

Obrambeni odgovor biljaka na patogene gljive

Tandara, Antonija

Undergraduate thesis / Završni rad

2019

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:869486>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2025-02-23**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



BIOLOŠKI ODSJEK
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
SVEUČILIŠTE U ZAGREBU

OBRAMBENI ODGOVOR BILJAKA NA PATOGENE GLJIVE
PLANT DEFENSE RESPONSES AGAINST FUNGAL PATHOGENS

SEMINARSKI RAD

Antonija Tandara
Preddiplomski studij molekularne biologije
(Undergraduate Study of Molecular Biology)
Mentor: izv. prof. dr. sc. Željka Vidaković-Cifrek

Zagreb, 2019.

Popis kratica:

CWDE - enzimi koji razgrađuju staničnu stijenku (*eng. cell wall-degrading enzymes*)

ET - etilen

ETI - imunitet aktiviran efektorom (*eng. effector-triggered immunity*)

HG - homogalakturonan (*eng. homogalacturonan*)

HR - hipersenzitivni odgovor (*eng. hypersensitive response*)

ISR - inducirana sistemska otpornost (*eng. induced systemic resistance*)

JA - jasmonska kiselina

NO - dušikov monoksid

OG - oligogalakturonid

PG - poligalakturonaza (*eng. polygalacturonase*)

PGIP - proteini inhibitori poligalakturonaze (*eng. polygalacturonase-inhibitor proteins*)

PR - proteini povezani s patogenezom (*eng. pathogenesis-related*)

ROS - reaktivne kisikove vrste (*eng. reactive oxygen species*)

SA - salicilna kiselina

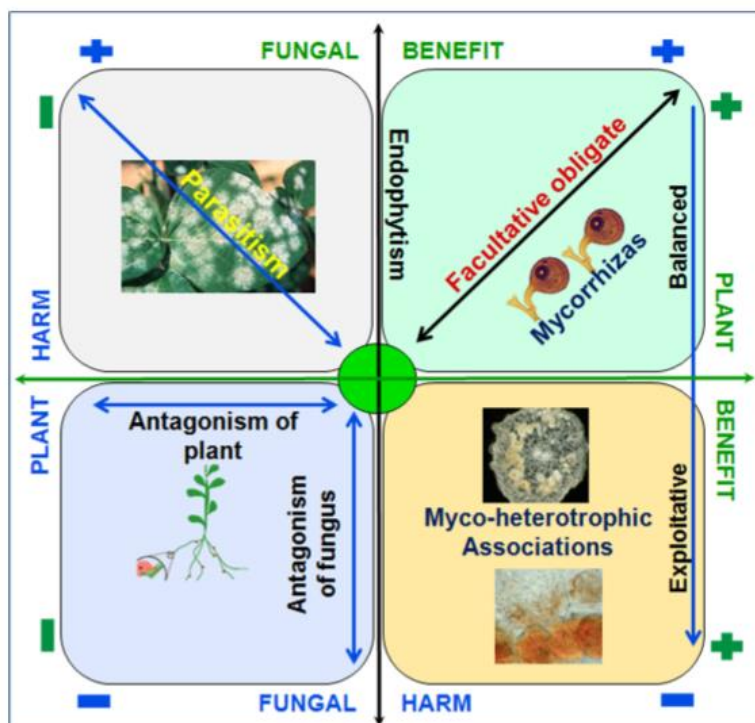
SAR - sistemski stečena otpornost (*eng. systemic acquired resistance*)

Sadržaj

1. Uvod.....	1
2. Gljive kao biljni patogeni.....	5
3. Napad patogenih gljiva i obrambeni odgovor biljaka.....	6
3.1. Značenje strukturnih barijera.....	6
3.2. Biokemijski obrambeni odgovor biljaka	6
3.3. Djelovanje inhibitora poligalakturonaza (PGIP)	9
4. Zaključak.....	11
5. Literatura.....	12
6. Sažetak	17
7. Abstract	18

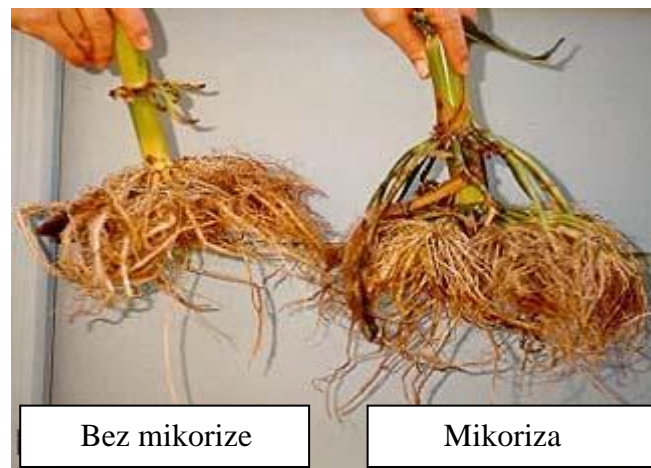
1. Uvod

Na Zemlji postoji oko 380.000 vrsta biljaka i 2.2 do 3.8 milijuna vrsta gljiva (Hawksworth i Lücking 2017). Velika većina gljiva je saprofitna, odnosno žive razgrađujući i reciklirajući hranjive tvari od mrtvog biljnog materijala kako bi ponovno postao dostupan živim biljkama. Tijekom evolucije razvila se aktivna interakcija nekih gljiva s biljkama. Većina ovih interakcija je simbiotska, odnosno povoljna za biljke, kao u slučajevima mikorize i endofita. Manji broj vrsta gljiva se razvio u smjeru patogenosti sa štetnim učinkom na biljke (Slika 1.) (Grayer i Kokubun 2001). Biljke su sposobne za uspješnu obranu i u prirodi su otporne na većinu patogena, dakle, simbiotske i neutralne interakcije dominiraju, a parazitske se interakcije smatraju iznimkom (Staskawicz 2001). Gljive stupaju u kontakt s biljkama na različite načine, pri čemu svaka interakcija uzrokuje promjene u oba partnera. Dok gljive kao patogeni imaju štetne učinke na fiziologiju biljaka, gljive kao simbionti pozitivno utječu na njihov rast i razvoj. Gljive kao simbiotski partneri pomažu biljkama kod prikupljanja i unosa resursa iz tla (mineralnih tvari i vode) i povećavaju njihovu otpornost na stres, dok biljke gljivama isporučuju ugljikohidrate (Buscot i sur. 2000) pridonoseći stabilnoj povezanosti među partnerima.



Slika 1. Usporedba različitih interakcija biljaka i gljiva. U dijagramu (++) predstavlja uzajamnu korist, uspoređujući s relativnom koristi (+) ili štetom (-) za dva organizma u interakciji. Preuzeto iz Zeilinger i sur. 2016.

Postoji širok raspon simbiotskih interakcija između biljaka i gljiva, a najčešće uključuju mikorizne i endofitne gljive. Mikoriza je simbioza između gljive i korijena biljke (Slika 2.), a endofiti pokazuju rast bez simptoma u živim tkivima korijena, stabljike ili lista do starenja biljke domaćina, kada gljive mogu postati djelomično patogene (Brundrett 2004). Postoje dvije vrste mikorize - endotrofna mikoriza i ektotrofna mikoriza, koje se razlikuju ovisno o tome jesu li hife gljive unutarstanične, tj. prodiru u stanice korijena biljke ili su izvanstanične, tj. okružuju korijen i prodiru samo između stanica korijena. Hife gljiva rastu tvoreći micelij koji se grana na površini korijena biljke i u tlu, te doseže mjesta udaljena od korijena (Slika 2.). Preko micelija biljka znatno povećava aktivnu površinu za apsorpciju iz tla pa je na taj način povećan kapacitet apsorpcije hranjivih sastojaka i vode iz tla (Bonfante i Anca 2009).



Slika 2. Korijen bez mikorize i korijen sa mikorizom. Učinak mikorize na razvoj korijena i povećanje njegove mase. Preuzeto i prilagođeno iz: <http://hirc.botanic.hr/botanika/Predavanja/BOTANIKA-MB-07-%20Mycota%201.pdf>

Interakcije između biljaka i njihovih patogena razvijaju se procesima koevolucije, pri čemu patogeni moraju ostvariti inovativne strategije kako bi uspješno kolonizirali svoje domaćine, a biljke moraju razviti nove metode obrane i steći snažnije obrambene mehanizme za suzbijanje napada patogena. Morfološke i biokemijske promjene omogućuju patogenim gljivama razvoj novih strategija infekcije biljaka (Horbach i sur. 2011). Na primjer, biljke rajčice napadnute nekrotrofnom gljivom *Botrytis cinerea* pokazuju usklađenu regulaciju obrane i metabolizma ugljikohidrata, uz korelaciju između regulacije ekspresije gena i razvoja simptoma (Berger i sur. 2004). Općenito, napad biotrofnim patogenom dodatno dovodi do usporavanja metabolizma na mjestu infekcije, mijenjajući način na koji metaboliti i hranjive

tvari cirkuliraju unutar biljke što dovodi do preusmjerenja metabolita u zaraženo lišće kako bi se ispunili zahtjevi patogena. Stoga potrošnja, preusmjerenje i održavanje količine fotosintetskih proizvoda, zbog djelovanja patogena, mijenjaju razvoj biljke i dodatno umanjuju fotosintetsku učinkovitost. Pored toga, biomolekule koje potječu od patogena, poput nekih enzima i toksina, mogu povećati propusnost membrane biljnih stanica, što rezultira nekontroliranim gubitkom korisnih tvari poput elektrolita i nemogućnošću inhibicije dotoka nepoželjnih tvari. Patogene gljive mogu potaknuti povećanje ili smanjenje sinteze ili razgradnje biljnih hormona. To može dovesti do raznolikih simptoma, primjerice, stvaranja adventivnog korijenja, nenormalnih izraslina sličnih tumorima i epinastije (savijanja peteljki listova nadolje) (Zeilinger i sur. 2016). Neke patogene vrste mogu imati izravan štetni utjecaj na reprodukciju biljaka jer izravno napadaju i oštećuju cvjetove, plodove ili sjemenke i izravno ili neizravno ometaju razmnožavanje biljaka domaćina (Clay i sur. 1989). Fiziološke promjene u biljkama koje izazivaju gljivični patogeni također se odražavaju na transkripcijskoj i translacijskoj razini. Povišena razina mRNA i povišena sinteza proteina u zaraženim biljnim stanicama nakon napada patogena rezultiraju povećanom proizvodnjom enzima i drugih proteina te specijaliziranih metabolita povezanih s obranom (Staskawicz 2001).

Zdravlje i produktivnost biljaka značajno ovise o aktivnosti mikroorganizama u rizosferi i o mikroorganizmima koji izravno komuniciraju s biljkom. Oni utječu na dostupnost hranjivih sastojaka u tlu te partnerstvo biljaka i mikroorganizama može poboljšati toleranciju stresa u biljci domaćinu, omogućiti otpornost na bolesti i promovirati biološku raznolikost biljaka (Morrissey i sur. 2004). S druge strane, 70- 80% svih biljnih bolesti uzrokovano je gljivama i smatra se da oko 10 000 vrsta gljiva može izazvati bolesti u biljkama (Zeilinger i sur. 2016). Nedavnim istraživanjima 495 međunarodnih stručnjaka za biljnu patologiju utvrđeno je 10 najvažnijih fitopatogenih gljiva na znanstvenoj i ekonomskoj razini. Na prvom mjestu ovog popisa je *Magnaporthe oryzae* patogen riže s velikim ekonomskim značajem budući da se više od polovice svjetskog stanovništva oslanja na rižu kao osnovnu namirnicu u prehrani, a slijedi *Botrytis cinerea* koja uzrokuje velike štete u poljoprivredi i može izazvati infekciju na više od 200 biljnih vrsta, te *Puccinia spp.* koja uzrokuje bolesti hrđe na pšenici. Još neke gljive s popisa su: *Fusarium graminearum*, *Fusarium oxysporum*, *Blumeria graminis*, *Mycosphaerella graminicola*, *Colletotrichum spp.*, *Ustilago maydis*, *Melampsora lini* (Dean i sur. 2012). Za borbu protiv spomenutih i drugih fitopatogena, konvencionalna poljoprivreda uvelike se oslanja na kemikalije koje nažalost nisu uvijek prihvatljive, zbog sve veće svijesti o zaštiti okoliša i očuvanju zdravlja (Zeilinger i sur. 2016). Stoga je važno istraživati utjecaj patogenih gljiva na

biljke, obrambene mehanizme biljaka usmjerene na zaštitu od patogenih gljiva, prihvatljive mehanizme eliminacije fitopatogenih gljiva i općenito mehanizme interakcije biljaka i gljiva.

2. Gljive kao biljni patogeni

Neke vrste gljiva su tijekom razvoja u suživotu s biljkama prešle granicu uzajamne koristi i postale biljni patogeni. Takve su gljive klasificirane kao biotrofi, nekrotrofi i hemibiotrofi, a svaka skupina ima različite načine interakcije sa svojim biljkama domaćinima (Gardiner i sur. 2013). Uobičajena mjesta kroz koja patogeni ulaze u biljku su rane na biljci jer je biljna stanica zaštićena staničnom stijenkom koja onemogućava prodiranje u stanicu. U međustanične prostore listova hife gljiva mogu prodrijeti kroz puči. Gljive izlučuju enzime koji razgrađuju staničnu stijenku (*eng. cell wall-degrading enzymes*, CWDE) i posjeduju specifične infekcijske strukture, koje se razlikuju ovisno o vrsti gljive. Nekrotrofni patogeni, koji često pokazuju široki raspon domaćina, brzo uzrokuju značajno oštećenje tkiva, a samim time i smrt biljke domaćina. Stanice domaćina ubijaju se kombinacijom CWDE, reaktivnih kisikovih vrsta (*eng. reactive oxygen species*, ROS) i/ ili toksina (Wang i sur. 2014). One dovode do uništenja membrane u stanicama domaćina i oslobađanja njegovih hranjivih tvari, nakon čega slijedi kolonizacija i razgradnja tkiva biljke domaćina (Wolpert i sur. 2002). Nasuprot tome, biotrofni patogeni su obligatni paraziti koji ne proizvode toksine, ali često luče efektore koji djeluju na imunološki sustav domaćina (Perfect i Green 2001). Biotrofi mogu dovršiti svoj životni ciklus samo u živim stanicama domaćina, što dovodi do simptoma bolesti nakon relativno dugog razdoblja od početka infekcije. Ove gljive pokazuju specifičnost za domaćina i stupaju u interakciju s domaćinom kroz specijalizirane biotrofne hife u međufaznoj zoni gdje oba partnera u interakciji aktivno izlučuju biomolekule. Hemibiotrofe možemo opisati kao intermedijere između nekrotrofa i biotrofa, a obično imaju početnu biotrofnu fazu infekcije nakon čega slijedi prelazak na nekrotrofiju (Yi i Valent 2013).

3. Napad patogenih gljiva i obrambeni odgovor biljaka

Tijekom invazije na biljku domaćina gljive moraju savladati mnoštvo obrambenih fizičkih i kemijskih barijera kategoriziranih kao konstitutivne ili induktivne (Miedes i sur. 2014). U konstitutivne barijere ubrajaju se strukturne barijere poput kutikule koja umanjuje prodiranje tijekom invazije patogena. Hidrofobni voskovi kutikule „odbijaju“ vodu te sprečavaju klijanje gljivičnih spora (Freeman i Beattie 2008). Okidači za induktivne barijere općenito se nalaze unutar gljiva i poznati su kao molekule efektori. Gljive izlučuju efektore kako bi ometale obrambene mehanizme biljaka i modificirale fiziološke procese, ali biljke su također razvile mehanizme za prepoznavanje takvih molekula (Cui i sur. 2014).

3.1. Značenje strukturnih barijera

Pojačanja stanične stijenke, poput lignifikacije, suberinizacije, taloženja glikoproteina bogatih hidroksiprolinom i kaloze te umrežavanje proteina stanične stijenke, koji čine jače mehaničke barijere i ograničavaju patogene u razvoju, mogu se primijetiti na mjestima ulaska patogena (Schenk i sur. 2000). Lignin i kaloza čine biljnu staničnu stijenku otpornijom na CWDE i sprječavaju difuziju toksina koji proizvode patogeni (Sattler i Funnell-Harris 2013). Taloženje kaloze na mjestima penetracije sprječava daljnji nastanak i prodiranje haustorija (Ellinger i sur. 2013), dok suberin izlučuju stanice žilnog parenhima korijena formirajući materijal za oblaganje žila što blokira kolonizaciju provodnog sustava (Robb i sur. 1991). Za prevladavanje ovih barijera, gljive imaju različite strategije. One izlučuju enzime kako bi razgradile fizičke barijere i detoksificirale neke kemijske komponente biljaka na koje mogu biti osjetljive. Za invaziju na različite dijelove biljaka potrebno je svladati barijere specifične za tkivo. Na primjer, gljivama koje ulaze kroz korijenje potrebno je više kemijskih spojeva koji mogu djelovati na ligninsku barijeru u usporedbi s onim gljivama koje inficiraju biljku preko lišća (Underwood 2012). Strukturne barijere se ne mogu potpuno odvojiti od biokemijskog odgovora biljaka na patogene budući da je ojačavanje strukturnih barijera inducirano upravo biokemijskim promjenama.

3.2. Biokemijski obrambeni odgovor biljaka

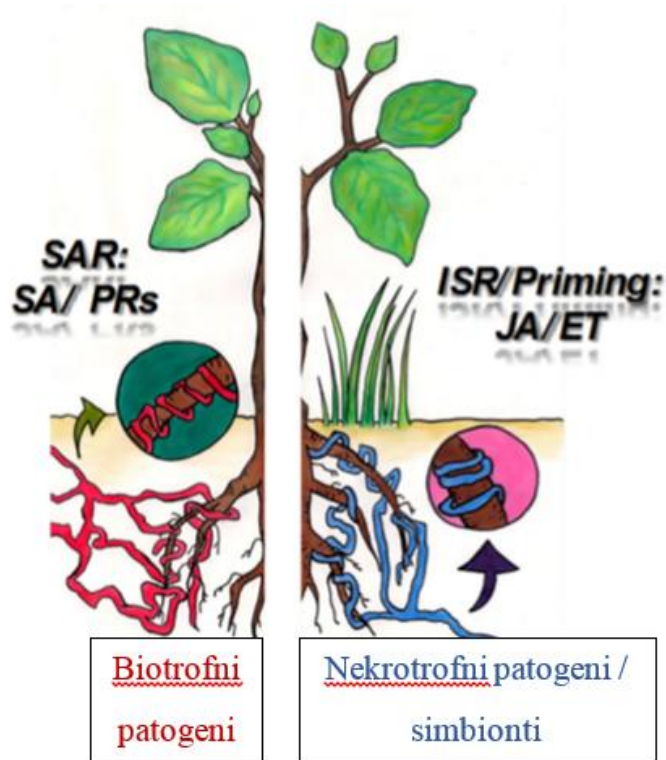
Prepoznavanje efektoru u biljkama pokreće obrambene reakcije poznate kao imunitet aktiviran efektorom (*eng. effector-triggered immunity*, ETI) što rezultira tzv. hipersenzitivnim

odgovorom biljke (*eng. hypersensitive responses, HR*) i biosintezom proteina povezanih s patogenezom (*eng. pathogenesis-related, PR*) (Cui i sur. 2014). Ostale induktivne obrambene barijere u biljkama uključuju prijenos signala, u koji su uključeni fitohormoni, a rezultat je povećana ekspresija gena čiji su proteinski produkti uključeni u obrambene reakcije kao što su npr. procesi umrežavanja proteina stanične stijenke, proizvodnja ROS i nekih fenolnih spojeva (Mellersh i sur. 2002; Singh i sur. 2013).

Obrambeni odgovori biljke na napad patogena često rezultiraju HR-om, lokalnom akumulacijom fitoaleksina i pojačanom enzimskom aktivnosti obrambenih proteina (uključujući β -1,3-glukanazu, hitinazu, peroksidazu, lipoksigenazu i katalazu) (Lebeda i sur. 2001). Smatra se da stanična smrt koja nastupa tijekom HR-a ovisi o uravnoteženoj proizvodnji dušikovog monoksida (NO) i ROS, aktivnih signalnih molekula koje sudjeluju u otpornosti na bolesti i o interakciji biljaka i nekrotrofnih patogena (Sarkar i sur. 2014). Te obrambene reakcije biljaka imaju za cilj izolirati patogenu gljivu i onemogućiti dovoljnu opskrbu hranjivim tvarima potrebnim za preživljavanje te na taj način spriječiti širenje patogena (Bolwell i sur. 2002). Biotrofne gljive koje izazivaju bolesti hrđe usvojile su specijalizirane strategije za „prikriivanje svog identiteta“ promjenom fizikalno-kemijskih svojstava proteina koje obično prepoznaju biljni receptori (Underwood 2012). Za razliku od njih, endomikorizne gljive ne utječu samo na signale obrane domaćina (Volpin i sur. 1995), već mogu također koristiti druge mikroorganizme tla koji suzbijaju obrambene reakcije domaćina (Lehr i sur. 2007).

Brza proizvodnja ogromnih količina ROS, takozvani oksidativni prasak, inducira produkciju velikog broja PR proteina. Oni su podijeljeni u 17 različitih obitelji (PR1 do PR17) na temelju primarne strukture i bioloških aktivnosti. Premda je za neke od PR proteina, kao što su β -1,3-glukanaze (PR2), osmotin (PR5), inhibitori proteinaza (PR6), endoproteinaza (PR7), peroksidaza (PR9), hitinaze (PR3, PR8, PR11), defenzini (PR12), tionini (PR13), lipid-transfer proteini (PR14) i oksalat oksidaza (PR15 i PR16) poznata točna funkcija, ostalima su uloge manje poznate (Zeilinger i sur. 2016). Smatra se da je funkcija proteina PR10 slična djelovanju ribonukleaze (Lurie i sur., 1997.). Neki od PR4 proteina pokazuju aktivnosti hitinaze, RNaze i/ili DNaze, kao i antifungalna svojstva, dok drugi pokazuju samo RNaznu aktivnost i antifungalna djelovanja (Bertini i sur. 2012) ili samo RNaznu i DNaznu aktivnost, ali ne i aktivnosti hitinaze (Guevara-Morato i sur. 2010). Transkripcijska regulacija gena koji kodiraju za PR proteine u normalnim fiziološkim uvjetima održava nisku ili nemjerljivu ekspresiju, dok je nakon ozljede, stresa u okolišu i prilikom infekcije snažnije inducirana (Sabater-Jara i sur. 2010).

Akumulacija PR proteina na mjestu infekcije obično se povezuje sa sistemski stečenom otpornošću (*eng. systemic acquired resistance, SAR*), koja se temelji na povećanom stupnju otpornosti distalnih tkiva u slučaju naknadne infekcije patogenim organizmom (Durrant i Dong 2004). U procesima SAR biokemijske promjene ovisne su o salicilnoj kiselini (SA), dok su kod inducirane sistemske otpornosti (*eng. induced systemic resistance, ISR*) ovisni o etilenu (ET) i jasmonskoj kiselini (JA) (Slika3.). Ovi biljni regulatori rasta djeluju kao signalne molekule koje pokreću sintezu transkripcijskih faktora u biljnoj stanici. Signalni put koji je ovisan o JA dovodi do indukcije defenzina, osmotina, glikoproteina bogatih prolinom te do sinteze fitoaleksina i inhibitora proteinaze (Sticher i sur. 1997). Obje kiseline, SA i JA, su uključene u kontrolu bazalne otpornosti na različite patogene. Neka istraživanja pokazuju da signal može ovisiti o vrsti patogena. SA prvenstveno regulira obrambene odgovore protiv biotrofnih patogena, a JA i ET reguliraju obrambeni odgovor na nekrotrofne gljive (Mengiste 2012) (Slika3.). Zanimljivo je da korisni mikroorganizmi poput rizobija i simbiotskih gljiva također mogu uzrokovati induciranu sistemsku otpornost posredovanu s JA i ET (Pieterse i sur. 2009).



Slika 3. Shematski prikaz inducirano i stečenog obrambenog odgovora u biljkama. Preuzeto i prilagođeno iz Zeilinger i sur. 2016.

3.3. Djelovanje inhibitora poligalakturonaza (PGIP)

Biljna stanična stijenka koja djeluje kao kruta strukturna prepreka, ali i kao fleksibilna struktura tijekom rasta stanica, sastoji se od složene mreže polisaharida poput celuloze, hemiceluloze, pektina i proteina (Bashline i sur. 2014). Zbog svog položaja uz vanjsku površinu stanične membrane, stanična stijenka je presudna u interakcijama biljaka i mikroorganizama, uključujući obranu od fitopatogena pa tako i patogenih gljiva (Keegstra 2010). Homogalakturonan (*eng. homogalacturonan*, HG) je linearni homopolimer koji je komponenta složenog pektina, a sastoji se od α -1,4- D-galaktouronske kiseline na kojoj mogu biti metilne skupine vezane esterskom vezom ili mogu nositi acetilne skupine (Vorwerk i sur. 2004). Poznato je da su poligalakturonaze (*eng. polygalacturonase*, PG) hidrolaze i jedan od prvih te najvažnijih faktora virulencije koje patogeni luče kako bi razgradili HG u staničnoj stijenci biljaka. PG gljiva iz stanične stijenke biljaka oslobađaju fragmente - oligogalakturonide (OG) koji potiču različite obrambene odgovore. Biljke se protiv PG koje oslobađaju patogene gljive bore proteinima inhibitorima poligalakturonaza (*eng. polygalacturonase-inhibitor proteins*, PGIP) (Prabhu i sur. 2014). To su glikoproteini vezani na staničnu stijenu i pripadaju superobitelji proteina bogatih leucinskim ponavljanjima (*eng. leucine-rich repeats*, LRR) koji se nalaze na izvanstaničnoj strani stanične stijenke. PGIP su vrlo različiti po svojoj specifičnosti, potencijalu i različitim stupnjevima inhibicije PG (Gomathi i Gnanamanickam 2004). OG koji mogu potaknuti obrambeni odgovor, oslobođeni su djelovanjem PG, ako je aktivnost tih enzima kontrolirana proteinima PGIP. Drugim riječima, kako bi se suprotstavili napadu patogenih gljiva inhibiranjem odnosno modulacijom aktivnosti PG, proteini PGIP dovode do nakupljanja OG (De Lorenzo i sur. 2001). Za PGIP se zna da inhibiraju PG iz gljiva, insekata i bakterija, ali pokazalo se da nisu učinkoviti u odnosu na biljne PG (Shanmugam 2005). PG-PGIP kompleksi smatraju se modelnim sustavom interakcije protein-protein u odnosima biljaka i patogena (Misas-Villamil i Van der Hoorn 2008). Iako su do danas rasvijetljene trodimenzionalne strukture mnogih PG (Bonivento i sur. 2008.), jedini PGIP čija je kristalna struktura riješena je ona PvPGIP2 iz graha, *Phaseolus vulgaris* (Di Matteo i sur. 2003).

Istraživanja prekomjerne ekspresije u genetski modificiranim biljkama s mutiranim genom *pgip* pokazala su izravnu vezu između više razine proteina PGIP i smanjenja simptoma kod biljaka zaraženih gljivičnim i bakterijskim patogenima. Ta su istraživanja provedena na rajčici, duhanu, uročnjaku (*Arabidopsis thaliana*) i kineskom kupusu (Prabhu i sur. 2015). Za usporedbu, na jednosupnicama je provedeno vrlo malo istraživanja za razumijevanja uloge

PGIP-a u obrani domaćina, a ta istraživanja su uglavnom ograničena na pšenicu i rižu (Prabhu i sur. 2015).

4. Zaključak

Biljne patogene gljive susreću se s uobičajenim mehanizmima zaštite koji su prisutni u biljaka, kao što su npr. stanična stijenka i kutikula kao strukturne barijere te biokemijski mehanizmi obrane od patogena. Tijekom kolonizacije domaćina gljive koriste različite strategije kako bi te mehanizme zaobišle. Kako kontinuirana koevolucija patogenih gljiva s domaćinima zahtijeva odgovarajuću reakciju na promjene u imunitetu domaćina, gljive moraju kontinuirano prilagođavati strategije virulencije. Duboko razumijevanje molekularnih mehanizama tih strategija virulencije i interakcije domaćina s patogenom dovest će do pronalaska ciljeva virulencije u biljci domaćinu. Ta saznanja, kao i napredak u istraživanjima mehanizama odgovora biljaka na napad patogena, unaprijedit će postojeće strategije zaštite usjeva ili omogućiti stvaranje novih mjera za kontrolu bolesti (Rodriguez-Moreno i sur. 2018).

Posljednjih godina došlo je do velikih napredaka u istraživanjima u molekularnoj biologiji gljiva, mikroskopiji i drugim srodnim znanostima, što je otvorilo nove mogućnosti za identifikaciju ključnih molekularnih mehanizama u interakcijama biljaka i gljiva (Zeilinger i sur. 2016).

5. Literatura

- Bashline L, Lei L, Li S, Gu Y, 2014 Cell wall, cytoskeleton, and cell expansion in higher plants. *Molecular Plant* **7**, 586-600.
- Berger S, Papadopoulos M, Schreiber U, Kaiser W, Roitsch T, 2004. Complex regulation of gene expression, photosynthesis and sugar levels by pathogen infection in tomato. *Physiologia Plantarum* **122**, 419-428.
- Bertini L, Proietti S, Aleandri MP, Mondello F, Sandini S, Caporale C, Caruso C, 2012. Modular structure of HEL protein from *Arabidopsis* reveals new potential functions for PR-4 proteins. *Biological Chemistry* **393**, 1533-1546.
- Bolwell GP, Bindschedler LV, Blee KA, Butt VS, Davies DR, Gardner SL, Gerrish C, Minibayeva F, 2002. The apoplastic oxidative burst in response to biotic stress in plants: a threecomponent system. *Journal of Experimental Botany* **53**, 1367-1376.
- Bonfante P, Anca IA, 2009. Plants, mycorrhizal fungi, and bacteria: a network of interactions. *Annual Review of Microbiology* **63**, 363-383.
- Bonivento D, Pontiggia D, Matteo AD, Fernandez-Recio J, Salvi G, Tsernoglou D, Cervone F, De Lorenzo G, Federici L, 2008. Crystal structure of the endopolygalacturonase from the phytopathogenic fungus *Colletotrichum lupini* and its interaction with polygalacturonase-inhibiting proteins. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics* **70**, 294-299.
- Brundrett M, 2004. Diversity and classification of mycorrhizal associations. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society* **79**, 473-495.
- Buscot F, Munch JC, Charcosset JY, Gardes M, Nehls U, Hampp R, 2000. Recent advances in exploring physiology and biodiversity of ectomycorrhizas highlight the functioning of these symbioses in ecosystems. *FEMS Microbiology Reviews* **24**, 601-614.
- Clay K, Cheplick GP, Marks S, 1989. Impact of the fungus *Balansia henningsiana* on *Panicum agrostoides*: frequency of infection, plant growth and reproduction, and resistance to pests. *Oecologia* **80**, 374-380.
- Cui P, Zhang S, Ding F, Ali S, Xiong L, 2014. Dynamic regulation of genome-wide pre-mRNA splicing and stress tolerance by the Sm-like protein LSm5 in *Arabidopsis*. *Genome Biology* **15**, R1.

- Dean R, Van Kan JAL, Pretorius ZA, Hammond-Kosack KE, Di Pietro A, Spaun PD, Rudd JJ, Dickman M, Kahmann R, Ellisa J, Foster GD, 2012. The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology* **13**, 414-430.
- De Lorenzo G, D'Ovidio R, Cervone F, 2001. The role of polygalacturonase-inhibiting proteins (PGIPs) in defense against pathogenic fungi. *Annual Review of Phytopathology* **39**, 313-335.
- Di Matteo A, Federici L, Mattei B, Salvi G, Johnson KA, Savino C, De Lorenzo G, Tsernoglou D, Cervone F, 2003. The crystal structure of polygalacturonase-inhibiting protein (PGIP), a leucine-rich repeat protein involved in plant defense. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **100**, 10124-10128.
- Durrant WE, Dong X, 2004. Systemic acquired resistance. *Annual Review of Phytopathology* **42**, 185-209.
- Ellinger D, Naumann M, Falter C, Zwikowics C, Jamrow T, Manisseri C, Somerville SC, Voigt CA, 2013. Elevated early callose deposition results in complete penetration resistance to powdery mildew in *Arabidopsis*. *Plant Physiology* **161**, 1433-1444.
- Freeman BC, Beattie GA, 2008. An overview of plant defences against pathogens and herbivores. *Plant Health Instructor*, dostupno na: <https://www.apsnet.org/edcenter/disimpactmngmnt/topc/Pages/OverviewOfPlantDiseases.aspx>
- Gardiner DM, Kazan K, Manners JM, 2013. Cross-kingdom gene transfer facilitates the evolution of virulence in fungal pathogens. *Plant Science* **210**, 151-158.
- Gomathi V, Gnanamanickam SS, 2004. Polygalacturonase-inhibiting proteins in plant defence. *Current Science* **87**, 1211-1217.
- Grayer RJ, Kokubun T, 2001. Plant-fungal interactions: the search for phytoalexins and other antifungal compounds from higher plants. *Phytochemistry* **56**, 253-263.
- Guevara-Morato MA, De Lacoba MG, Garcia-Luque I, Serra MT, 2010. Characterization of a pathogenesis-related protein 4 (PR-4) induced in *Capsicum chinense* L3 plants with dual RNase and DNase activities. *Journal of Experimental Botany* **61**, 3259-3271.
- Hawksworth DL, Lücking R, 2017. Fungal diversity revisited: 2.2 to 3.8 million species. *Microbiol Spectrum* **4**, 79-95.

- Horbach R, Navarro-Quesada AR, Knogge W, Deising HB, 2011. When and how to kill a plant cell: infection strategies of plant pathogenic fungi. *Journal of Plant Physiology* **168**, 51-62.
- Keegstra K, 2010. Plant cell walls. *Plant Physiol* **154**, 483-486.
- Lebeda A, Luhova L, Sedlarova M, Jancova D, 2001. The role of enzymes in plant–fungal pathogens interactions. *Journal of Plant Diseases and Protection* **108**, 89-111.
- Lehr NA, Schrey SD, Bauer R, Hampp R, Tarkka MT, 2007. Suppression of plant defence response by a mycorrhiza helper bacterium. *The New Phytologist* **174**, 892-903.
- Lurie S, Fallik E, Handros A, Shapira R, 1997. The possible involvement of peroxidase in resistance to *Botrytis cinerea* in heat treated tomato fruit. *Physiological and Molecular Plant Pathology* **50**, 141-149.
- Mellersh DG, Foulds IV, Higgins VJ, Heath MC, 2002. H₂O₂ plays different roles in determining penetration failure in three diverse plant–fungal interactions. *The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology* **29**, 257-268.
- Mengiste T, 2012. Plant immunity to necrotrophs. *Annual Review of Phytopathology* **50**, 267-294.
- Miedes E, Vanholme R, Boerjan W, Molina A, 2014. The role of the secondary cell wall in plant resistance to pathogens. *Frontiers in Plant Science* **5**, 358-371.
- Misas-Villamil JC, Van der Hoorn RAL, 2008. Enzyme–inhibitor interactions at the plant–pathogen interface. *Current Opinion in Plant Biology* **11**, 380-388.
- Morrissey JP, Dow JM, Mark GL, O’Gara F, 2004. Are microbes at the root of a solution to world food production? Rationale exploitation of interactions between microbes and plants can help to transform agriculture. *European Molecular Biology Organization Reports* **5**, 922-926.
- Perfect SE, Green JR, 2001. Infection structures of biotrophic and hemibiotrophic fungal plant pathogens. *Molecular Plant Pathology* **2**, 101-108.
- Pieterse CMJ, Leon-Reyes A, Van der Ent S, Van Wees SC, 2009. Networking by small-molecule hormones in plant immunity. *Nature Chemical Biology* **5**, 308-316.

- Prabhu SA, Wagenknecht M, Melvin P, Gnanesh Kumar BS, Veena M, Shailasree S, Moerschbacher BM, Kini KR, 2015. Immuno-affinity purification of PglPGIP1, a polygalacturonase inhibitor protein from pearl millet: studies on its inhibition of fungal polygalacturonases and role in resistance against the downy mildew pathogen. *Molecular Biology Reports* **42**, 1123-1138.
- Prabhu SA, Singh R, Kolkenbrock S, Sujeeth N, Gueddari NEEI, Moerschbacher BM, Kini RK, Wagenknecht M, 2014. Experimental and bioinformatic characterization of a recombinant polygalacturonase-inhibitor protein from pearl millet and its interaction with fungal polygalacturonases. *Journal of Experimental Botany* **65**, 5033-5047.
- Robb J, Lee SW, Mohan R, Kolattukudy PE, 1991. Chemical characterization of stress-induced vascular coating in tomato. *Plant Physiology* **97**, 528-537.
- Rodriguez-Moreno L, Ebert MK, Bolton MD, Thomma BPHJ, 2018. Tools of the crook-infection strategies of fungal plant pathogens. *The Plant Journal* **93**, 664-674.
- Sabater-Jara AB, Almagro L, Belchi-Navarro S, Ferrer MA, Barceló AR, Pedreño MA, 2010. Induction of sesquiterpenes, phytoosterols and extracellular pathogenesis-related proteins in elicited cell cultures of *Capsicum annuum*. *Journal of Plant Physiology* **167**, 1273-1281.
- Sarkar TS, Biswas P, Ghosh SK, Ghosh S, 2014. Nitric oxide production by necrotrophic pathogen *Macrophomina phaseolina* and the host plant in charcoal rot disease of jute: Complexity of the interplay between necrotroph–host plant interactions. *PLoS One* **9**, e107348.
- Sattler SE, Funnell-Harris DL, 2013. Modifying lignin to improve bioenergy feedstocks: strengthening the barrier against pathogens? *Frontiers in Plant Science: Plant Biotechnology* **4**, 70.
- Schenk PM, Kazan K, Wilson I, Anderson JP, Richmond T, Somerville SC, Manners JM, 2000. Coordinated plant defence responses in *Arabidopsis* revealed by microarray analysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **97**, 11655-11660.
- Shanmugam V, 2005. Role of extracytoplasmic leucine rich repeat proteins in plant defence mechanisms. *Microbiological Research* **160**, 83-94.

- Singh A, Jain A, Sarma BK, Upadhyay RS, Singh HB, 2013. Rhizosphere microbes facilitate redox homeostasis in *Cicer arietinum* against biotic stress. *Annals of Applied Biology* **163**, 33-46.
- Staskawicz BJ, 2001. Genetics of plant – pathogen interactions specifying plant disease resistance. *Plant Physiology* **125**, 73-76.
- Sticher L, Mauch-Mani B, Mettraux JP, 1997. Systemic acquired resistance. *Annual Review of Phytopathology* **35**, 235-270.
- Underwood W, 2012. The plant cell wall: a dynamic barrier against pathogen invasion. *Frontiers in Plant Science* **3**, 85.
- Volpin H, Phillips DA, Okon Y, Kapulnik Y, 1995. Suppression of an isoflavonoid phytoalexin defence response in mycorrhizal alfalfa roots. *Plant Physiology* **108**, 1449-1454.
- Vorwerk S, Somerville S, Somerville C, 2004. The role of plant cell wall polysaccharide composition in disease resistance. *Trends in Plant Science* **9**, 203-209.
- Wang X, Jiang N, Liu J, Liu W, Wang GL, 2014. The role of effectors and host immunity in plant–necrotrophic fungal interactions. *Virulence* **5**, 722-732.
- Wolpert TJ, Dunkle LD, Ciuffetti LM, 2002. Host-selective toxins and avirulence determinants: What's in a name? *Annual Review of Phytopathology* **40**, 251-285.
- Yi M, Valent B, 2013. Communication between filamentous pathogens and plants at the biotrophic interface. *Annual Review of Phytopathology* **51**, 567-611.
- Zeilinger S, Gupta VK, Dahms TES, Silva RN, Singh HB, Upadhyay RS, Gomes EV, Tsui CK-M i Nayak C, 2016. Friends or foes? Emerging insights from fungal interactions with plants. *FEMS Microbiology Reviews* **40**, 182-207.

Mrežna stranica:

<http://hirc.botanic.hr/botanika/Predavanja/BOTANIKA-MB-07-%20Mycota%201.pdf>

6. Sažetak

Velika većina gljiva su saprofiti, odnosno žive razgrađujući i reciklirajući hranjive tvari od mrtvog biljnog materijala kako bi ponovno postao dostupan biljkama. Postoji širok raspon simbiotskih interakcija biljaka i gljiva, a najčešće uključuju mikorizne i endofitne gljive. Manji broj vrsta gljiva razvio se u smjeru patogenosti sa štetnim učinkom na biljke, a klasificirane su kao biotrofi, nekrotrofi i hemibiotrofi. Biljka je zaštićena staničnom stijenkom koja otežava prodiranje gljive u stanicu pa su rane na biljci ili puči uobičajena mjesta kroz koja patogeni ulaze u biljku. Pojačanja stanične stijenke, poput lignifikacije, suberinizacije, taloženja glikoproteina bogatih hidrokisiprolinom i kaloze te umrežavanje proteina stanične stijenke koji ojačavaju mehaničke barijere biljaka i ograničavaju patogene u razvoju, promjene su koje se događaju na mjestima ulaska patogena. Gljive izlučuju enzime koji razgrađuju staničnu stijenku i posjeduju specifične infekcijske strukture, koje se razlikuju ovisno o vrsti gljive. Nadalje, izlučuju efektore kako bi ometale reakcije bazalnih obrambenih mehanizama biljaka, ali biljke su također razvile mehanizme za prepoznavanje takvih molekula. Prepoznavanje efektoru u biljkama pokreće obrambene reakcije poznate kao imunitet aktiviran efektorom (*eng. effector-triggered immunity*, ETI) što rezultira tzv. hipersenzitivnim odgovorom biljke (*eng. hypersensitive response*, HR) i biosintezom proteina povezanih s patogenezom (*eng. pathogenesis-related*, PR). Brza proizvodnja ogromnih količina reaktivnih kisikovih vrsta (*eng. reactive oxygen species*, ROS), takozvani oksidativni prasak, inducira produkciju velikog broja PR proteina. Akumulacija PR proteina na mjestu infekcije obično se povezuje sa sistemski stečenom otpornošću (*eng. systemic acquired resistance*, SAR), koja se temelji na povećanom stupnju otpornosti distalnih tkiva u slučaju naknadne infekcije patogenim organizmom.

7. Abstract

The vast majority of fungi are saprophytes, which means they live by decomposing and recycling nutrients from dead plant material and make them available for plants to use again. There is a wide range of symbiotic interactions between plants and fungi that most often include mycorrhizae and endophytic fungi. Fewer fungal species have evolved towards pathogenicity with adverse effects on plants and they are classified as biotrophs, necrotrophs, and hemibiotrophs. The plant is protected by a cell wall that makes it difficult for the fungus to penetrate the cell so wounds or stomata are common places through which pathogens enter the plant. Cell wall enhancements such as lignification, suberinization, deposition of hydroxyproline-rich glycoproteins, callose as well as cross-linking of cell wall proteins that strengthen plant mechanical barriers and limit pathogens in development are changes that occur at pathogen entry sites. Fungi secrete cell wall degrading enzymes (CWDE) that break down the cell wall and they possess specific infectious structures which vary widely depending on the type of fungus. Furthermore, they secrete effectors to interfere with the reactions of the basal plant defense mechanisms, but plants have also developed mechanisms to recognize such molecules. The recognition of these effectors in plants triggers defense reactions known as effector-triggered immunity (ETI) which results with a hypersensitive response in host plant (HR) and biosynthesis of pathogenesis-related proteins (PR). The rapid production of large quantities of reactive oxygen species (ROS), the so-called oxidative burst, is inducing the production of a large number of PR proteins. Accumulation of PR proteins at the site of infection is usually associated with the systemic acquired resistance (SAR), which is based on the increased degree of resistance of distal tissues in the event of subsequent infection with a pathogenic organism.