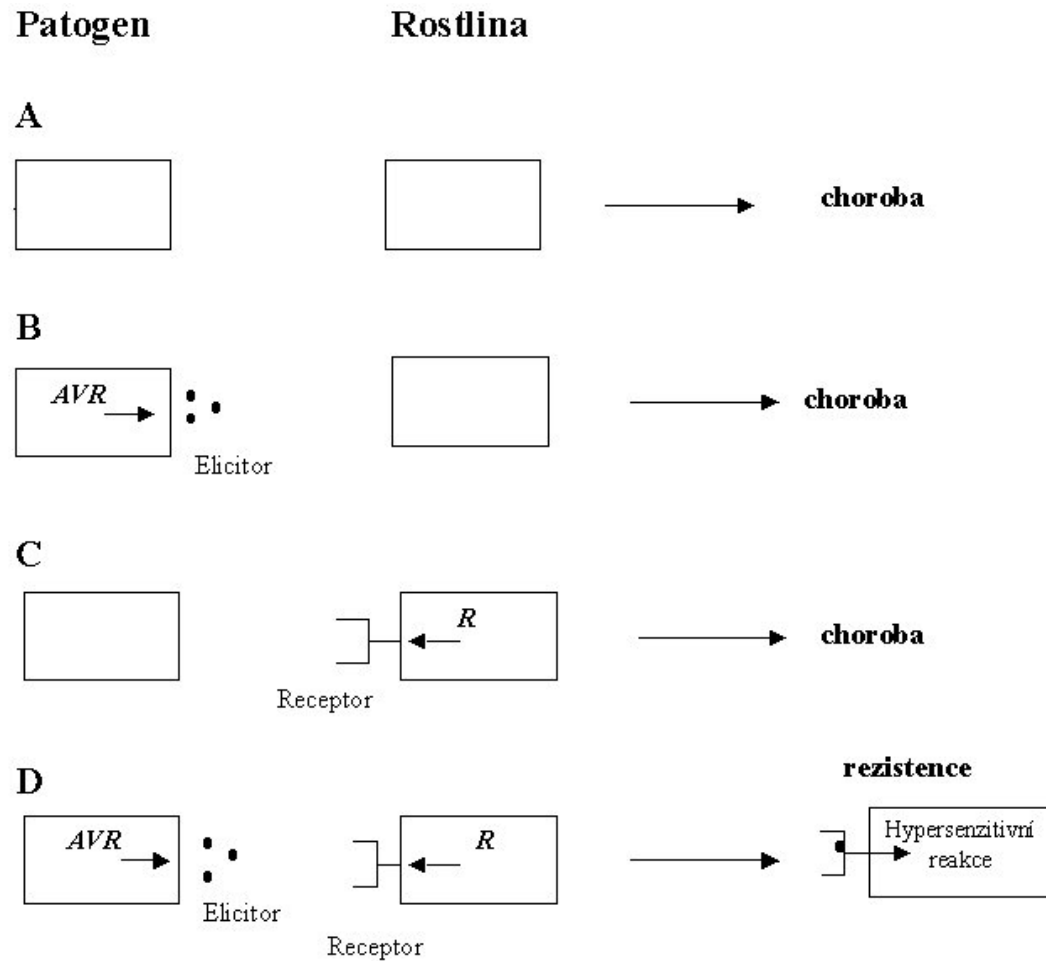
- odrůda gen rezistence *L* s alelami *L, l* genotyp *LLnn*
- odrůda *N* *N, n* *IINN*

### ➔ Patogen (= patotyp) geny avirulence s alelami *Avr*, *avr*

- patotyp *Avr<sub>N</sub>*
- patotyp *Avr<sub>L</sub>*
- *L* determinuje rezistenci k *Avr<sub>L</sub>*
- *l* determinuje citlivost k *Avr<sub>L</sub>*
- *N* determinuje rezistenci k *Avr<sub>N</sub>*
- *n* determinuje citlivost k *Avr<sub>N</sub>*

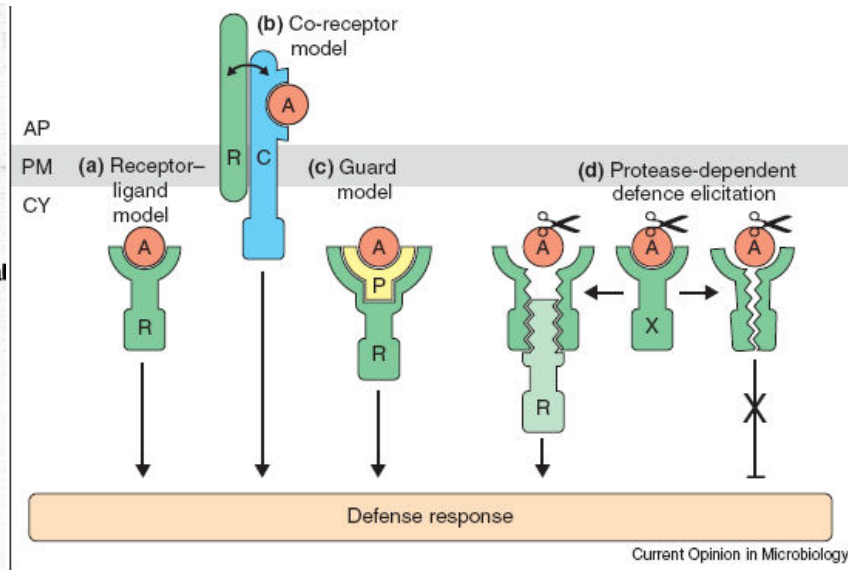
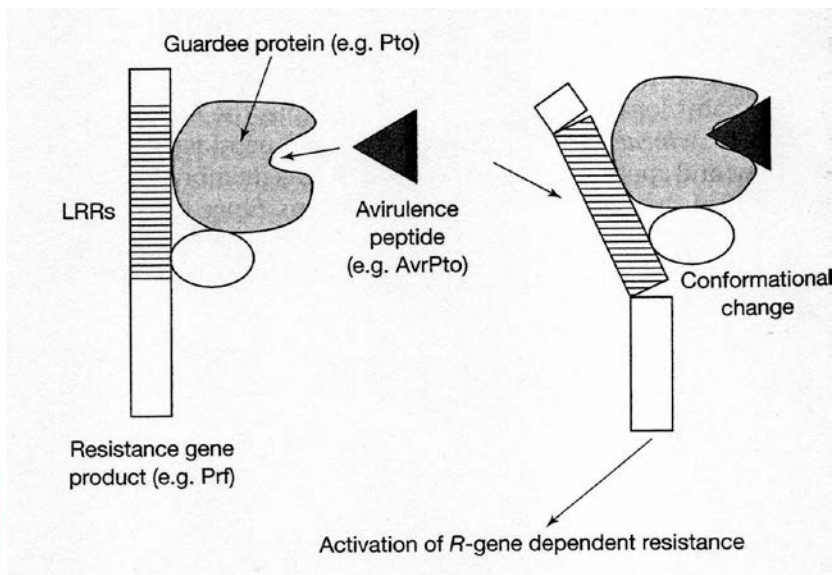


# Podstata interakce produktů genu *R* a *AVR*



# Způsob interakce mezi produkty genů *R* a *AVR*

- ➔ Interakce rajče – *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*
- ➔ Patogen – *AvrPto*
- ➔ Rostlina – *Pto*, *Prf*



## Genetická determinace rezistence podle teorie gen proti genu

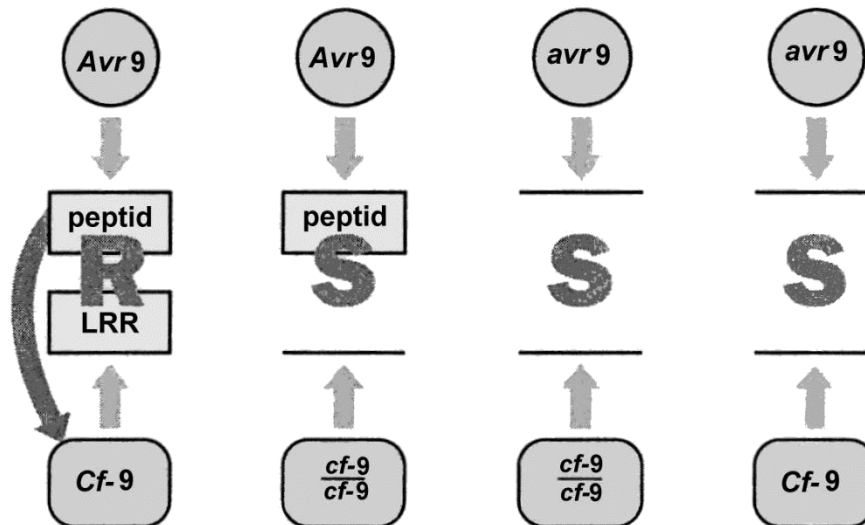
	Odrůda1 <i>R1R1 R2R2</i> <i>R1r1 R2r2</i>	Odrůda2 <i>R1R1 r2r2</i> <i>R1r1 r2r2</i>	Odrůda3 <i>r1r1 R2R2</i> <i>r1r1 R2r2</i>	Odrůda4 <i>r1r1 r2r2</i>
Rasa1 <i>AVR1</i>	rezistence	rezistence	citlivost	citlivost
Rasa2 <i>AVR2</i>	rezistence	citlivost	rezistence	citlivost

# Molekulární genetika rezistence rostlin k chorobám

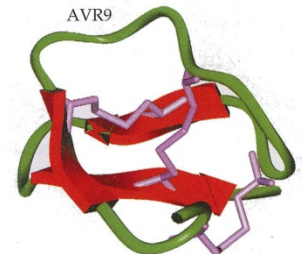
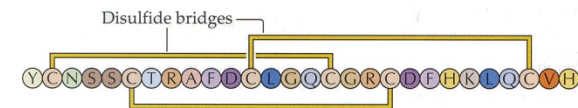
## Inkompatibilní interakce patogen – hostitel

- ➔ Patogen *Melampsora lini*
  - *Cladosporium fulvum*
  - virus mozaiky tabáku

- ➔ Hostitel *Linum sitatissim*
  - *Lycopersicon esculentum*
  - *Nicotiana tabacum*



Dvou- a trojrozměrná struktura proteinu Avr9 *Cladosporium fulvum*

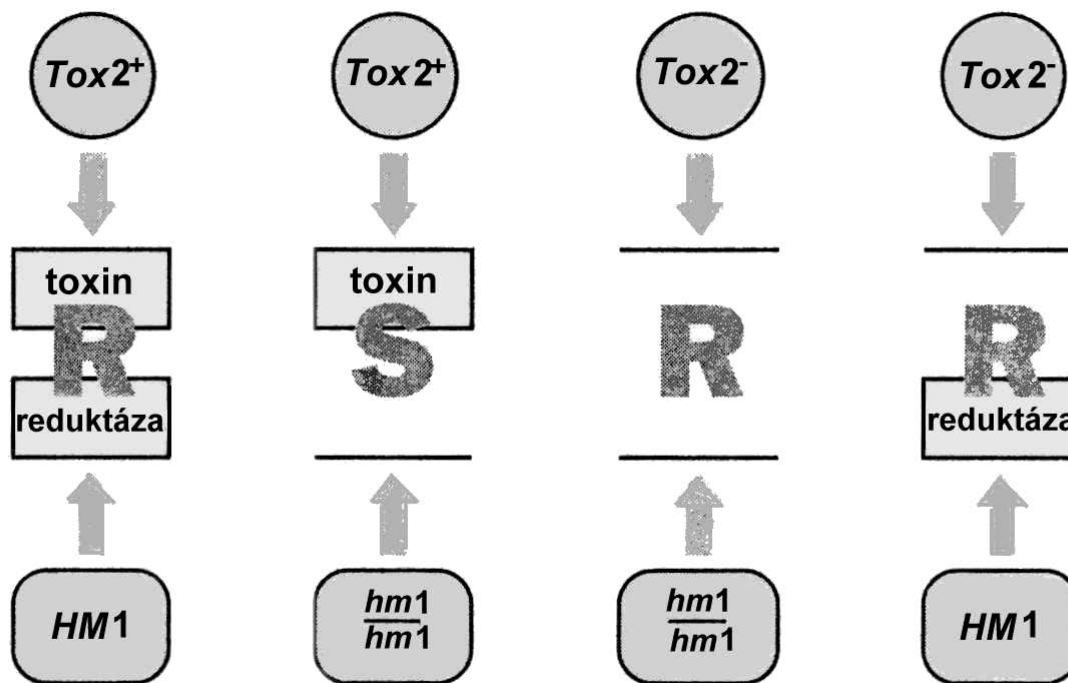




# Molekulární genetika rezistence rostlin k chorobám

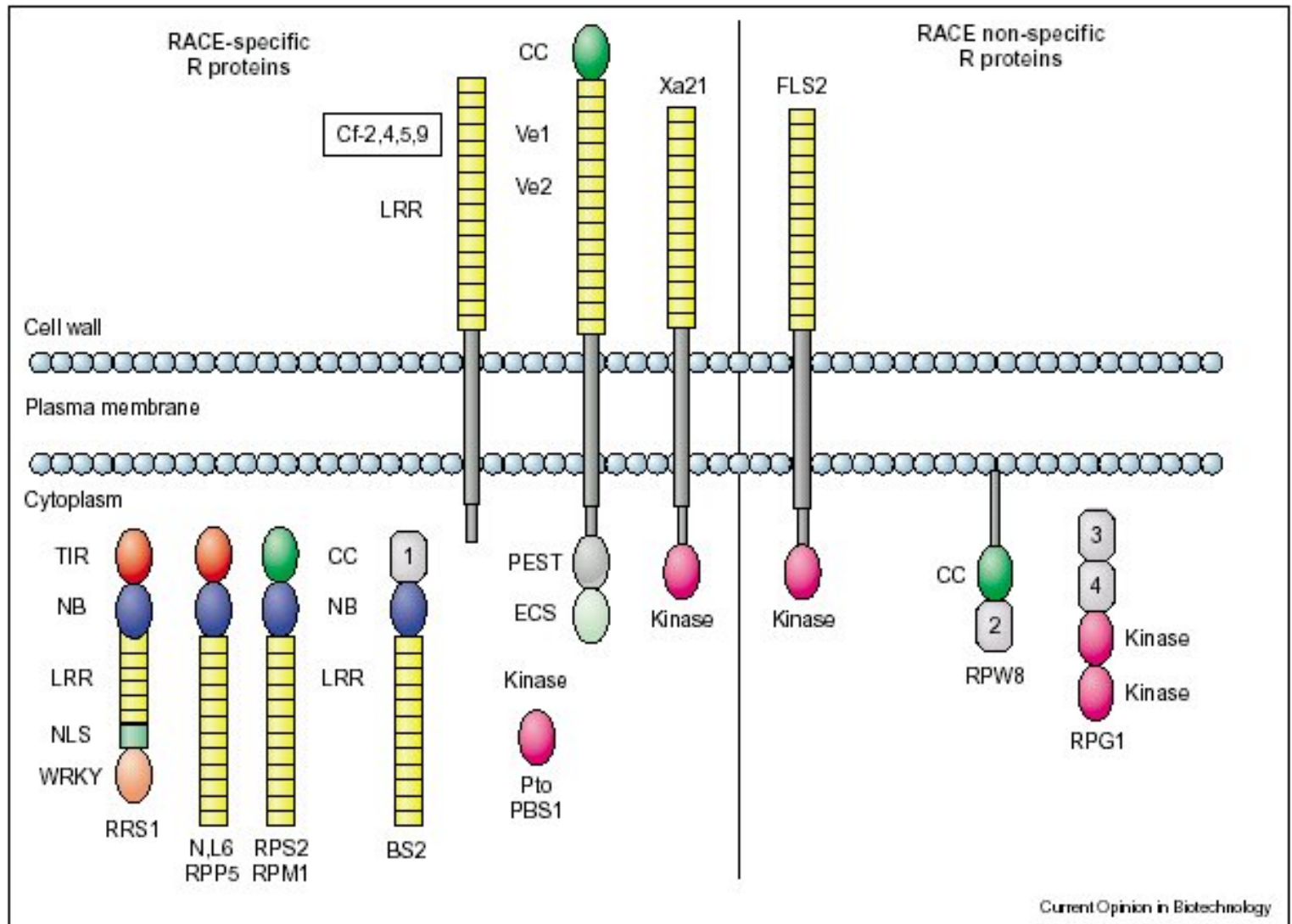
## Kompatibilní interakce patogen – hostitel

patogen



hostitel

## Produkty genů *R* a jejich charakteristické domény



## Použité zkratky domén proteinů

- LRR (leucine-rich repeat)
  - receptorová doména – mnohonásobná repetice AK s leuciny
  - lokalizace extracelulární i cytoplazmatická
- NBS (nucleotide binding site)
  - signální doména – vazebná místa pro ATP a GTP, místo
  - interakce R proteinů s dalšími proteiny regulační kaskády
- CC (coiled coil)
  - struktura svinutého helixu, místo tvorby dimerů
- TIR (Toll interleukin receptor)
  - cytoplazmatická signalizační doména, homologie s receptorovými doménami savců
  - Toll protein (*Drosophila melanogaster*)
  - interleukin 1 receptory živočichů
- NLS (nuclear localisation signal)
- WRKY (transkripční factor)
- TM (transmembrane)

## Klasifikace některých klonovaných genů resistance (1/3)

Třída	Struktura proteinu	Gen	Hostitel	Patogen
1	TIR-NBS-LRR	<i>L, M, P</i>	len	<i>Melampsora lini</i>
		<i>N</i>	tabák	virus mozaiky tabáku
		<i>RPP1, RPP5, RPS4</i>	<i>Arabidopsis</i>	<i>Peronospora parasitica</i>
				<i>Pseudomonas syringae</i>
	CC-NBS-LRR	<i>Prf</i>	rajče	<i>Pseudomonas syringae</i>
		<i>Mi</i>		<i>Melodogyne incognita</i>
		<i>Gpa2/Rx1</i>	brambor	<i>Glodobera</i> (nematoda), virus X bramboru
		<i>RPS2, RPS5, RPM1, RPP8/HRT</i>	<i>Arabidopsis</i>	<i>Pseudomonas syringae</i>
	<i>Peronospora,</i> Turnip crinkle virus			
	NBS-LRR	<i>Bs2</i>	pepper	<i>Xanthomonas campestris</i>



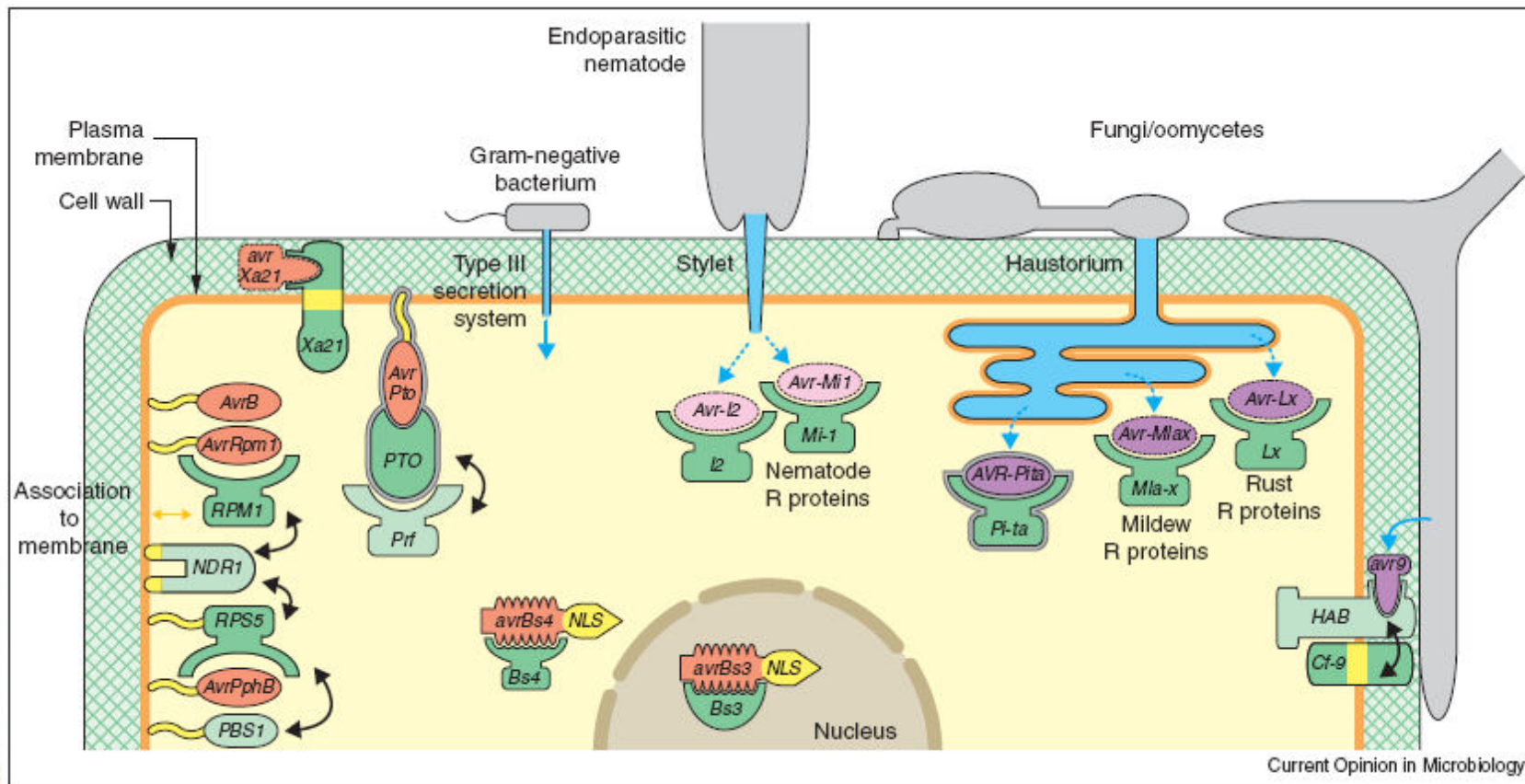
## Klasifikace některých klonovaných genů resistance (2/3)

Třída	Struktura proteinu	Gen	Hostitel	Patogen
1	NBS-LRR	<i>Dm3</i>	locika	<i>Bremia lactuca</i>
		<i>I2</i>	rajče	<i>Fusarium oxysporum</i>
		<i>Cre3</i>	pšenice	<i>Heterodera avenae</i>
		<i>Xa1</i>	rýže	<i>Xanthomonas oryzae</i>
		<i>Pib, Pi-ta</i>		<i>Magnaporthe grisea</i>
		<i>Rp1</i>	kukuřice	<i>Puccinia sorghi</i>
		<i>Mla</i>	ječmen	<i>Blumeria graminis</i>
TIR-NBS-LRR- NLS-WRKY	<i>RRS1-R</i>	<i>Arabidopsis</i>	<i>Ralstonia solanacearum</i>	
2	LRR-TM	<i>Cf-2, Cf-4, Cf-5, Cf-9</i>	rajče	<i>Cladosporium fulvum</i>
3	Kináza	<i>Pto</i>	rajče	<i>Pseudomonas syringae</i>

## Klasifikace některých klonovaných genů resistance (3/3)

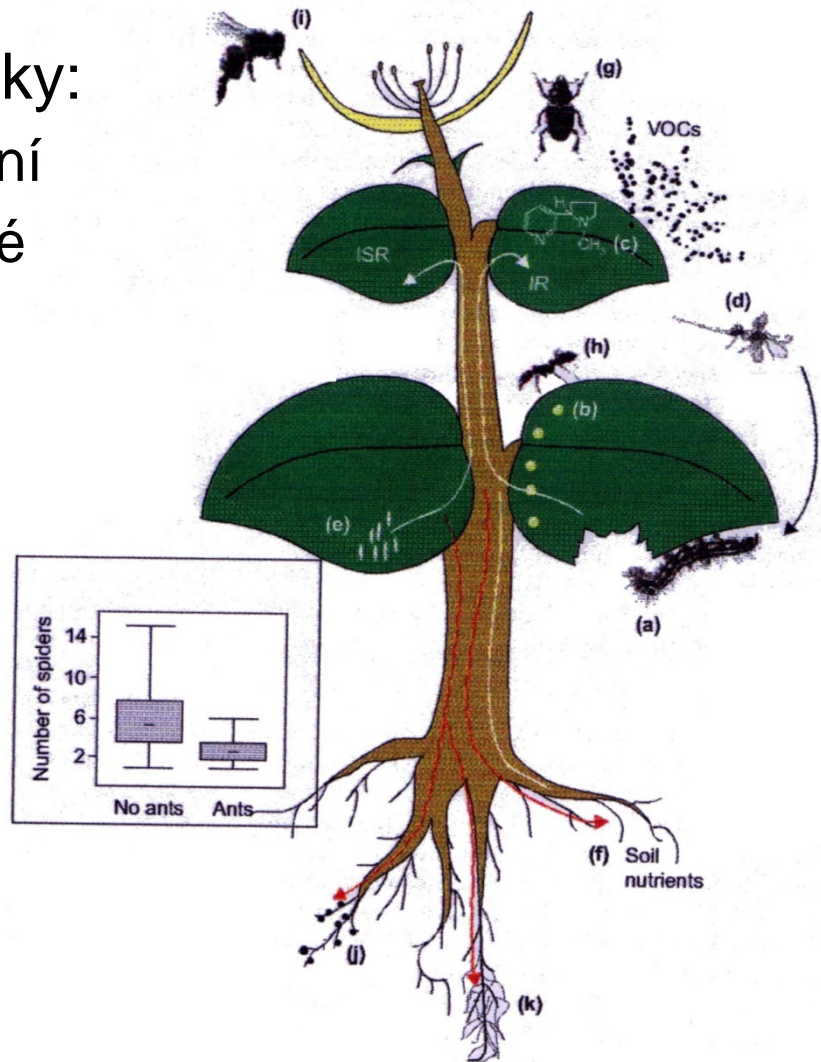
Třída	Struktura proteinu	Gen	Hostitel	Patogen
3	Kináza	<i>PBS1</i>	<i>Arabidopsis</i>	<i>Pseudomonas syringae</i>
	Kináza-kináza	<i>Rpg1</i>	ječmen	<i>Puccinia graminis</i>
4	LRR-TM-Kináza	<i>Xa21</i>	rýže	<i>Xanthomonas oryzae</i>
		<i>FLS2</i>	<i>Arabidopsis</i>	Innate immunity
5	jedinečný	<i>HS1pro-1</i>	suggar beet	<i>Heterodera schachtii</i>
6	jedinečný	<i>RPW8</i>	<i>Arabidopsis</i>	<i>Erysiphe</i> (fungus)
7	membránový protein	<i>mlo</i>	ječmen	<i>Blumeria graminis</i>
8	glykoprotein buněčného povrchu	<i>Ve1</i>	rajče	<i>Verticillium albo-atrum</i>
9	toxin reduktáza	<i>Hm1</i>	kukuřice	<i>Cochliobolus carbonum</i>

# GENETIKA ROSTLIN



# Obrana před parazity a predátory

- ➔ Obranné látky:
  - Konstitutivní
  - Indukované

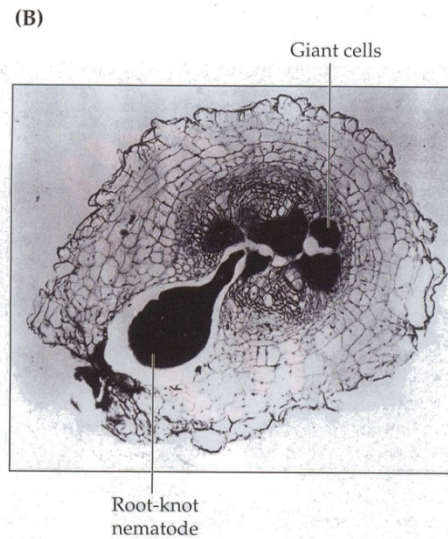
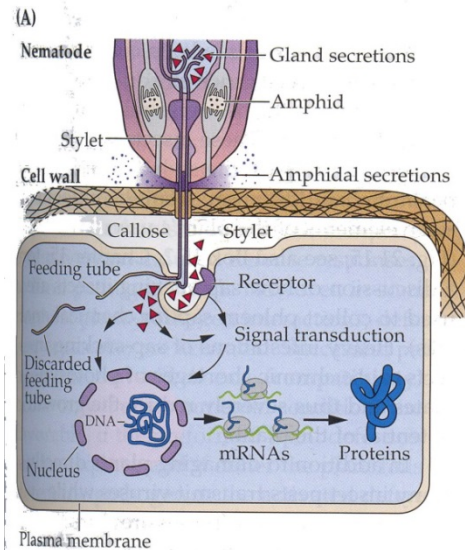




# Obrana před parazity a predátory

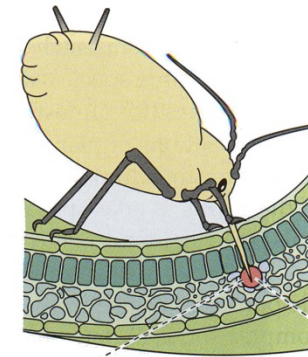
## ➔ Hád'átka

- modifikují metabolismus kořenových buněk

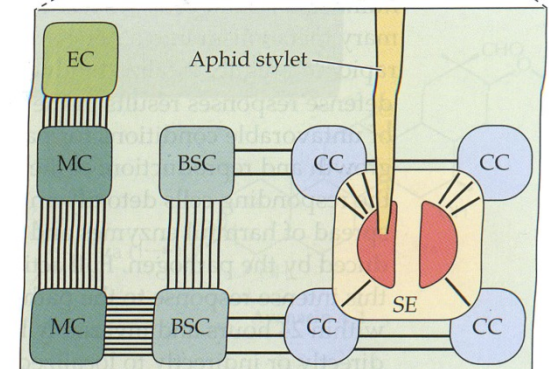


## ➔ Hmyz

- vektory šíření virů v rostlinných buněk



Vascular bundle penetrated by the insect feeding stylet.



## Obrana před parazity a predátory

### 1. Sekundární metabolity rostlin

- fenoly
- terpenoidy
- dusíkaté sloučeniny

### 2. Syntéza hmyzích hormonů rostlinnými pletivy, analogy svlékacích hormonů

Výukovou pomůcku zpracovalo  
**Servisní středisko pro e-learning na MU**

<http://is.muni.cz/stech/>

CZ.1.07/2.2.00/28.0041

Centrum interaktivních a multimediálních studijních opor pro inovaci výuky a efektivní učení



INVESTICE DO ROZVOJE VZDĚLÁVÁNÍ