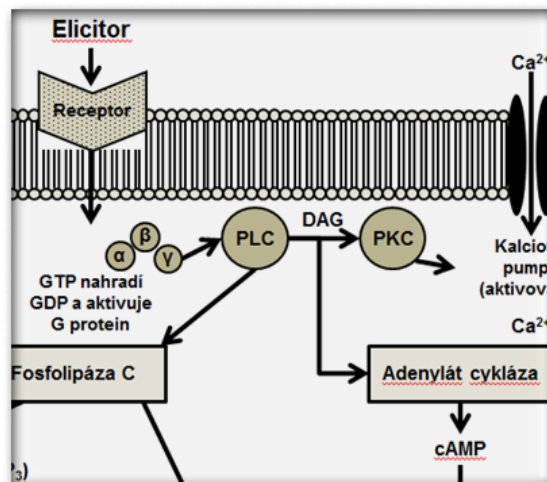


Bi8240 GENETIKA ROSTLIN

Prezentace 06 Rezistence rostlin k patogenům



doc. RNDr. Jana Řepková, CSc.
repkova@sci.muni.cz

Biotické faktory prostředí

- ➔ **Houbové organizmy (biotrofní, nekrotrofní)**
 - *Blumeria, Erysiphe, Monilinia, Sclerotinia, Ustilago, Melampsora, Puccinia, Uromyces, Fusarium* aj.

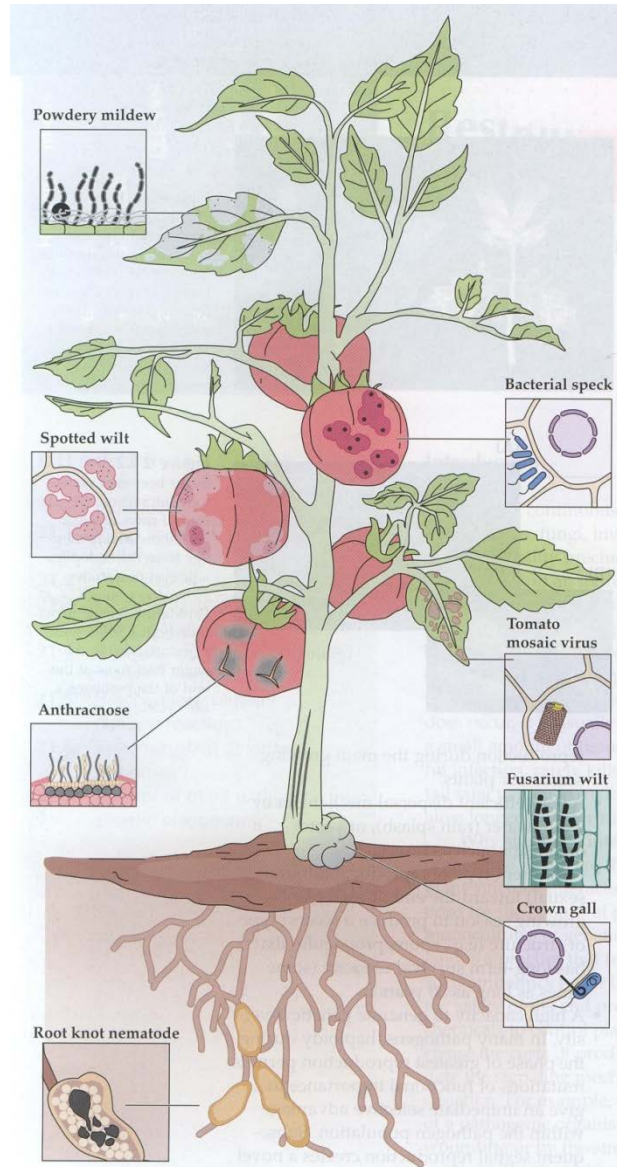
- ➔ **Bakterie**
 - *Xanthomonas, Pseudomonas, Agrobacterium, Erwinia* aj.

- ➔ **Viry a viroidy**
 - Organizmy patogenní x nepatogenní

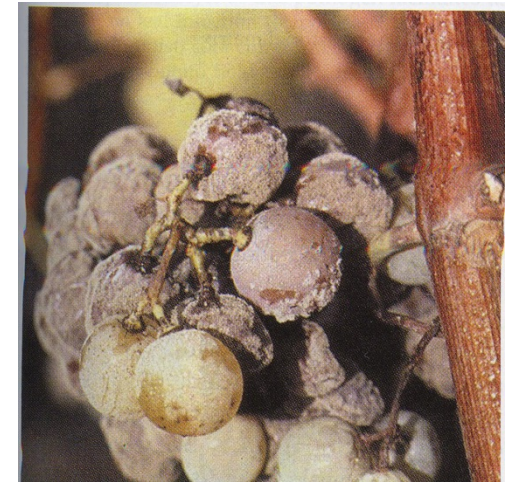
- ➔ **Hmyzí škůdci**

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

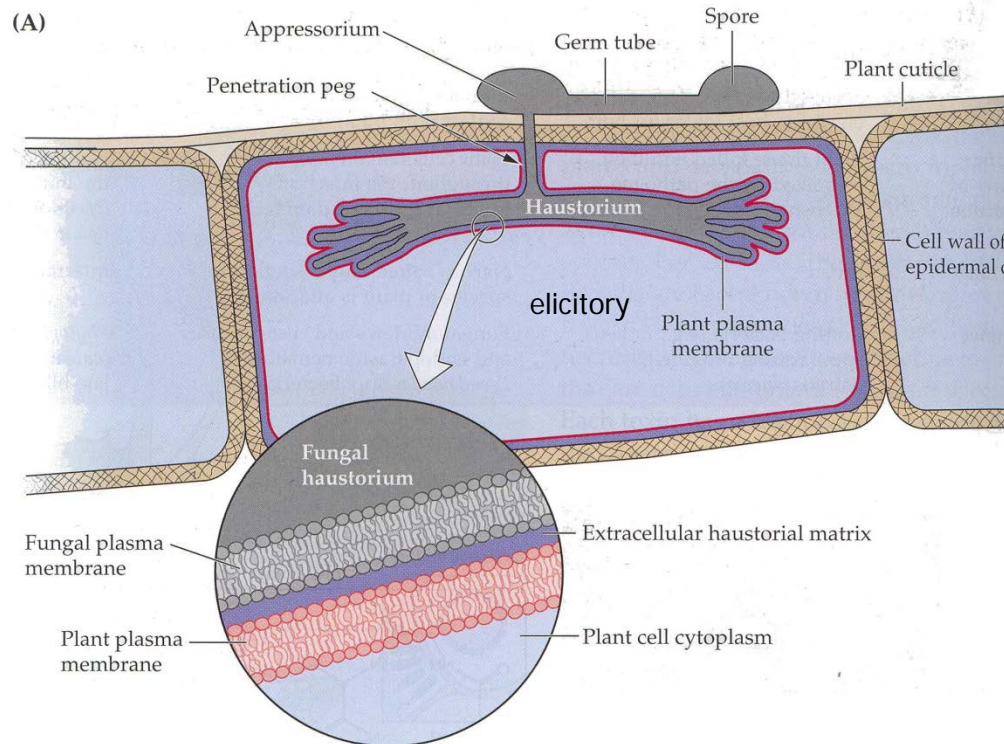
Houbové patogenní organizmy

- 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

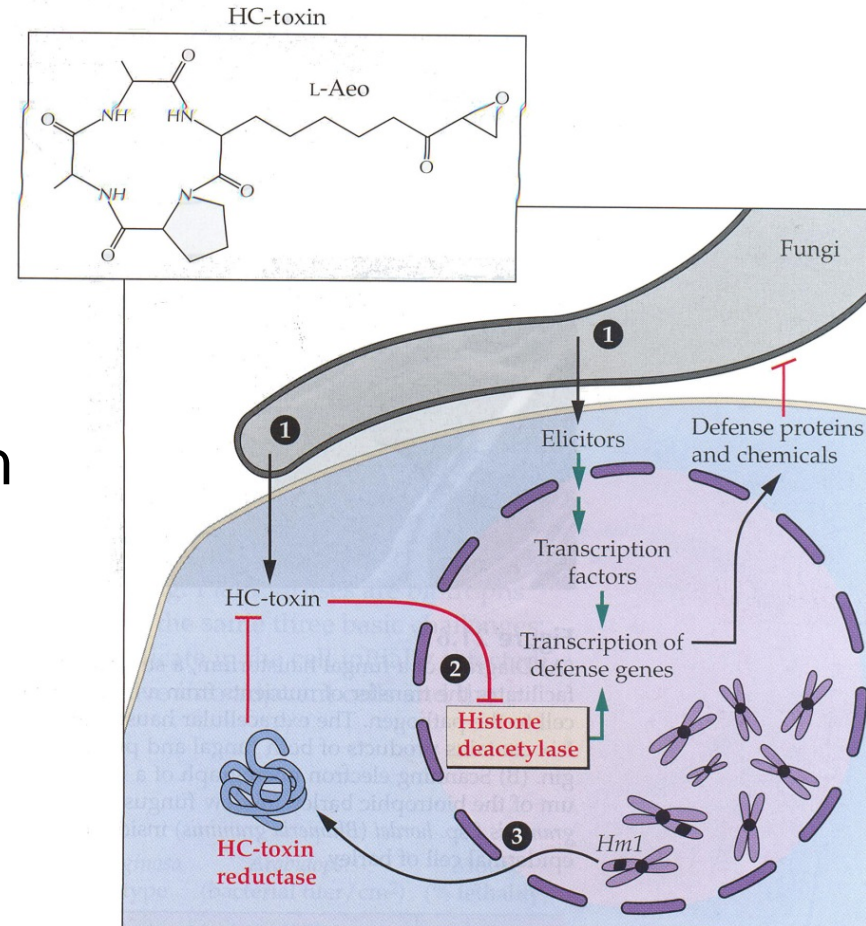
➔ *Blumeria graminis* (padlí travní)

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



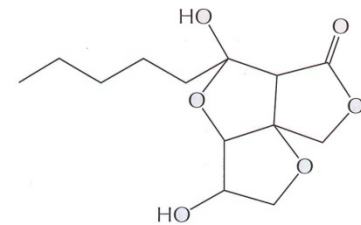
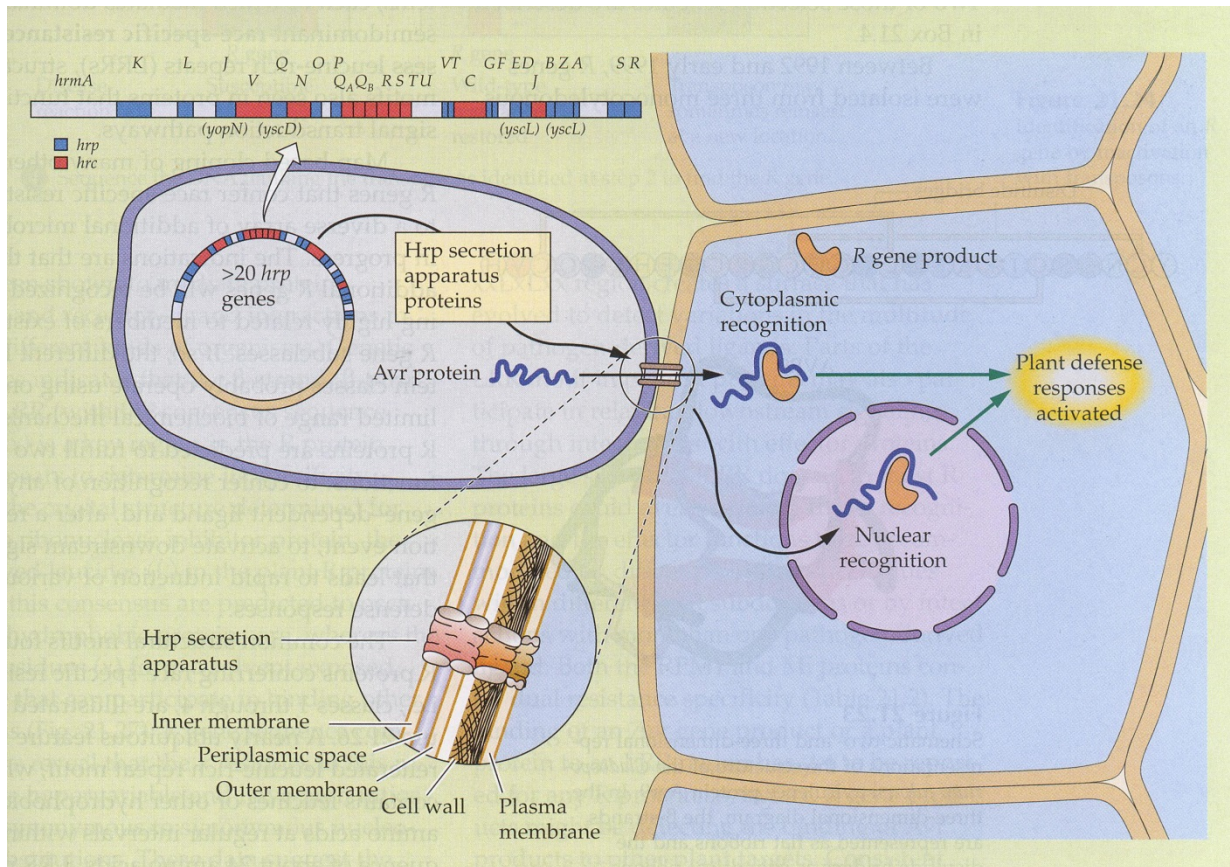
Bakteriální patogenní organizmy

- 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 patogenezí

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



Mechanismy rezistence rostlin k patogenům

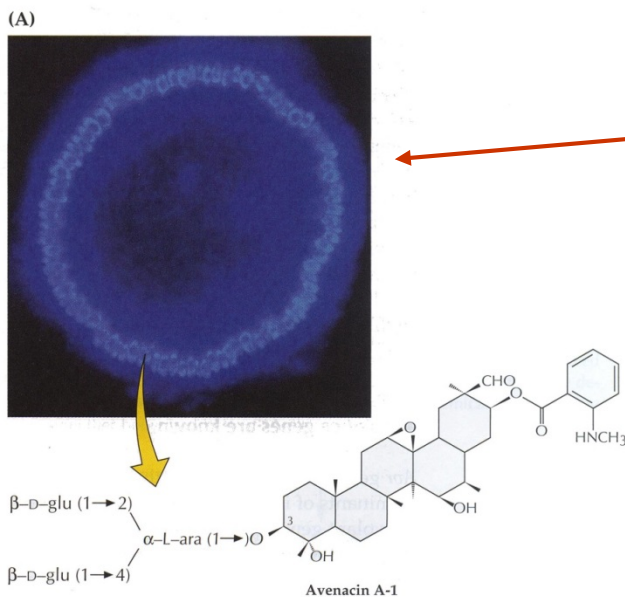
A. Konstitutivní a indukované obranné mechanismy

B. Pasivní a aktivní obranné mechanismy

➔ **Pasivní obranné mechanismy**

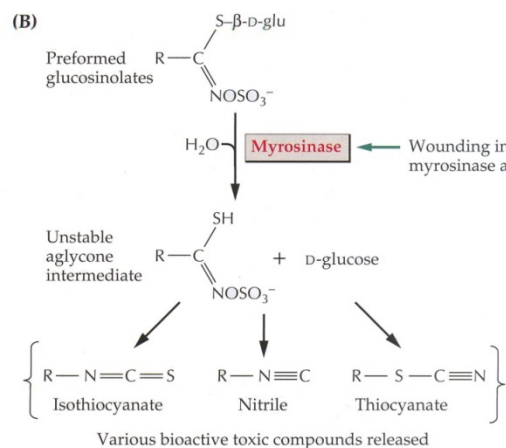
- Kutikula – nerozpustný polyester kutin, suberin, vosky
- Lignin
- Buněčná stěna
- Morfologické bariéry
 - ječmen - spory *Ustilago nuda* f. *hordei* sněť

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 – proteiny toxické pro houby

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, glukánázy, 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

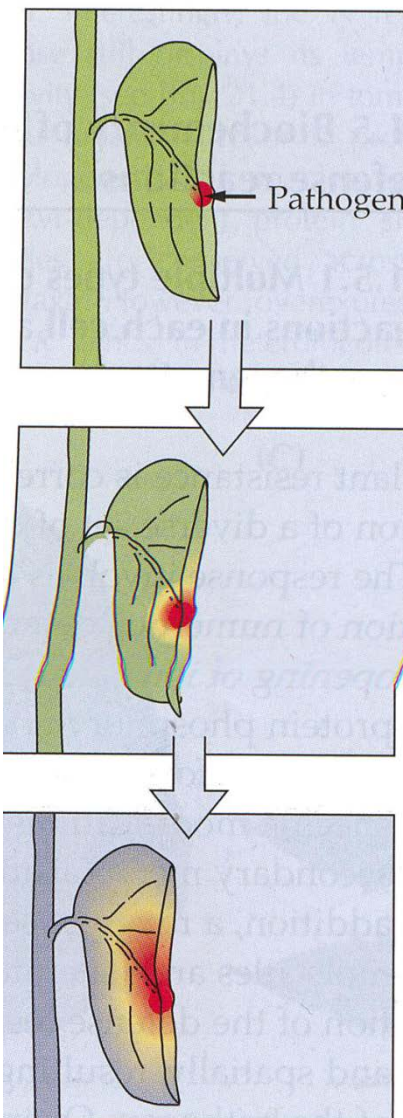
- Tvorba volných radikálů (kyslíku)
- Otevírání iontových kanálů
- Fosforylace a defosforylace proteinů
- Přeuspořádání cytoskeletu
- Hypersenzitivní reakce
- Aktivace exprese genů

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



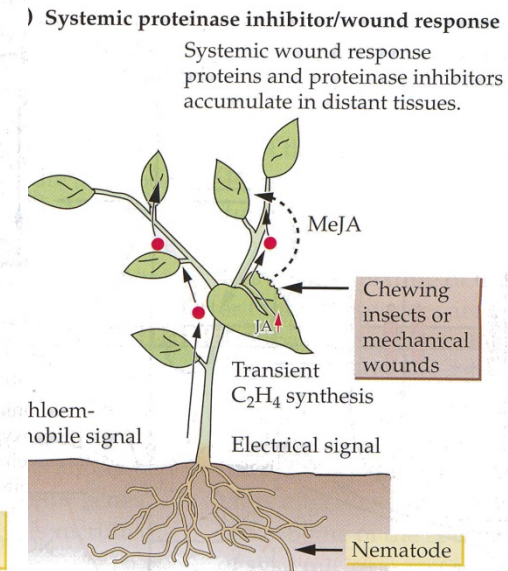
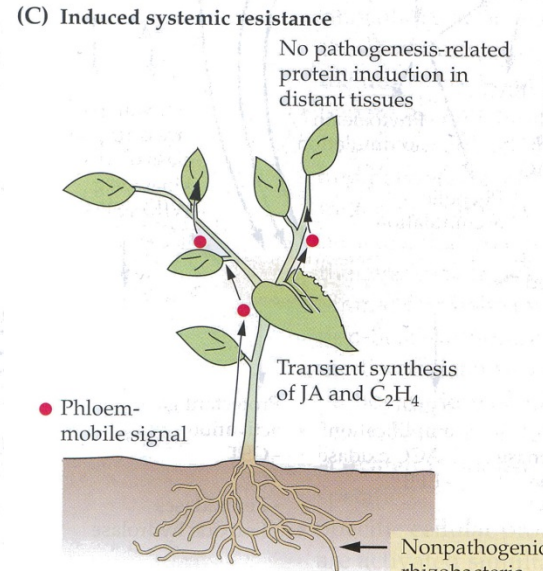
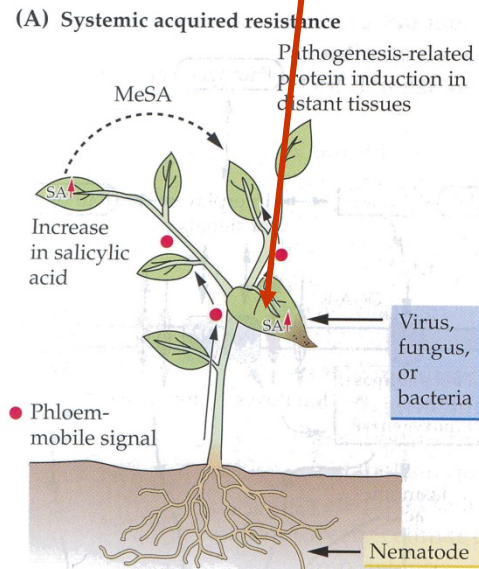
➔ 1 – I. infekce TMV u tabáku

➔ 2 – II. infekce

Signál – kyselina salicylová

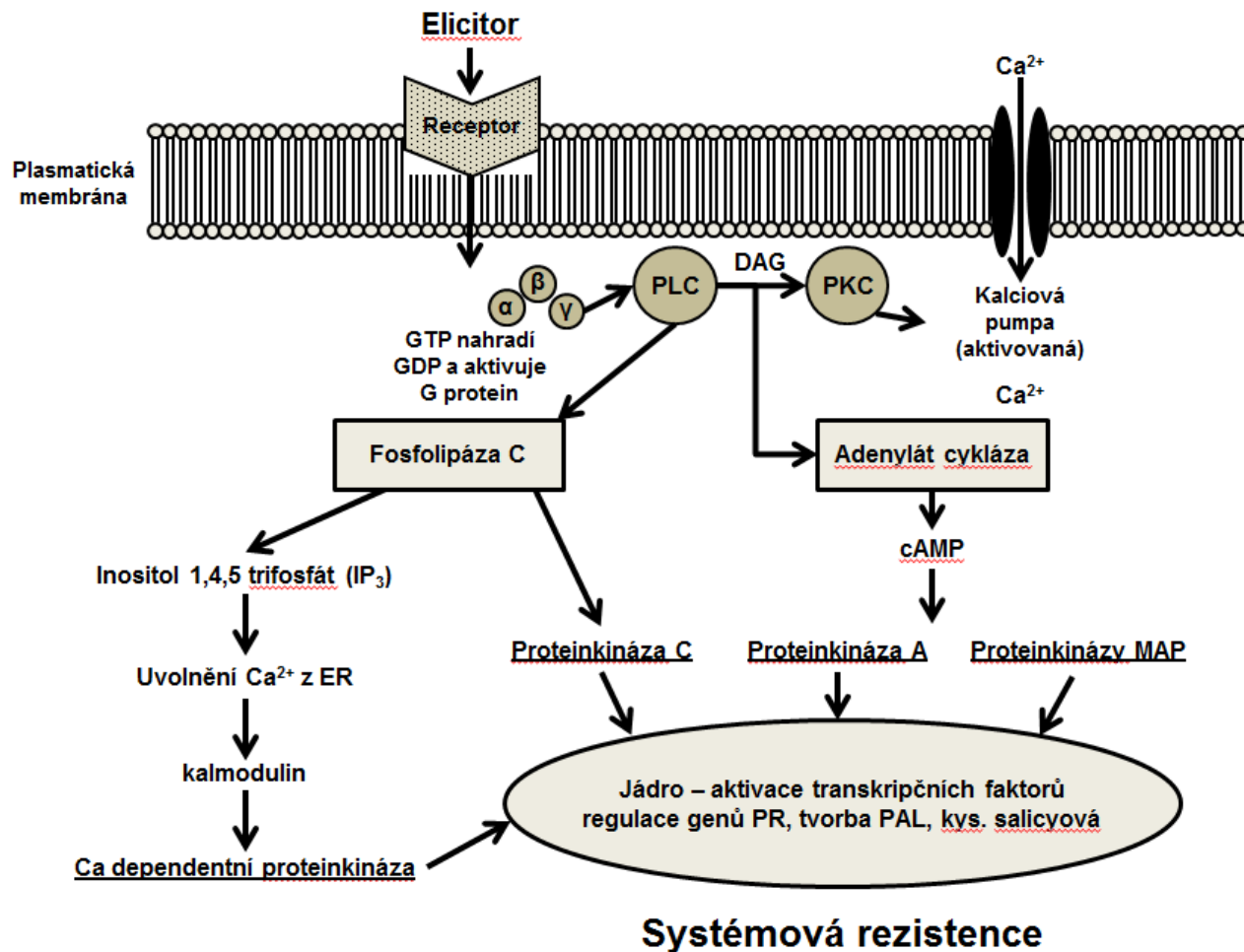
Indukovaná systémová rezistence
Signál – kyselina jasmonová, etylén

Okus, poranění
Kyselina jasmonová
Etylén

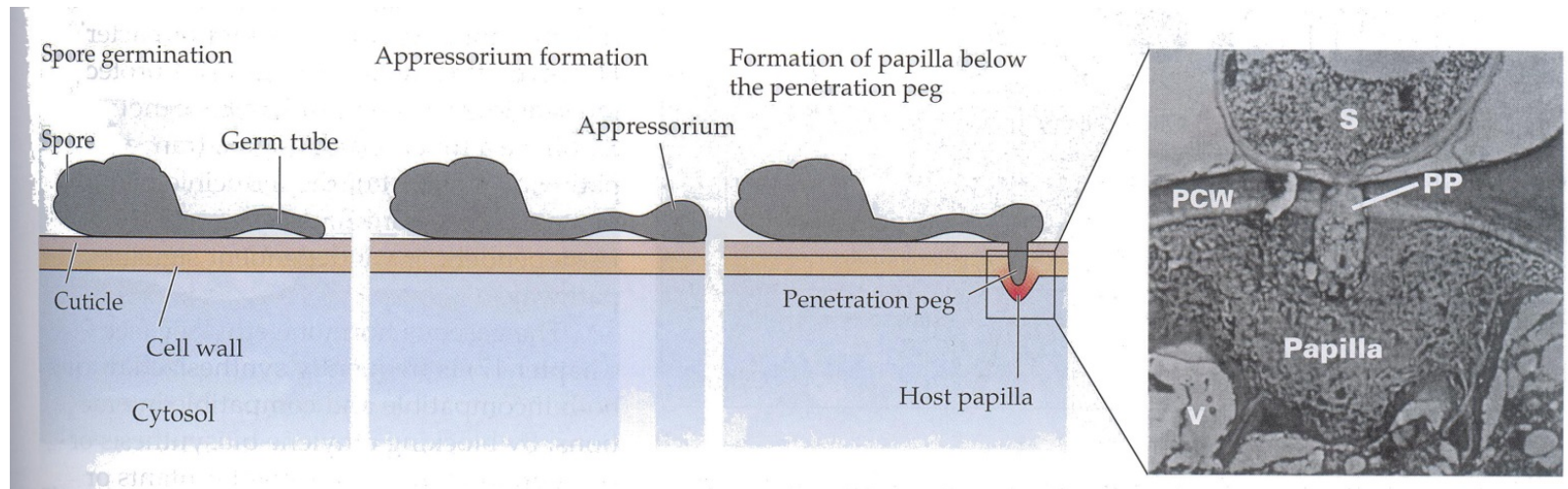


Signalizační kaskáda a aktivace jaderných genů

➔ Aktivace obranných mechanismů rostliny



Signalizační kaskáda a aktivace jaderných genů



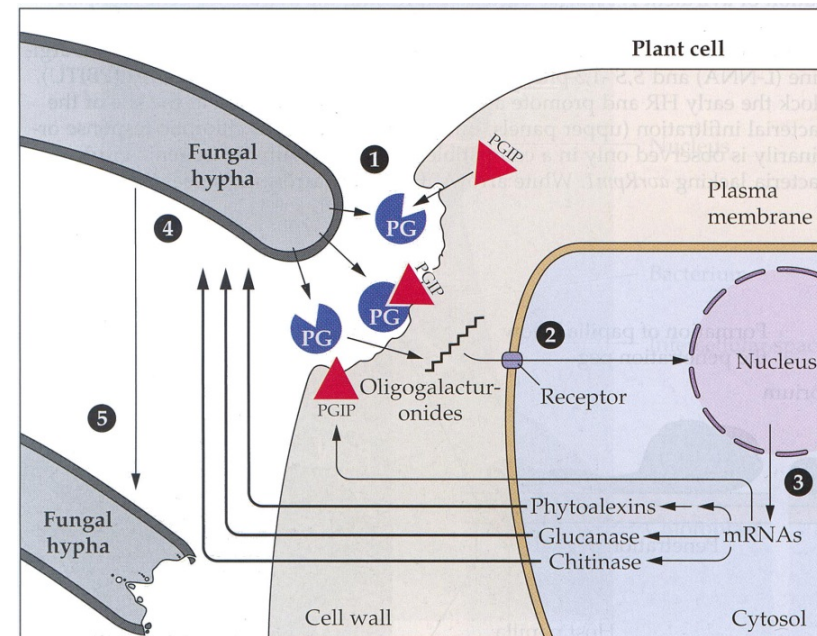
Klíčící spóra

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 (proteiny bun. stěny) – inaktivace enzymu PG
 - fytoalexiny
 - glukonázy
 - chitinázy
- 4.–5. Poškození hyf houbového patogena



Klasifikace rezistence k patogenům

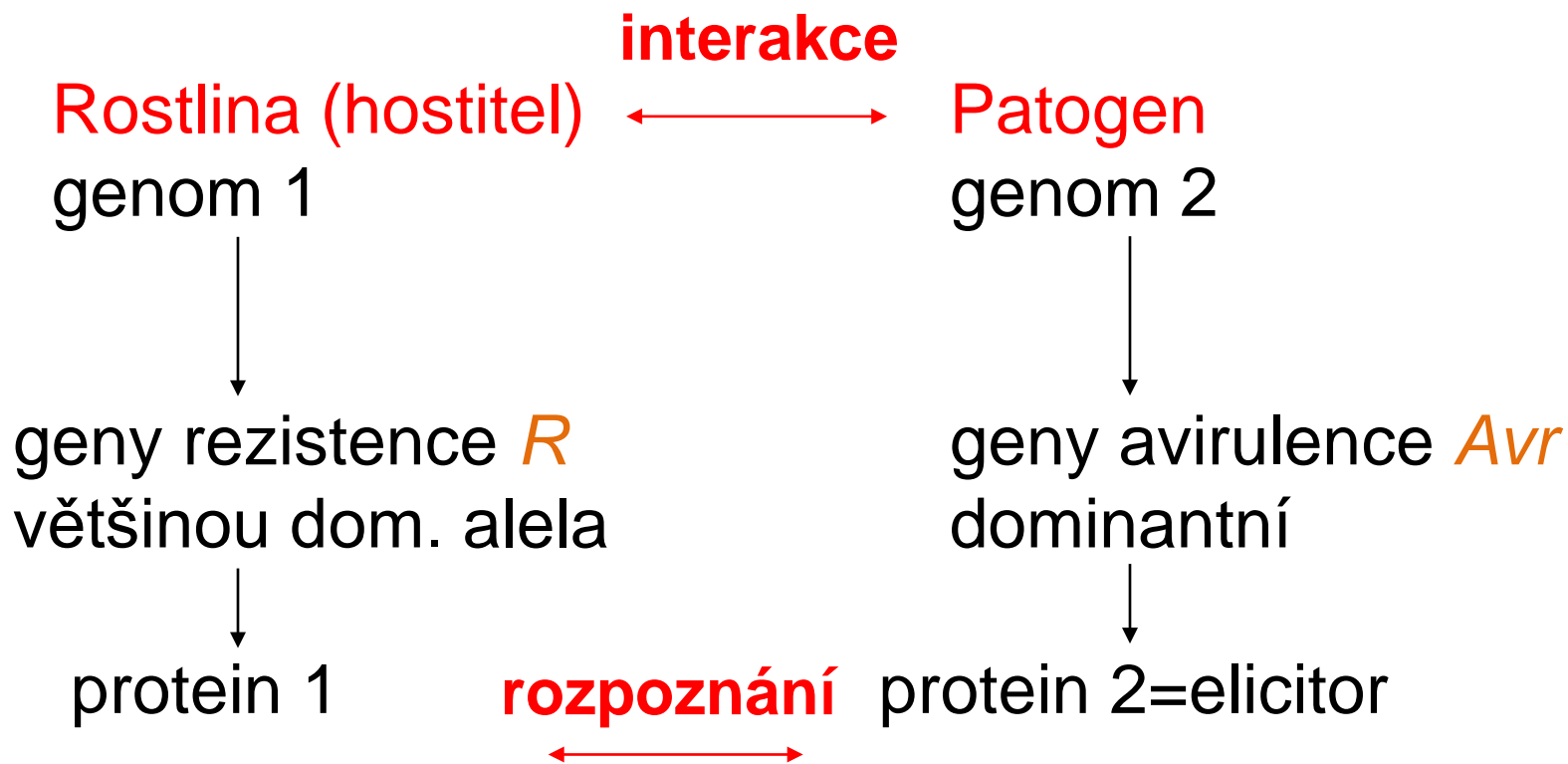
- 1. Vertikální – kódována alelami 1 nebo několika genů**
 - rasově specifická – alela určitého lokusu rezistence R kóduje odolnost vůči 1 genotypu patogena = patotypu
Flor, 1940 - teorie gen proti genu
- 2. Horizontální – kódována polygenně**
 - rasově nespecifická – účinná vůči širokému spektru patotypů,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

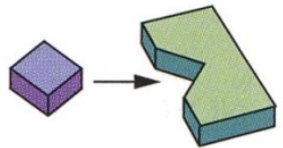
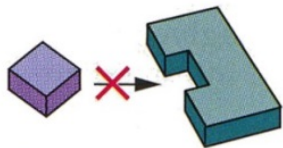
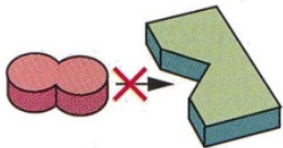
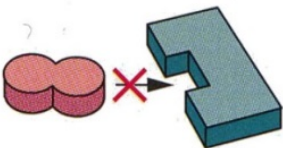
Genetická determinace rezistence



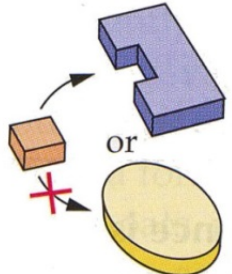
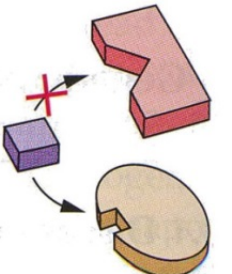
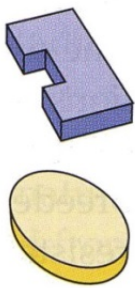
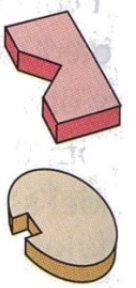
Výsledkem je rezistence rostliny

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 incompatible.)</p>	 <p>Avr1 r1 protein</p> <p>Disease (Plant and pathogen are compatible.)</p>
<i>avr1</i>	 <p>avr1 R1 protein</p> <p>Disease (Plant and pathogen are compatible.)</p>	 <p>avr1 r1 protein</p> <p>Disease (Plant and pathogen are compatible.)</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>No disease</p>	<p>No enzymatic detoxification</p>  <p>Sensitive target protein</p> <p>Disease</p>
<i>tox</i>	<p>No toxin</p>  <p>No disease</p>	<p>No toxin</p>  <p>No disease</p>

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

➔ Flor 1940

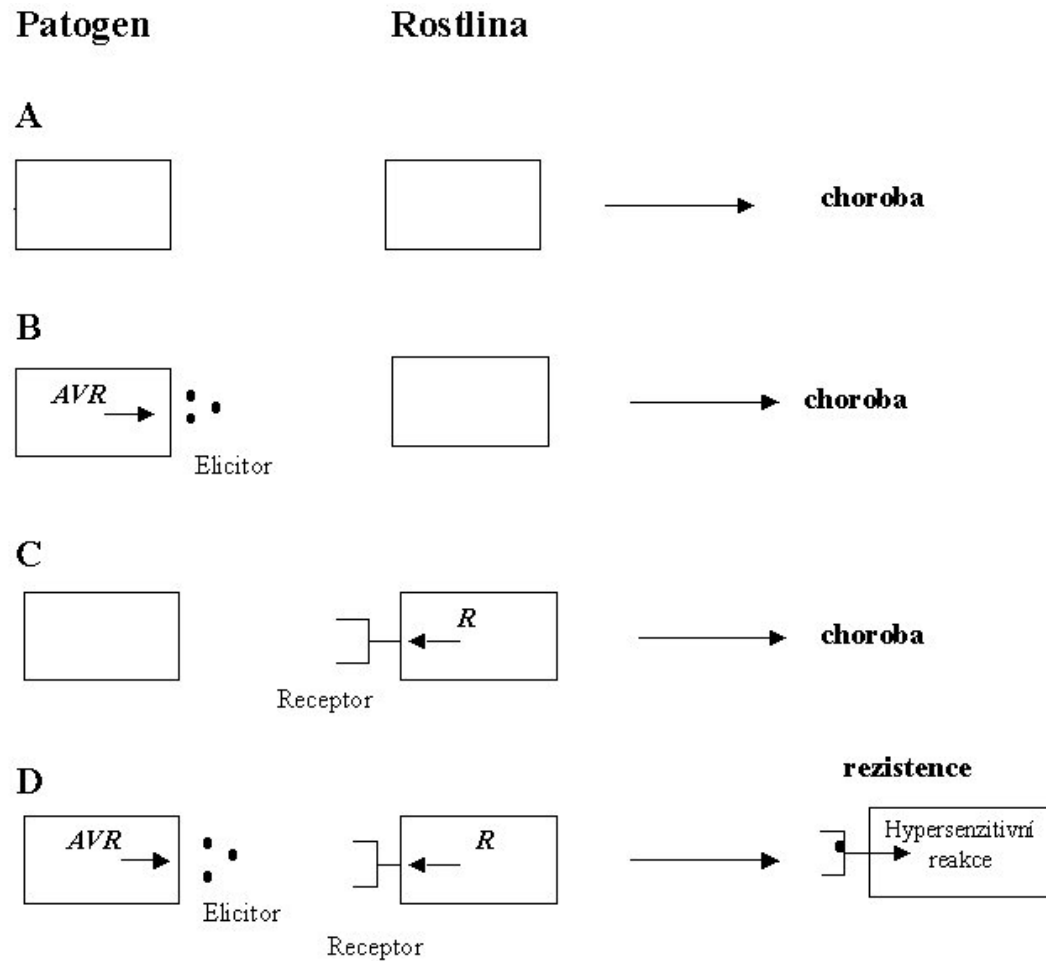
➔ Hostitel (rostlina) geny rezistence **R**

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

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

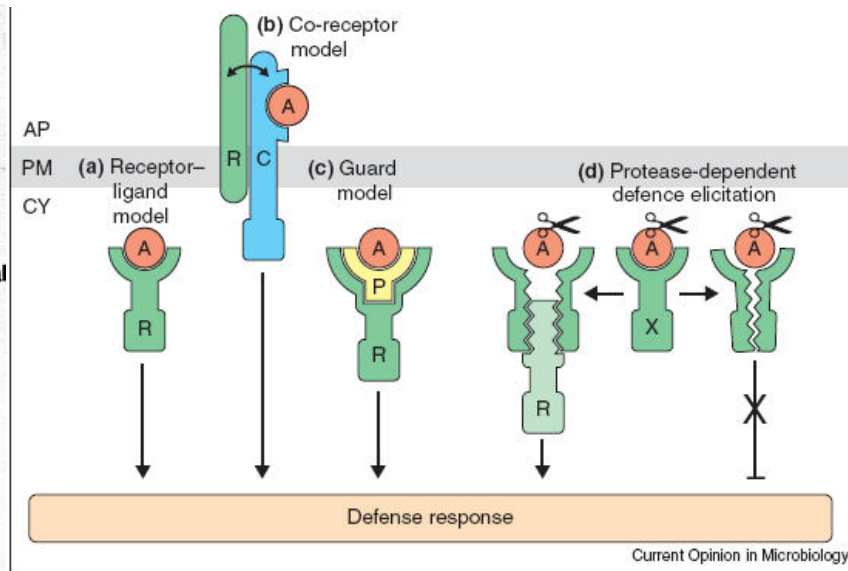
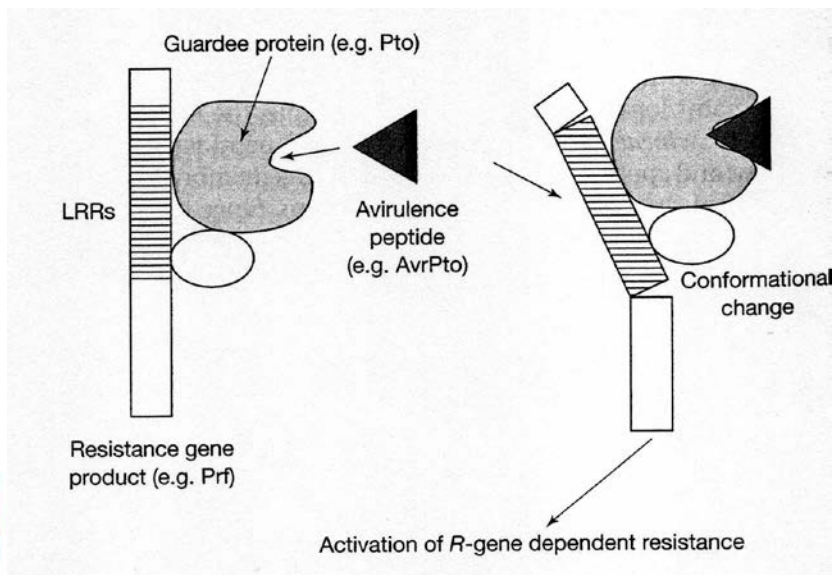
- patotyp *Avr_N*
- patotyp *Avr_L*
- L determinuje rezistenci k *Avr_L*
- l determinuje citlivost k *Avr_L*
- N determinuje rezistenci k *Avr_N*
- n determinuje citlivost k *Avr_N*

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*



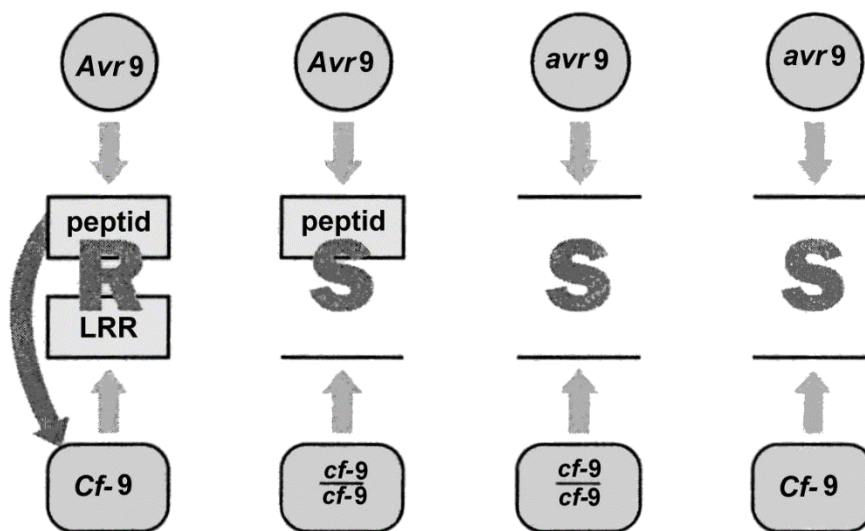
Genetická determinace rezistence podle teorie gen proti genu

	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

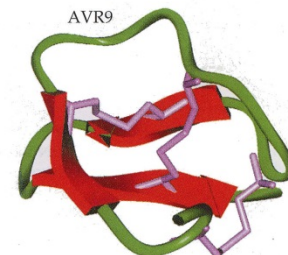
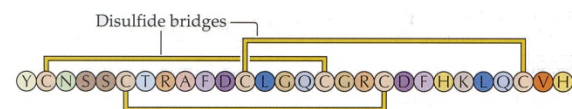
Molekulární genetiky rezistence rostlin k chorobám

Inkompatibilní interakce patogen – hostitel

- ➔ Patogen *Melampsora lini* – *Cladosporium fulvum*
- ➔ Hostitel *Linum usitatissimum* – *Lycopersicon esculentum*



Dvou- a trojrozměrná struktura proteinu Avr9 *Cladosporium fulvum*



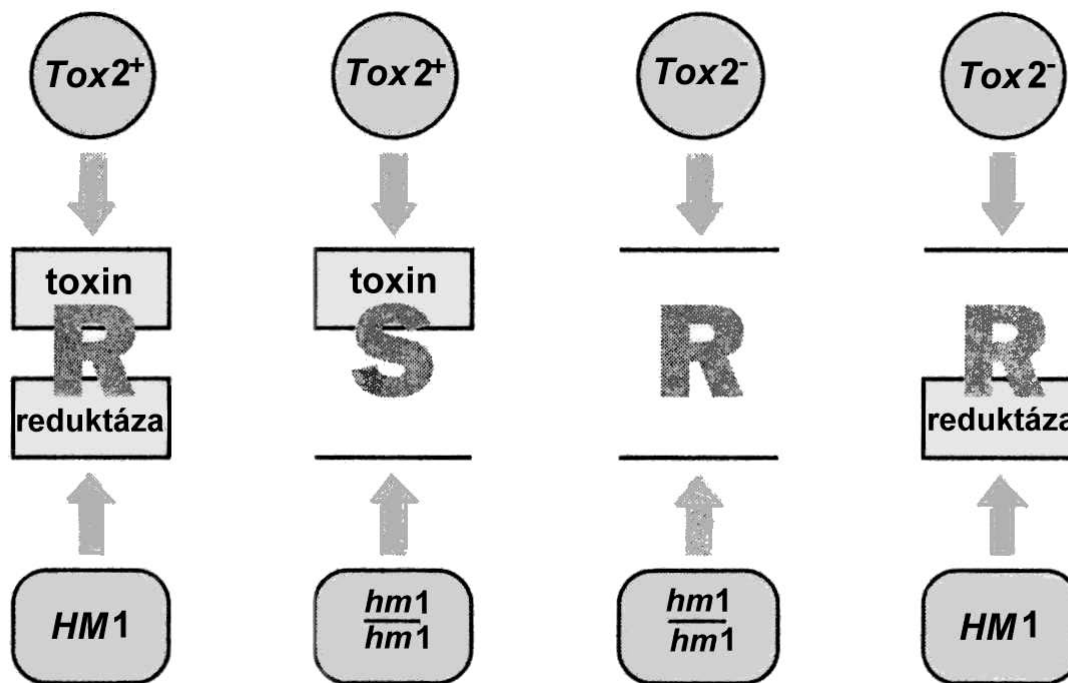
– virus mozaiky tabáku

– *Nicotiana tabacum*

Molekulární genetika rezistence rostlin k chorobám

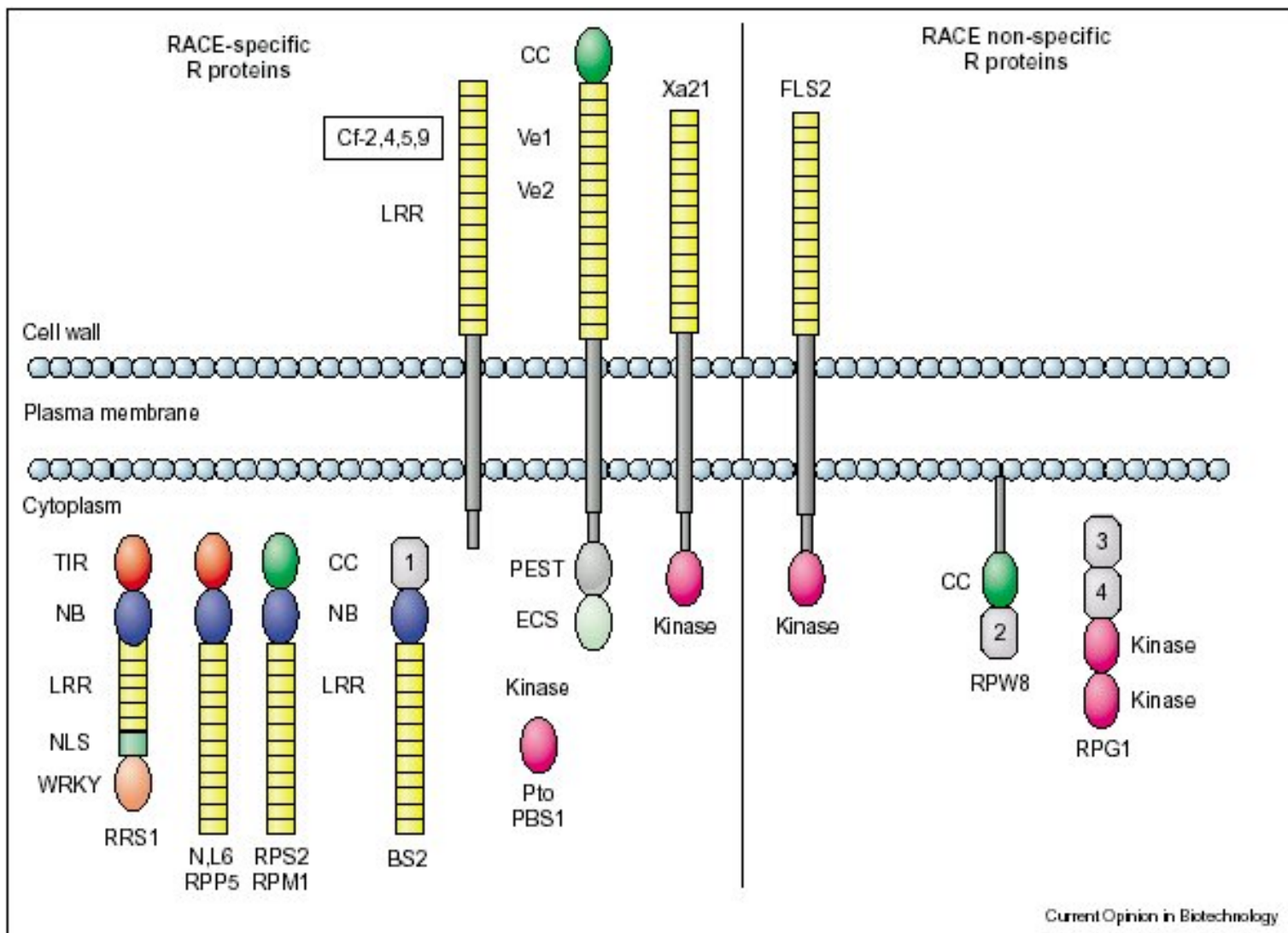
Kompatibilní interakce patogen – hostitel

Patogen *Cochliobolus carbonum*



Hostitel kukuřice

Produkty genů *R* a jejich charakteristické domény



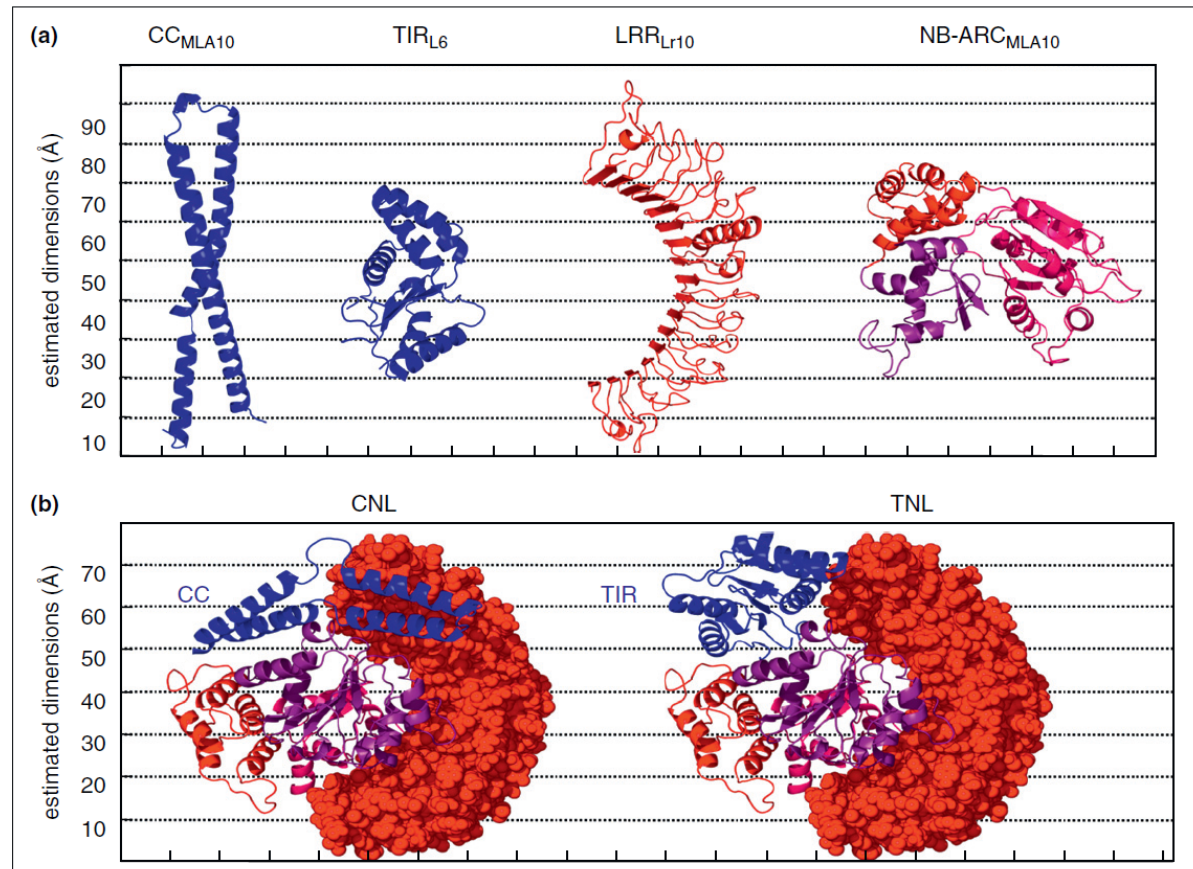
Použité zkratky domén proteinů

- **LRR (leucine-rich repeat)**
 - receptorová doména – mnohonásobná repetice AK s leuciny
 - lokalizace extracelulární i cytoplazmatická

Homologie s živočišnými hormonálními receptory
- **NBS (nucleotide binding site)**
 - signální doména – vazebná místa pro ATP a GTP, místo
 - interakce R proteinů s dalšími proteiny regulační kaskády

Homologie s proteiny apoptózy živočišných buněk
- **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)**

Struktura domén



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>

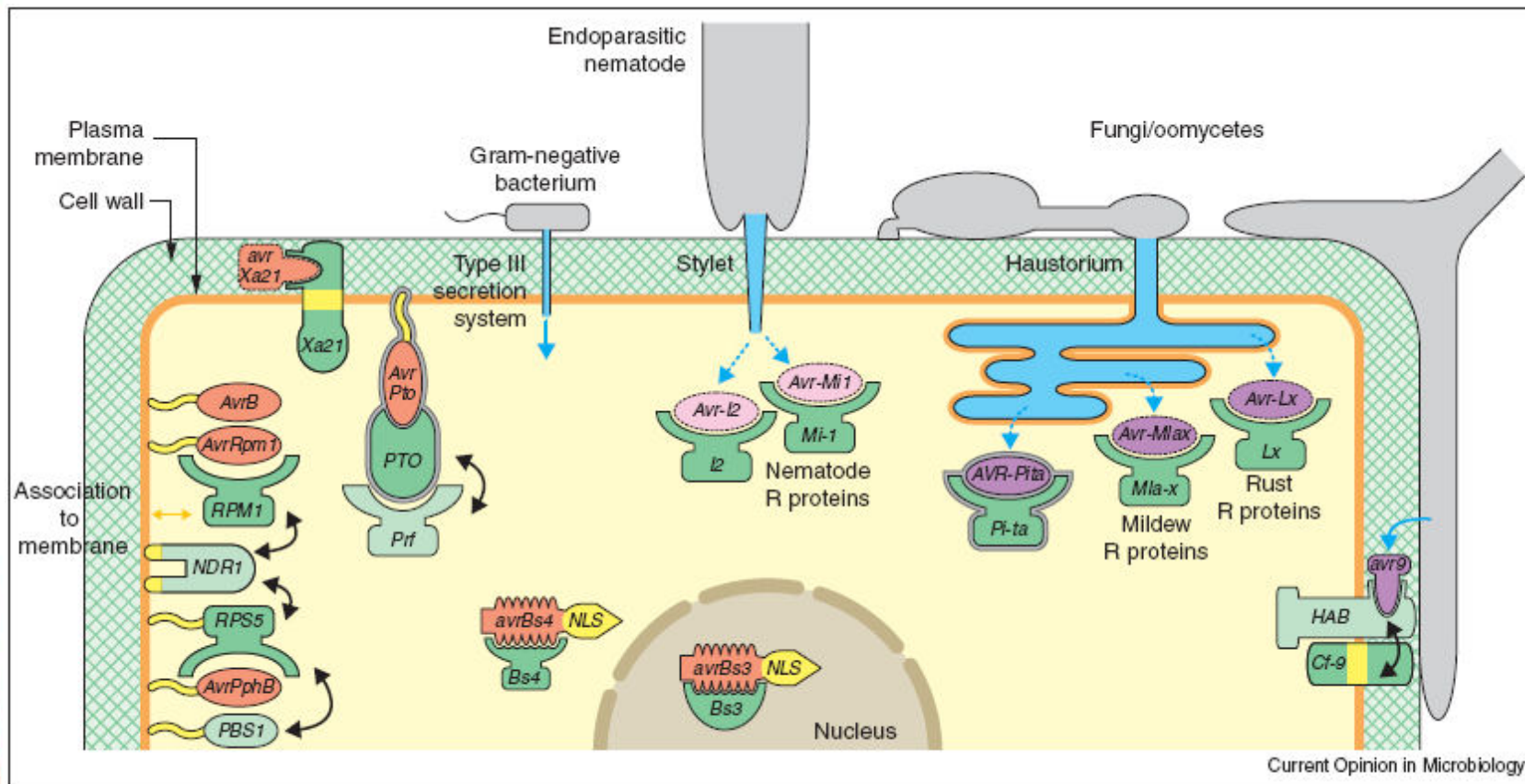
Klasifikace některých klonovaných genů resistance (2/3)

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



Mechanismy rezistence

Hostitel *Medicago truncatula*

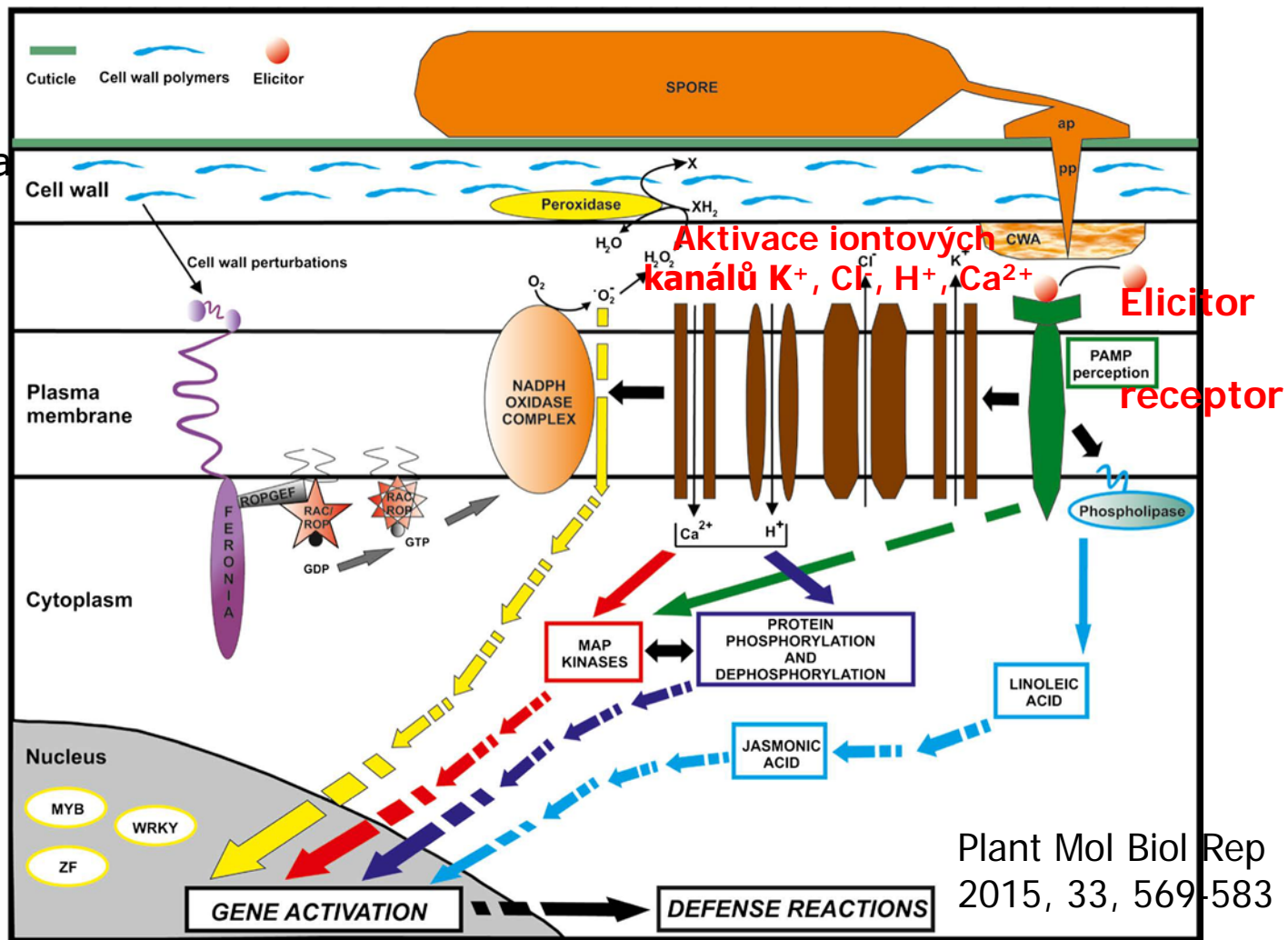
Spora *Erysiphe pisi* - apresorium

Kutikula
Buněčná stěna

Cytopl. mem.

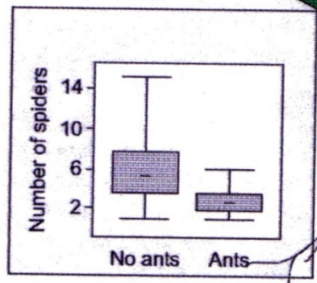
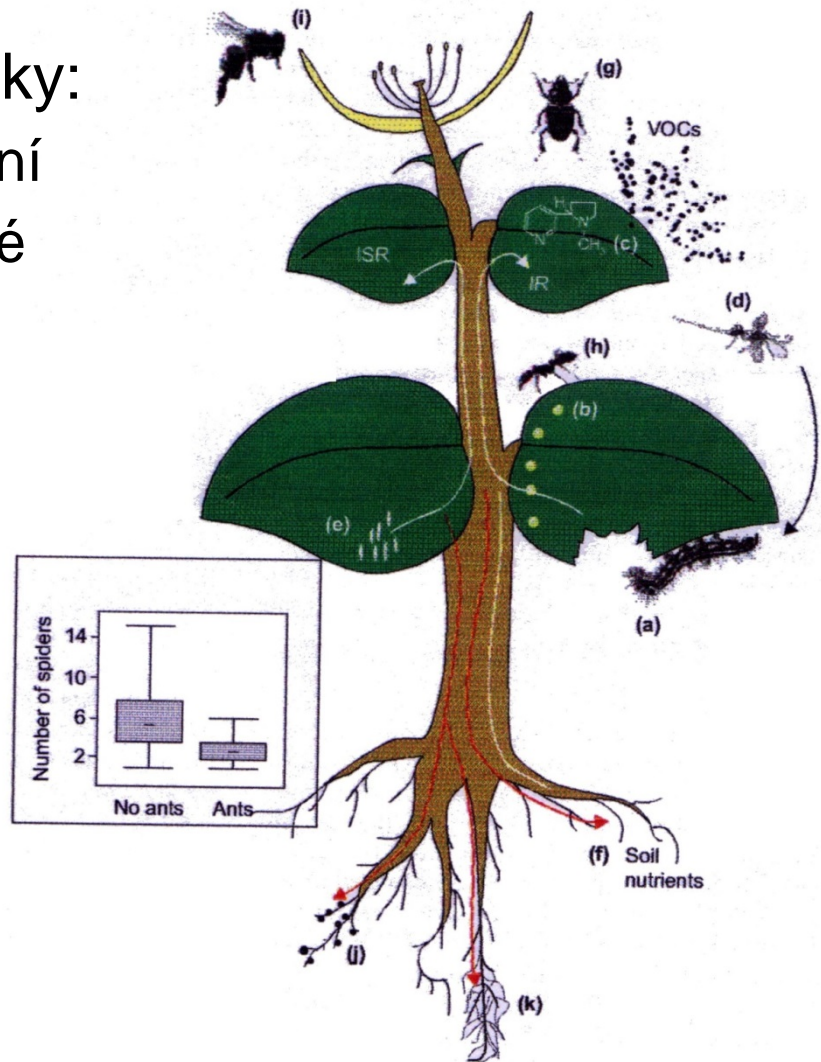
Cytoplazmy

Jádro



Obrana před parazity a predátory

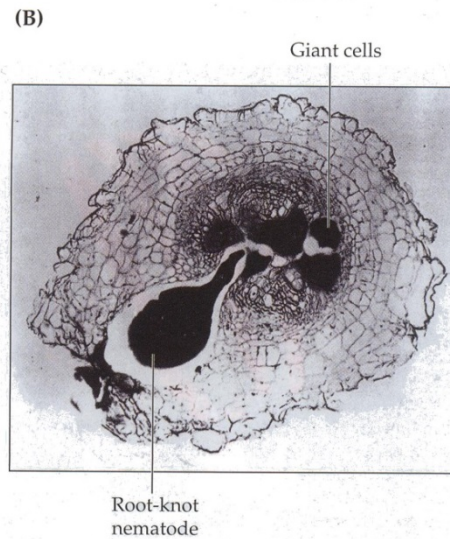
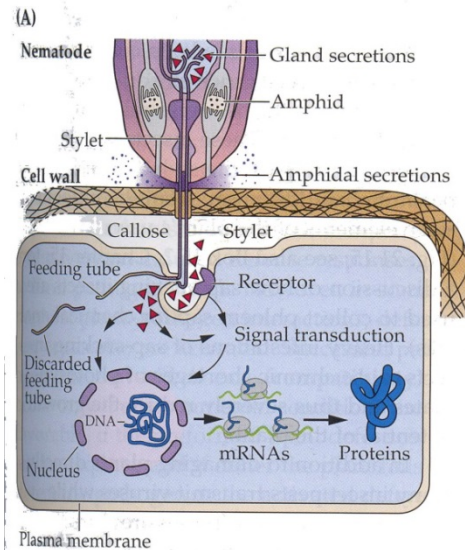
- ➔ Obranné látky:
 - Konstitutivní
 - Indukované



Obrana před parazity a predátory

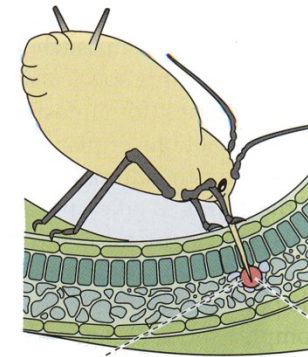
➔ Hád'átka

- modifikují metabolismus kořenových buněk

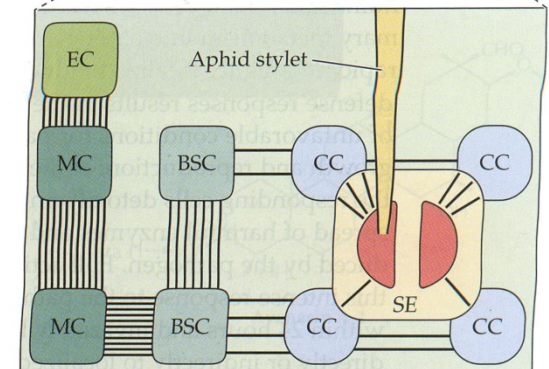


➔ Hmyz

- vektory šíření virů v rostlinných buněk



Vascular bundle penetrated by the insect feeding stylet.



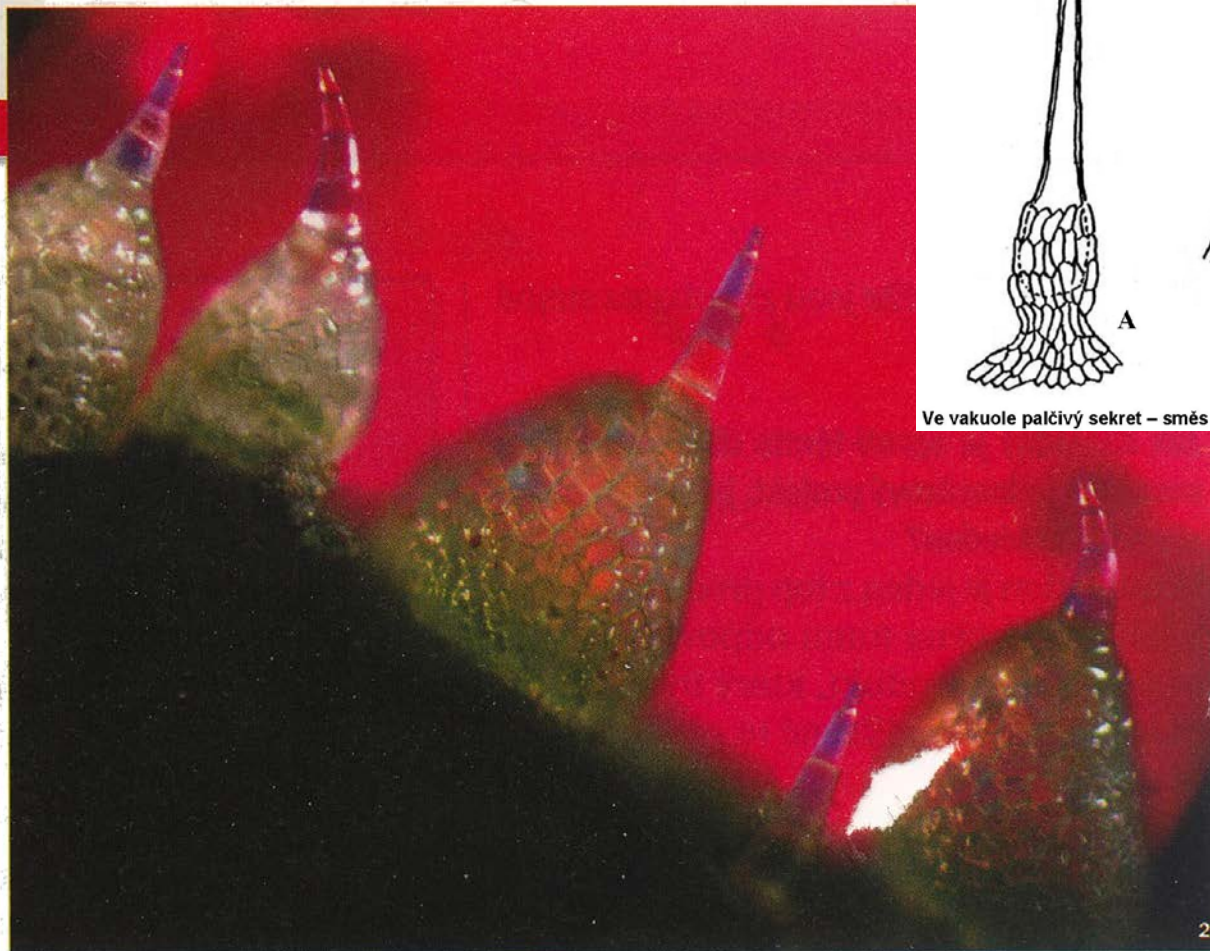
Obrana před parazity a predátory

1. Sekundární metabolity rostlin

- fenoly
- terpenoidy
- dusíkaté sloučeniny

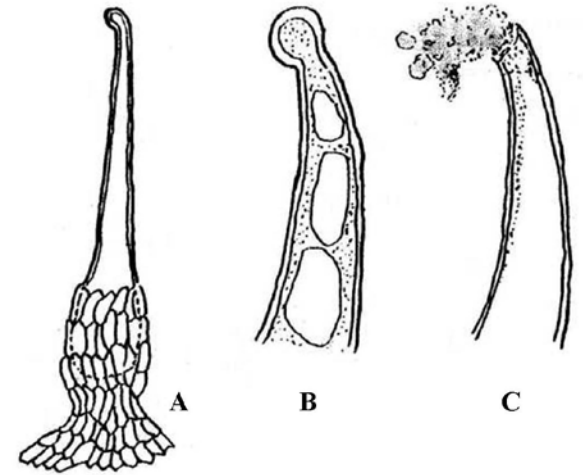
2. Syntéza hmyzích hormonů rostlinnými pletivy, analogy svlékacích hormonů

Trichomy rostlin



▲ **MINOVÉ POLE.** Sametový povrch mladé okurky není tak nevinný, jak by se zdálo. Osmisetnásobné zvětšení odhaluje mikroskopické struktury, z nichž se po odlomení vrcholové čepičky vylévají toxické látky. Před lidskými zuby to okurku neochrání, ale hmyzí labužníky tato chemická zbraň odradí.

Žahavý trichom z listu kopřivy dvoudomé (*Urtica dioica*)



Ve vakuole palčivý sekret – směs histaminu, acetylcholinu a kys. mravenčí



Špička

Inkrustovaný povrch Trichomu

Uvnitř vakuoly s palčivým sekretem

Kloub

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