

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Mechanismy využívané rostlinami na obranu proti plísním

Bakalářská práce

2022

Jan David

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2020/2021

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Jan David**
Osobní číslo: **C18156**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Klinická biologie a chemie**
Téma práce: **Mechanismy využívané rostlinami na obranu proti plísním**
Téma práce anglicky: **Plant Defense Mechanisms Against Fungal Pathogens**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

Zpracujte literární rešerši na dané téma bakalářské práce. V rešerši se zaměřte na:

1. Imunitní systém rostlin.
2. Popis procesů a mechanismů působení plísní na rostliny.
3. Popis obranných mechanismů rostlin (jak konstitutivní, tak indukované, pasivní i aktivní).
4. Bakalářskou práci zpracujte v souladu se Směrnicí UPa č. 7/2019: Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Vedoucí bakalářské práce: **Ing. Iveta Brožková, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2020**
Termín odevzdání bakalářské práce: **2. července 2021**

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc. v.r.
děkan

L.S.

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 26. února 2021

Prohlašuji:

Práci s názvem Mechanismy využívané rostlinami na obranu proti plísním jsem vypracoval samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využil, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byl jsem seznámen s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon), ve znění pozdějších předpisů, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 1. 7. 2022

Jan David

Poděkování

Rád bych touto cestou vyjádřil poděkování Ing. Ivetě Brožkové, Ph.D., za její cenné rady, doporučení a trpělivost při vedení mé bakalářské práce. Obrovské poděkování patří i mé rodině a všem přátelům, kteří mě při vytváření této práce podpořili, a bez jejichž pomoci by nebylo možné práci dokončit.

ANOTACE

Bakalářská práce se zabývá problematikou obrany rostlin proti plísním. Práce úvodem popisuje mechanismus imunitního systému rostlin a proces nákazy rostlin. Dále se zaměřuje na obranné mechanismy rostlin proti patogenům. V poslední části práce jsou popsány nejčastější metody používané k identifikaci plísní.

KLÍČOVÁ SLOVA

rostliny, houby, plísně, imunita, fytopatogen, obrana

TITLE

Plant Defense Mechanisms Against Fungal Pathogens

ANNOTATION

The bachelor's thesis deals with the issue of plant defense against fungi. The thesis initially describes the mechanism of the immune system of plants and the process of plant infection. It also focuses on the defense mechanisms of plants against pathogens. In the last part of the work, the most common methods used to identify molds are described.

KEYWORDS

plants, fungi, molds, immunity, phytopathogen, defense

OBSAH

SEZNAM OBRÁZKŮ A TABULEK.....	8
SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK.....	9
ÚVOD.....	10
1 IMUNITNÍ SYSTÉM ROSTLIN.....	11
2 ROSTLINNÉ PARAZITICKÉ PLÍSNĚ.....	14
2.1 Biotrofní patogeny	15
2.2 Nekrotrofní patogeny	16
2.3 Hemibiotrofní patogeny.....	16
3 PROCES NÁKAZY	17
4 OBRANNÉ MECHANISMY ROSTLIN	20
4.1 Indukovaná obrana rostlin	20
4.2 Konstitutivní obrana rostlin	21
4.3 Strukturní obranné mechanismy	21
4.3.1 Buněčná stěna.....	21
4.3.2 Epidermis	23
4.3.3 Trichomy.....	25
4.3.4 Trny.....	25
4.4 Biochemické obranné reakce	26
4.4.1 Terpenoidy	26
4.4.2 Fenolické látky	26
4.4.3 Sloučeniny dusíku.....	28
4.4.4 Proteiny a enzymy	28
5 IDENTIFIKACE PLÍSNÍ	29
5.1 Vizuální vyšetření	29
5.2 Kultivační metody.....	30
5.3 Sérologické metody.....	30
5.4 Molekulárně-biologické metody	30
6 ZÁVĚR	32
7 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ.....	33

SEZNAM OBRÁZKŮ A TABULEK

Obrázek 1 Cik-cak model rostlinné imunity	12
Obrázek 2 Spory <i>Puccinia emaculata</i>	15
Obrázek 3 <i>Blumeria graminis</i>	16
Obrázek 4 Životní cykly plísní	19
Obrázek 5 Porovnání typů buněčných stěn	22
Obrázek 6 Průřez dvouděložním listem	24
Obrázek 7 Průduch na povrchu listu rajčete.....	24
Obrázek 8 Povrch listu fazole <i>Phaseolis vulgaris</i> s průduchy a jednořadými trichomy	25
Obrázek 9 Skvrny na semenech sojových bobů způsobené <i>Cercospora kikuchii</i>	29
Tabulka 1 Nejvýznamnější rostlinné patogenní houby	17

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

Avr	Faktory avirulence (z angl. Avirulence Factor)
BIO-PCR	Biologická Polymerázová řetězová reakce (z angl. Biological Polymerase Chain)
CAT	Kataláza (z angl. Catalase)
DAS-ELISA	Dvouprotilátkový sendvičový enzymový imunisorbentní test (z angl. Double Antibody Sandwich ELISA)
ETI	Imunita spouštěná efektozem (z angl. Effector-Triggered immunity)
ETS	Efektorem spouštěná citlivost (z angl. Effector-triggered susceptibility)
GR	Glutathionreduktáza (z angl. Glutathione Reductase)
HR	Hypersenzitivní reakce (z angl. Hypersensitivity Reactions)
LAR	Lokálně indukovaná rezistence (z angl. Localized Acquired Resistance)
MAMP	Mikrobům přidružené molekulární vzory (z angl. Mikrobe-Associated Molecular Patterns)
MEA	Agar ze sladového extraktu (z angl. Malt-Extract Agar)
PAL	Fenylalanin amonium-lyáza (z angl. Phenylalanine Ammonia-Lyase)
PAMP	Patogenům přidružené molekulární vzory (z angl. Pathogen-Associated molecular patterns)
PCR	Polymerázová řetězová reakce (z angl. Polymerase Chain Reaction)
PDA	Bramborový dextrózový agar (z angl. Potato Dextrose Agar)
POX	Peroxidáza (z angl. Peroxidases)
PPO	Polyfenoloxidáza (z angl. Polyphenol Oxidases)
PRR	Receptor pro rozpoznávání vzoru (z angl. Pattern recognition receptory)
PTI	Imunita spouštěná vzorci (z angl. Pattern-Triggered Immunity) Reaction)
R-geny	Geny rezistence (z ang. Resistance Genes)
ROS	Reaktivní molekuly kyslíku (z angl. Reactive Oxygen Species)
SA	Kyselina salicylová (z angl. Salicylic Acid)
SAR	Systémově získaná rezistence (z angl. Systemic Acquired Resistance)
SIR	Systémově indukovaná rezistence (z angl. Systemic Induced Resistance)
SOP	Superoxiddismutáza (z angl. Superoxide dismutase)
TPS	Terpensyntáza (z angl. Terpene synthases)

ÚVOD

V posledních letech se zvýšil počet infekčních onemocnění rostlin, které jsou způsobeny především patogenními organismy, mezi které patří převážně plísňe, bakterie a viry.

Rostliny mají vrozenou buněčnou imunitu, ale specifické fytopatogeny (organismy, které jsou schopny vyvolat onemocnění rostlin) mají schopnost se této imunitě vyhýbat. Přestože rostliny postrádají imunitní systém srovnatelný se zvířaty, vyvinuly ohromující řadu strukturálních, chemických a proteinových obran, které jsou navrženy tak, aby detekovaly napadající organismy a zastavily je dříve, než jsou schopny na rostlinách způsobit rozsáhlé škody.

Rostliny poskytují lidské populaci mnoho důležitých potravinářských i nepotravinářských produktů včetně dřeva, barviv, textilií, léků, kosmetiky, mýdel, gumy, plastů, inkoustů a průmyslových chemikálií.

Plísňe jsou významnými patogeny rostlin zodpovědné za výraznější ztráty na výnosech než bakterie nebo viry. Plísňe vyvinuly mechanismy a způsoby, jak napadnout jakoukoli rostlinu, energicky hledají vstup a získávání živin pro svůj růst a vývoj. Tyto patogeny se mohou množit nepohlavně nebo pohlavně a mohou překonat imunitní obranu rostlin. To negativně ovlivňuje zdraví, homeostázu a fyziologii rostlin. V některých případech dochází i k systémovému poškození rostlin.

Plísňe mohou způsobit obrovské ztráty ve výnosu a kvalitě polních plodin, ovoce a dalšího rostlinného materiálu. To v tomto století představuje stále vážnější problém pro lidské zdraví a globální ekonomiku.

Pochopení toho, jak se rostliny brání před plísňovými patogeny, je nezbytné pro ochranu našich zásob potravin a pro rozvoj rostlinných druhů vysoce odolných vůči chorobám.

1 IMUNITNÍ SYSTÉM ROSTLIN

Imunita je ochranná reakce, při které si organismus udržuje vlastní fyziologickou rovnováhu a stabilitu tím, že identifikuje a eliminuje antigenní cizí těleso (Miller a kol., 2017). Rostliny, na rozdíl od savců, postrádají mobilní obranné buňky a somatický adaptivní imunitní systém. Místo toho se spoléhají na vrozenou imunitu každé buňky a na systémové signály vycházející z míst infekce (Bentham a kol., 2020; Mendéz a Romero, 2017).

Rostliny vyvinuly několik vrstev sofistikovaných sledovacích mechanismů, které rozpoznávají potenciálně nebezpečné patogeny a reagují dříve, než mají tyto organismy šanci způsobit vážné poškození. Toto rozpoznání je zajištěno pomocí receptorů lokalizovaných na plazmatické membráně, které rozeznávají neznámé molekulární struktury, které jsou přítomny v patogenech, ale v hostitelské rostlině chybí (Schellenberger a kol., 2019). Tyto sledovací systémy jsou propojeny se specifickými předem naprogramovanými obrannými reakcemi (Butt a kol., 2020).

V roce 2006 Jones a Dangl navrhli jednoduchý koevoluční model interakcí rostlina-patogen, nazývaný cik-cak model (Obr. 1), který zahrnuje dvě větve rostlinného imunitního systému. Dobře definované způsoby rostlinné imunity zahrnují imunitu spouštěnou vzorcí (PTI) a imunitu spouštěnou efektorů (ETI) (Tobias a kol., 2016). Imunita spouštěná vzorcí je aktivována, když membránové receptory vnímají generické molekuly z mikroorganismů. Poskytuje základní imunitu proti celým třídám patogenů. Imunita spouštěná efektořem je aktivována rozpoznáním secernovaných mikrobiálních efektorů intracelulárními receptory a vyvolává silné, specifické a lokalizované imunitní reakce (Tena, 2021).

Tyto obranné mechanismy začínají četnými signalizačními procesy zodpovědnými za vnímání, rozpoznávání, sběr signálů a přenos informací mezi buňkami. K rozpoznání dochází, když jsou detekovány mikrobiální nebo s patogeny asociované molekulární vzorce (MAMP nebo PAMP), což vede k mikrobiálně spouštěné imunitě, která je spojená s molekulárními vzorci nebo vzory typickými pro povrch buněk patogenních mikroorganismů (MTI nebo PTI) (Yang a kol., 2021). Tyto molekulární vzorce jsou rozpoznávány receptory pro rozpoznávání vzorů (PRR) lokalizovaných na povrchu hostitelské buňky (Zhang a Zhou, 2010).

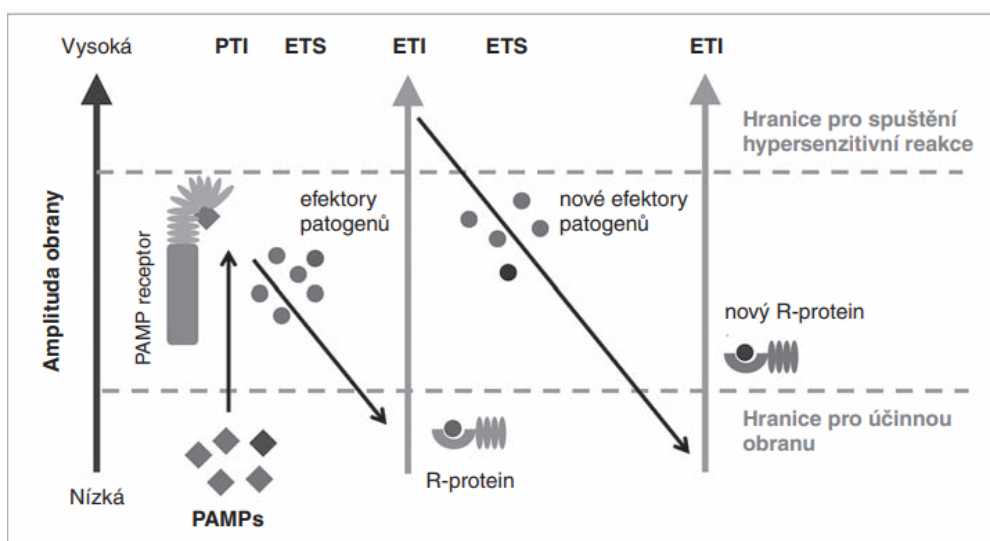
Rozpoznání mikroby přidružené molekulární vzory zahajuje kaskádu signalizačních událostí v imunitní signalizační síti, které vedou k indukci řady imunitních odpovědí, včetně produkce reaktivních forem kyslíku (ROS), ukládání kalózy na buněčnou stěnu a transkripční indukci mnoha obranných genů (Lu a kol., 2009). Adaptované patogeny dodávají do rostlinné buňky efektořer patogenů, které interferují se signalizací imunitu spouštěnou vzorcí

a dostatečně kompromitují imunitu spouštěnou vzorci, aby umožnily proliferaci patogenů (Hatsugai a kol., 2017).

Rostliny vyvinuly další způsob, jak detekovat útok patogenů, a to přímým nebo nepřímým rozpoznáním některých efektorů patogenů pomocí proteinů příbuzné rezistence (R). Geny rezistence jsou obvykle dominantní geny, které poskytují úplnou nebo částečnou rezistenci vůči jednomu nebo více patogenům (Kourelis a Van Der Hoorn, 2018). Toto rozpoznání genů rezistence proteiny spouští signalizační události pro imunitu spouštěnou efektry (Dalio a kol., 2017). Obecně je imunita spouštěná efektry spojena se silnými imunitními reakcemi, typicky včetně programované buněčné smrti rostlinných buněk v místě infekce, což se nazývá **hypersenzitivní reakce (HR)** (Balint-Kurti, 2019).

Hypersenzitivní reakce může významně omezit přístup patogenu k vodě a živinám obětováním několika buněk, aby se zachránil zbytek rostliny. Plísně, bakterie i viry jsou schopny indukovat hypersenzitivní reakce v rostlinách (Freeman a Beattie, 2008).

Jakmile je hypersenzitivní reakce spuštěna, rostlinné tkáně se mohou stát po delší dobu vysoce odolnými vůči širokému spektru patogenů. Tento jev se nazývá **systémová získaná rezistence (SAR)** a představuje zvýšený stav připravenosti, ve kterém jsou mobilizovány rostlinné zdroje v případě dalšího napadení. Vědci se naučili uměle spouštět systémovou získanou rezistenci postřikováním rostlin chemikáliemi nazývanými rostlinné aktivátory. Tyto látky si získávají oblibu v zemědělské komunitě, protože jsou mnohem méně toxické pro člověka a zvěř než fungicidy nebo antibiotika a jejich ochranné účinky mohou trvat mnohem déle (Narusaka a Narusaka, 2017).



Obrázek 1 Cik-cak model rostlinné imunity (Pilátová a Sabol, 2020)

Cik cak model představuje postupné kroky interakce mezi rostlinou a jejím patogenem. Za prvé, molekulární vzory spojené s patogeny (PAMP) jsou rozpoznávány jejich příbuznými receptory pro rozpoznávání vzoru v rostlinách, což vede k imunitě spouštěné pomocí vzorů spojených s patogeny (PTI). Za druhé, patogen vyvíjí efekторы, které znemožňují rozpoznávání molekulárních vzorů spojených s patogeny, což vede k efektořem spouštěné citlivosti (PTS). Za třetí, tyto efekторы se stanou faktory avirulence (Avrs), jakmile si rostlina vyvine příbuzný protein rezistence (R-protein), což vede k imunitě spouštěné efektořem. Nakonec si patogen vyvine nové efekторы nebo ztratí své geny avirulence, aby obešel imunitu spouštěnou efektořem (ETI), což vede k efektořem spouštěné citlivosti (ETS) (Pilátová a Sabol, 2020).

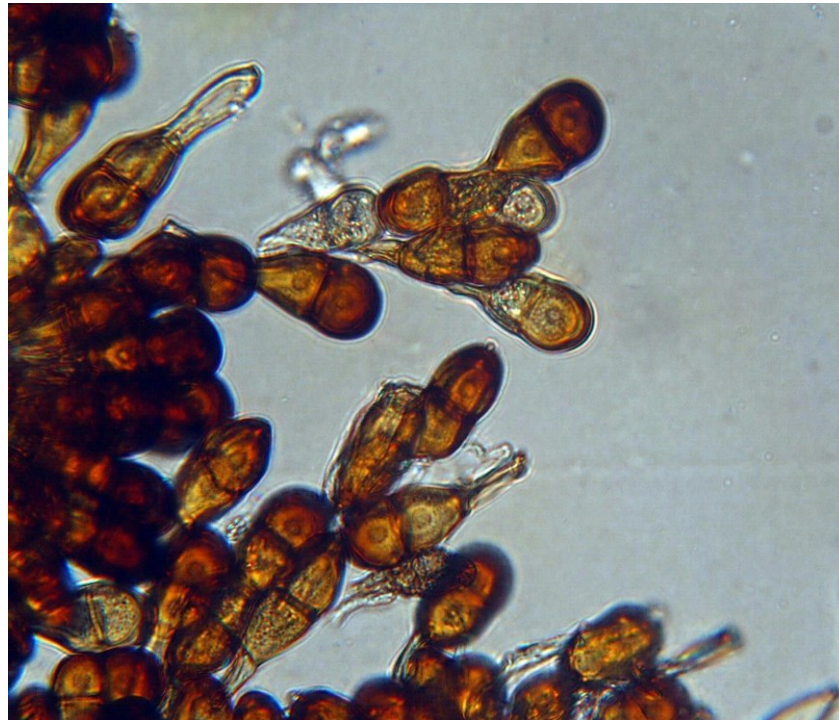
2 ROSTLINNÉ PARAZITICKÉ PLÍSŇ

Plísňe zařazujeme do samostatné říše hub a společně s kvasinkami a kvasinkovitými mikroorganismy tvoří skupinu tzv. mikroskopických hub (mikromycet) (Lotha a kol., 2021). Houby představují velkou a heterogenní eukaryotickou skupinu živých organismů charakterizovaných nedostatkem fotosyntetického pigmentu a chitinózní buněčnou stěnou (González-Fernández a kol., 2010; Ritz, 2005). Houbové rostlinné patogeny náleží k předním biotickým faktorům (přímé nebo nepřímé působení ostatních organismů), které způsobují devastující onemocnění plodin (Ritz, 2005). Přibližně 8 000 druhů hub je spojeno s chorobami rostlin (Fisher a kol., 2020). Patogenní houby infikují rostliny v jakékoli fázi vývoje od fáze semenáčku do fáze zrání semen za přirozených podmínek prostředí, buď samostatně, nebo ve shodě s jinými druhy fytopatogenů (Nazarov a kol., 2020). Nejčastějšími chorobami způsobenými rostlinnými patogenními houbami jsou antraknóza (nekrotický symptom), plíseň, rakovina, chřadnutí, odumírání, skvrnitost listů, padlí, rez, hniloba kořenů, strupovitost a vadnutí (Jain a kol., 2019).

Plísňe jsou mnohojaderné, vláknité houby složené z hyf. Hyfa je rozvětvené vlákno o průměru přibližně 2-10 μm , která je obvykle rozdělena na jednotky podobné buňkám s příčnými stěnami nazývanými septa (Zabel a Morrell, 2020). Soubor hyf se nazývá podhoubí (mycelium) (Islam a kol., 2017). Část mycelia, která ukotvuje plíseň a absorbuje živiny, se nazývá vegetativní mycelium, složené z vegetativních hyf. Část, která produkuje nepohlavní reprodukční spory, je vzdušné mycelium, složené ze vzdušných hyf (Balmant a kol., 2015). Kromě toho jsou plísňe obligátně aerobní a rostou prodlužováním na apikálních špičkách svých hyf, a tak jsou schopny pronikat do povrchů, na kterých začínají růst (Riquelme a kol., 2016). Plísňe mají typické eukaryotické struktury a jejich buněčnou stěnu obvykle tvoří chitin, někdy celulóza a příležitostně obojí (Riquelme a kol., 2018).

Většina plísňí se může množit jak pohlavně, tak i nepohlavně (Nieuwenhuis a James, 2016). Nepohlavní rozmnožování může probíhat fragmentací, pokud je mycelium fyzicky odděleno, mnoho takových oddělených částí bude dále růst (Gaur a kol., 2021). Další forma nepohlavní reprodukce zahrnuje spory (Obr. 2). Každá spora se skládá z jádra a ochranného pláště. Když se spory uvolní, mohou být přenášeny vzduchem, vodou nebo zvířaty (Nazarov a kol., 2020). Mohou být přenášeny na obrovské vzdálenosti a obvykle odolá náročným podmínkám prostředí, včetně tepla, průvanu a chladu. Pokud spora dopadne na vhodný povrch nebo substrát, vyklíčí a vytvoří první hyfy nové plísně (McConnaughey, 2014). Při pohlavním rozmnožování tvoří dva různé typy hyf krátké specializované postranní větve.

Pokud se konce větví setkají, produkují reprodukční buňky zvané gamety, které se spojí a vytvoří zygotu. Zygota pak může vytvořit odolnou stěnu podobnou ochrannému obalu spory, v tomto bodě se nazývá zygospora. Po jednom až několika měsících, za příznivých podmínek, zygospora vyklíčí a začne cyklus znovu (Lotha a kol., 2021).



Obrázek 2 Spory *Puccinia emaculata* (Elizabeth Bush, staženo dne 26.07.2022)

Podle typu parazitismu a infekční strategie jsou houby klasifikovány jako biotrofní (např. *Blumeria graminis*), nekrotrofní (např. *Botrytis cinerea*) nebo hemibiotrofní (např. *Colletotrichum destructivum*). Tyto způsoby výživy jsou velmi odlišné a rostliny si vyvinuly nezávislé obranné mechanismy, aby se potýkaly s tak různými patogeny (González-Rajarammohan, 2021; Fernández a kol., 2010).

2.1 Biotrofní patogeny

Biotrofní patogeny jsou parazité, kteří si vyvinuli prostředky k růstu v živých rostlinných buňkách bez stimulace obranných mechanismů rostlin (Mendgen a Hahn, 2002). To znamená, že jsou schopny se rychle šířit po rostlinné tkáni a zároveň odvádět živiny z živé rostliny, aby podporovaly svůj vlastní růst na úkor produktivity rostlin (Oliver a Ipcho, 2004). Vzhledem ke své poměrně sofistikované povaze způsobují biotrofní patogeny některé z nejrozšířenějších chorob rostlin, které je obtížné kontrolovat. Například padlí ječmene

způsobené *Blumeria graminis* (Obr. 3) je jednou z nejvýznamnějších chorob obilovin (Zhang a kol, 2019).



Obrázek 3 *Blumeria graminis* způsobuje padlí na obilovinách a na listech tvoří válcovitě světlé polštářky mycelia. (Aleš Jirsa, staženo dne 26.7.2022)

2.2 Nekrotrofní patogeny

Nekrotrofní patogeny naproti tomu používají toxiny a depolymerizační enzymy k likvidaci a degradaci rostlinných buněk, přičemž spotřebovávají výsledné produkty (Shao a kol., 2021). Nekrotrofní patogeny není vždy snadné charakterizovat. Někdy mohou být infekce způsobeny biotrofními parazity, kteří kladou na svého hostitele tak velké nutriční nároky, že zabíjejí jeho části a připomínají tak nekrotrofní patogeny. Biotrofní parazité však neprodukují smrtící toxiny a neživí se odumřelými tkáněmi (Spanu a Panstruga, 2017).

2.3 Hemibiotrofní patogeny

Hemibiotrofní patogeny postupně využívají oba typy parazitismu, nejprve biotrofní a poté nekrotrofní způsob výživy (Rajarammohan, 2021).

Pouze omezený počet druhů plísní (Tab. 1) je schopen proniknout do hostitelských tkání a napadnout je, vyhýbat se rozpoznání a obranným reakcím rostlin, aby z nich získal

živiny, což způsobuje onemocnění a někdy i smrt hostitele (González-Fernández a kol., 2010).

Tabulka 1 Nejvýznamnější rostlinné patogenní houby (převzato a upraveno podle Dean a kol., 2012)

Název plísňě	Popis
<i>Magnaporthe oryzae</i> (Plíseň rýže)	Způsobuje závažné onemocnění rýže.
<i>Botrytis cinerea</i> (Plíseň šedá)	Způsobuje cibébovatění bobulí hroznů révy vinné.
<i>Puccinia</i> spp. (Rez travní)	Parazituje na obilí a na dřívěšálu.
<i>Fusarium graminearum</i>	Infikuje obiloviny. Produkce nebezpečných mykotoxinů pro lidi a zvířata.
<i>Fusarium oxysporum</i>	Infikují specifické plodiny včetně banánů a rajčat.
<i>Blumeria graminis</i> (Padlí travní)	Bělavý moučnatý povlak vytvářející se na listech trav.
<i>Mycosphaerella graminicola</i> (Braničnatka pšeničná)	Hnědé skvrny vznikají na čepelích, ale i na pochvách a stéblech.
<i>Colletotrichum</i> spp.	Napadá kořeny, stolony, podzemní části stonků.
<i>Ustilago maydis</i> (Sněť kukuřičná)	Nejrozšířenější choroba kukuřice.
<i>Melampsora lini</i> (Rzivost lnu)	Poškozuje technologické vlastnosti a jakost vlákna.

PROCES NÁKAZY

Rostlina je považována za citlivou k infekci, pokud faktory prostředí změni její fyziologické procesy, což má za následek narušenou strukturu, růst, funkci nebo jiné parametry (Nazarov a kol., 2020).

Infekce rostlin je složitý proces. Při setkání s rostlinou se patogenní mikroorganismy musí nejprve přizpůsobit životu na epifytickém povrchu a přežít dostatečně dlouho, aby vyvolaly infekci. Fytopatogeny následně migrují z epifytického povrchu do rostlinné tkáně pomocí motility a chemotaxe. Tato migrace je spojena s překonáním fyzikálních a chemických překážek při vstupu do rostlinného apoplastu. Jakmile se patogeny dostanou do rostliny, používají řadu sekrečních systémů k uvolnění fytotoxinů a proteinových efektorů, které plní různé patogenní funkce (Pfeilmeier a kol., 2016).

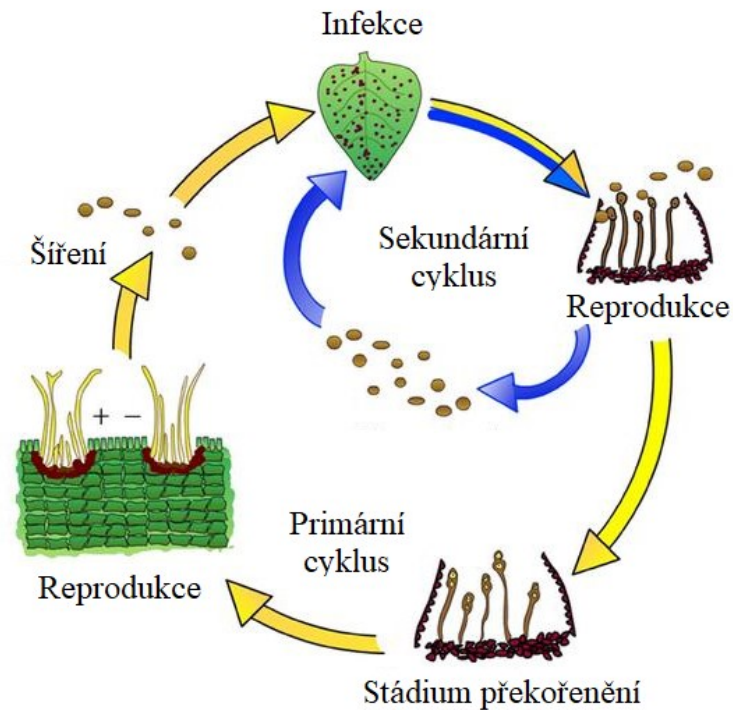
Plísňové patogeny mají komplikované životní cykly s asexuálním i sexuálním rozmnožováním a fázemi zahrnujícími tvorbu různých infekčních, vegetativních a reprodukčních struktur (Obr. 4). Primárními událostmi v cyklu onemocnění jsou usazení infekce, kolonizace (invaze), růst a rozmnožování patogenu, šíření patogenu a přežití patogenu v nepřítomnosti hostitele, to znamená přezimování patogenu. Provedení každého stadia se však značně odlišuje v závislosti na patogenu. U polycyklických onemocnění existuje několik infekčních cyklů v jednom, tzv. sekundární cykly (Rigling, 2021).

Patogenní houby se do rostlin dostávají zpravidla přes poškozené listy a průduchy (Shuding a Ellof, 2017). V mnoha případech však houby vylučují specifické infekční struktury a enzymy, které ničí buněčnou stěnu rostliny (Quoc a Bao Chau, 2017). Podle typu infekční strategie jsou plísně klasifikovány, jak již bylo uvedeno výše, jako biotrofní, nekrotrofní a hemibiotrofní (Chowdhury a kol., 2017).

Biotrofní houby vytvářejí úzké spojení s hostitelem prostřednictvím vývoje specializovaných infekčních hyf nebo haustorií v živých rostlinných buňkách, ze kterých jsou přijímány živiny (Koeck a kol., 2011). Výrůstky hyf, tzv. apresoria, které zajišťují připojení houby k substrátu, a tím umožňují patogenu proniknout buněčnou stěnou pomocí kombinace mechanické síly a enzymů, které degradují buněčnou stěnu rostliny. Haustoria se pohybují od základny apresoria přes zničené oblasti a pronikají do lumenu (Chethana a kol., 2021).

Na druhé straně nekrotrofní houby vylučují toxiny a enzymy, které zabíjejí hostitelské buňky a poté přijímají živiny uvolněné z mrtvé tkáně. Tato druhá strategie může omezit schopnost hostitelské rostliny vyvolat obrannou reakci včetně produkce antifungálních molekul (Shao a kol., 2021). Hemibiotrofní houby kombinují obě strategie (Chowdhury

a kol., 2017). Počáteční biotrofní fáze, během níž je aktivně potlačován imunitní systém hostitele a buněčná smrt, umožňuje šíření invazivních hyf po infikované rostlinné tkáni. Poté následuje nekrotrofní fáze, během níž jsou patogenem vylučovány toxiny, které indukují smrt hostitelské buňky (Koeck a kol., 2011).



Obrázek 4 Životní cykly plísní (převzato a upraveno podle González-Fernández a kol., 2010)

Schéma monocyklických (žlutých) a polycyklických (žlutých a modrých) hub. U monocyklických onemocnění produkuje houba na konci sezóny spory, které slouží jako primární a jediné inokulum pro následující rok. Primární inokulum infikuje rostliny během růstového období a na konci růstového období produkuje nové spory v infikovaných pletivech. Tyto spory zůstávají v půdě (stádium překořnění) a slouží jako primární inokulum v následující sezóně. U polycyklických houbových patogenů se primární inokulum často skládá ze sexuální spory nebo u hub, které postrádají sexuální stadium, některých dalších struktur, jako je mycelium v infikované tkáni (González-Fernández a kol., 2010).

3 OBRANNÉ MECHANISMY ROSTLIN

Mechanismy rezistence vykazované rostlinami můžou být rozděleny na **konstitutivní** (trvalá) a **indukované (dočasné)**. Oba zahrnují strukturální a chemickou obranu (Garcia a kol., 2021). Většina těchto mechanismů je defenzivní, vykazují pasivní roli, ale některé jsou vysoce aktivní proti patogenům, přičemž jako hlavní cíle používají buněčnou stěnu hub, plazmatickou membránu nebo intracelulární cíle (Ferreira a kol., 2007). Konstitutivní obrana je v rostlině vždy přítomna, zatímco indukovaná obrana je syntetizována nebo mobilizována v reakci na poškození rostliny. Konstitutivní obrana je sice neustále aktivována, ale ne vždy je potřeba, což s sebou nese vysoké energetické náklady pro rostliny. Na druhou stranu se indukovaná obrana aktivuje pouze v přítomnosti útočnicka. V této souvislosti teorie ochrany rostlin naznačuje, že indukovatelná rezistence se vyvinula, aby se snížily energetické náklady na konstitutivní obranu (Kant a kol., 2015).

Rostliny se brání proti napadení plísněmi kombinací zbraní dvou typů. Prvním jsou **strukturní obranné mechanismy**, které působí jako bariéry a znemožňují proniknutí patogenu do rostliny nebo jeho šíření rostlinou. Druhým typem jsou **biochemické obranné reakce**, které probíhají v buňkách a tkáních rostlin. Jejich výsledkem je produkce sloučenin, které jsou pro patogen toxické, nebo vytvářejí podmínky, které růst patogenu v rostlině potlačují (Köhl a kol., 2019).

3.1 Indukovaná obrana rostlin

Indukovaná obrana představuje odolnosti vyvolané až po kontaktu rostliny s určitým patogenem, jejíž účinek spočívá v aktivaci některých fyziologických, resp. chemických procesů v rostlině. Indukovatelnost obrany může sloužit k úspoře energie a k prevenci sebe-intoxikace (Kant a kol., 2015). Indukovaný obranný mechanismus zahrnuje různé neenzymatické složky zahrnující fenolové sloučeniny, flavonoidy, ligniny a enzymy pro metabolismus fenolů, jako je fenylalanin amonná lyáza (PAL), polyfenoloxidáza (PPO) a antioxidační enzymy, jako je superoxiddismutáza (SOD), kataláza (CAT), peroxidázy (POX) a glutathionreduktázy (GR), hromadění tříslovin a fytoalexinů. Rozlišují se dva základní mechanismy indukované obrany rostlin. Systémově indukovaná (získaná) rezistence a lokálně indukovaná rezistence (Kaur a spol., 2022).

Systémově indukovaná rezistence (SAR) je zachována u různých rostlin a propůjčuje dlouhodobou rezistenci vůči nepříbuzným patogenům. Systémově indukovaná rezistence může být vyvolána léčbou různými látkami, včetně nekrotizujících patogenů nebo

určitých chemikálií. SAR je zprostředkována procesem závislým na kyselině salicylové (SA) (Walters a kol., 2013).

Lokálně indukovaná rezistence (LAR) je spojena s transportem obranných signálů v rostlině, což vede k odolnosti vůči sekundárním infekcím (Klement a kol., 2003).

3.2 Konstitutivní obrana rostlin

Konstitutivní (nepřetržitá) obrana je taková, která je v rostlině vždy přítomná (Boots a Best, 2018). Zahrnuje mnoho předem vytvořených bariér, jako jsou buněčné stěny, voskové epidermální kutikuly a kůra. Tyto látky nejen chrání rostlinu před invazí, ale také dodávají rostlině pevnost a tuhost. Konstitutivní obrana může být i chemická. Chemické obranné látky jsou sloučeniny produkované rostlinami, které se přímo nepodílejí na normálním růstu, vývoji nebo reprodukci rostlin a často se nazývají sekundární metabolity (Freeman a Beattie, 2008).

Mnoho rostlin produkuje sloučeniny s nízkou molekulovou hmotností, které inhibují růst plísní *in vitro*. Tyto sloučeniny mohou být předem vytvořené inhibitory, které jsou konstitutivně přítomné ve zdravých rostlinách (také známé jako fytoanticipiny), nebo mohou být syntetizovány v reakci na napadení patogeny (fytoalexiny) (Morrissey a Osbourn, 1999).

Chemické látky na ochranu rostlin se již dlouho používají jako insekticidy například pyrethrin z květů druhu *Chrysanthemum* (Paramesha a kol., 2018). Často dochází ke ztrátě obranyschopnosti rostlin během selektivního šlechtění plodin, což činí odrůdy plodin náchylnými vůči škůdcům, kterým jejich divocí příbuzní mohou odolat nebo je tolerovat (Mitchell a kol., 2016).

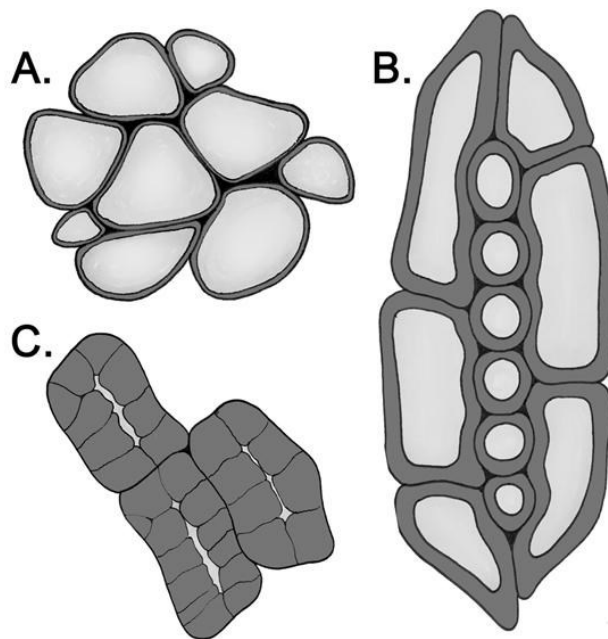
3.3 Strukturní obranné mechanismy

Všechny rostlinné tkáně obsahují předem vytvořené strukturální bariéry, které pomáhají omezit uchycení patogenů, invazi a infekci.

3.3.1 Buněčná stěna

Buněčná stěna (Obr. 5) je hlavní linií obrany proti plísňovým patogenům. Poskytuje vynikající strukturální bariéru, která také zahrnuje širokou škálu chemických obran, které lze rychle aktivovat, když buňka detekuje přítomnost potenciálních patogenů (Houston a kol., 2016). Všechny rostlinné buňky mají primární buněčnou stěnu, která poskytuje strukturální podporu a je nezbytná pro tlak turgoru, a mnohé také tvoří sekundární buněčnou stěnu, která se vyvíjí uvnitř primární buněčné stěny poté, co buňka přestane růst (Bracete a kol., 2017). Primární buněčná stěna se skládá převážně z celulózy, komplexní polysacharid sestávající z tisíců glukózových monomerů spojených dohromady za vzniku dlouhých polymerních

řetězců. Tyto řetězce jsou svázány do vláken zvaných mikrofibrily, které dodávají stěně pevnost a pružnost (Ptashynk a Seguin, 2016). Buněčná stěna může také obsahovat dvě skupiny rozvětvených polysacharidů, a to zesíťující glykany a pektiny (Amos a Mohnen, 2019). Zesíťující glykany zahrnují hemicelulózová vlákna, která dodávají stěně pevnost prostřednictvím příčných vazeb s celulózą. Pektiny tvoří hydratované gely, které pomáhají „stmelovat“ sousední buňky a regulovat obsah vody ve stěně. Patogeny měkké hniloby se často zaměřují na pektiny pro trávení pomocí specializovaných enzymů, které způsobují rozpad buněk (Freeman a Beattie, 2008).



Obrázek 5 Porovnání typů buněčných stěn (převzato a upraveno podle Freeman a Beattie, 2008)

Primární buněčné stěny buněk červené papriky (A) jsou relativně tenké ve srovnání se silnými sekundárními buněčnými stěnami dubového dřeva (B). Stěny pecek hrušek (C) jsou tak silné, že buněčný lumen je sotva viditelný (převzato a upraveno podle Freeman a Beattie, 2008).

Mnoho buněčných stěn také obsahuje **lignin**, heterogenní polymer složený z fenolických sloučenin, který dodává buňce tuhost (Zeng a kol., 2017). Lignin je primární složkou dřeva a buněčné stěny, je vysoce nepropustný pro patogeny a pro malý hmyz je obtížný k žvýkání (Nair a kol., 2017; Stravoravdis a kol., 2021). Kutin, suberin a vosky jsou tukové látky, které se mohou ukládat buď v primárních nebo sekundárních buněčných stěnách

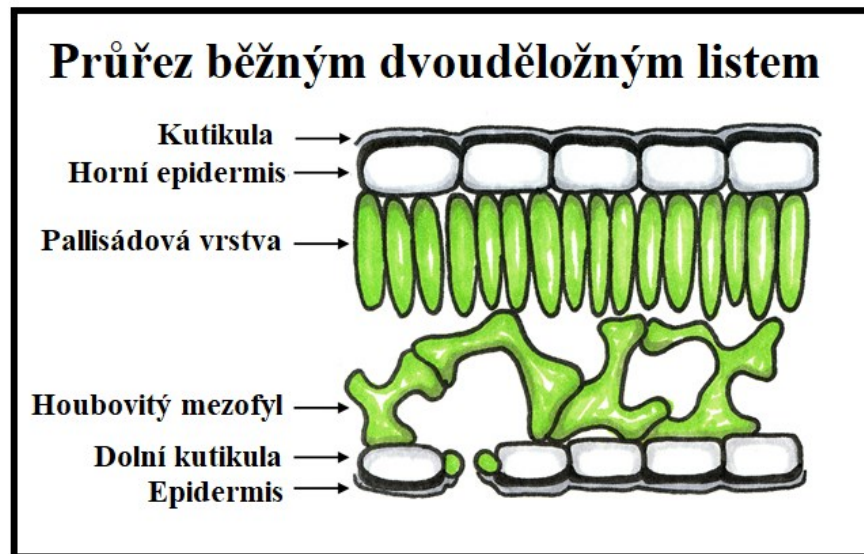
(nebo v obou) a vnějších ochranných tkáních rostlinného těla, včetně kůry (Freeman a Beattie, 2008).

Buněčné stěny obsahují také **proteiny a enzymy**, které aktivně pracují na přetváření stěny během buněčného růstu, ale zároveň zesilují a posilují stěnu během indukované obrany (Alberts a kol., 2002). Když rostlinná buňka detekuje přítomnost potenciálního patogenu, enzymy katalyzují oxidační reakci, která produkuje vysoce reaktivní molekuly kyslíku schopné poškodit buňky napadajících organismů. Reaktivní molekuly kyslíku také pomáhají posilovat buněčnou stěnu tím, že katalyzují křížové vazby mezi polymery buněčné stěny a slouží jako signál sousedním buňkám, že probíhá napadení (Torres a kol., 2006). Rostlinné buňky také reagují na mikrobiální napadení rychlou syntézou a ukládáním kalózy mezi buněčnou stěnu a buněčnou membránu sousedící s napadajícím patogenem. Kalózová ložiska, nazývaná papily, jsou polysacharidové polymery, které brání buněčné penetraci v místě infekce, a ty jsou často produkovány jako součást indukované bazální obranné reakce (Wang a kol., 2021).

3.3.2 Epidermis

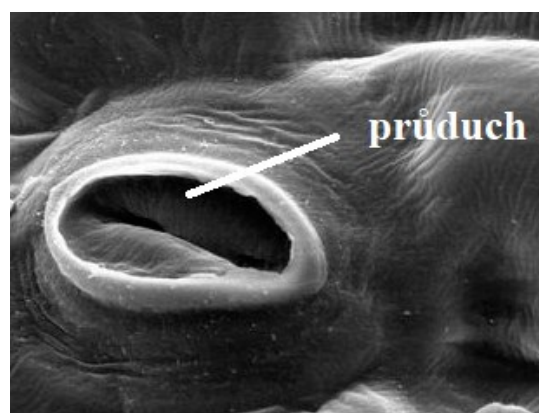
Epidermis (Obr. 6) vytváří nejvzdálenější ochranný tkáňový systém listů, částí květů, plodů, semen, stonků a kořenů rostlin, dokud neprojdou značným sekundárním růstem. Je to první obranná linie proti napadajícím patogenům a skládá se ze specializovaných i nesespecializovaných buněk (Segado a spol., 2016). Epidermální buňky vzdušných částí rostlin jsou často pokryty voskovou kutikulou. Kutikula může být relativně tenká (u vodních rostlin) nebo extrémně silná (u kaktusů). Hydrofobní povaha kutikuly zabraňuje shromažďování vody na povrchu listu, což je důležitá obrana proti mnoha houbovým patogenům, které pro klíčení spor vyžadují stojatou vodu na povrchu listu (Wolff-Vorbeck a kol., 2021). Nicméně, *Fusarium solani* produkuje kutinázy, které degradují kutikulu a umožňují houbám proniknout do epidermis (Arya a Cohen, 2022). Chemicky syntetizované monomery kutikuly také aktivují vývoj hub (Ahmed a kol., 2003). Patogeny degradující kutikulu snímají povrchy rostlin kutinovými monomery, které aktivují houbovou kutinolytickou aktivitu (schopnost rozkládat kutikulu). Kutinové monomery jsou zpočátku generovány bazální kutinázovou aktivitou ve sporách plísni přistávajících na povrchu rostlin. Snímání kutinových monomerů vyvolává vysoké hladiny kutinázy potřebné pro penetraci. Kromě monomerů kutinu aktivují vývojové procesy u plísni i povrchové vosky. Například povrchové vosky avokáda, včetně terpenoidních složek, indukují klíčení a tvorbu apresoria u *Colletotrichum gloeosporioides*, patogenu avokáda (Serrano, 2014).

Mezi mnoha nesespecializovanými buňkami epidermis jsou rozptýleny ochranné buňky, které regulují výměnu plynů přes malé otvory zvané průduchy (Obr. 7). Tyto póry umožňují, aby oxid uhličitý vstoupil do listu pro použití při fotosyntéze a zároveň omezují nadměrné ztráty vody z rostliny (Melotto a kol., 2008). Velikost stomatálních pórů je rostlinami vysoce regulována a ochranné buňky se mohou podílet na obraně uzavřením v reakci na přítomnost mikroby přidružených molekulárních vzorů (Panchal a Melotto, 2017).



Obrázek 6 Průřez dvouděložním listem (převzato a upraveno podle Freeman a Beattie, 2008)

Epidermis rostlin je ochranná vrstva buněk, která je obvykle pokryta tenkou voděodolnou kutikulou, která pomáhá předcházet ztrátě vody z rostliny (převzato a upraveno podle Freeman a Beattie, 2008).

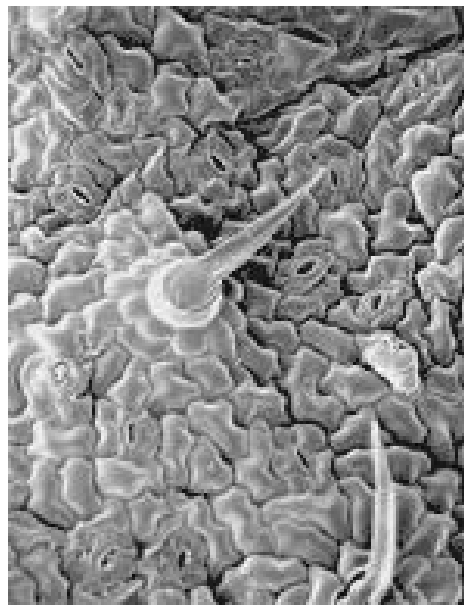


Obrázek 7 Průduch na povrchu listu rajčete (převzato a upraveno podle Freeman a Beattie, 2008)

3.3.3 Trichomy

Trichomy („chlupy listů“) jsou specializované epidermální buňky, které se vyvinuly na téměř všech strukturách nevodních rostlin, jako jsou listy (Obr. 8), stonky a dokonce i plody, mohou být žláznaté nebo nežláznaté, jednobuněčné nebo mnohobuněčné a často slouží jako fyzické bariéry proti plísním. Žláznaté trichomy rostlin mohou selektivně vylučovat v bazipetálním směru monoterpenoidy, které se mohou dostat do vzdálených tkání, podílet se na chemických přeměnách a imunizovat sazenice proti plísním (Ramirez a kol., 2012).

Mohou poskytovat fyzickou i chemickou ochranu proti hmyzím škůdcům (Xing a kol., 2017). Trichomy na povrchu sójových bobů (*Glycine max*) zabraňují vajíčkům hmyzu dostat se k epidermis a larvy po vylíhnutí hladoví. Vnější kůra je vynikajícím příkladem předem vytvořené strukturální bariéry, která obsahuje vysoké množství voděodolného suberinu a zabraňuje mnoha patogenům a hmyzu dostat se do živých buněk pod ní (Mirnezami a kol., 2020).



Obrázek 8 Povrch listu fazole *Phaseolis vulgaris* s průduchy a jednořadými trichomy (převzato a upraveno podle Freeman a Beattie, 2008)

3.3.4 Trny

Trny jsou upravené větve, které chrání rostliny před pasoucími se obratlovci. Mnoho kaktusů vytváří trnové struktury, které jsou ve skutečnosti upravené listy nebo části listů (např. palisty) nazývané ostny, které slouží podobným účelům (Halpern a kol., 2007). Botanicky řečeno, „trny“ na stonku růžových rostlin (*Rosa* spp.) nejsou ani pravé trny, jsou to

výrůstky epidermis zvané ostny (Swarnkar a kol., 2021). Tato strukturní obrana je proti plísním neúčinná.

3.4 Biochemické obranné reakce

Rostlinné chemikálie lze rozdělit do dvou hlavních kategorií, a to primární metabolity a sekundární metabolity. Primární metabolity jsou látky produkované všemi rostlinnými buňkami, které se přímo podílejí na růstu, vývoji nebo reprodukci. Příklady zahrnují cukry, proteiny, aminokyseliny a nukleové kyseliny (Hussein a El-Anssary, 2017). Sekundární metabolity nejsou přímo zapojeny do růstu nebo reprodukce, ale často se podílejí na obraně rostlin (Erb a Kliebenstein, 2020). Tyto sloučeniny obvykle patří do jedné ze tří velkých chemických tříd (terpenoidy, fenoly a alkaloidy).

3.4.1 Terpenoidy

Terpenoidy (terpeny) se vyskytují ve všech rostlinách a představují největší třídu sekundárních metabolitů (Isah a kol., 2018). Nejjednodušším terpenoidem je uhlovodík isopren (C_5H_8), těkavý plyn emitovaný během fotosyntézy ve velkém množství listy, které mohou chránit buněčné membrány před poškozením způsobeným vysokou teplotou nebo světlem (Pollastri a kol., 2021). Terpenoidy jsou klasifikovány podle počtu izoprenových jednotek použitých k jejich konstrukci. Například monoterpenoidy se skládají ze dvou izoprenových jednotek, seskviterpenoidů (tři jednotky), diterpenoidů (čtyři jednotky) a triterpenoidů (šest jednotek) (Perveen, 2018). Terpeny jsou kritickými složkami obrany rostlin proti plísním (Peter, 2021). Například zralé pomeranče primárně akumulují terpeny ve žlázách šlupky, což vede k rezistenci vůči infekci způsobené *Penicillium digitatum* (Rodríguezová a kol., 2014). Dále v rostlinách česneku infikovaných *Sclerotium cepivorum* byly detekovány terpeny, jejichž hladiny se zvýšily v reakci na přítomnost plísně. Tento přírůstek koreluje se zvýšením aktivity terpensyntázy (TPS). Terpeny nerolidol a terpinolen snižují růst mycelia a produkci sklerocií. Terpenové fungistatické působení je založeno na změnách permeability membrány (Pontin a kol., 2015). Monoterpeny zase vykazují inhibiční účinky na růst mycelia některých fytopatogenních hub, jako jsou *Rhizoctonia solani* a *Fusarium oxysporum* (Gehan a Samir, 2017).

3.4.2 Fenolické látky

Fenolické látky jsou další velkou třídou sekundárních metabolitů produkovaných rostlinami k obraně proti patogenům. Tyto sloučeniny působí jako atraktanty pro užitečné organismy nebo jako toxické látky proti napadajícím škůdcům a patogenům. Účinky těchto

metabolických sloučenin se často zesilují během stresových podmínek a působí jako první obranná linie zajišťující odolnost rostlin vůči chorobám (Pratyusha, 2021). Jsou produkovány primárně cestou kyseliny šikimové a kyseliny malonové v rostlinách (Stravoravdis a Saltveit, 2017). Zahrnují širokou škálu sloučenin souvisejících s obranou, včetně flavonoidů, antokyanů, fytoalexinů, taninů, ligninu a furanokumarinů (Chowdhary a spol., 2022).

Flavonoidy jsou jednou z největších tříd fenolických látek. Antokyaniny jsou barevné ve vodě rozpustné flavonoidní pigmenty produkované rostlinami k ochraně listů před škodlivými účinky ultrafialového záření (Del Valle a kol., 2020). Antokyaniny jsou zodpovědné za okázalé barvy mnoha rostlin a na podzim jsou přítomny ve vysokých koncentracích v květech, plodech a listech rostlin (Manninen a kol., 2020). Antokyaniny přispívají k obraně plodů proti plísním. Se zvyšujícím se obsahem antokyanů klesá riziko hniloby plodů u odrůd infikovaných *Botrytis cinerea*. Dále antokyaniny přímo inhibují rychlost růst hub na agarových plotnách. Je také známo, že 3-deoxyanthokyanidin a apigeninidin snižují růst plísní *in vitro* (Schaefer a kol., 2008).

Fytoalexiny jsou isoflavonoidy s antibiotickými a antifungálními vlastnostmi, které jsou produkovány v reakci na napadení patogenem. Tyto toxické molekuly narušují metabolismus patogenů nebo buněčnou strukturu, ale často jsou svou toxicitou specifické pro patogeny (Pratyusha, 2021). Například tenualexin je nejúčinnější antifungální sloučeninou mezi fytoalexiny obsahujícími nitril (Pedras a Abdoli, 2017). Fytoalexiny mohou také vykazovat určité účinky na cytologické, morfologické a fyziologické charakteristiky buněk hub. Aktivita čtyř fytoalexinů z čeledi *Solanaceae* (rishitin, fytuberin, anhydro- β -rotunol a solavetivone) na tři druhy *Phytophthora* má za následek zakulacení buněk spojené s určitou úrovní bobtnání, cytoplazmatickou granulaci a prasknutí buněčné membrány. Poslední dva jsou velmi obecnými rysy působení fytoalexinů na buňky hub. Camalexin se nedávno podílel na indukci houbové apoptotické programované buněčné smrti u *B. cinerea*. Pozorování konidií *B. cinerea* ukázala úplnou dezorganizaci mitochondrií a narušení plazmatické membrány po léčbě stilbenovými fytoalexiny, resveratrolem a pterostilbenem (Jeanandet a kol., 2014). Dále byla prokázána účinnost *in vivo* některých fytoalexinů, jmenovitě kumarinového fytoalexinu, skopoletinu na redukci příznaků zelené plísně způsobených *Penicillium digitatum* na pomerančích. Ke zvýšení fungitoxicity fytoalexinů je zapotřebí navrhnout syntézu aktivnějších derivátů fytoalexinu (Chalal a kol., 2014).

3.4.3 Sloučeniny dusíku

Alkaloidy jsou velkou třídou dusíkatých sloučenin hořké chuti, které se nacházejí v mnoha cévnatých rostlinách a zahrnují kofein, kokain, morfin a nikotin. Jsou odvozeny z aminokyselin aspartát, lysin, tyrosin a tryptofan a mnohé z těchto látek mají silné účinky na fyziologii zvířat (Ali a kol., 2019). Mezi alkaloidní molekuly řadíme také saponiny. Saponiny se vyskytují konstitutivně u mnoha druhů rostlin a které mají často antifungální aktivitu. Hlavní mechanismus antifungální aktivity saponinů je způsoben jejich schopností komplexovat se steroly v houbových membránách a způsobit ztrátu integrity membrány (Morrissey a kol., 1999).

3.4.4 Proteiny a enzymy

Mnoho rostlin v semenech obsahuje proteiny, které specificky inhibují enzymy patogenů a škůdců vytvářením komplexů, které blokuje aktivní místa nebo mění konformace enzymů, což v konečném důsledku snižuje funkci enzymu. Tyto proteiny jsou obecně malé a bohaté na aminokyselinu cystein. Zahrnují defensiny, inhibitory amylázy, lektiny a inhibitory proteináz (Dang a Van Damme, 2015). Na rozdíl od jednoduchých chemikálií, jako jsou terpenoidy, fenoly a alkaloidy, proteiny vyžadují k výrobě velké množství rostlinných zdrojů a energie. V důsledku toho se mnoho obranných proteinů tvoří pouze ve významných množstvích poté, co patogen nebo škůdce napadl rostlinu. Jakmile jsou však obranné proteiny a enzymy aktivovány, účinně inhibují houby, bakterie a hmyzí škůdce (Jain a spol., 2022).

Rostlinné defensiny jsou malé antimikrobiální peptidy, které primárně inhibují růst houbových rostlinných patogenů (Sathoff a kol., 2018). Některé defensiny působí extracelulárně na houby a zaměřují se na specifické sfingolipidy usídlené na plazmatické membráně, narušují integritu membrány a aktivují dráhy buněčné toxicity. Nedávno byly objeveny defensiny, které jsou internalizovány plísnovými buňkami a inhibují růst plísní. *Nicotiana glauca* defensin NaD1 a rajčatový defensin TPP3 se váží na plazmatickou membránu na fosfatidylinositol-4,5-bisfosfát a tato interakce má za následek oligomerizaci každého defensinu vyššího řádu a permeabilizaci plazmatické membrány houby. MtDef4 je rostlinný defensin luštěniny *Medicago truncatula*. Jeho homology jsou přítomny ve všech studovaných dvouděložných a jednoděložných rostlinách. Vykazuje silnou antifungální aktivitu *in vitro* proti širokému spektru vláknitých hub, včetně hemibiotrofního houbového patogenu askomycet, *Fusarium graminearum* (El-Mounadi a kol., 2016).

4 IDENTIFIKACE PLÍSNÍ

Včasná diagnostika chorob rostlin je klíčovým faktorem, který rozhoduje o včasném použití ochranných opatření a ve svém důsledku rozhoduje o výnosu a kvalitě rostlinných produktů (Nazarov a kol., 2020). Pro detekci, identifikaci a kvantifikaci houbových patogenů přítomných v infikovaných nadzemních a podzemních částech rostlin a reprodukčních orgánech různých typů rostlin lze použít mnoho typů diagnostických technik. Pro přesnou identifikaci chorob rostlin jsou v současnosti kromě klasického vizuálního zkoumání zapotřebí sérologické metody a metody založené na technologiích DNA a RNA (Dayarathne a kol., 2021). Mezi metody založené na detekci DNA patří fluorescenční in situ hybridizace, různé techniky polymerázové řetězové reakce (PCR), včetně multiplexní PCR, real-time PCR a DNA fingerprinting. Existují také přístupy založené na RNA například izotermická amplifikace nukleových kyselin a reverzní transkripční PCR (Nazarov a kol., 2020).

4.1 Vizuální vyšetření

Některé houbové patogeny mohou způsobit příznaky na semenech, které jsou viditelné pouhým okem, nebo alespoň při malém zvětšení (Chen a kol., 2007). Někdy lze symptomy připisat určitým druhům hub, jako je změna barvy, scvrknutí a praskliny na semenech sóji, které jsou typické pro *Phomopsis* spp. a *Cercospora kikuchii* a skvrny na semenech arašídů (Obr. 9), které jsou způsobeny *Cylindrocladium parasiticum*. Ve většině případů se identifikace patogenu pouze na základě takových znaků nedoporučuje, protože tyto mohou být společné několika houbám (Mancini a kol., 2016).



Obrázek 9 Skvrny na semenech sojových bobů způsobené *Cercospora kikuchii* (Li a kol., 2019)

4.2 Kultivační metody

Kultivační metody jsou nejčastěji používanou technikou pro detekci houbových patogenů. Semena lze inkubovat v Petriho miskách, které obsahují středně impregnovaný filtrační papír (tj. blotting) nebo různá agarová média, za podmínek, které podporují růst plísni a sporulaci. Takové vzorky jsou obecně vystaveny cyklům světlo-tma (12/12 hodin). Časy a teploty pro inkubaci na miskách se liší v závislosti na druhu houby, ale obecně kultivace probíhá od 2 do 10 dnů při teplotě od 20 do 28 °C (Shovan a kol., 2008). Agarové médium nejčastěji používané pro identifikaci plísni je neselektivní bramborový dextrózový agar (PDA) a agar ze sladového extraktu (MEA) (Black a Wang, 2020).

4.3 Sérologické metody

Mezi nejčastější metody sérologické diagnostiky patří enzymová imunoanalýza, imunoblotování, dot-blot hybridizace, imunochromatografie a sérologicky specifická elektronová mikroskopie (Burrell, 2017).

Imunologické metody detekce patogenů přenášených semenem jsou založeny na použití polyklonálních nebo monoklonálních protilátek, které se specificky vážou na cílový antigen, což umožňuje následnou detekci patogenu enzymatickou konverzí substrátů nebo pomocí fluorescenčních značek. Nejčastěji používanou imunologickou metodou je dvouprotilátkový sendvičový enzymový imunosorbentní test (DAS-ELISA) (Warda kol., 2004). Sérologické testy nevyžadují čistou izolaci patogenu, a proto jsou použitelné pro biotrofní i nekrotrofní patogeny přenášené semenem. Tyto testy jsou široce používány pro detekci virů přenášených semenem, ale méně pak pro houbové rostlinné patogeny, kvůli nedostatku druhově specifických protilátek. Kromě toho mohou sérologické testy také detekovat neživotoschopné patogeny, což může vést k chybným interpretacím (Mancini a kol., 2016).

4.4 Molekulárně-biologické metody

Jednou z nejdůležitějších výhod, kterou mají molekulární detekční techniky oproti konvenčním diagnostickým metodám, je v zásadě schopnost rozlišovat mezi blízce příbuznými organismy. Problémem však může být přítomnost sloučenin v semenech, které mohou inhibovat amplifikaci DNA, což vede k falešně negativním výsledkům. K překonání těchto omezení bylo vyvinuto několik modifikací, počínaje extrakcí DNA až po amplifikaci DNA (Mancini a kol., 2016).

PCR má mnoho pozitivních vlastností, včetně rychlosti, specifčnosti, citlivosti a snadné interpretace, které ji činí vhodnou pro detekci patogenů přenášených semenem

(Carvalho-Pereira a kol., 2020). V důsledku tohoto velkého potenciálu bylo za posledních 20 let popsáno mnoho testů založených na PCR pro identifikaci patogenů přenášených semeny např. *Ascochyta lentis* ze semen čočky, *Alternaria radicina* ze semen mrkve (Mancini a kol., 2016).

Semena jsou často zamořena plísněmi ve velmi nízkých úrovních, a proto DNA patogenu není získána v dostatečném množství pro následné reakce. K vyřešení tohoto problému byla vyvinuta vysoce citlivá PCR technika BIO-PCR. Ta sestává z kroku inkubace před testem ke zvýšení biomasy houbového patogenu na semenech, po kterém pak následuje extrakce DNA a amplifikace pomocí PCR (Kumar a kol., 2020). Zpočátku byla tato technika aplikována hlavně na fytopatogenní bakterie, protože ty se snadno a rychle kultivují 2–3 dny v růstovém médiu, později se ukázalo, že je tato metoda také účinná pro houby (Schen a kol., 2004).

Nyní se vyvíjejí další nové přístupy pro přesnější a citlivější detekci plísní. Jedná se o sekvenování a metagenomickou analýzu nové generace a také biosenzorové technologie založené na elektrochemii a biofotonice. Moderní metody by tedy umožňovaly přesnou identifikaci plísní i při absenci příznaků infekce (Hariharana a Prasannath, 2021).

5 ZÁVĚR

Cílem této práce bylo zpracovat literární rešerši na téma obranné mechanismy rostlin proti plísním. Imunitní systém rostlin obsahuje rozmanité obranné mechanismy, kterými se rostliny chrání proti fytopatogenům, jako jsou například i plísně. Pochopení těchto procesů je v dnešní době důležité, protože na základě zjištěných poznatků může věda rychleji a lépe diagnostikovat plísňové onemocnění rostlin a zabránit tak např. rozsáhlým škodám na plodinách nezbytných pro lidskou populaci.

Rostliny si vyvinuly obranné mechanismy proti plísním zahrnující strukturální a biochemické bariéry. Všechny rostlinné tkáně obsahují předem vytvořené strukturální bariéry, které pomáhají omezit uchycení patogenů, invazi a infekci. Buněčná stěna je hlavní linií obrany proti plísním. Biochemické obranné mechanismy zahrnují sloučeniny, které jsou akumulovány v jednotlivých částech rostlin (plody, listy) a způsobují rezistenci k infekcím, které jsou vyvolány plísněmi. Tyto sloučeniny obvykle spadají pod jednu ze tří velkých chemických tříd (terpenoidy, fenoly a alkaloidy).

I když se přístupy diagnostiky plísní v nedávné minulosti podstatně rozšířily je před námi ještě dlouhá cesta. Diagnostické postupy musí být spolehlivější, rychlejší a jednodušší. Podle mého názoru by se měl výzkum v budoucnu zaměřit na vývoj nových fungicidů a šlechtění nových odrůd potravinářských a průmyslových rostlin odolných proti fytopatogenům.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZDROJŮ

- AHMED, A., T. CRAWFORD, S. GOULD, a kol., 2003. Synthesis of (R)- and (S)-10,16-dihydroxyhexadecanoic acid: cutin stereochemistry and fungal activation. *Phytochemistry* [online]. 63(1) [cit. 2022-07-28]. ISSN 00319422. Dostupné z: doi:10.1016/S0031-9422(03)00003-7
- ALBERTS, B., 2002. *Molecular Biology of the Cell*. 4th edition: The Plant Cell Wall [online]. [cit. 2022-07-22]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK26928/>
- ALI, A. H., 2019. Alkaloid Role in Plant Defense Response to Growth and Stress. *Bioactive Molecules in Plant Defense* [online]. Cham: Springer International Publishing, 2019-09-20 [cit. 2022-07-22]. ISBN 978-3-030-27164-0. Dostupné z: doi:10.1007/978-3-030-27165-7_9
- AMOS, R. A. a D. MOHNEN, 2019. Critical Review of Plant Cell Wall Matrix Polysaccharide Glycosyltransferase Activities Verified by Heterologous Protein Expression. *Frontiers in Plant Science* [online]. 10 [cit. 2022-07-22]. ISSN 1664-462X. Dostupné z: doi:10.3389/fpls.2019.00915
- ARYA, G. Ch. a H. COHEN, 2022. The Multifaceted Roles of Fungal Cutinases during Infection. *Journal of Fungi* [online]. 8(2) [cit. 2022-07-22]. ISSN 2309-608X. Dostupné z: doi:10.3390/jof8020199
- BACETE, L., H. MÉLIDA, E. MIEDES, a kol., 2018. Plant cell wall-mediated immunity: cell wall changes trigger disease resistance responses. *The Plant Journal* [online]. 93(4) [cit. 2022-07-23]. ISSN 09607412. Dostupné z: doi:10.1111/tpj.13807
- BALINT-KURTI, P., 2019. The plant hypersensitive response: concepts, control and consequences. *Molecular Plant Pathology* [online]. [cit. 2022-07-21]. Dostupné z: doi:10.1111/mpp.12821
- BALMANT, W., 2015. A Model for Growth of a Single Fungal Hypha Based on Well-Mixed Tanks in Series: Simulation of Nutrient and Vesicle Transport in Aerial Reproductive Hyphae. *PLOS ONE* [online]. 10(3) [cit. 2022-07-21]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0120307
- BENTHAM, A. R., J.C. DE LA CONCEPCION, N. MUKHI, a kol., 2020. A molecular roadmap to the plant immune system. *Journal of Biological Chemistry* [online]. 2020, 295(iss. 44) [cit. 2022-07-21]. ISSN 00219258. Dostupné z: doi:10.1074/jbc.REV120.010852
- BLACK, W. a Z. WANG, 2020. A comparison of several media types and basic techniques used to assess outdoor airborne fungi in Melbourne, Australia. *PLOS ONE* [online]. 15(12) [cit. 2022-07-22]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0238901

BOOTS, M. a A. BEST, 2018. The evolution of constitutive and induced defences to infectious disease. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* [online]. 285(1883) [cit. 2022-07-24]. ISSN 0962-8452. Dostupné z: doi:10.1098/rspb.2018.0658

BURRELL, Ch. J., C. R. HOWARD a F. A. MURPHY, 2017. Laboratory Diagnosis of Virus Diseases. *Fenner and White's Medical Virology* [online]. [cit. 2022-07-22]. ISBN 9780123751560. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-375156-0.00010-2

BUSH, E., 2008. Virginia polytechnic institute and state university. *Switchgrass rust (Puccinia emaculata)* [online]. [cit. 2022-07-28]. Dostupné z: <https://www.forestryimages.org/browse/detail.cfm?imgnum=5383148#>

BUTT, G. R., Z. A. QAYYUM a M. A. JONES, 2020. Plant Defence Mechanisms Are Modulated by the Circadian System. *Biology* [online]. 9(12) [cit. 2022-07-21]. ISSN 2079-7737. Dostupné z: doi:10.3390/biology9120454

C. DAYARATHNE, M., A. U. MRIDHA a Y. WANG, 2021. Diagnosis of Fungal Plant Pathogens Using Conventional and Molecular Approaches. *Diagnostics of Plant Diseases* [online]. IntechOpen [cit. 2022-07-22]. ISBN 978-1-83962-515-2. Dostupné z: doi:10.5772/intechopen.94980

CARVALHO-PEREIRA, J., F. FERNANDES, R. ARAÚJO, a kol., 2020. Multiplex PCR Based Strategy for Detection of Fungal Pathogen DNA in Patients with Suspected Invasive Fungal Infections. *Journal of Fungi* [online]. 6(4) [cit. 2022-07-22]. ISSN 2309-608X. Dostupné z: doi:10.3390/jof6040308

DALIO, R., J. D., D. M. MAGALHÃES, C. M. RODRIGUES, 2017. PAMPs, PRRs, effectors and R-genes associated with citrus–pathogen interactions. *Annals of Botany* [online]. [cit. 2022-07-21]. ISSN 0305-7364. Dostupné z: doi:10.1093/aob/mcw238

DANG, L. a E.J.M. VAN DAMME, 2015. Toxic proteins in plants. *Phytochemistry* [online]. 117 [cit. 2022-07-24]. ISSN 00319422. Dostupné z: doi:10.1016/j.phytochem.2015.05.020

DEAN, R., J. A. L. VAN KAN, Z. A. PRETORIUS, a kol., 2012. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology* [online]. 13(4), 414-430 [cit. 2022-07-21]. ISSN 14646722. Dostupné z: doi:10.1111/j.1364-3703.2011.00783.x

DEL VALLE, J.C., 2020. UV radiation increases phenolic compound protection but decreases reproduction in *Silene littorea*. *PLOS ONE* [online]. 15(6) [cit. 2022-07-22]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0231611

EL-MOUNADI, K., K. T. ISLAM a P. HERNÁNDEZ-ORTIZ, a kol., 2016. Antifungal mechanisms of a plant defensin MtDef4 are not conserved between the ascomycete fungi

Neurospora crassa and *Fusarium graminearum*. *Molecular Microbiology* [online]. 100(3), 542-559 [cit. 2022-07-28]. ISSN 0950-382X. Dostupné z: doi:10.1111/mmi.13333

ERB, M. a D. J. KLIEBENSTEIN, 2020. Plant Secondary Metabolites as Defenses, Regulators, and Primary Metabolites: The Blurred Functional Trichotomy. *Plant Physiology* [online]. 184(1) [cit. 2022-07-22]. ISSN 0032-0889. Dostupné z: doi:10.1104/pp.20.00433

FERREIRA, R. B., S. MONTEIRO, R. FREITAS, a kol., 2007. The role of plant defence proteins in fungal pathogenesis. *Molecular Plant Pathology* [online]. 8(5), 677-700 [cit. 2022-07-22]. ISSN 1464-6722. Dostupné z: doi:10.1111/j.1364-3703.2007.00419.x

FISHER, M. C., S. J. GURR, Ch. A. CUOMO, a kol., 2020. Threats Posed by the Fungal Kingdom to Humans, Wildlife, and Agriculture. *MBio* [online]. 11(3), e00449-20 [cit. 2022-07-21]. ISSN 2161-2129. Dostupné z: doi:10.1128/mBio.00449-20

FREEMAN a BEATTIE, 2008. An Overview of Plant Defenses against Pathogens and Herbivores. *The Plant Health Instructor* [online]. [cit. 2022-07-21]. Dostupné z: doi:10.1094/PHI-I-2008-0226-01

GAUR, A., A. AUGUSTYN, A. ZEIDAN, a kol. 2021. Britannica. The Editors of Encyclopaedia. "mold". *Encyclopedia Britannica* [online], Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/mold-fungus>.

GEHAN I KH, M. a A. SAMIR A M, 2017. Antifungal potential and biochemical effects of monoterpenes and phenylpropenes on plant. *Plant Protection Science* [online]. 54(1) [cit. 2022-07-28]. ISSN 12122580. Dostupné z: doi:10.17221/9/2017-PPS

GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, R., E. PRATS a J. V. JORRÍN-NOVO, 2010. Proteomics of Plant Pathogenic Fungi. *Journal of Biomedicine and Biotechnology* [online]. 1-36 [cit. 2022-07-21]. ISSN 1110-7243. Dostupné z: doi:10.1155/2010/932527

HALPERN, M., 2007. Plant biological warfare: thorns inject pathogenic bacteria into herbivores. *Environmental Microbiology* [online]. 9(3) [cit. 2022-07-22]. ISSN 1462-2912. Dostupné z: doi:10.1111/j.1462-2920.2006.01174.x

HARIHARAN, G. a K. PRASANNATH, 2021. Recent Advances in Molecular Diagnostics of Fungal Plant Pathogens: A Mini Review. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* [online]. 10 [cit. 2022-07-27]. ISSN 2235-2988. Dostupné z: doi:10.3389/fcimb.2020.600234

HATSUGAI, N. a Fumiaki KATAGIRI, 2017. A plant effector-triggered immunity signaling sector is inhibited by pattern-triggered immunity. *The EMBO Journal* [online]. 36(18) [cit. 2022-07-21]. ISSN 0261-4189. Dostupné z: doi:10.15252/embj.201796529

HOUSTON, K., M. R. TUCKER, J. CHOWDHURY, a kol., 2016. The Plant Cell Wall: A Complex and Dynamic Structure As Revealed by the Responses of Genes under Stress

Conditions. *Frontiers in Plant Science* [online]. 7 [cit. 2022-07-23]. ISSN 1664-462X. Dostupné z: doi:10.3389/fpls.2016.00984

HUSSEIN, R. a A. EL-ANSSARY, 2019. Plants Secondary Metabolites: The Key Drivers of the Pharmacological Actions of Medicinal Plants. *Herbal Medicine* [online]. [cit. 2022-07-22]. ISBN 978-1-78984-782-6. Dostupné z: doi:10.5772/intechopen.76139

CHALAL M., D. DELMAS, P. MEUNIER, a kol., 2014. Inhibition of cancer derived cell lines proliferation by synthesized hydroxylated stilbenes and new ferrocenyl-stilbene analogs. Comparison with resveratrol. *Molecules*. 2014;19:7850–7868. doi: 10.3390/molecules19067850.

CHEN, Y., R. L. CONNER, C. L. GILLARD, a kol., 2007. A Specific and Sensitive Method for the Detection of *Colletotrichum lindemuthianum* in Dry Bean Tissue. *Plant Disease* [online]. 91(10) [cit. 2022-07-22]. ISSN 0191-2917. Dostupné z: doi:10.1094/PDIS-91-10-1271

CHETHANA, K., R.S. JAYAWARDENA, Y. CHEN, a kol., 2021. Diversity and Function of Appressoria [online]. [cit. 2022-07-20]. Dostupné z: doi:10.3390/patogeny10060746

CHOWDHARY, V., S. ALOOPARAMPIL, R. V. PANDYA, a kol., 2022. Physiological Function of Phenolic Compounds in Plant Defense System. *Phenolic Compounds - Chemistry, Synthesis, Diversity, Non-Conventional Industrial, Pharmaceutical and Therapeutic Applications* [online]. IntechOpen, [cit. 2022-07-22]. Biochemistry. ISBN 978-1-83969-346-5. Dostupné z: doi:10.5772/intechopen.101131

CHOWDHURY, S., 2017. Biotrophy-necrotrophy switch in pathogen evoke differential response in resistant and susceptible sesame involving multiple signaling pathways at different phases. *Scientific Reports* [online]. 7(1) [cit. 2022-07-20]. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-017-17248-7

ISAH, M. B., 2018. Terpenoids as Emerging Therapeutic Agents: Cellular Targets and Mechanisms of Action against Protozoan Parasites [online]. Elsevier, 2018 [cit. 2022-07-22]. *Studies in Natural Products Chemistry*. ISBN 9780444641793. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-444-64179-3.00007-4

ISLAM, M. R., 2017. Morphology and mechanics of fungal mycelium. *Scientific Reports* [online]. 7(1) [cit. 2022-07-20]. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-017-13295-2

JAIN, A., 2019. A review of plant leaf fungal diseases and its environment speciation. *Bioengineered* [online]. 10(1), 409-424 [cit. 2022-07-21]. ISSN 2165-5979. Dostupné z: doi:10.1080/21655979.2019.1649520

JAIN, M., 2022. Insights into biological role of plant defense proteins: A review. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology* [online]. 40 [cit. 2022-07-20]. ISSN 18788181. Dostupné z: doi:10.1016/j.bcab.2022.102293

JEANDET, P., C. HÉBRARD, M. DEVILLE, a kol., 2014. Deciphering the Role of Phytoalexins in Plant-Microorganism Interactions and Human Health. *Molecules* [online]. 19(11), 18033-18056 [cit. 2022-07-28]. ISSN 1420-3049. Dostupné z: doi:10.3390/molecules191118033

JIRSA, A., 2016. O HOUBÁCH: *Padlí travní* [online]. [cit. 2022-07-27]. Dostupné z: <https://www.ohoubach.cz/atlas-hub/detail/972/Padli-travni/>

KAUR, S., 2022. How do plants defend themselves against pathogens-Biochemical mechanisms and genetic interventions. *Physiology and Molecular Biology of Plants* [online]. 28(2) [cit. 2022-07-20]. ISSN 0971-5894. Dostupné z: doi:10.1007/s12298-022-01146-y

KLEMENT, Zoltán, 2003. Local early induced resistance of plants as the first line of defence against bacteria. *Pest Management Science* [online]. 59(4) [cit. 2022-07-20]. ISSN 1526498X. Dostupné z: doi:10.1002/ps.694

KOECK, M. a kol., 2011. The role of effectors of biotrophic and hemibiotrophic fungi in infection. *Cellular Microbiology* [online]. 13(12) [cit. 2022-07-24]. ISSN 14625814. Dostupné z: doi:10.1111/j.1462-5822.2011.01665.x

KÖHL, J., R. KOLNAAR a W. J. RAVENSBERG, 2019. Mode of Action of Microbial Biological Control Agents Against Plant Diseases: Relevance Beyond Efficacy. *Frontiers in Plant Science* [online]. 10 [cit. 2022-07-20]. ISSN 1664-462X. Dostupné z: doi:10.3389/fpls.2019.00845

KOURELIS, J. a R. A.L. VAN DER HOORN, 2018. Defended to the Nines: 25 Years of Resistance Gene Cloning Identifies Nine Mechanisms for R Protein Function. *The Plant Cell* [online]. 30(2) [cit. 2022-07-21]. ISSN 1040-4651. Dostupné z: doi:10.1105/tpc.17.00579

KUMAR, R., A. GUPTA, S. SRIVASTAVA, a kol., 2020. *Diagnosis and Detection of Seed-Borne Fungal Phytopathogens* [online]. Springer Singapore, [cit. 2022-07-22]. ISBN 978-981-32-9045-7. Dostupné z: doi:10.1007/978-981-32-9046-4_5

LI, S., G. SCIUMBATO, D. BOYKIN, a kol., 2019. Evaluation of soybean genotypes for reaction to natural field infection by *Cercospora species* causing purple seed stain. *PLOS ONE* [online]. 14(10) [cit. 2022-07-27]. ISSN 1932-6203. Dostupné z: doi:10.1371/journal.pone.0222673

LOTHA, G., T.S. BHUTIA, P. JAIN a kol., 2021. Britannica. The Editors of Encyclopaedia. "Asexual reproduction". *Encyclopedia Britannica* [online], Dostupné z: <https://www.britannica.com/science/fungus/Sexual-reproduction>

LU, X., N. TINTOR, T. MENTZEL, a kol., 2009. Uncoupling of sustained MAMP receptor signaling from early outputs in an Arabidopsis endoplasmic reticulum glucosidase II allele. *Proceedings of the National Academy of Sciences* [online]. 106(52) [cit. 2022-07-21]. ISSN 0027-8424. Dostupné z: doi:10.1073/pnas.0907711106

MANCINI, V., S. MUROLO a G. ROMANAZZI, 2016. Diagnostic methods for detecting fungal pathogens on vegetable seeds. *Plant Pathology* [online]. 65(5) [cit. 2022-07-22]. ISSN 00320862. Dostupné z: doi:10.1111/ppa.12515

MANNINEN, M., 2020. Chemistry of Autumn Colors: Quantitative Spectrophotometric Analysis of Anthocyanins and Carotenoids and Qualitative Analysis of Anthocyanins by Ultra-performance Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Chemical Education* [online]. 97(3) [cit. 2022-07-22]. ISSN 0021-9584. Dostupné z: doi:10.1021/acs.jchemed.9b00436

MCCONNAUGHEY, M., 2014. Physical Chemical Properties of Fungi. Reference Module in Biomedical Sciences [online]. Elsevier, 2014 [cit. 2022-07-22]. ISBN 9780128012383. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-801238-3.05231-4

MELOTTO, M., 2008. Role of Stomata in Plant Innate Immunity and Foliar Bacterial Diseases. *Annual Review of Phytopathology* [online]. 46(1) [cit. 2022-07-22]. ISSN 0066-4286. Dostupné z: doi:10.1146/annurev.phyto.121107.104959

MÉNDEZ, K.Á. a H.M. ROMERO, 2017. *Plant responses to pathogen attack: molecular basis of qualitative resistance* [online]. 70(2) [cit. 2022-07-21]. Dostupné z: doi:10.15446/rfna.v70n2.64526

MENDGEN, K. a M. HAHN, 2002. Plant infection and the establishment of fungal biotrophy. *Trends in Plant Science* [online]. 7(8) [cit. 2022-07-21]. ISSN 13601385. Dostupné z: doi:10.1016/S1360-1385(02)02297-5

MILLER, R. N.G., G.S. COSTA ALVES, a kol., 2017. Plant immunity: unravelling the complexity of plant responses to biotic stresses. *Annals of Botany* [online]. 119(5) [cit. 2022-07-27]. ISSN 0305-7364. Dostupné z: doi:10.1093/aob/mcw284

MIRNEZAMI, S.V., T. YOUNG, T. ASSEFA, a kol., 2020. Automated trichome counting in soybean using advanced image-processing techniques. *Applications in Plant Sciences* [online]. 8(7) [cit. 2022-07-22]. ISSN 2168-0450. Dostupné z: doi:10.1002/aps3.11375

MITCHELL, C., R. M. BRENNAN, J. GRAHAM, a kol., 2016. Plant Defense against Herbivorous Pests: Exploiting Resistance and Tolerance Traits for Sustainable Crop Protection. *Frontiers in Plant Science* [online]. 7 [cit. 2022-07-24]. ISSN 1664-462X. Dostupné z: doi:10.3389/fpls.2016.01132

- MORRISSEY, J. P. a A. E. OSBOURN, 1999. Fungal Resistance to Plant Antibiotics as a Mechanism of Pathogenesis. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* [online]. 63(3) [cit. 2022-07-28]. ISSN 1092-2172. Dostupné z: doi:10.1128/MMBR.63.3.708-724.1999
- NAIR, A., 2017. Energy Crops. *Encyclopedia of Applied Plant Sciences* [online]. Elsevier, 2017 [cit. 2022-07-23]. ISBN 9780123948083. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-394807-6.00173-8
- NARUSAKA, M. a Y. NARUSAKA, 2017. *Thienopyrimidine-type compounds protect Arabidopsis plants against the hemibiotrophic fungal pathogen Colletotrichum higginsianum and bacterial pathogen Pseudomonas syringae pv. maculicola* [online]. 12(3) [cit. 2022-07-21]. ISSN 1559-2324. Dostupné z: doi:10.1080/15592324.2017.1293222
- NAZAROV, P. A., 2020. Infectious plant diseases: etiology, current status, problems and prospects in plant protection. *Acta Naturae* [online]. 12(3), 46-59 [cit. 2022-07-21]. ISSN 2075-8251. Dostupné z: doi:10.32607/actanaturae.11026
- NIEUWENHUIS, B. P. S. a T. Y. JAMES, 2016. The frequency of sex in fungi. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* [online]. 371 [cit. 2022-07-21]. ISSN 0962-8436. Dostupné z: doi:10.1098/rstb.2015.0540
- PARAMESHA, M., S. MANIVANNAN, S. J. A. RAO, a kol., 2018. Augmentation of pyrethrins content in callus of *Chrysanthemum cinerariaefolium* and establishing its insecticidal activity by molecular docking of NavMS Sodium Channel Pore receptor. 3 *Biotech* [online]. 8(8) [cit. 2022-07-20]. ISSN 2190-572X. Dostupné z: doi:10.1007/s13205-018-1387-8
- PEDRAS, M. S. C. a A. ABDOLI, 2017. Pathogen inactivation of cruciferous phytoalexins: detoxification reactions, enzymes and inhibitors. *RSC Advances* [online]. 7(38) [cit. 2022-07-28]. ISSN 2046-2069. Dostupné z: doi:10.1039/C7RA01574G
- PERVEEN, S., 2018. Introductory Chapter: Terpenes and Terpenoids. *Terpenes and Terpenoids* [online]. IntechOpen, 2018-12-19 [cit. 2022-07-22]. ISBN 978-1-78984-776-5. Dostupné z: doi:10.5772/intechopen.79683
- PFEILMEIER, S., D. L. CALY a J. G. MALONE, 2016. Bacterial pathogenesis of plants: future challenges from a microbial perspective. *Molecular Plant Pathology* [online]. 17(8), 1298-1313 [cit. 2022-07-21]. ISSN 14646722. Dostupné z: doi:10.1111/mpp.12427
- POLLASTRI, S. a F. LORETO, 2021. Isoprene: An Antioxidant Itself or a Molecule with Multiple Regulatory Functions in Plants?. *Antioxidants* [online]. 10(5) [cit. 2022-07-22]. ISSN 2076-3921. Dostupné z: doi:10.3390/antiox10050684

- PONTIN, M., R. BOTTINI, J. BURBA, a kol., 2015. *Allium sativum* produces terpenes with fungistatic properties in response to infection with *Sclerotium cepivorum*. *Phytochemistry* [online]. 115, 152-160 [cit. 2022-07-28]. ISSN 00319422. Dostupné z: doi:10.1016/j.phytochem.2015.02.003
- PRATYUSHA, S., 2021. Phenolic Compounds in the Plant Development and Defense. *Plant Stress Physiology - Perspectives in Agriculture* [online]. [cit. 2022-07-22]. Physiology. ISBN 978-1-83969-866-8. Dostupné z: doi:10.5772/intechopen.102873
- QUOC a BAO CHAU, 2017. The Role of Cell Wall Degrading Enzymes in Pathogenesis of *Magnaporthe oryzae* [online]. 18(10) [cit. 2022-07-20]. ISSN 13892037. Dostupné z: doi:10.2174/1389203717666160813164955
- RAJARAMMOHAN, S., 2021. Redefining Plant-Necrotroph Interactions: The Thin Line Between Hemibiotrophs and Necrotrophs. *Frontiers in Microbiology* [online]. 12 [cit. 2022-07-21]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2021.673518
- RAMIREZ, A.M., G. STOOPEN, T. R. MENZEL, a kol., 2012. Bidirectional Secretions from Glandular Trichomes of Pyrethrum Enable Immunization of Seedlings. *The Plant Cell* [online]. 24(10) [cit. 2022-07-28]. ISSN 1040-4651. Dostupné z: doi:10.1105/tpc.112.105031
- RIGLING, D., C. ROBIN a S. PROSPERO, 2021. Mycovirus-Mediated Biological Control. *Encyclopedia of Virology* [online]. Elsevier, 2021, 468-477 [cit. 2022-07-22]. ISBN 9780128145166. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-809633-8.21516-1
- RIQUELME, M., J. AGUIRRE, S. BARTNICKI-GARCÍA, a kol., 2018. Fungal Morphogenesis, from the Polarized Growth of Hyphae to Complex Reproduction and Infection Structures. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* [online]. 82(2) [cit. 2022-07-21]. ISSN 1092-2172. Dostupné z: doi:10.1128/MMBR.00068-17
- RITZ, K., 2005. FUNGI. *Encyclopedia of Soils in the Environment* [online]. 2005 [cit. 2022-07-21]. ISBN 9780123485304. Dostupné z: doi:10.1016/B0-12-348530-4/00147-8
- RODRÍGUEZ, A., T. SHIMADA, M. CERVERA, a kol., 2014. Terpene Down-Regulation Triggers Defense Responses in Transgenic Orange Leading to Resistance against Fungal Pathogens. *Plant Physiology* [online]. 164(1) [cit. 2022-07-28]. ISSN 1532-2548. Dostupné z: doi:10.1104/pp.113.224279
- SABOL, P. a J. PILÁTOVÁ, 2020. Jak funguje imunita u rostlin?. Nakladatelství Academia, SSČ AV ČR. Dostupné z: <https://ziva.avcr.cz/files/ziva/pdf/jak-funguje-imunita-u-rostlin.pdf>
- SATHOFF, A. E., S. VELIVELLI a D.M. SHAH, a kol., 2019. Plant Defensin Peptides have Antifungal and Antibacterial Activity Against Human and Plant Pathogens. *Phytopathology*®

[online]. 109(3), 402-408 [cit. 2022-07-28]. ISSN 0031-949X. Dostupné z: doi:10.1094/PHYTO-09-18-0331-R

SEGADO, P., 2016. Ultrastructure of the Epidermal Cell Wall and Cuticle of Tomato Fruit (*Solanum lycopersicum L.*) during Development. *Plant Physiology* [online]. 170(2) [cit. 2022-07-23]. ISSN 0032-0889. Dostupné z: doi:10.1104/pp.15.01725

SELITRENNIKOFF, C. P., 2001. Antifungal Proteins. *Applied and Environmental Microbiology* [online]. 67(7) [cit. 2022-07-20]. ISSN 0099-2240. Dostupné z: doi:10.1128/AEM.67.7.2883-2894.2001

SERRANO, M., F. COLUCCIA, M. TORRES, a kol., 2014. The cuticle and plant defense to pathogens. *Frontiers in Plant Science* [online]. 5 [cit. 2022-07-28]. ISSN 1664-462X. Dostupné z: doi:10.3389/fpls.2014.00274

SHAO, D., 2021. Effectors of Plant Necrotrophic Fungi. *Frontiers in Plant Science* [online]. 12 [cit. 2022-07-24]. ISSN 1664-462X. Dostupné z: doi:10.3389/fpls.2021.687713

SHAO, D., D. L. SMITH, M. KABBAGE, a kol., 2021. Effectors of Plant Necrotrophic Fungi. *Frontiers in Plant Science* [online]. 12 [cit. 2022-07-21]. ISSN 1664-462X. Dostupné z: doi:10.3389/fpls.2021.687713

SHOVAN, L. a kol., 2008. Prevalence of fungi associated with soybean seeds and pathogenicity tests of the major seed-borne pathogens. *International Journal of Sustainable Crop Production* 3

SHUPING, D.S.S a J.N ELOFF, 2017. The use of plants to protect plants and food against fungal pathogens: a review. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative medicines* [online]. 14(4) [cit. 2022-07-20]. ISSN 01896016. Dostupné z: doi:10.21010/ajtcam.v14i4.14

SCHAEFE, H.M., M. RENTZSCH a M. BREUER, 2008. Anthocyanins Reduce Fungal Growth in Fruits [online]. [cit. 2022-07-28]. Dostupné z: <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/1934578X0800300808>

SCHELLENBERGER, R., M. TOUCHARD, CH. CLÉMENT, a kol., 2019. Apoplastic invasion patterns triggering plant immunity: plasma membrane sensing at the frontline. *Molecular Plant Pathology* [online]. 20(11) [cit. 2022-07-21]. ISSN 1464-6722. Dostupné z: doi:10.1111/mpp.12857

SCHENA, L., F. NIGRO, A. IPPOLITO, a kol., 2004. Real-time quantitative PCR: a new technology to detect and study phytopathogenic and antagonistic fungi. *European Journal of Plant Pathology* [online]. 110(9) [cit. 2022-07-22]. ISSN 0929-1873. Dostupné z: doi:10.1007/s10658-004-4842-9

SPANU, P.D. a R. PANSTRUGA, 2017. Editorial: Biotrophic Plant-Microbe Interactions. *Frontiers in Plant Science* [online]. 8 [cit. 2022-07-21]. ISSN 1664-462X. Dostupné z: doi:10.3389/fpls.2017.00192

STRAVORAVDIS a SALTVEIT, 2021. How Do Shipworms Eat Wood? Screening Shipworm Gill Symbiont Genomes for Lignin-Modifying Enzymes. *Frontiers in Microbiology* [online]. 12 [cit. 2022-07-21]. ISSN 1664-302X. Dostupné z: doi:10.3389/fmicb.2021.665001

SWARNKAR, M. K., P. KUMAR, V. DOGRA, a kol., 2021. Prickle morphogenesis in rose is coupled with secondary metabolite accumulation and governed by canonical MBW transcriptional complex. *Plant Direct* [online]. 5(6) [cit. 2022-07-22]. ISSN 2475-4455. Dostupné z: doi:10.1002/pld3.325

TENA, G., 2021. PTI and ETI are one. *Nature Plants* [online]. 7(12) [cit. 2022-07-21]. ISSN 2055-0278. Dostupné z: doi:10.1038/s41477-021-01057-y

TOBIAS, P.A., D. I. GUEST, C. KÜLHEIM, a kol., 2016. A curious case of resistance to a new encounter pathogen: myrtle rust in Australia. *Molecular Plant Pathology* [online]. 17(5) [cit. 2022-07-21]. ISSN 14646722. Dostupné z: doi:10.1111/mpp.12331

TORRES, M. A., 2006. Reactive Oxygen Species Signaling in Response to Pathogens. *Plant Physiology* [online]. 141(2), 373-378 [cit. 2022-07-22]. ISSN 1532-2548. Dostupné z: doi:10.1104/pp.106.079467

WALTERS, D. R., J. RATSEP a N. D. HAVIS, 2013. Controlling crop diseases using induced resistance: challenges for the future. *Journal of Experimental Botany* [online]. 64(5) [cit. 2022-07-21]. ISSN 1460-2431. Dostupné z: doi:10.1093/jxb/ert026

WANG, Y., X. LI, B. FAN, a kol., 2021. Regulation and Function of Defense-Related Callose Deposition in Plants. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 22(5) [cit. 2022-07-22]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms22052393

WARD, E., S. J. FOSTER, B. A. FRAAIJE, a kol., 2004. Plant pathogen diagnostics: immunological and nucleic acid-based approaches. *Annals of Applied Biology* [online]. 145(1) [cit. 2022-07-22]. ISSN 0003-4746. Dostupné z: doi:10.1111/j.1744-7348.2004.tb00354.x

WOLFF-VORBECK, S., O. SPECK, T. SPECK, a kol., 2021. Influence of structural reinforcements on the twist-to-bend ratio of plant axes: a case study on *Carex pendula*. *Scientific Reports* [online]. 11(1) [cit. 2022-07-23]. ISSN 2045-2322. Dostupné z: doi:10.1038/s41598-021-00569-z

XING, Z., Y. LIU, W. CAI, a kol., 2017. Efficiency of Trichome-Based Plant Defense in *Phaseolus vulgaris* Depends on Insect Behavior, Plant Ontogeny, and Structure. *Frontiers in*

- Plant Science* [online]. 8 [cit. 2022-07-21]. ISSN 1664-462X. Dostupné z: doi:10.3389/fpls.2017.02006
- YANG, N., Y. LI, F. XING, a kol., 2021. Composition and structural characterization of pectin in micropropagated and conventional plants of *Premna puberula* Pamp. *Carbohydrate Polymers* [online]. 260 [cit. 2022-07-21]. ISSN 01448617. Dostupné z: doi:10.1016/j.carbpol.2021.117711
- ZABEL, R. A. a J. J. MORRELL, 2020. The characteristics and classification of fungi and bacteria. *Wood Microbiology* [online]. 2020 [cit. 2022-07-21]. ISBN 9780128194652. Dostupné z: doi:10.1016/B978-0-12-819465-2.00003-6
- ZENG, Y., M. E. HIMMEL a S. DING, 2017. Visualizing chemical functionality in plant cell walls. *Biotechnology for Biofuels* [online]. 10(1) [cit. 2022-07-23]. ISSN 1754-6834. Dostupné z: doi:10.1186/s13068-017-0953-3
- ZHANG, J. a J. ZHOU, 2010. Plant Immunity Triggered by Microbial Molecular Signatures. *Molecular Plant* [online]. 3(5), 783-793 [cit. 2022-07-21]. ISSN 16742052. Dostupné z: doi:10.1093/mp/ssq035
- ZHANG, Y., K. XU, D. YU, a kol., 2019. The Highly Conserved Barley Powdery Mildew Effector BEC1019 Confers Susceptibility to Biotrophic and Necrotrophic Pathogens in Wheat. *International Journal of Molecular Sciences* [online]. 20(18) [cit. 2022-07-21]. ISSN 1422-0067. Dostupné z: doi:10.3390/ijms20184376