

Univerzita Hradec Králové

Přírodovědecká fakulta

Katedra biologie

**Úloha fytohormonů při reakci rostlin na
poškození hmyzími herbivory**

Bakalářská práce

Autor: Magdaléna Žídková
Studijní program: B1501 Biologie
Studijní obor: Systematická biologie a ekologie
Vedoucí práce: doc. Ing. Jiří Tůma, CSc.
Katedra biologie

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci zpracovala samostatně a že jsem v seznamu použité literatury uvedla všechny prameny, ze kterých jsem vycházela.

V Hradci Králové dne

Magdaléna Žídková

Poděkování:

Na tomto místě bych velmi ráda poděkovala svému školiteli panu doc. Ing. Jiřímu Tůmovi, CSc. za spoustu cenných rad a trpělivé vedení mé bakalářské práce. Poděkování patří i mé rodině za jejich nezbytnou podporu a pomoc v průběhu studia.

Anotace

ŽÍDKOVÁ, M. *Úloha fytohormonů při reakci rostlin na poškození hmyzími herbivory*. Hradec Králové 2019. Bakalářská práce na Přírodovědecké fakultě Univerzity Hradec Králové. Vedoucí bakalářské práce Tůma Jiří, doc. Ing. CSc. 49s.

Tato bakalářská práce popisuje úlohu fytohormonů při reakci rostlin na poškození hmyzími herbivory. Rostliny jsou schopné detekovat nejen obecné poškození svých buněk, ale i velmi specifické podmínky související s napadením herbivory. Jednou z látek hormonální povahy, která integruje informace vnímané v rozhraní mezi rostlinami a hmyzem do širokospektrálních obranných reakcí je kyselina jasmonová (JA). Specifitu je možno dosáhnout jednak pomocí procesů nezávislých na JA nebo na prostorových časových změnách koncentrace JA a modulujících hormonů, včetně ethylenu, kyseliny salicylové, kyseliny abscisové (ABA), auxinů, cytokininů, brassinosteroidů i gibberelinů. Cílem této rešeršní práce je s využitím dostupných zdrojů a především databází (WOS, Scopus, Ebsco-Environmentcomplete) zpracovat přehled o působení fytohormonů při obranných reakcích rostlin na napadení herbivorním hmyzem a uvést příklady řešené problematiky v posledním období.

Klíčová slova

Fytohormony, kyselina abscisová, kyselina jasmonová, kyselina salicylová, obrana rostlin proti herbivorům

Annotation

ŽÍDKOVÁ, M. *The role of phytohormones in plant response to insect herbivore damage*. Hradec Králové, 2019. Bachelor Thesis at Faculty of Science University of Hradec Králové. Thesis Supervisor Tůma Jiří, Assoc. Prof. Ing. PhD. 49 p.

This Bachelor Thesis describes the role of phytohormones in plant response to insect herbivores. Plants are able to detect not only general damage to their cells, but also very specific subjects related to herbivore attack. One of the substances of a hormonal nature that integrates information perceived at the interface between plants and insects into broad-spectrum defense responses is jasmonic acid (JA). Specificity can be achieved either by processes independent of JA and by spatial temporal changes in the concentration of JA and modulating hormones, including ethylene, salicylic acid, abscisic acid (ABA), auxins, cytokinins, brassinosteroids and gibberellins. The aim of this research is to use the available resources and especially databases (WOS, Scopus, Ebsco-Environmentcomplete) to work out the overview of phytohormones in defensive plant responses to herbivorous insect infestation and to give examples of solved issues in the recent period.

Keywords

Phytohormones, abscisic acid, jasmonic acid, salicylic acid, ethylene, plant defense against herbivores

Obsah

1 Úvod.....	8
2 Literární přehled.....	10
2.1 Fytohormony.....	10
2.1.1 Kyselina jasmonová.....	10
2.1.1.1 Různorodé jasmonátové signalizace v rostlinách a jejich funkce.....	11
2.1.1.2 Jasmonáty v kořenech.....	13
2.1.1.3 Jasmonáty u nahosemenných rostlin.....	13
2.1.2 Kyselina salicylová.....	14
2.1.3 Kyselina abscisová.....	15
2.1.3.1 Vliv kyseliny abscisové na obranu zelí proti molicím.....	15
2.1.3.2 Možné antagonistické působení u vojtěšky.....	16
2.1.4 Ethylen.....	16
2.1.5 Brassinosteroidy.....	17
2.1.6 Další fytohormony.....	17
2.1.6.1 Auxin.....	17
2.1.6.2 Gibbereliny.....	19
2.1.6.3 Cytokininy.....	19
2.2 Imunita rostlin a hormonální modulace.....	20
2.3 Stres rostliny.....	21
2.3.1 Abiotický stres.....	21
2.3.1.1 Vliv zasolení na odolnost proti hmyzu.....	21
2.3.1.2 Vliv antropogenního zvýšení emisí CO ₂	22
2.3.1.3 Vliv UV záření na jasmonátovou signalizaci.....	23
2.3.2 Biotický stres.....	23

2.4 Druhy býložravého hmyzu	23
2.4.1 Specialisté a generalisté	24
2.4.2 Podzemní a nadzemní herbivoři	24
2.4.3 Vlivy jednotlivých vývojových stádií hmyzu na obranu rostlin.....	25
2.4.4 Typy stresových reakcí.....	26
2.5 Způsoby obrany rostlin proti herbivorům	27
2.5.1 Chemická obrana.....	27
2.5.2 Biologická obrana	28
2.5.2.1 Konstitutivní obrana – před napadením.....	28
2.5.2.2 Indukovaná obrana – po napadení.....	29
2.6 Obranné proteiny a enzymy	30
2.6.1 HAMPs.....	30
2.6.2 Další molekulové struktury	31
2.7 Těkavé látky v rostlinách	31
2.8 Signalizace herbivora v rostlině.....	36
2.8.1 MAPK signalizace	36
2.9 Vedlejší vlivy obrany proti herbivorům	39
2.9.1 Vliv arbuskulární mykorrhizy na obranu rostliny	40
2.10 HAO (herbivore-associated organisms)	40
2.11 Obranná reakce rostliny na více herbivorů	42
3 Možné využití v praxi.....	43
4 Závěr	44
Seznam použité literatury.....	46

1 Úvod

Rostliny jsou přisedlé organismy, nemohou se proto bránit nepříznivým podmínkám útekem. Vyvinuly si proto nejen mnoho mechanických způsobů ochrany, jako jsou trichomy, ostny nebo silná kutikula (Wu et Baldwin, 2009), spolupráci s jinými organismy (např. mravenci), ale také širokou škálu chemických sloučenin, které jim umožňují reagovat na různé vlivy prostředí. Patří mezi ně sucho, zasolení půdy, napadení patogeny a v neposlední řadě predace. Rostliny mohou vnímat napadení skrze některé elicitory v ústním sekretu hmyzu nebo skrze signály při poranění (Lei et al., 2017). Energie a živiny, které musí rostliny vynaložit pro obnovu částí zkonsumovaných predátorem, se potom nedostávají při růstu a fotosyntéze. Projevem je snížená kondice a konkurenceschopnost konkrétního jedince.

Predátory rostlin najdeme napříč celou živočišnou říší. Od jednobuněčných organismů, přes hlísty, měkkýše a členovce, až po obratlovce. Vzhledem k tomu, že hmyz celkovým počtem druhů i jedinců výrazně převyšuje ostatní kmeny bezestranných i strunatců, jedná se o skupinu s nezanedbatelným významem. Jelikož se predátoři v průběhu evoluce postupně adaptovali na různé způsoby rostlinné obrany, byly rostliny nuceny své chemické zbraně průběžně inovovat a zdokonalovat.

Dosud bylo objeveno několik více či méně účinných způsobů obranyschopnosti rostlin. Podílejí se na ní jak primární, tak sekundární metabolity. Zahrnují uvolňování těkavých látek, obranné reakce na základě oxidativního stresu a také některé rostlinné hormony. Podle vědeckých výzkumů se právě tyto fytohormony jeví jako velmi důležité, až nezbytné. Kromě jiných funkcí, které látky fytohormonální povahy v těle rostliny vykonávají, totiž fungují jako signální molekuly, startující v rostlině sérii dalších obranných reakcí.

Protože mezi zástupce hmyzích herbivorů patří i škůdci kulturních a zemědělských plodin, jež citelně snižují jejich výnosy, je v zájmu vědců, zemědělců a šlechtitelů hledat prostředky, jak před nimi rostliny chránit. Jako nejlepší způsob redukce poškození plodin hmyzem se dlouho jevíly prostředky na chemické bázi.

V posledních letech se však stále více diskutuje ekologická zátěž chemických pesticidů na biodiverzitu. Studium přirozené obrany rostlin proti útočníkům by mohlo napomoci k objevování nových, k přírodě šetrnějších způsobů boje.

Cílem této rešeršní práce je s využitím dostupných zdrojů a především databází (WOS, Scopus, Ebsco-Environmentcomplete) zpracovat přehled o působení fytohormonů při obranných reakcích rostlin na napadení herbivorním hmyzem a uvést příklady řešené problematiky v posledním období.

2 Literární přehled

2.1 Fytohormony

Rostlinné hormony (fytohormony) jsou nízkomolekulární látky, které se zásadním způsobem podílejí na regulaci růstu a vývoji rostlin. Hrají nezastupitelnou roli v komunikaci mezi buňkami, pletivy a orgány v průběhu celého životního cyklu rostliny. Můžeme je označit za integrátory vnějších a vnitřních signálů. Jednotlivé hormony neregulují vývojové procesy samostatně, ale velmi často společně s dalšími hormony, přičemž účinky bývají jak synergické, tak antagonické (Podlešáková et al., 2012). Rozlišují se dvě hlavní skupiny fytohormonů. První skupina se označuje jako stresové hormony. Patří mezi ně kyselina abscisová, ethylen, kyselina jasmonová a kyselina salicylová. Tyto hormony se podílí na spuštění defenzivních drah. Druhou skupinu tvoří tzv. pozitivní růstové regulátory. Zahrnuje auxiny, cytokininy, gibbereliny a brassinosteroidy, které podporují buněčné dělení, růst a vývoj rostliny (Vanková, 2010).

2.1.1 Kyselina jasmonová

Kyselina jasmonová (JA) a její deriváty, souhrnně nazývané jasmonáty, se významně podílí na regulaci růstu rostlin při změně stávajících vnějších nebo vnitřních podmínek. Vznikají oxidací lipidů a stimulují obranný a adaptační mechanismus rostlinného organismu (Podlešáková et al., 2012). Kyselina jasmonová, chemicky 3 - oxo -2-(2'-*cis*-pentenyl) cyklopentan-1- octová, je fytohormon, který se v rostlinách nachází ve dvou optických izomerech. Funguje jako signál při poranění. V této situaci roste koncentrace kyseliny a jejího methylesteru v rostlině. Methyljasmonát může díky své těkavosti působit i jako plyný signál. Zvýšené množství obou látek vede k zahájení transkripce proteinů potřebných pro obrannou reakci (Procházka, 1998). Spuštění jasmonátové signalizační dráhy je spojováno se zvýšením rezistence rostliny vůči listožravým, bodavě sajícím a v některých případech i lýkožravým členovcům (Escobar-Bravo et al., 2019). Studie prokazují, že kyselina jasmonová působí ve vzájemném vztahu rostliny a býložravce jako nejdůležitější fytohormon, který reguluje úroveň rostlinné obrany. Její význam byl doložen u rostlin se sníženou biosyntézou této

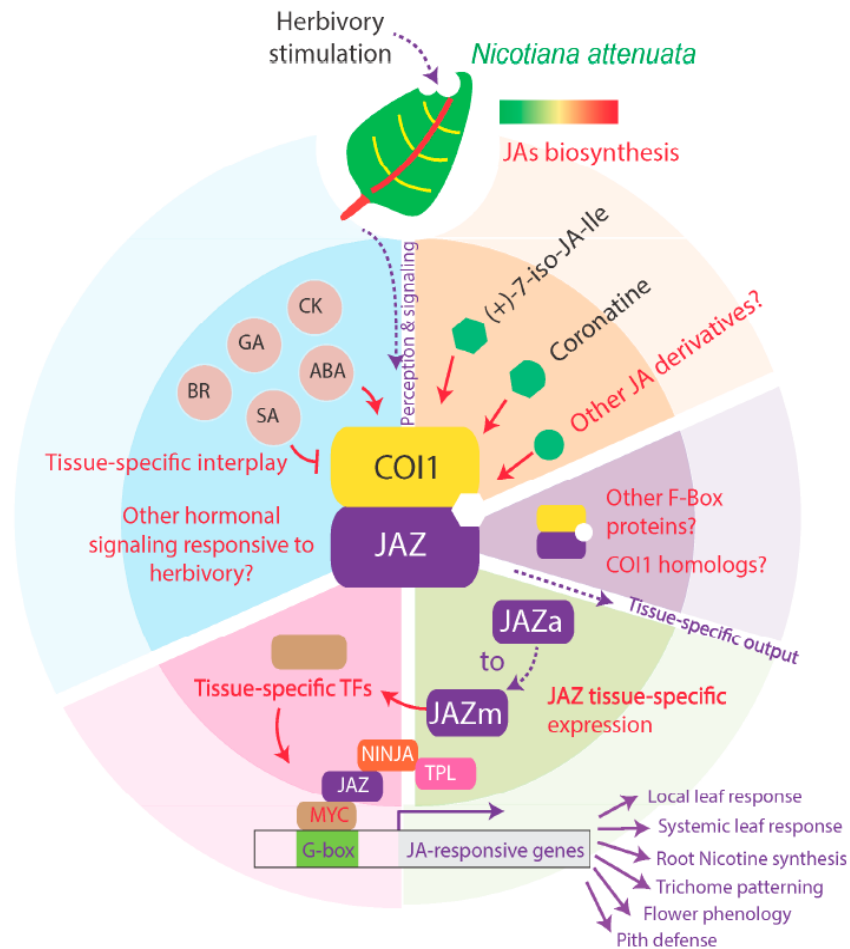
sloučeniny nebo vnímavostí k ní. Jejich odolnost vůči působení herbivorů se totiž znatelně snížila (Wu et Baldwin, 2009). Kromě indukce okamžité obrany mají kyselina a její deriváty v reakci na předešlé podněty schopnost obranu navýšit a urychlit (Lortzing et Steppuhn, 2016).

2.1.1.1 Různorodé jasmonátové signalizace v rostlinách a jejich funkce

Interakce fytohormonálních signalizací pravděpodobně přispívají ke specifickým reakcím v závislosti na druhu pletiva. Například specifické skupiny genů, kódujících signalizační procesy a souvisejících s hormony auxinem a ethylenem, vykazují odezvy vyvolané ústním sekretem herbivorů v systémových pletivech listů. Ty jsou odlišné od odezev v lokálně ošetřených pletivech.

U tabáku (*Nicotiana tabacum*) regulují jasmonáty expresi genu NtPYL4, který kóduje proteinový receptor kyseliny abscisové a přitom ovlivňuje regulaci biosyntézy obranných alkaloidů v kořenech. U rajčat (*Solanum lycopersicum*) antagonistické křížové působení mezi brassinosteroidy a jasmonáty specificky mění hustotu trichomů a hromadění obranných metabolitů. Souhra mezi kyselinou salicylovou (SA) a jasmonáty závisí na jejich koncentracích, specifických pro konkrétní pletivo, protože SA a JA působí synergicky při nízkých koncentracích, ale antagonisticky při vysokých koncentracích. Kinetika akumulace hormonů po vyvolání signálu silně ovlivňuje jejich vzájemnou interakci. Jestliže jsou dráhy SA a JA aktivovány současně, SA působí proti JA signalizaci. Toto omezení je však do značné míry zrušeno, když tyto dvě signální dráhy nejsou aktivovány synchronně. Jasmonátové obranné reakce na hmyzí herbivory se liší nejen napříč pletivy, ale také v průběhu ontogeneze daného pletiva v důsledku komplexního přeskupování těchto interakcí mezi hormonálními cestami. Vliv ontogeneze je zřejmý při porovnání mladých listů se starými nebo dokonce odumírajícími s ohledem na množství herbivorem vyvolaných výronů jasmonátu a obranných reakcí, které aktivují. Výskyt těchto výronů byl opakovaně pozorován v mladších pletivech. Jasmonátová signalizace v průběhu ontogeneze vykazuje genetické změny, které se projevují na fenotypu (Li et al., 2016).

Schematický model jasmonátové signalizace a odezvy na hmyzí herbivory v *N. attenuata* je uveden na Obr. 1 (Li et al., 2016).



Obr. 1: Schematický model jasmonátové signalizace

Schematický model modulací v jasmonátovém vjemu, signalizaci a odpovídající tkáňové, herbivory vyvolané, reakce. Představuje nové objevy v jasmonátové signalizaci v ekologickém modelu tabáku *Nicotiana attenuata*. Malý kruh nahoře představuje biosyntézu jasmonátu po útoku býložravců; vnitřní kruh reprezentuje vnímání a signalizaci jasmonátu, vnější větší kruh představuje výstupy pletivově specifických odpovědí. Šest různých typů modulací v modelu signalizace je prezentováno v různých barvách. Bíle jsou označeny odchylky jasmonátové biosyntézy v různých typech tkání listů; oranžově jiné deriváty jasmonátu, které budou pravděpodobně sloužit jako ligandy a musí být objeveny; fialově jiné F-box proteiny, které mohou sloužit jako funkční skupiny; zeleně specifické projevy pro různá pletiva, které nejsou plně popsány; růžově transkripční faktory specifické pro pletiva, zkoumány; modře odchylky interakcí hormonů v různých pletivech. Červené popisky odkazují na oblasti, kde se pravděpodobně uskuteční modulace (Li et al., 2016).

2.1.1.2 Jasmonáty v kořenech

Kyselina jasmonová a její deriváty jsou v kořenech rostliny hůře pozorovatelné než v nati. Nižší tvorba jasmonátů je pravděpodobně způsobena tím, že kořeny jsou buď k jejich působení citlivější, nebo zde spolupracují jiné okolnosti. Například přítomnost kyseliny salicylové, která může působení jasmonátů omezovat, nebyla v kořenech objevena. Její nedostatek tudíž může nepřímo zvyšovat jasmonátovou aktivitu.

Johnson et al. (2018) zkoumali růst larev brouka *Dermolepida albohirtum* živících se kořeny trávy *Microlaena stipoides*. Larvy třetího instaru byly umístěny do Petriho misek společně s kořeny náhodně vybraných jedinců trávy a jedinců ošetřených MeJA. Průběžně byl měřen relativní vzrůst larev. Ty, které byly krmeny ošetřenými kořeny, byly zřetelně menší. Přestože zkonzumovaly stejné množství potravy, nedokázaly z ní vyzískat odpovídající množství živin. V důsledku dlouhověkosti larev (až jeden rok) je však nutno počítat s časovým omezením působení methyljasmonátu. Bylo zjištěno, že v důsledku působení MeJA se změnila koncentrace některých primárních a sekundárních metabolitů. Výrazně se snížilo množství galaktolipidů, které larvám slouží jako zdroj mastných kyselin. Naopak koncentrace nenasycených mastných kyselin, jež samy o sobě mohou být pro larvy toxické, se zvýšily. Nejvyšší vliv na herbivora však pravděpodobně měla zvýšená koncentrace linoleoyllysofosfocholinu.

Castano-Duque et al. (2018) zkoumali globální změny v expresi proteinů jak v kořenech, tak v listech kukuřičných rostlin napadených kořenovým herbivorem, bázlivcem kukuřičným (*Diabrotica virgifera virgifera*). Změny v expresi proteinů vykazují metabolické změny během požití, které umožňují rostlině bránit se.

2.1.1.3 Jasmonáty u nahosemenných rostlin

Účinnost derivátů kyseliny jasmonové byla zkoumána především u krytosemenných rostlin, ale ukazuje se, že působí stejně i u nahosemenných.

Ti et al. (2006) aplikovali methyljasmonát na smrk ztepilý (*Picea abies*) napadený lýkožroutem smrkovým (*Ips typographus*) v reakci na zjištěnou účinnost proti houbové chorobě *Ceratocystis polonica* přenášené kůrovcem. Na Petriho miskách byly po dobu 24 hodin kultivovány vzorky kůry a lýka ošetřené methyljasmonátem a neošetřené vzorky ze stejného stromu. Část kmene smrku

ošetřená methyljasmonátem vykazovala znatelně méně chodbiček vytvořených brouky, které byly výrazně kratší než u neošetřeného vzorku, a méně nakladených vajíček. Postupem času se negativní vliv prohluboval. Jiné experimenty potvrdily menší náchylnost k napadení a pomalejší rozmnožování. Bylo zjištěno, že methyljasmonát způsobuje u kůrovců nižší životaschopnost v důsledku nižší váhy a menší schopnosti šíření. Přidání methyljasmonátu u stromů zvýšilo množství pryskyřičných kanálků a koncentrace terpenů v pryskyřici, které strom potřebuje k odpuzení kůrovců a k hojení ran (Shikano et al., 2018).

2.1.2 Kyselina salicylová

Kyselina salicylová (SA) je rostlinný hormon, který reguluje mnoho fyziologických procesů. Patří k nim klíčení semen, buněčný růst, dýchání, zavírání průduchů, senescence nebo výnos plodů. Účastní se ale také odpovědi na abiotické stresové faktory. Je jednou z klíčových molekul regulujících reakci rostlin na infekci patogenními mikroorganismy. Působení kyseliny salicylové v některých uvedených procesech je dáno jejím efektem na jiné rostlinné hormony. Bylo popsáno propojení mezi SA a rezistencí tabáku vůči viru tabákové mozaiky. SA slouží jako klíčová složka systémově získané rezistence (Janda et Valentová, 2014).

Rostliny mohou vnímat specifické látky z ústního sekretu hmyzu při napadení, které slouží jako impuls ke spuštění řady signálů pro biosyntézu obranných metabolitů. Kyselina salicylová indukuje tvorbu enzymu proteinkinázy, který iniciuje syntézu proteinů pro obranu a jejich akumulaci v organismu. Bylo zjištěno, že výroba obranných metabolitů přímo při napadení je pro rostlinu efektivnější a méně nákladná než udržování metabolitů ve stálých koncentracích (Hettenhausen et al, 2014). Funkce kyseliny salicylové v boji proti býložravému hmyzu zůstává nejasná. Při obraně proti okusovačům pravděpodobně nenese významnější úlohu. Při napadení rostliny lýkožravým hmyzem je sice často aktivována signalizace SA, její působení se ale liší podle druhu rostliny. Zatímco u rajčete se podílí na vzniku rezistence ke mšicím, u huseníčku rolního (*Arabidopsis thaliana*) omezuje růst mšic a molic (Wu et Baldwin, 2009). Na rostlinné obraně se nepodílí pouze samotná kyselina salicylová, ale také její deriváty. Bylo zjištěno, že napadení mšicí sojovou (*Aphis glycines*) u sóji (*Glycine max*) vyvolává tvorbu methylsalicylátu. Tato

látku slouží jako lákadlo pro dravé brouky živící se mšicemi a omezuje tak šíření mšic (Chapman et al., 2018).

2.1.3 Kyselina abscisová

Kyselina abscisová je sloučenina na bázi terpenů. Je syntetizována z karotenoidů v plastidech, především v chloroplastech. Jako hormon se podílí na inokulaci semen a pupenů, funguje také jako stresový hormon. Zvýšená koncentrace kyseliny v poraněných listech podmiňuje zvýšení tvorby Ca^{2+} . Signalizace kyseliny abscisové (ABA) je jedním z nejdůležitějších regulátorů tolerance rostlin vůči abiotickému stresu, jako je sucho a zasolení. Rostliny s narušenou syntézou ABA vykazují ve vegetativním stádiu zvýšenou náchylnost ke stresu ze zasolené půdy. Podílí se ale také na regulaci tolerance rostliny k napadení hmyzem. Rajčata s deficitem ABA vykazovala sníženou odolnost vůči housenkám blýskavky červivcové (*Spodoptera exigua*). Podobně i huseníček se sníženou produkcí ABA byl méně odolný proti jinému druhu blýskavky *Spodoptera litoralis* (Lei et al., 2017).

2.1.3.1 Vliv kyseliny abscisové na obranu zelí proti molícím

Molice patří k nejvýznamnějším zemědělským škůdcům na světě. Pro snížení poškození plodin na přijatelnou úroveň jsou široce používány chemické insekticidy. Bohužel téměř všechny tyto látky představují nebezpečí pro životní prostředí. Je proto nutné objevovat alternativní metody. U hlávkového zelí (*Brassica oleracea* var. *capitata*) byla objevena rezistence proti molici vlašovičnickové (*Aleyrodes proletella*), která se zvyšovala s rostoucím stářím jedince. Broekgaarden et al. (2018) se zaměřili na objevení molekulárního mechanismu rezistence a zapojených genů. Pomocí sekvenování RNA analyzovali transkripci genů v mladých citlivých rostlin ve srovnání se staršími a odolnějšími. Expres mnoha obranných genů byla určitým způsobem zastoupena u mladých i starších. Některé obranné procesy však byly u starších rostlin pozorovány ve větším množství. Na základě měření bylo zjištěno, že u obou věkových kategorií se snížilo množství kyseliny jasmonové. Množství ABA se u různě starých rostlin lišilo. U mladších se zvýšilo, u starších snížilo. Starší rostliny měly oproti mladším nižší hladinu auxinu, ale vyšší hladinu glukosinolátů, a to nezávisle na přítomnosti molice. Kromě výše zmíněného byli také zkoumáni kříženci odolné a citlivé odrůdy

zelí. Při genetickém QTL mapování byly na chromozomech 2 a 9 nalezeny významné intervaly pro ovipozici a přežití dospělců. V těchto intervalech byla u starších rostlin zvýšená exprese některých genů. Tyto geny u huseníčku odpovídají genům pro signalizaci kyseliny abscisové. Z toho lze předpokládat roli kyseliny abscisové v tvorbě rezistence k molícím.

2.1.3.2 Možné antagonistické působení u vojtěšky

Lei et al. (2017) zkoumali u dvou kultivarů vojtěšky (*Medicago sativa*) působení fytohormonů při napadení blýskavkou *Spodoptera litura*, a to v normálním a zasoleném prostředí. Housenky, které žraly na kultivaru tolerantním k zasolení, byly o více než 40 % hmotnější než ty, které žraly na citlivějším kultivaru. Navíc, když si mohly mezi těmito kultivary samy vybrat, preferovaly ten tolerantnější. Na vyrovnávání se se stresem ze zasolení má u rostlin vliv především kyselina abscisová. Vzhledem k tomu, že rostliny stejného druhu, které lépe snášejí zasolené prostředí, byly náchylnější k útoku housenek blýskavky, lze usuzovat, že působení kyseliny abscisové oslabuje jasmonátovou obranu.

2.1.4 Ethylen

Ethylen je plynňý hormon, který vzniká z methioninu přes intermediární 1-aminocyklopropan-1-karboxylovou kyselinu (ACC) třemi enzymy, S-adenosylmethionin syntetázou, ACC syntázou a ACC oxidázou (Taiz et Zeiger, 2002). Všechny orgány vyšších rostlin syntetizují ethylen, ale na nejvyšších úrovních je produkován ve stárnoucích tkáních a dozrávajících plodech. Produkce ethylenu se zvyšuje v poraněných pletivech a stoupá i po dalších stresech, jako je sucho, ozon nebo požer hmyzem. Ethylen má několik rolí ve vývoji. Podporuje zrání některých druhů ovoce, vyvolává laterální buněčnou expanzi, která narušuje dormanci semen, a tím je vyvolán růst kořenů a kořenových vlásků. Kromě role ve vývoji je ethylen zapojen i do obranných reakcí. Jeho úloha může být odlišná v závislosti na druhu rostliny nebo patogenu. Existují také důkazy o úloze ethylenu v obraně proti hmyzu. Rostliny používají ethylen jako těkavý hormon k interakci se vzdálenými částmi nebo s jinými rostlinami v blízkém okolí (Bodenhausen, 2007).

Louis et al. (2015) zkoumali obranné reakce kukuřice (*Zea mays*). Bylo zjištěno, že jako nejdůležitější obranná látka funguje cysteinproteináza. Ve studii obrany proti

listožravému hmyzu se jako signální molekuly pro zahájení syntézy tohoto enzymu ukázaly kyselina jasmonová ve spolupráci s ethylenem. Pozdější výzkum však osvětlil, že na obranu proti bodavě savému hmyzu, například mšici kukuřičné (*Rhopalosiphum maidis*), není kyselina jasmonová zapotřebí. Pro signalizaci je totiž využíván pouze ethylen.

2.1.5 Brassinosteroidy

Brassinosteroidy (BR) jsou polyhydroxylované steroidy, které stimulují růst jak výhonků, tak kořenů. Společně s auxiny se podílejí na prodlužování buněk, podporují buněčné dělení a růst laterálních kořenů. Pozitivně ovlivňují diferenciaci xylému, klíčivost semen, tvorbu pylové láčky nebo na světle závislé růstové a vývojové procesy v rostlině. Velmi důležitá je jejich úloha při toleranci rostlinného stresu. Bylo zjištěno, že zvyšují toleranci rostliny k chladu, teplu, zasolení, suchu, nadměrnému osvětlení, těžkým kovům a infekcím viry, bakteriemi a houbami (Vanková, 2010). Bylo zjištěno, že antagonistické působení brassinosteroidů a kyseliny jasmonové mění u rajčat hustotu trichomů a hromadění metabolitů (Li et al., 2016).

2.1.6 Další fytohormony

Nejen ethylen, SA a JA, ale i ostatní objevené hormony, vzhledem k jejich účinkům na růst a rozvoj, jsou zapojeny do obrany nebo patogeneze (Pieterse et al., 2012).

2.1.6.1 Auxin

Auxiny představují široké spektrum organických látek. V těle rostliny ovlivňují celou škálu fyziologických procesů. Patří mezi ně stimulace buněčného dělení, prodlužování a větvení stonků, některé tropismy nebo zrání plodů. Zároveň zpomalují stárnutí. Pro strukturu všech auxinů je společný aromatický skelet s karboxylovou skupinou v postranním řetězci. Nejdůležitějším zástupcem přirozených auxinů je kyselina indolyl-3-octová (IAA). Další látky auxinové povahy, jako kyseliny 4-chlor-indolyl-3-octová (4-Cl-IAA), indolyl-3-máselná (IBA) nebo fenyl-3-octová (PAA), se vyskytují v rostlinách v daleko menších množstvích a jejich význam je spíše okrajový. Ve většině případů, kdy hovoříme o auxinech, je míněna právě kyselina indolyl-3-octová (tzv. „volná IAA“), případně její deriváty a

konjugáty s aminokyselinami nebo s cukry, které hrají důležitou úlohu v biosyntéze a regulaci hladiny volné kyseliny v rostlině (Podlešáková et al., 2012).

Auxiny hrají roli v prakticky každé fázi vývoje rostlin. Mnoho mikroorganismů je může produkovat. Někteří mikrobi manipulují s auxinovou signalizací a narušují normální proces vývoje. Auxinová signalizace může omezit množství a signalizaci kyseliny salicylové. Z uvedeného důvodu není překvapující, že některé patogeny si vyvinuly způsoby, jak využít auxinem zprostředkované potlačení salicylátové signalizace a zvýšit citlivost hostitele. Na druhé straně se ukázalo, že SA signalizace brání činnosti auxinů prostřednictvím globálního potlačení genů spojených s auxiny. Bylo zjištěno, že bakteriální protein flagelin navozuje transkripci mikroRNA miR393. Ta se váže na auxinové receptory a potlačuje signalizaci auxinu. Tím se zabrání protichůdnému působení auxinu k SA signalizaci. Toto potlačení auxinové reakce vedlo ke zvýšené rezistenci proti infekci bakterií *Pseudomonas syringae* a patogenní houbou *Hyaloperonospora arabidopsidis*, což naznačuje, že působení proti signalizaci auxinu je součástí SA - závislé ochrany. Naproti tomu nadměrná tvorba miR393 učinila rostliny odolnější vůči biotrofům. A to tak, že způsobila zvýšenou náchylnost k nekrotrofům, což naznačuje, že potlačení signalizace auxinu ovlivňuje také interakce SA - JA. Navíc potlačení signalizace auxinu pomocí miR393 přesměruje metabolický tok metabolické dráhy AMK tryptofanu, kterou jsou syntetizovány auxiny, antimikrobiální látky, indolové glukosinoláty a camalexin. Rostliny s potlačeným auxinem ve výsledku produkují více indolových glukosinolátů, které se podílejí na rezistenci k biotrofům, Rostliny tímto zřejmě kompenzují sníženou tvorbu camalexinu, jenž je účinnější vůči nekrotickým houbám než glukosinoláty. Role interakce auxinu s kyselinou jasmonovou v regulaci signalizační sítě rostlinné imunity zůstává neobjasněna (Pieterse et al., 2012). Lze však předpokládat, že auxiny s kyselinou jasmonovou spolupracují. Marimuthu et Smith (2012) porovnávali působení mšice zhoubné (*Diuraphis noxia*) na odolnou a citlivou odrůdu ječmene (*Hordeum vulgare*). U tolerantní odrůdy byla oproti té citlivé zjištěna zvýšená syntéza ethylenu a auxinů. Samotná jasmonátová obrana citlivé rostliny se ukázala být nedostatečnou.

2.1.6.2 Gibbereliny

Gibberelové kyseliny jsou hormony, které kontrolují růst rostlin regulací degradace růst omezujícího proteinu DELLA. Výrazné zapojení gibberelinů do imunitní signalizace rostlin se ukázalo, když bylo zjištěno, že degradace proteinů DELLA podporuje náchylnost k nekrotrofii a odolnost vůči biotrofům prostřednictvím modulace signalizace JA a SA. DELLA-mutantní rostliny vykazovaly snížené hodnoty citlivosti na JA, zatímco znatelná aktivace DELLA v mutantu necitlivém na kyselinu gibberelovou (GA) vedla ke zvýšené citlivosti na JA. To naznačuje, že proteiny DELLA pozitivně interagují s jasmonátovou dráhou. GA-zprostředkovaná degradace DELLA proteinu odpovídajícím způsobem zesílila vyvolané exprese genu citlivého na JA. Kyseliny gibberelové tak potlačují buněčnou kompetenci reagovat na JA a následně posunout rovnováhu mezi signalizací JA a SA, která je výsledkem ve zvýšené SA signalizaci a biotrofní rezistenci. Vzhledem k tomu, že DELLA proteiny integrují rostlinné reakce na různé hormonální signály a environmentální podmínky, jsou klíčovými hráči pro schopnost rostliny maximalizovat růst a ochranu (Pieterse et al., 2012).

Gibbereliny spolupracují s jasmonátovou signalizací prostřednictvím kompetitivní vazby DELLA, GA signalizačních transkripčních represorů, na proteiny JAZ. Rovnováha obou negativních regulátorů je flexibilní podle typu pletiva.

Byla objevena synergie GA-JA v rozvoji nitek u tyčinek a jejich antagonismus v regulaci nadzemního růstu. Dosud nebyl objeven vliv GA na JA signalizaci v kořenech (Li et al., 2016).

2.1.6.3 Cytokininy

Cytokininy jsou běžné růstové hormony, které slouží také jako modulátory rostlinné imunity. Jsou často spojeny s rostlinnou odpovědí na biotrofní patogeny, které mění fyziologii hostitele. Bylo dokázáno, že cytokininy modulují SA signalizaci. Tyto hormony, jež jsou aktivovány transkripčním faktorem ARR2, který reguluje geny citlivé na cytokininy, se mohou vázat na SA transkripční faktor TGA3 a pozitivně regulovat expresi genu PR-1 a odolnost proti *Pseudomonas syringae*. Cytokininy tak mohou působit synergicky na imunitní signalizační síť rostlin

(Pieterse et al., 2012). Cytokininy jsou dobře známé pro svou úlohu ve zpomalení stárnutí listů, tedy v procesu, do kterého se zapojuje JA. Interakce mezi indukcí cytokininů a jasmonátů v odezvě na herbivory byla prokázána jak v lokálních, tak i ve vzdálených systémových pletivech (Li et al., 2016).

2.2 Imunita rostlin a hormonální modulace

Jako důležitý modulátor rostlinné imunity funguje také ethylen (ET). Tento plynný hormon slouží jako hlavní složka směsi obranných signálů produkovaných během mnoha interakcí mezi rostlinou a útočníkem a funguje jako důležitý modulátor rostlinné imunity. Analýza globální exprese genů u původního typu infikovaného patogenu a mutantní rostliny s poruchou hormonální signalizace odhalila rozsáhlé křížové působení mezi ET a oblastí SA a JA signalizace imunitního systému. ET může působit pozitivně i negativně na imunitu rostlin. Například u *Arabidopsis* ET generuje expresi SA-responzivního genu PR-1. U tabáku je ethylen nezbytný pro vznik SAR (na SA závislá systémově zvýšená obrana celé rostliny při lokální infekci patogenem).

Naopak na ET-závislé transkripční faktory EIN3 a EIL1 byly zapojené do globálního potlačení genů závislých na PAMP u huseníčku *Arabidopsis*, včetně genu pro biosyntézu SA ICS / SID2. To vede k redukci akumulace SA.

ET také výrazně ovlivňuje výsledek JA odpovědi. Při tvorbě v kombinaci s JA, například při infekci nekrotrofními patogeny, ET působí synergicky na expresi ERF větve JA dráhy. Oproti tomu antagonizuje větev MYC, což vede k upřednostnění imunitní signalizace sítě směrem k JA a ET obranné signalizaci, spojené s obranou proti nekrotrofům. Navíc, když byla větev ERF aktivována a MYC větev potlačena nadměrnou expresí genu Octadecanoid-responsive *Arabidopsis* 59 (ORA59), se rostliny staly atraktivnějšími pro housenky běláška zelného (*Pieris rapae*). Proto modulace JA odpovědi signalizací ET může negativně ovlivnit možnost přežití při napadení hmyzem (Pieterse et al., 2012).

2.3 Stres rostliny

V nepříznivých podmínkách biotického nebo abiotického charakteru rostlina zpomaluje nebo přímo zastavuje svůj růst. Studováním stresových podmínek hospodářských rostlin a jejich zmírněním, případně eliminací, lze zabránit nežádoucím ztrátám na výnosu.

2.3.1 Abiotický stres

Abiotický stres způsobují nepříznivé podmínky prostředí, ve kterém rostlina žije. Může být fyzikální nebo chemické povahy.

Rozdělení podle Tůmy (2018):

Fyzikální:

- Mechanické účinky větru
- Nadměrné záření (UV, viditelné)
- Extrémní teploty (horko, chlad, mráz)

Chemické:

- Nedostatek vody (sucho)
- Nedostatek kyslíku (např. v důsledku zaplavení) – hypoxie, anoxie
- Nedostatek živin v půdě
- Nadbytek iontů solí a vodíku v půdě (zasolení, pH)
- Toxické kovy a organické látky v půdě
- Toxické plyny ve vzduchu (SO_x, NO_x, přízemní ozon aj.)

V další části uvádíme interakce mezi abiotickými faktory a herbivorním hmyzem.

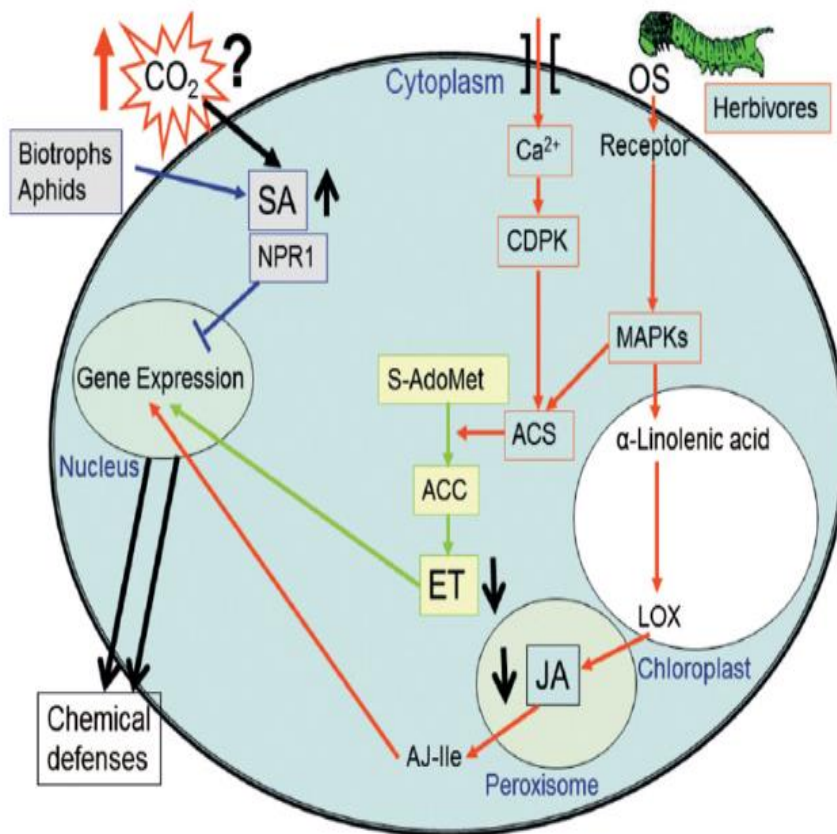
2.3.1.1 Vliv zasolení na odolnost proti hmyzu

Jako jeden z nejběžnějších abiotických faktorů má slanost půdy silný dopad na přežití rostlin a omezuje zemědělskou produktivitu na celém světě. Nadměrná slanost půdy má za následek zpomalený růst a vývoj rostliny a omezenou produkci semen. Kromě toho se objevuje stále více důkazů, že solný stres má vliv na odolnost rostlin vůči hmyzu. Například u rajčete (*Solanum lycopersicum*) tento

stres způsobil akumulaci inhibitorů proteináz, které rostlina používá na obranu proti hmyzu. Vysoká salinita půdy také výrazně snížila plodnost mšice kyjatky bavlníkové (*Acyrtosyphon gossypii*) na bavlníku (*Gossypium hirsutum*), pravděpodobně v důsledku zvýšeného množství flavonoidů (Lei et al., 2017).

2.3.1.2 Vliv antropogenního zvýšení emisí CO₂

Množství oxidu uhličitého v atmosféře se neustále zvyšuje. Proto se některé studie zaměřují, jak na tento jev reaguje obrana rostlin. CO₂ v atmosféře ovlivňuje interakci hmyzu s hostitelskými rostlinami, protože CO₂ mění nejen výkonnost hmyzu, ale také současně způsobuje chemické změny v rostlinném pletivu - viz Obr. 2 (Zavala et al., 2017).



Obr. 2: Vliv zvýšené koncentrace CO₂ na obranu rostliny

Odezvy různých cest vyvolané poškozením hmyzem na buňkách rostlin pěstovaných v prostředí s vysokým obsahem CO₂. Ústní sekrety (OS) jsou vnímány aputativními receptory a různé kinázy přenášejí signál stimulující jak dráhy etylenu (ET), tak kyseliny jasnové (JA). Naopak, buď patogen, nebo útok mšice indukuje dráhu kyseliny salicylové (SA), která má antagonistický účinek na dráhu JA. Zatímco zvýšený CO₂ indikuje SA, také inhibuje jak ET a JA cestu, která činí rostliny zranitelnější vůči škodám způsobeným hmyzem (Zavala et al., 2017).

2.3.1.3 Vliv UV záření na jasmonátovou signalizaci

Ultrafialové (UV) záření může ovlivňovat obranyschopnost rostlin proti býložravým členovcům. Escobar-Bravo et al. (2019) zjišťovali, jaký účinek má ultrafialové záření na obranyschopnost rajčete (*Solanum lycopersicum*). Použili záření o různé intenzitě a s rozdílnou dobou působení. Přitom zkoumali, zda nastolené podmínky ovlivní obranné reakce rostlin proti útoku třásněnek západních (*Frankliniella occidentalis*). Stanovovali efekt záření na poškození způsobené třásněnkami a jejich výběr hostitele, zvolené metabolické a fytohormonální složky, expresi genů spojených s obranou, hustotu trichomů a jejich chemismus. Krátké vystavení UV záření během dne zvýšilo rezistenci rostlin ke hmyzu, u jednoho z použitých kultivarů až několikanásobně. Zvýšila se exprese genů pro syntézu JA a SA. Vzrostla koncentrace SA a JA-iso-leucinu. Nebyly však pozorovány žádné změny obsahu vybraných listových polyfenolů a terpenů. Nijak se nezměnila ani obrana vázaná na trichomy. Zvýšení rezistence vyvolané UV se tak pravděpodobně podílí na spuštění jasmonátové signalizace v rostlině. Nemá však zřejmě vliv na skladbu sekundárních metabolitů ani na trichomovou obranu.

2.3.2 Biotický stres

Biotický stres je způsoben interakcí rostlin s jinými organismy v přírodě. Mezi původce biotického stresu patří konkurence mezi rostlinami, býložravci a patogenní organismy (Tůma, 2018). Mezi patogenní organismy řadíme houby, bakterie, hlístice, viry a viroidy. V dalším přehledu jsme se zaměřili na působení býložravců na rostliny a jejich obranné reakce.

2.4 Druhy býložravého hmyzu

Hmyzí herbivory dělíme na specialisty (monofágy) a generalisty (polyfágy). Hmyz se může podílet na přenosu rostlinných onemocnění (patogenů). Zatímco většina býložravého hmyzu způsobuje požerem rozsáhlé poškození, bodavě savý hmyz se živí obsahem tkání zavrtáním styletů do buněk, čímž zmenšuje poškození a minimalizuje vznik odpovědi na poranění. Mšice, molice a kněžice způsobují expresi genů spojených s SA, ale jen málo jasmonátové obrany (Giacometti et al., 2018).

2.4.1 Specialisté a generalisté

Specialisté a generalisté mezi hmyzími herbivory spouštějí v rostlině různé typy obranných reakcí.

Specialisté

Oproti generalistům mají specialisté snáze předvídatelné interakce. V důsledku specializace ztrácí jedinec schopnost napadat více hostitelských rostlin, protože již není schopen překonávat více způsobů rostlinné obrany, manipulovat s rostlinou ve svůj prospěch a rozvíjet cesty, jak se bránit proti predaci a parazitaci. Oproti tomu mají na základě fylogeneze vyvinuté adaptace, které jim umožňují se účinněji bránit proti obraně konkrétní rostliny. Housenky plochušky pastinákové (*Depressaria radiella*) jsou schopny trávit jedovaté furanokumariny. Housenkám *Manduca sexta* nevadí nikotin. Tato adaptace se však jeví jako neúčinná při příliš vysokých dávkách toxinů. Kromě toho, že se dokážou bránit proti specifickým látkám, se u některých specialistů dokonce vyvinula schopnost využít tyto látky ke snazšímu nalezení hostitele nebo ochranu před predátory (Ali et Agrawal, 2012).

Generalisté

Generalisté nemají žádný obzvlášť vyvinutý mechanismus, který by měl zvýšenou účinnost proti určitému typu obrany. Mají všeobecné obranné mechanismy, které jim umožňují napadat širší spektrum hostitelů, a proto jsou daleko méně ohroženi nedostatkem potravy při absenci jedné živné rostliny. Předpokládá se, že zatímco generalisté se snaží rostlinné obrany potlačovat, specialistům stačí snížit úroveň obrany na přijatelnou mez (Ali et Agrawal, 2012). Studie prokázaly, že hmyz je schopen upravit stravovací chování, aby se vyhnul tkáním spouštějícím jasmonátovou signalizaci (Lortzing et Steppuhn, 2016).

2.4.2 Podzemní a nadzemní herbivoři

Kořenoví herbivoři se ve většině svých životních projevů liší od nadzemních. Tyto projevy ovlivňují jejich působení ohledně rostlin, především způsobené škody. Způsob konzumace potravy je u podzemních herbivorů podstatně méně rozmanitý – většina z nich okusuje kořeny. Také u nich neexistuje tak silná vazba na konkrétního rostlinného jedince, jsou schopni požírat oddělené části. Protože jsou

podzemní části rostliny více chráněny před abiotickým stresem, poranění v důsledku napadení býložravcem je snáze zjistitelné. Aby mohla rostlina vhodně zareagovat na herbivora, musí vnímat útok a podle toho uzpůsobit svůj metabolismus. Kořeny reagují jiným způsobem na mechanické poškození než na herbivorii. Důvod rozdílné reakce zůstává neobjasněný (Johnson et al., 2016).

Změna a indukce rostlinných sekundárních metabolitů po útoku býložravců byla prokázána téměř ve všech sledovaných druzích rostlin. Indukce je vyvolávána u místního poškození nebo systémově, například od kořenů až po výhonky. Kromě okamžité indukce bylo prokázáno, že předchozí útoky býložravců posílily rostliny pro silnější a rychlejší odezvu na další napadení. Bakhtiari et al. (2018) aplikovali na kořeny řeřišnice srstnaté (*Cardamine hirsuta*) kyselinu jasmonovou a po určitém časovém zpoždění podrobili jak kontrolní, tak i ošetřené rostliny napadené polyfágním býložravcem *Spodoptera littoralis*. Pozitivní efekt kyseliny na odolnost demonstrovali měřením přírůstkem hmotnosti larev. Zároveň testovali vliv indukované obrany kořenů na hojnost a složení glukosinolátů ve výhoncích, před a po napadení. Pozorovali silný pozitivní vliv indukce kořenů na odolnost proti herbivorii. Celkový počet a totožnost glukosinolátů byly globálně ovlivněny indukci kyseliny jasmonové a požerem. Byl zjištěn vztah mezi růstem larvy a složením glukosinolátů ve výhoncích. Autoři studie předpokládají, že indukce kyseliny jasmonové způsobila setrvalou změnu zmíněných látek v listech. Tato počáteční modifikace stačila k udržení nižších přírůstků růstu housenek, a to dokonce 11 dní po indukci kořenů. Celkem vzato bylo prokázáno, že předchozí indukce kořenové obrany zvyšuje odolnost úpravou a udržováním variací v profilech glukosinolátů během krmení hmyzu.

2.4.3 Vlivy jednotlivých vývojových stádií hmyzu na obranu rostlin

Způsob obrany rostlin proti herbivorům se neliší pouze mezi různými druhy herbivorů. Byly pozorovány dokonce i případy, kdy různá vývojová stadia jednoho druhu indukovala různou obranu. Tento jev byl, mimo jiné, pozorován u molice bavlníkové.

Molice bavlníková (*Bemisia tabaci*) je důležitý a invazivní škůdce plodin v mnoha zemích. Předchozí laboratorní studie s *Arabidopsis* prokázaly, že *B. tabaci* může potlačit obranu kyseliny jasmonové (JA) a tím zvýšit produktivitu. Dosud nebylo známo, zda dokáže potlačit obranu regulované hostitelské rostliny JA.

Zhang et al. (2018) zkoumali v laboratorních podmínkách vliv molice bavlníkové (*Bemisia tabaci*) na nešlechtěná rajčata a geneticky upravené mutanty. Transgenní mutanti, v nichž byla jasmonátová obrana aktivovaná nebo narušená, neovlivnili přežití nebo reprodukci dospělých jedinců. U rostlin divokého typu se výsledky lišily. Byly však pozorovány změny při vývoji larev. Změny v obraně a při produkci fytohormonů naznačují, že dospělci *B. tabaci* mohou potlačit obranu závislou na JA po napadení po dobu >72 hodin. Potlačení JA bylo vztaženo na indukci kyseliny salicylové (SA) v napadených listech. Když byla signalizace SA zablokována, JA akumulace u napadených listů vzrostla a vývoj nymfy *B. tabaci* byl opožděn. Tyto výsledky ukazují, že, i když JA signalizace pomáhá při zprostředkování odpovědi rajčete proti nymfám, dospělé molice mohou inhibovat biosyntézu JA a její působení způsobem závislým na SA.

2.4.4 Typy stresových reakcí

Procházka (1998) rozlišuje u rostlin několik typů stresových reakcí:

Evoluční opatření

Evoluční opatření byla vytvořena v průběhu evoluce a předávána z generace na generaci, účinnost potvrzena přírodním výběrem. Patří mezi ně typ a rozmístění rostlinných prūdchů, typ rostlinného metabolismu, vývoj alelopatického vztahu mezi rostlinou a býložravcem (tvorba jedovatých nebo odpuzujících látek). Tyto adaptace zpravidla umožňují rostlině zcela se vyhnout stresu.

Ontogenetická opatření

Zpravidla se nejedná o geneticky danou vlastnost rostliny, pouze o schopnost vytvořit adaptaci během ontogenetického vývoje konkrétní rostliny. Takovou adaptaci představuje například velikost listové plochy. Nevýhodou takovýchto adaptací je jejich pomalost a s tím spojená neschopnost rostliny včas zareagovat na aktuální podmínky.

Modulační opatření

Jedná se o geneticky nefixované adaptace, kterými rostlina reaguje na okamžitý stav prostředí. Může reagovat např. otevíráním/zavíráním průduchů, natačením listů nebo změnou koncentrace látek.

2.5 Způsoby obrany rostlin proti herbivorům

Rostliny si pro obranu proti býložravcům vyvinuly celou škálu opatření. Rozlišujeme mechanickou obranu (trny, ostny, trichomy, lignifikace pletiv), chemickou a biologickou.

2.5.1 Chemická obrana

První fyzický kontakt mezi hmyzem a rostlinou nastane, když se hmyz nějak dotýká povrchu listu. Chemické vlastnosti povrchu rostliny, kromě jejích fyzických vlastností, ovlivňují následně hmyzí chování. Proto zvláštní pozornosti zasluhuje povrchová chemie listů. Povrchové vosky nebo pryskyřice tvoří první linii odolnosti rostlin. Schoonhoven et al. (2005) uvádějí, že existují rozsáhlé variace v jejich mikromorfologii. Chemické složení vosků typicky zahrnuje řadu uhlovodíků s dlouhým řetězcem – alkylestery, primární alkoholy a mastné kyseliny. Například vosky extrahované z listů pšenice mohou obsahovat až 50 různých složek. Vosky pokrývající listy kapradiny podezřeně královské (*Osmunda regalis*) se někdy skládají i ze 139 složek. Vosková stavba se může značně lišit, nejen mezi druhy ze stejného rodu, jako je tomu v případě osmi druhů máků (*Papaveraceae*), ale také mezi různými genotypy stejného druhu. Vosková vrstva často obsahuje několik primárních nebo sekundárních metabolitů, i když většinou v malých množstvích. Když jsou intaktní rostliny krátce ponořeny do vody nebo organických rozpouštědel, mnoho sloučenin se často vymývá. Výluh vnějšího povrchu listů může obsahovat cukry, některé aminokyseliny, a také sekundární rostlinné látky, jako je například chloridzin, a dihydrochalcon z listů jablek, glukobrassicin, glukosinolát ze zelí, furanokumariny, a alkaloidy. Chemické složení obou vrstev se může velmi lišit. Nová technika umožňuje izolaci epikutikulárního filmu pro chemickou analýzu. Pomocí této metody je možné určit s vysokou přesností hmyzem uvolněné chemické látky při kontaktu s listem rostliny. Hmyzu často stačí

kontakt s povrchovými chemikáliemi, aby se o rostlinu přestal zajímat. Saranče stěhovavá (*Locusta migratoria*) takto může rostlinu opustit už po doteku, aniž by se do ní zakousla. Když je z listu odstraněn vosk, hmyz může několikrát ochutnat, než se rozhodne rostlinu opustit. Na druhou stranu chemikálie na povrchu listů mohou pomoci některému hmyzu rozpoznat svou specifickou hostitelskou rostlinu na počátku vývoje. U několika druhů brouků je stimulován příjem potravy dominantními voskovými složkami každé z jejich hostitelských rostlin. Žláznaté (nebo také sekreční) trichomy jsou deriváty pokožky-epidermis, vyskytující se hlavně u čeledí Lamiaceae, Solanaceae, Asteraceae a Geraniaceae. Obsahují vysoce specializované sekreční buňky syntetizující velké množství monoterpenů a jiných éterických olejů. Některé žláznaté trichomy mohou vylučovat silice hned po vytvoření. Jiné jsou citlivé na dotek a praskáním uvolňují lepkavé sekrety, ve kterých je drobný hmyz chycen a zabit. Větší hmyz je často sekretem odpuzen nebo je krmením na takové rostlině omezen vývoj jeho populace.

2.5.2 Biologická obrana

2.5.2.1 Konstitutivní obrana – před napadením

Rostlinná obrana se urychlí, pokud je rostlina vystavena zvýšenému riziku herbivorie. Podnětem může být předchozí napadení, nakladená vajíčka nebo uvolněné těkavé látky z okolních rostlin. Po nakladení vajíček na listy rajčete se prokazatelně zvýšila koncentrace kyseliny jasmonové. To mělo za následek spuštění inhibice proteázy II v rámci obranné reakce. U huseníčku rolního a rajčat bylo zjištěno předávání indukované obrany do další generace (Lortzing et Stephuhn, 2016). Bylo experimentálně prokázáno, že rostliny mohou mezi sebou komunikovat prostřednictvím těkavých sloučenin. Například mechanicky poškozený pelyněk trojzubý (*Artemisia tridentata*) uvolnil dávku methyljasmonátu, která vyvolala přímou rezistenci u planého tabáku. Kromě toho se u tabáku zvýšila produkce enzymu polyfenoloxidázy, u kterého se předpokládá obranná aktivita, a snížila se úroveň poškození kobylkami a housenkami (do Prado Ribeiro et al., 2018).

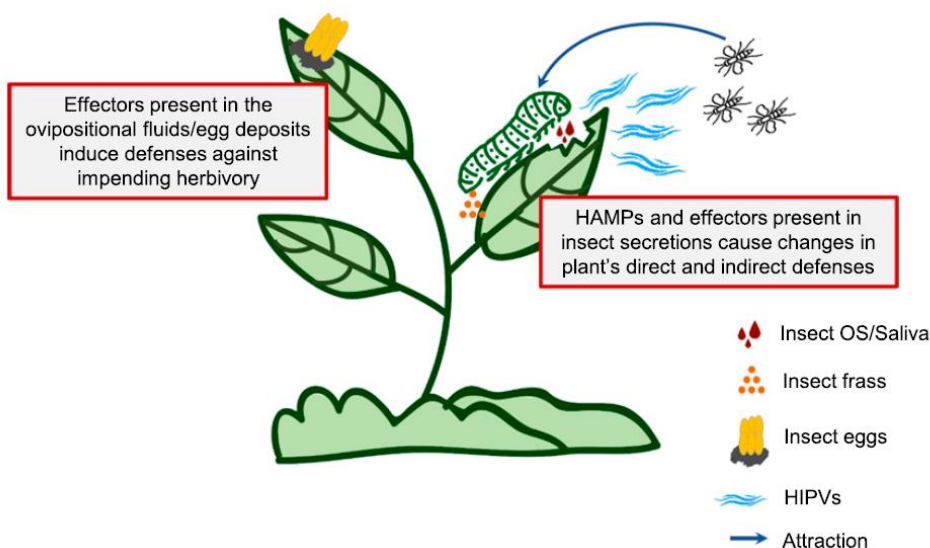
2.5.2.2 Indukovaná obrana – po napadení

U signálních molekul kyseliny salicylové, kyseliny jasmonové a ethylenu byla na základě analýz mutantů a transgenů vypořádána podstatná úloha v obraně rostlin proti hmyzu a mikroorganismům. Rostliny si na obranu proti hmyzu vyvinuly dvě rozdílné strategie. Buď se mohou proti útočníkovi bránit samy přímou řízenou obranou, nebo si mohou přizvat na pomoc spojence v podobě přirozených nepřátel škůdce (van Osten, 2007). Rostliny mohou odstíněním svými listy chránit entomopatogenní mikroby na svém těle proti škodlivému UV záření a také proti spláchnutí deštěm. Povrchová chemie rostlin, jako je vysoké pH a alelochemikálie, může inaktivovat některé entomopatogeny (Shikano et al., 2018).

Mšice kukuřičná (*Rhopalosiphum maidis*) je hmyz, který napadá mnoho druhů obilovin, včetně kukuřice (*Zea mays*). Již dříve bylo prokázáno, že poskytuje inbrední linii kukuřice Mp708, u které byla vyvinuta klasickým šlechtěním rostlin zvýšená odolnost vůči mšici. Zde pomocí elektrofyziologického sledování chování při krmení mšic demonstrujeme, že Mp708 poskytuje rezistenci. Navíc krmení mšic na rostlinách Mp708 zlepšilo ukládání kalózy, a potenciální obranný mechanismus využívaný rostlinami k omezení krmení mšic a další kolonizace. V kukuřici jsou benzoxazinoidy (BX) nebo metabolity odvozené od BX, jež přispívají ke zvýšení depozice kalózy poskytnutím zvýšené odolnosti vůči mšicím. Nicméně metabolity odvozené od BX a BX nebyly signifikantně změněny v rostlinách Mp708 infikovaných, což indikuje obranu nezávislou na BX proti mšicím. Zde uvedené důkazy naznačují, že konstitutivně vyšší hladiny kyseliny 12 - oxofytodienové (OPDA) v rostlinách Mp708 přispěly ke zvýšené akumulaci kalózy a zvýšené odolnosti. OPDA zvýšila expresi biosyntézy ethylenu a receptorových genů a synergické interakce podávání OPDA a krmení mšic významně indukovaly expresi transkripce 1-cysteinproteázy, klíčovému obrannému proteinu proti hmyzím škůdcům v rostlinách Mp708. Kromě toho exogenní aplikace OPDA na jedince kukuřice s nedostatkem kyseliny jasmonové způsobila zvýšenou akumulaci kalózy a zvýšenou rezistenci k mšicím, což naznačuje, že rezistence zprostředkovaná OPDA je nezávislá na dráze kyseliny jasmonové. Dále bylo prokázáno, že přispívá spíše signální funkce OPDA než přímý toxický účinek zvýšení odolnosti (Varsani et al. 2019).

2.6 Obranné proteiny a enzymy

Okusující herbivoři, jako jsou housenky a brouci, při žraní na hostitelské rostlině způsobují rozsáhlé poškození pletiva a uvolňují široké spektrum podnětů pro změnu obranyschopnosti rostlin. Tyto podněty mohou mít pozitivní nebo negativní účinek na býložravce – viz Obr. 3.



Obr. 3: Přehled HAMPs v rostlině

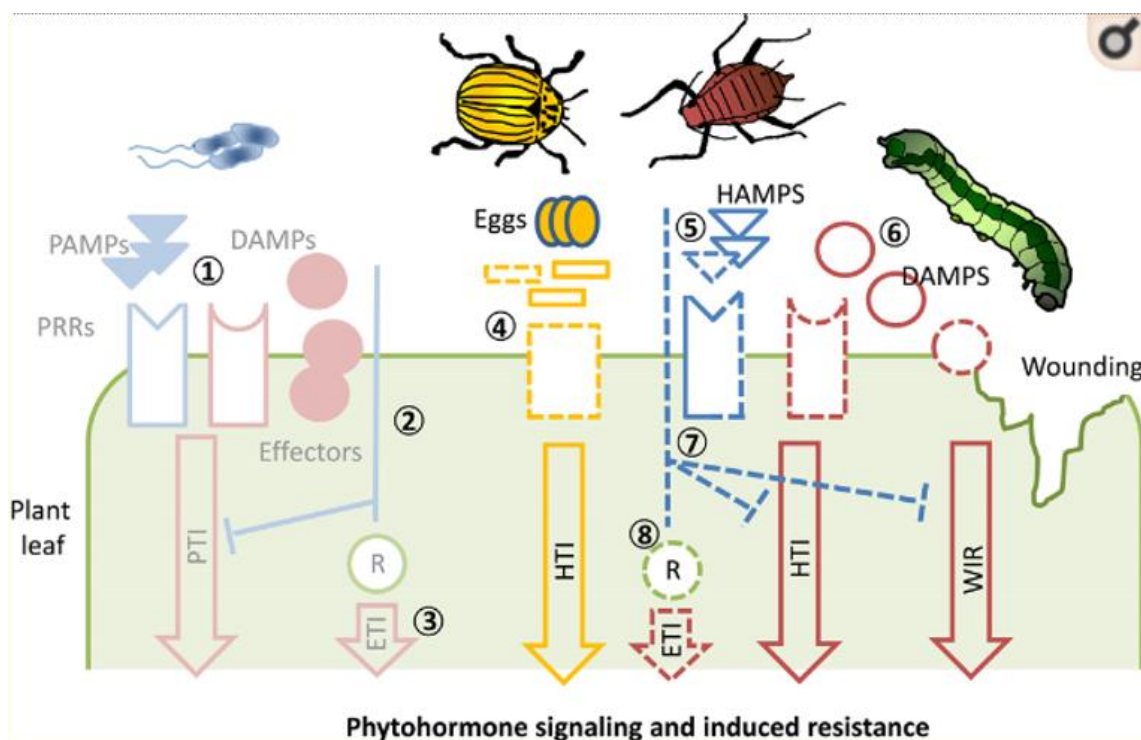
Přehled obranných reakcí rostlin na molekulární struktury spojené s býložravci (HAMP) a efektoři z okusu býložravci a jejich interakce s rostlinami, hmyzem a predátory. HIPVs = rostlinné těkavé látky vyvolané býložravci, VOC = těkavé organické sloučeniny a OS = orální sekrece (Basu et al., 2017).

2.6.1 HAMPs

Termín HAMPs (herbivore-associated molecular patterns) označuje všechny sloučeniny vylučované herbivory při interakci s potravou, které rostlina vnímá jako signál pro vyvolání obranných reakcí. Významnou skupinu tvoří elicitory obsažené ve slinách býložravého hmyzu. Například u motýlů se jedná především o látky na bázi aminokyselin a mastných kyselin. Lze simulovat požer housenkou aplikací konjugátu těchto látek na naříznutou plochu rostliny. Následuje výrazné zvýšení hladiny kyseliny jasmonové, kyseliny salicylové a ethylenu. Například bělásek zelný (*Pieris brassicae*) produkuje v ústním sekretu β -glukosidázu, která v listech růžičkové kapusty (*Brassica oleracea* var. *gemmifera*) vyvolává tvorbu těkavých látek (Hettenhausen et al, 2014).

2.6.2 Další molekulové struktury

Signály pro vyvolání obranné reakce nezahrnují pouze HAMPS. Na Obr. 4 jsou uvedeny další molekulové vzorce, které se liší podle útočníka. MAMPs (Microbe-associated molecular patterns) PAMPs (Pathogen-associated molecular patterns) DAMPs (Damage-associated molecular patterns)



Obr. 4: Molekulární rozpoznávání patogenů a býložravců rostlinami

1. Molekulární vzorce spojené s mikroby, patogeny a poškozením (MAMP, PAMP a DAMP) jsou rozpoznávány receptory pro rozpoznávání vzorců (PRR) a vedou k imunitní reakci vyvolané PAMP (PTI). 2. Patogenní efekторы potlačují PTI. 3. Genové produkty pro rezistenci rozpoznají efekторы a spustí imunitní reakci vyvolanou efektořem (ETI). 4. Látky uvolňující se při kladení vajíček jsou rozpoznávány neznámými receptory a spouští se obranná reakce. 5. Receptory rozpoznávají předpokládané molekulární vzorce spojené s býložravci (HAMP) a aktivují imunitu vyvolanou býložravcem (HTI). 6. Poranění vede k uvolňování DAMP a rezistence vyvolané ranou (WIR). 7. Molekuly podobné efektořům produkované hmyzem mohou potlačit HTI a WIR. Neznačené prvky jsou označeny přerušovanými čarami (Erb et al., 2012).

2.7 Těkavé látky v rostlinách

Všechny rostliny emitují nepřeborné množství těkavých uhlovodíků. Mnoho sekundárních látek a několik meziproduktů může být rostlinami primárně uvolňováno do prostředí z důvodu vysokého tlaku par. Těmito látkami mohou rostliny působit na okolní organismy. Mnoho terpenoidů, aromatických fenolů,

alkoholů, aldehydů atd. o molární hmotnosti až do rozmezí 100 až 200 Da se snadno odpaří, když jsou při poškození pletiva vystaveny působení vzduchu. Nepoškozené rostliny také vydávají takové těkavé sloučeniny, které pronikají otevřenými průduchy, kutikulou a stěnami žlázy, ale rychlost uvolňování je mnohem nižší. V minulosti byly extrakty identifikovány z nakrájeného nebo macerovaného rostlinného materiálu. Během posledních tří desetiletí se používá sběr těkavých látek metodou headspace ze vzduchu kolem nepoškozené (nebo poškozené) rostliny. Tato technika, v kombinaci s plynovou chromatografií, poskytuje mnohem spolehlivější informace o složení přirozeně těkavých látek než extrakce z pletiva. Například vzdušný prostor nad porostem bavlny obsahuje 54 chemikálií, ale pouze šest z nich se vyskytuje také mezi 58 přítomnými sloučeninami v éterickém oleji z pupenů bavlníku. Rostlinné těkavé látky lze rozdělit na obecné a specifické těkavé látky. Běžně se vyskytující směs silic v listech, které dávají poškozeným listům charakteristickou „vůni trávy“, je většinou tvořena šestiuhlíkatými nasycenými nebo mononenasyčenými alkoholy a aldehydy, které mohou mít různou konfiguraci izomerů. Někteří autoři také zahrnují některé z jejich derivátů (např. acetáty). Obecně jsou produkovány, většinou ve značném množství, oxidací listových lipidů. Prekurzor nenasycených aldehydů a alkoholů, kyselina linolenová, často tvoří více než 1 % suché hmotnosti listů. Relativní množství jednotlivých složek se u různých rostlin může lišit. Některé druhy hmyzu mohou vnímat tyto druhově specifické látky a používají je k rozlišení mezi hostitelskými a ostatními rostlinami.

Mandelinka bramborová (*Leptinotarsa decemlineata*) například reaguje pozitivně na směs těkavých látek z bramborových listů, ale když je přírodní směs pozměněna zvýšenou koncentrací jedné ze svých složek, reakce odezní. Mnohé, nebo možná většina rostlin, také emitují druhově charakteristické těkavé látky, ale dosud byly zkoumány metodami headspace v pouze omezeném počtu případů. Mnoho druhů hmyzu reaguje na širokou škálu těkavých látek pocházejících z rostlin a používají je jako vzdušné podněty při hledání nebo vyhnutí se určitým rostlinám. Počet těkavých látek ve vzduchu kolem rostlin může být až několik set, ačkoli často ve směsi dominuje jedna nebo několik hlavních sloučenin. Například vzduch kolem kukuřice obsahuje nejméně 24 sloučenin, ale nejvíce obsahu (75 %) sestává pouze ze sedmi komponent. V profilech headspace lze zaznamenat některé trendy s

ohledem na hlavní kategorie sloučenin. Ve všech druzích rostlin se vyskytuje nejvíce aldehydů, esterů, případně terpenů. Když je pletivo poškozeno, podíl těchto hlavních složek může být buď zvýšen (sója, lilek) nebo lehce (zelí, řeřicha, huseníček) či silně (cowpea, pepřovník) poklesne. Ve všech rostlinách poškození roztoči nebo housenkami způsobuje uvolnění některých sloučenin, které nejsou vůbec nalezeny nebo se nacházejí v mnohem nižších poměrech než v neporušené rostlině. Další zajímavou skutečností je, že rostlinné druhy patří do stejné čeledi vykazují rozdílné množství uvolněných silic (srov. např. vigna a sója). Zatímco v lilku bylo objeveno velké množství N-oximů, v huseníčku byly nalezeny ve vysoké koncentraci dva cykloheptadieny. Rostliny mění způsob jejich vydávání, často výrazně, po poškození. Vůně emitovaná po mechanickém poškození se liší od té, která byla způsobena poškozením býložravcem. Při poškození způsobeném býložravým hmyzem bylo zjištěno, že rostliny značně stimulují emisi těkavých látek. Množství může být téměř 2,5krát vyšší než z neporušených rostlin. Tyto pozoruhodné terpenoidy často zaujímají významné místo v profilu směsí uvolňovaných poškozenými rostlinami. Dva acyklické methylenové terpeny, E-4,8-dimethyl-1, 3,7-nonatrien a 4,8,12-trimethyl-1,3 (E), 7 (E), 11-tridecatetraen jsou předmětem zvláštního zájmu, vzhledem k častému výskytu v okolí rostlin napadených býložravci. Množství těchto sloučenin se liší podle druhu býložravců. Prostor nad korunou jabloně s listy zamořenými sviluškou ovocnou (*Panonychus ulmi*) obsahuje 49 % 4,8-dimethyl-1,3 (E), 7-nonatrienu, v kontrastu s pouze 9% při napadení listů jiným druhem roztoče, sviluškou chmelovou (*Tetranychus urticae*). Je zajímavé, že tyto rozdíly jsou dostačující k tomu, aby přilákaly různé druhy dravých roztočů. Zřejmě tito predátoři reagují na specifické poměry zápachu složek. (Schoonhoven et al., 2005) První kontakt s býložravým hmyzem se často vyskytuje na povrchu listu, když se povrchu listu dotýká tarsi přiletivšího hmyzu. Přistání a chůze na rostlině vyvolá tlak, naruší povrch trichomů a z tarsálních polštářků se uvolňují chemikálie. Rostliny vyvinuly mechanismy k tomu, aby vycítily tlak. Například mucholapka (*Dionaea muscipula*) se okamžitě uzavře, když jsou její sensorické chloupky stimulovány hmyzem. Nemasožravé rostliny jsou také velmi citlivé na dotyk. V některých případech je mechanostimulace opakovaným dotykem dostatečná k indukci akumulace kyseliny jasmonové (JA), prekursoru obranného hormonu jasmonoyl-L-isooleucin (JA-Ile). Zlomení listových

trichomů rajčat (*Solanum lycopersicum*) dospělými můrami nebo housenkami vyvolává tvorbu peroxidu vodíku (H_2O_2) a expresi obranných inhibitorů proteinázy. Zatím neexistují žádné náznaky toho, že tento typ reakce "včasného varování" je specifický pro určité druhy hmyzu a pozorované účinky mohou být většinou příbuzné účinkům typu DAMP (Erb et al., 2012). Kyselina

jasmonová působí jako hlavní signální molekula při indukované produkci těkavých látek, které fungují jako atraktanty pro predátory býložravého hmyzu. Bylo prokázáno, že na tvorbě těkavých látek se podílí i ethylen. Spuštění emise methylsalicylátu u mnoha druhů rostlin může vést k aktivaci SA indukovaných obranných genů. U huseníčku rolního (*Arabidopsis thaliana* L.) požer listů housenkou běláška řepového (*Pieris rapae* L.) vyvolává produkci methylsalicylátu. Touto látkou rostlina pravděpodobně přitahuje pozornost přirozeného nepřítelů běláška, parazitoidní vosy *Cotesia rubecula* (L.). U mutantních jedinců se sníženou aktivitou těchto fytohormonů byla totiž zjištěna nižší míra napadení.

Kyselina salicylová se jako signální molekula podílí spíše na rostlinné obraně proti patogenům, naproti tomu kyselina jasmonová zprostředkovává obranu proti hmyzu. Bylo zjištěno, že působení těchto látek se může vzájemně ovlivňovat. Tabák infikovaný virem tabákové mozaiky byl shledán náchylnějším k napadení *Manduca sexta*, ale zároveň rezistentnějším k mšici broskvoňové (*Myzus persicae* L.). Rajče napadené houbou *Fusarium oxysporum* bylo odolnější vůči napadení sviluškami. V závislosti na interakci se rostliny napadené hmyzem stávají více nebo méně náchylné k chorobám. Rajčata napadená mšicí bavlníkovou (*Bemisia argentifolii*, *Gennadius*) vykazují zvýšenou odolnost vůči padlí. Podobně se zvýšila odolnost rýže proti plísni *Magnaporthe grisea* po napadení křísem *Sogatella furcifera*. Naopak vojtěška byla po napadení ostnohřbetkou *Spissistilis festinus* náchylnější k *F. oxysporum* (van Osten, 2007). Bylo zjištěno, že vyvíjející se semena sóji jsou schopna rozpoznat napadení kněžicí zeleninovou (*Nezara viridula*) a reagují na něj aktivací mitogen-aktivovanou proteinkinázou 3,4 a 6 (Giacometti et al., 2018).

Vrtule olivovníková (*Bactrocera oleae*) patří k nejzávažnějším škůdcům olivovníku (*Olea europaea*) a silně ovlivňuje produkci oliv a olivového oleje. Alagna et al. (2016) zjistili, že plody olivovníku reagují na napadení vrtulemi změnami v řadě obranných sloučenin. Tyto sloučeniny zahrnovaly fytohormony těkavé organické

látky a obranné proteiny. U napadených oliv bylo zjištěna zvýšená transkripce genů zodpovědných za syntézu ethylenu a množství uvolněného ethylenu se skokově zvýšilo. Kromě toho se v ovoci zvýšilo množství kyseliny 12-oxofytodienové, která v rostlinách slouží jako prekurzor kyseliny jasmonové. Kvalitativní a kvantitativní změny v emisi těkavých látek v poškozených olivách ukazují specifický vliv napadení na tyto látky. V neposlední řadě byly pozorovány zvýšené hladiny inhibitorů enzymu trypsinprotázy, pravděpodobně v důsledku posttranskripčních mechanismů.

Výsledné změny vyvolané patogeny a herbivory se mohou vzájemně ovlivňovat prostřednictvím vzájemné komunikace mezi signálními cestami. Například patogenem indukované změny v rostlinách rajčat jsou zprostředkované dráhou kyseliny salicylové a tyto změny negativně ovlivňují změny po býložravém hmyzu, které jsou zprostředkovány hlavně jasmonáty. Odpovědi vyvolané patogenem jsou často spojeny s dráhou kyseliny salicylové a hmyzem indukované reakce s dráhou kyseliny jasmonové byly hlášeny pro mnoho druhů rostlin. Nedávné informace naznačují, že takové striktní rozdělení je nepravděpodobné, a že existují příklady patogenů, které indukují kyselinu jasmonovou a hmyz, který pro změnu vyvolává dráhu kyseliny salicylové. Různé dráhy při rostlinné obraně proti hmyzu a patogenům může využít býložravý hmyz s pozoruhodnou schopností sabotáže indukované obrany. U housenky černopásky kukuřičné (*Helicoverpa zea*) bylo překvapivě zjištěno, že indukuje signální dráhu kyseliny salicylové v sóji, a nikoliv dráhu kyseliny jasmonové. Zprostředkované změny kyseliny salicylové nemají za následek indukovaný odpor proti těmto housenkám v sóji, a tak se zdá, že housenky zpracovávají jejich signalizační mechanismus potravinářské rostliny k potlačení indukované rezistence vyvolané kyselinou jasmonovou. Tento příklad ukazuje, že interakce obrany proti více útočníkům rostlin je zajímavé téma čekající na další objasnění (Schoonhoven et al, 2005).

Dosud nebylo zcela objasněno, zda má uvolňování těkavých sloučenin přímý vliv na fytohormonální obranu rostlin. Výsledky studie Ye et al. z roku 2019 však jistě souvislost naznačují. Bylo zjištěno, že rýže (*Oryza sativa*) napadená housenkami blýskavky kukuřičné (*Spodoptera frugiperda*) uvolňuje velké množství těkavé látky indolu. Pozitivní vliv indolu na obranu rýže proti škůdci byl demonstrován jeho

povrchovou aplikací na rostliny. Při kombinaci této aplikace se simulovanou herbivorií byla objevena transkripce, hromadění a akumulace MAPK společně s transkripcí genů pro biosyntézu kyseliny jasmonové. U zkoumaných rostlin byla zjištěno vyšší množství kyseliny jasmonové.

2.8 Signalizace herbivora v rostlině

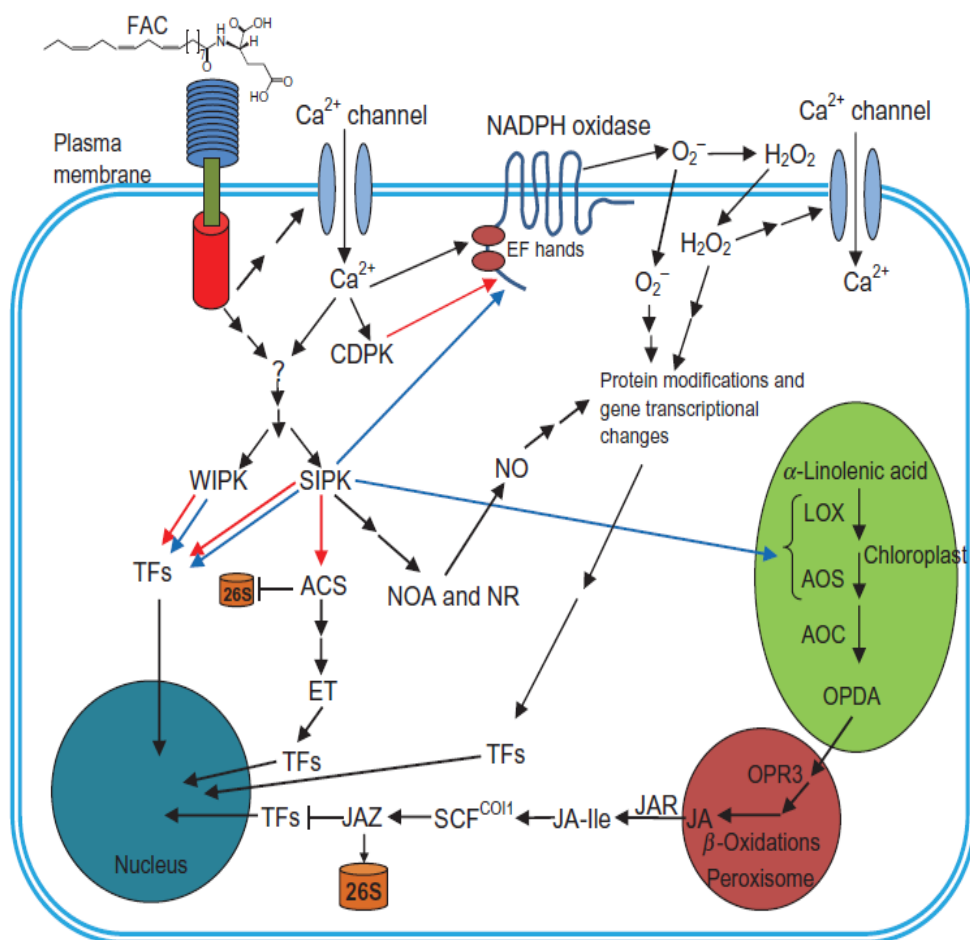
Jednou z prvních odpovědí buňky na herbivora je depolarizace membrány. Ve stopách po kousnutí larvami *Spodoptera littoralis* na listech fazolu (*Phaseolus sp.*) byl pozorován velký pokles membránového potenciálu (Wu et Baldwin, 2009).

2.8.1 MAPK signalizace

Mnoho studií prokázalo, že mitogenem aktivované proteinkinázy (MAPK) hrají důležitou roli při zprostředkování odpovědi rostlin na různé stresové podněty, především odolnost vůči patogenům. U tabáku byly prokázány dvě MAPK, proteinkináza indukovaná kyselinou salicylovou (SIPK) a proteinkináza indukovaná poraněním (WIPK). Na základě transkripčních analýz se ukazuje vliv SIPK a WIPK na transkripci genů pro syntézu kyseliny jasmonové (Wu et Baldwin, 2009).

Z reakcí rostlin indukovaných býložravým hmyzem se obecně předpokládá zvýšení odolnosti tak, že se snižuje fyzická kondice útočníka nebo chutnost rostliny během současného nebo následného útoku (Po et al., 2013). Ve studii přidaný methyljasmonát (MeJA) způsobil významné snížení hmotnosti housenek – o 11,2 až 17,9 % nižší ve srovnání s neošetřenou kontrolou. Kromě toho byl vývoj můry *Chrysoideixis includens* na listech ošetřených MeJA zpožděn 12,8 až 16,2 % ve srovnání s neošetřenou kontrolou. Předchozí studie ukázaly, že aplikace exogenní JA mohou indukovat odolnost vůči hmyzu snížením jejich výkonu a (nebo) zpomalením jejich vývoje (Chen et al, 2018). Exogenní aplikace kyseliny jasmonové zvýšily koncentraci flavonoidů v luscích sóji a omezily růst kněžice *Euchistus heros*, případně snížili žrací aktivitu kněžice zeleninové. Bylo prokázáno, že takto ošetřená semena mají pevnější buněčné stěny, které jsou odolnější proti dalšímu propíchnutí stylety hmyzu. MAPK kinázové kaskády vnímají stylety ploštic a slouží jako klíčové faktory k rozpoznávání signálů z prostředí. Enzymy ve slinách hmyzu rozvolňují buněčné stěny pro lepší pohyb styletů. Poškození rostliny kněžicí

pravděpodobně aktivuje specifické MAPK kinázy, které způsobují expresi genů pro enzymy, jež vytvářejí změny v konformaci buněčných stěn v poškozených semenech. Rostlina vrací struktury do původního stavu. Ve vzorcích semen 24 hodin po poškození byly zjištěny zvýšené koncentrace MPK1, MPK3 a MPK6, zatímco u mechanicky porušeného semene pouze MPK6. MAPK byly v podobné míře aktivovány jak JA, tak SA. Rekonstrukce buněčné stěny je pravděpodobně ovlivněna hlavně SA. Ta zvýšila transkripci polygalakturonázy, pektátlyázy, xyloglukanfukosyltransferázy a xyloglukanendotransglykosilázy. JA zvýšila pouze transkripci expansinu a xyloglukanfukofyltransferázy. Expansin v buňkách umožňuje pohyb řetězce a uvolnění stresu a tím se pravděpodobně podílí na zabudovávání buněčných stěn. Xyloglukanendotransferázy zprostředkovávají výměnu příčných vazeb mezi molekulami a fungují jako klíčové enzymy při regulaci rekonstrukce buněčné stěny. Další enzymy štěpí α -1,4-glykosidické vazby v pektinu. U napadených semen byla oproti těm mechanicky poškozeným také zjištěna zřetelně větší aktivita enzymu fosfotransferázy. Po obarvení probodnutých míst safraninem a UV-stimulovanou autofluorescencí byly zjištěny změny v epidermis a endospermu a zesílení stěny pravděpodobně v důsledku uložení ligninu. Dehydratace a posílení stěny akumulací ligninu může snížit citlivost k dalšímu útoku. Z výše uvedených skutečností lze soudit, že ošetření pletiva kyselinou salicylovou může sloužit jako prostředek ochrany sóji proti škůdcům (Giacometti et al., 2018). Na Obr. 5. je uveden řetězec reakcí.



Obr. 5: Signalizace proteinkinázami

Model sumarizující časné signální události v rostlinách napadených býložravci. Po útoku býložravce jsou jeho elicitory (zde FAC) vázány na domnělé receptory na plazmatických membránách a aktivují další reakce. Přes neznámý mechanismus jsou přiváděny Ca²⁺ in vitro, který depolarizuje buněčné membrány. Zvýšené množství Ca²⁺ (pravděpodobně spolu s CDPK) značně zvyšuje NADPH oxidázy umístěné v buněčné membrány a vede k produkci ROS. MAPK (alespoň SIPK a WIPK) jsou rychle aktivovány; transkripčně regulují mnoho genů zapojených do biosyntézy JA a ethylenu, stejně jako transkripční faktory NADPH oxidázy a WRKY (TF). SIPK se pravděpodobně podílí se také na výrobě NO; jak ROS, tak NO modifikují aminokyseliny v proteinech a indukují transkripční změny. Geny související s obranou. Dosud označená cesta spouští biosyntézu JA. JA je dále konvertována na JA-Ile pomocí JAR; závazné JA-Ile na SCF^{CO11} iniciuje degradaci JAZ proteinů, které negativně regulují JA-responzivní geny. Bez fosforylace je ACS degradován cestou 26S proteasomu; po fosforylaci SIPK získá vyšší stabilitu a zvyšuje biosyntézu ethylenu. Červené šipky představují přímo fosforylaci; modré šipky představují regulaci transkripce. AOC, allenoxidcykláza; AOS, allenoxidsyntáza; CDPK, kináza závislá na vápníku; JAZ, jasmonate ZIM doména; LOX, lipoxygenáza; OPDA, Kyselina 12-oxo-fytodienová; OPR3, OPDA reduktáza 3; NO, oxid dusnatý; NOA, protein asociovaný s NO; NR, nitrátreduktáza; ROS, reaktivní druhy kyslíku; SCF, Skp, Cullin, F-box; SIPK, proteinkináza indukovaná kyselinou salicylovou; WIPK, proteinkináza indukovaná ranou (Wu et Baldwin, 2009).

2.9 Vedlejší vlivy obrany proti herbivorům

Rostliny mohou ovlivňovat účinnost mikrobiálních insekticidů prostřednictvím četných mechanismů. Jedním z těchto mechanismů je oxidace rostlinných fenolů rostlinnými enzymy, jako jsou polyfenoloxidázy a peroxidázy. Tyto reakce vytvářejí různé produkty a meziprodukty, které hrají důležitou roli v rezistenci vůči býložravému hmyzu. Katecholická oxidace fenolické sloučeniny kyseliny chlorogenové zvyšuje letalitu bakteriálního patogenu *Bacillus thuringiensis var. kurstaki* (který zabíjí hmyz) pro polyfágní housenky *Helicoverpa zea*. Protože krmení škodlivého hmyzu často spouští indukce vyšších aktivit oxidačních enzymů v rostlinných tkáních, bylo předpokládáno, že indukce obranyschopnosti rostlin by posílila letalitu bakterie (BT) na těchto rostlinách. Bylo zjištěno, že letalita BT na rostlinách rajčat byla vyšší, pokud byla aplikována na rostliny, které byly indukovány krmením *H. zea* nebo indukovány fytohormonem kyselinou jasmonovou. Vyšší podíly larev *H. zea* zabitých BT byly silně korelovány s vyššími úrovněmi aktivity PPO v tkáni. Vyšší aktivita POD byla jen slabě spojena s vyšší hladinou BT indukované mortality. Rostliny mohou indukovat obranné reakce ve shodě s mikrobiálním insekticidem entomopatogenem na ochranu proti býložravému hmyzu (Shikano et al., 2018).

Tritrofické interakce hrají klíčovou roli v udržování funkčního agroekosystému. Po poškození fytofágním hmyzem hostitelské rostliny uvolňují směs vonných látek, nazývaných těkavé látky vyvolané býložravci (HIPV), které jsou přitažlivé pro nepřátele včetně predátorů členovců a zejména parazitoidů. V posledních třech desetiletích jsou identity HIPV zkoumány v různých tritrofických systémech plynovou chromatografií – hmotnostní spektrometrií (GC – MS) a analyzovány. Množství HIPV složek bylo fyziologicky vyšetřeno plynovou chromatografií – elektroantennogramovou detekcí n(GC-EAD) a záznamem s jedním snímáním (SSR). Vliv indukovaných odorantů na chování býložravců a parazitoidů byly zkoumány pomocí Y-trubicových testů olfactometru a aerodynamických tunelů v laboratorních testech. Vzhledem k potenciální užitečnosti parazitických vos pro hubení škůdců, pochopení čichových mechanismů, kterými býložravci a parazitické vosy detekují rostlinu, by mohlo usnadnit využití parazitoidů k ochraně rostlin. S nástupem sekvenování genomu a analýzy transkriptomu byl objeven

velký repertoár genů chemosenzorických proteinů včetně odorantních receptorů a odorantních vazebných proteinů býložravců a parazitických vos (Guo et Zhu, 2019).

2.9.1 Vliv arbuskulární mykorhizy na obranu rostliny

Arbuskulární mykorhizní (AM) houby podporují růst rostlin zlepšením získávání živin, ale také zvýšením jejich odolnosti proti abiotickým a biotickým stresorům, včetně hmyzích herbivorů.

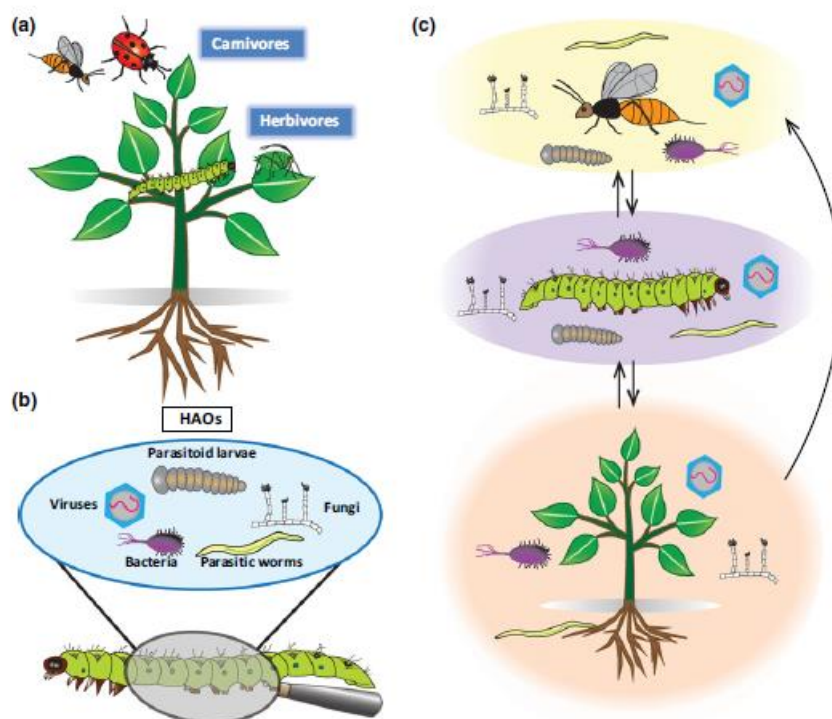
Arbuskulární mykorhiza zprostředkovaná AM plísněmi zahrnuje přímý účinek AM hub na rostlinnou vitalitu, ale také manipulaci s hormonálními kaskádami, jako je systémová aktivace obrany závislé na kyselině jasmonové (JA). Byl zkoumán vliv inokulace a rozmanitosti AM hub na endogenní tvorbu JA s cílem zvýšit odolnost proti býložravcům. Za účelem řešení této otázky byly inokulovány tři genotypy *Solanum lycopersicum* L., mutant s deficiencí JA-biosyntézy, mutant se zvýšenou syntézou JA a kontrolní nešlechtěné rostliny, a to buď inokulované nebo neinokulované houbami. U rostlin byl měřen růst a odolnost proti housenkám *Spodoptera littoralis*, hlavního škůdce plodin. Celkově nedostatek produkce JA snížil vývoj rostlin a rostliny s deficitem byly méně odolné vůči *S. littoralis*. Kromě toho AM houby zvýšily nejen odolnost rostlin proti *S. littoralis*, ale tento prospěšný efekt byl výraznější v rostlinách s nedostatkem JA než v rostlinách s vyšším množstvím JA. Tyto výsledky zdůrazňují, že zvýšená odolnost rostlin díky AM houbám je negativně ovlivněna schopností rostliny produkovat JA, a že AM houby doplňují endogenní obranu rostlin zprostředkovanou JA (Formenti et Rasmann, 2019).

2.10 HAO (herbivore-associated organisms)

Ve většině studií zabývajících se přímou a nepřímou obranou rostlin proti býložravcům byl zkoumán pouze vliv býložravců samotných. Bylo však zjištěno, že pojem býložravec zahrnuje nejen jeho samotného, ale i jeho parazity, predátory a symbiotické organismy. Ty mohou působení býložravce na rostlinu ovlivnit. S herbivory spojené organismy mohou přímo ovlivňovat reakci hostitelské rostliny tím, že interferují s rostlinnými signálními transdukčními cestami a potlačují

expresi genů souvisejících s obranou nebo změnami sekundárního metabolismu. Navíc organismy spojené s býložravci mohou také ovlivnit reakce rostlin nepřímo. Působí totiž na chování a fyziologii býložravce. Změny v rostlinném fenotypu, které způsobují organismy spojené s býložravci, mohou následně ovlivnit interakce s jinými členy společenstva, a mají tak dopad na dynamiku celého společenstva. Organismy spojené s býložravým hmyzem proto mohou působit jako skrytá hnací síla koevoluce rostlina – herbivor.

V přírodních ekosystémech rostliny interagují s mnoha organismy, které mohou hluboce ovlivnit párové interakce mezi rostlinami a hmyzem (Obr. 6a).



Obr. 6: Každý organismus začleněný do ekologického společenstva představuje společenstvo samo o sobě

- a) zjednodušené tritrofické společenství, kde organismy ve společenstvu jsou považováni za jednotlivce
- b) Herbivorní hmyz sestává ze společenství makroorganismů a mikroorganismů.
- c) Interakce v tritrofické komunitě nejsou interakce mezi "jednotlivci", ale ve skutečnosti interakce mezi komunitami HAO vázícími se na býložravce (Zhu et al., 2014).

Když je rostlina napadena několika útočníky, reakce rostliny na jednotlivé útočníky se mohou vzájemně ovlivňovat a následně vedou k jedinečným reakcím rostliny založeným na pořadí kolonizace, druhu herbivora, chování a časovém zpoždění mezi příchodem útočníků. Hmyzí paraziti mohou být mikroorganismy (jako jsou

houby a bakterie), viry nebo makroorganismy (jako jsou parazitární červi a parazitární vosy; Obr. 6b). Paraziti hmyzu si vyvinuli pozoruhodné strategie manipulace s rozvojem svého hostitele, fyziologie, morfologie, evoluce a ekologie. Existuje stále více důkazů o důležitosti HAO v interakcích mezi rostlinami a hmyzem, což naznačuje, že bychom měli považovat býložravce a jeho skryté přidružené společenství HAO za integrovaný stresor, který interaguje s rostlinou (Obr. 6c) (Zhu et al., 2014).

2.11 Obranná reakce rostliny na více herbivorů

Výzkum obrany rostlin se zaměřuje především na obranu proti jednomu škůdci. Rostliny jsou však v přírodě běžně napadány dvěma i více druhy herbivorů současně. Dosud bylo shromážděno příliš málo informací, jak se rostliny v takovýchto případech brání. Předmětem dalších studií a experimentů se tak pravděpodobně stane právě výzkum kombinace působení více škůdců. Poté bude možné vyvinout prostředky, které nebudou působit pouze na jeden nežádoucí organismus, ale dokáží eliminovat více druhů zároveň.

Kroes et al. (2016) udělali zásadní krok k objasnění výše uvedených souvislostí. Pomocí DNA čipů zjišťovali reakce huseníčku rolního (*Arabidopsis thaliana*). Nechali rostlinu napospas housenkám záředníčka polního (*Plutella xylostella*) společně s mšicemi zelnými (*Brevicoryne brassicae*). Pro porovnání přidali vzorek rostlin napadených pouze housenkami. Jedním z cílů bylo prokázat, jestli má přítomnost mšic nějaký vliv na obranu huseníčku proti housenkám. Druhým potom, zda existuje nějaká závislost na hustotě mšic v daném místě čase. U všech rostlin napadených housenkami se zvýšila syntéza kyseliny jasmonové. Přidané mšice, jak v malých, tak ve velkých hustotách, jasně změnily transkripci genů obrany proti housenkám. Napadené rostliny vykazovaly v porovnání s rostlinami pouze s jedním herbivorem vyšší množství některých činitelů pro rostlinnou imunitu, konkrétně zvýšenou expresi genů transkripčního faktoru WRKY a genů pro kyselinu abscisovou. Kromě toho bylo zjištěno, že v místech vyšší hustoty mšic se obrana rostli zrychlila. Lze proto soudit, že čím větší je hustota predátorů na rostlině, tím rychlejší jsou její obranné mechanismy.

3 Možné využití v praxi

Vliv fytohormonů na škůdcem napadenou rostlinu by bylo možno použít v praxi jako součást biopesticidů. Sloužily by jako, k životnímu prostředí šetrnější, alternativa k dnes široce využívaným pesticidům na chemické bázi. Bylo by tak možné alespoň částečně omezit negativní dopad chemické ochrany zemědělských plodin na ostatní organismy. Shrestha et Reddy (2017) testovali v terénu několik možných způsobů ochrany pšenice proti obávanému škůdci, bejlororce oranžové (*Sitodiplosis mosellana*). Použili entomopatogenní houbu *Beauveria bassiana*, parazitické hlístice *Steinernema feltiae*, s 1 % polymerním gelem Barricade, pyrethrin, kombinace Beauverie s pyrethrinem, kyselina jasmonová a chemický insekticid chlorpyrifos. Porovnávali vliv těchto činitelů na populaci bejlorořčích larev, míru poškození pšeničných zrn, výnos a kvalita zrn a vliv na populaci parazitoida bejlororky, *Macroglenes penetrans*. Pyrethrin a houba se neosvědčily. Naopak hlístice a kyselina jasmonová se ukázaly jako velmi účinné, srovnatelné s chemikálií. Ošetřené rostliny vykazovaly vyšší výnosy a menší poškození zrn larvami. Otázkou však zůstává, jestli se použití těchto látek vyplatí i ekonomicky.

Různí býložravci indukují různé obranyschopnosti rostlin. Obrana rostliny může škodlivě ovlivnit výkonnost a preferenci pozdějších býložravců. Změny se týkají požeru, kladení, růstu a ovipozice. Lin et al. (2019) zkoumali vliv dvou býložravců (červec *Phenacoccus solenopsis* a sviluška karmínová *Tetranychus cinnabarinus*) na obranu okurky (*Cucumis sativus*). Poté na zamořené rostliny vypustili molice bavlníkové (*Bemisia tabaci*). Bylo zjištěno, že molice mají tendenci dávat přednost rostlinám předem napadeným roztoči před rostlinami nenapadenými. Naproti tomu, u rostlin napadených červci byly výsledky opačné. Množství vajíček nakladených molicemi odpovídal jejich jídelním preferencím. Výsledky také ukázaly, že svilušky aktivovaly spíše geny pro kyselinu jasmonovou, zatímco červci aktivovali spíše geny pro kyselinu salicylovou. Různé způsoby obrany okurky mohou být jedním ze základních faktorů, které ovlivňují přednost výběru u molic. Kromě toho trávicí a ochranné enzymy molic mohou hrát důležitou roli v regulaci kladení vajíček a v ovipozici.

4 Závěr

V posledních letech nastal obrovský pokrok ve výzkumu fytohormonů. Při zpracování této bakalářské práce jsme čerpali převážně z dostupné odborné literatury v anglickém jazyce, protože výzkum této problematiky prozatím probíhá především v anglosaských zemích a ve východní Asii. V české odborné literatuře jsou k dispozici pouze teoretické informace. Ze zjištěných informací se tato biologická ochrana rostlin jeví jako univerzální, ale bude ještě nutné provést obdobný výzkum účinků fytohormonů evropských plodin v reakci na evropské škůdce. Pokud bude dosaženo stejných výsledků, bude moci být zahájena cílená výroba ochranných prostředků na bázi těchto látek. Hormonální změny v rostlinách lze studovat genetickou, chemickou nebo fyziologickou cestou. Při napadení hostitele škůdcem dochází ke spuštění signálu pro počátek rostlinné obrany. Tento signál zprostředkovávají právě fytohormony. Dochází k aktivaci konkrétních genů a enzymatickou cestou jsou syntetizovány proteiny, které se podílejí na vlastní obranné reakci. Předpokládá se, že ze známých fytohormonů se v roli signálu na útok herbivora uplatňuje především kyselina jasmonová. Podle současných výzkumů se ukazuje, že se na této obraně podílí i kyselina salicylová. Ta byla doposud známá hlavně jako signální molekula rostlinné imunity pro infekci bakteriemi a viry. Listožraví herbivoři způsobují signalizaci kyselinou jasmonovou a naproti tomu ti bodavě saví aktivují kyselinu salicylovou. Tyto dvě molekuly mohou vzájemně spolupracovat nebo se naopak potlačovat. Bylo zjištěno, že se do mechanismu obrany zapojují i ethylen a kyselina abscisová. A to buď ve spolupráci s kyselinou jasmonovou, nebo samostatně. Mechanismus působení fytohormonů se podobá působení hormonů v těle živočichů. Tedy výše zmíněné látky aktivují receptory na membráně rostlinných buněk. Dochází k přepisu genetické informace do proteinů. Vzniklé enzymy zprostředkovávají zesílení buněčné stěny. Díky tomu je pro hmyz těžší narušit svými ústním ústrojím a slinami další pletivo. Obranné reakce získané konkrétním jedincem lze pozorovat i v pokračující generaci. Pochopení vztahu vlivu rostliny na hmyz a hmyzu na rostlinu je složitý proces, do kterého vstupuje mnoho dalších vlivů jako je prostředí, výživa, plísně a bakterie. Kromě fytohormonů se na rostlinné obraně podílí i různé silice a jiné těkavé látky, které zvyšují pravděpodobnost napadení herbivorů predátory, parazity a parazitoidy. Takto oslabený býložravec vykazuje sníženou schopnost

zničit rostlinu. Způsob rostlinné obrany se liší v závislosti na druhu herbivora a napadeném orgánu rostliny (kořen, list). Předmětem dalších studií a experimentů se tak pravděpodobně stane právě výzkum kombinace působení více škůdců.

Výše uvedené skutečnosti nás přivedly k názoru, že využití fytohormonů k ochraně rostlin může být v blízké době slibnou alternativou chemického ošetření. Nevýhodou by se mohla stát snazší adaptace hmyzu na látky běžně se vyskytující v přírodě. Proto je otázkou, jak dlouho bude možné tento biologický způsob používat, než se k němu hmyz stane rezistentním.

Seznam použité literatury

Alagna, F., Kallenbach, M., Pompa, A., De Marchis, F., Rao, R., Baldwin, I. T., ... Baldoni, L. (2016). Olive fruits infested with olive fly larvae respond with an ethylene burst and the emission of specific volatiles. *Journal of Integrative Plant Biology*, 58(4), 413–425. <https://doi.org/10.1111/jipb.12343>

Ali, J. G., & Agrawal, A. A. (2012). Specialist versus generalist insect herbivores and plant defense. *Trends in Plant Science*, 17(5), 293–302. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.02.006>

Basu, S., Varsani, S., & Louis, J. (2017). Altering Plant Defenses: Herbivore-Associated Molecular Patterns and Effector Arsenal of Chewing Herbivores. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 31(1), 13–21. <https://doi.org/10.1094/mpmi-07-17-0183-fi>

Broekgaarden, C., Pelgrom, K. T. B., Bucher, J., Dam, N. M. Van, Pieterse, M. J., Kaauwen, M. Van, & Steenhuis, G. (2018). Combining QTL mapping with transcriptome and metabolome profiling reveals a possible role for ABA signaling in resistance against the cabbage whitefly in cabbage. *Plos One*, 13(11), 1–20. <https://doi.org/https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206103>

Bodenhausen, N. (2007). *Arabidopsis thaliana* response to insect feeding: new components controlling defense gene expression and plant resistance. Université de Lausanne.

Castano-Duque, L., Helms, A., Ali, J. G., & Luthe, D. S. (2018). Plant Bio-Wars : Maize Protein Networks Reveal Tissue-Specific Defense Strategies in Response to a Root Herbivore. *Journal of Chemical Ecology*, 727–745.

do Prado Ribeiro, L., Klock, A. L. S., Filho, J. A. W., Tramontin, M. A., Trapp, M. A., Mithöfer, A., & Nansen, C. (2018). Hyperspectral imaging to characterize plant-plant communication in response to insect herbivory. *Plant Methods*, 14(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s13007-018-0322-7>

Erb, M., Meldau, S., & Howe, G. A. (2012). Role of phytohormones in insect-specific plant reactions. *Trends in Plant Science*, 17(5), 250–259. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2012.01.003>

Escobar-Bravo, R., Chen, G., Kim, H. K., Grosser, K., Van Dam, N. M., Leiss, K. A., & Klinkhamer, P. G. L. (2019). Ultraviolet radiation exposure time and intensity modulate tomato resistance to herbivory through activation of jasmonic acid signaling. *Journal of Experimental Botany*, 70(1), 315–327. <https://doi.org/10.1093/jxb/ery347>

Formenti, L., & Rasmann, S. (2019). Mycorrhizal Fungi Enhance Resistance to Herbivores in Tomato Plants with Reduced Jasmonic Acid Production. *Agronomy*, 9(3), 131. <https://doi.org/10.3390/agronomy9030131>

- Giacometti, R., Ilina, N., Eduardo, P. A., & Zavala, J. A. (2018). Stink bug *Nezara viridula* sustains late MAPKs phosphorylation status and induces expression of genes related with cell wall rearrangement in developing soybean seeds. *Arthropod-Plant Interactions*, *12*(4), 531–541. <https://doi.org/10.1007/s11829-018-9599-8>
- Guo, H., & Zhu, C. (2019). The ethological significance and olfactory detection of herbivore-induced plant volatiles in interactions of plants, herbivorous insects, and parasitoids. *Arthropod-Plant Interactions*, *13*(2), 161–179. <https://doi.org/10.1007/s11829-019-09672-5>
- Hettenhausen, C., Schuman, M. C., & Wu, J. (2015). MAPK signaling: A key element in plant defense response to insects. *Insect Science*, *22*(2), 157–164. <https://doi.org/10.1111/1744-7917.12128>
- Chapman, K. M., Marchi-Werle, L., Hunt, T. E., Heng-Moss, T. M., & Louis, J. (2018). Abscisic and Jasmonic Acids Contribute to Soybean Tolerance to the Soybean Aphid (*Aphis glycines* Matsumura). *Scientific Reports*, *8*(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33477-w>
- Chen, X., Richter, A. R., Stout, M. J., & Davis, J. A. (2018). Effects of induced plant resistance on soybean looper (Lepidoptera: Noctuidae) in soybean. *Arthropod-Plant Interactions*, *12*(4), 543–551. <https://doi.org/10.1007/s11829-018-9601-5>
- Janda, M., Valentová, O. (2014). Kyselina salicylová. *Bioprospect*, *24*(1), 9–12. Retrieved from http://bts.vscht.cz/sites/default/files/Bioprospect_c1_2014.pdf
- Johnson, S. N., Erb, M., & Hartley, S. E. (2016). Roots under attack: Contrasting plant responses to below- and aboveground insect herbivory. *New Phytologist*, Vol. 210, pp. 413–418. <https://doi.org/10.1111/nph.13807>
- Kroes, A., Broekgaarden, C., Castellanos Uribe, M., May, S., van Loon, J. J. A., & Dicke, M. (2017). *Brevicoryne brassicae* aphids interfere with transcriptome responses of *Arabidopsis thaliana* to feeding by *Plutella xylostella* caterpillars in a density-dependent manner. *Oecologia*, *183*(1), 107–120. <https://doi.org/10.1007/s00442-016-3758-3>
- Lei, Y., Liu, Q., Hettenhausen, C., Cao, G., Tan, Q., Zhao, W., ... Wu, J. (2017). Salt-tolerant and -sensitive alfalfa (*Medicago sativa*) cultivars have large variations in defense responses to the lepidopteran insect *Spodoptera litura* under normal and salt stress condition. *PLoS ONE*, *12*(7), 1–15. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181589>
- Lin, D., Xu, Y., Wu, H., Liu, X., Zhang, L., & Wang, J. (2019). Plant Defense Responses Induced by Two Herbivores and Consequences for Whitefly *Bemisia tabaci*. *Frontiers in Physiology*, *10*(April), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00346>

Lortzing, T., & Steppuhn, A. (2016). Jasmonate signalling in plants shapes plant-insect interaction ecology. *Current Opinion in Insect Science*, 14, 32–39. <https://doi.org/10.1016/j.cois.2016.01.002>

Louis, J., Basu, S., Varsani, S., Castano-Duque, L., Jiang, V., Williams, W. P., ... Luthe, D. S. (2015). Ethylene Contributes to maize insect resistance1 -Mediated Maize Defense against the Phloem Sap-Sucking Corn Leaf Aphid . *Plant Physiology*, 169(1), 313–324. <https://doi.org/10.1104/pp.15.00958>

Marimuthu, M., & Smith, C. M. (2012). Barley tolerance of Russian wheat aphid (Hemiptera: Aphididae) biotype 2 herbivory involves expression of defense response and developmental genes. *Plant Signaling & Behaviour*, (March), 1–10.

van Oosten, V.. (2007). *Induced pathogen and insect resistance in Arabidopsis: transcriptomics and specificity of defense* (M. J. Kropff, Ed.).

Pieterse, M. J., Does, D. Van Der, Zamioudis, C., Leon-reyes, A., & Wees, S. C. M. Van. (2012). Hormonal Modulation of Plant Immunity. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, (28), 489–521. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-092910-154055>

Po, Hu; Wu, Zhou; Zhiwei, Cheng; Meng, Fan; Lei, W. D. X. (2013). JAV1 Controls Jasmonate-Regulated Plant Defense. *Molecular Cell*, 50(4), 504–515. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2013.04.027>

Procházka S.; Macháčková I.; Krekule, J., Šebánek J. (1998). *Fyziologie rostlin*. Praha: Academia.

Shikano I., Pan Q.; Hoover, K.; Felton, G. W. (2018). Herbivore-Induced Defenses in Tomato Plants Enhance the Lethality of the Entomopathogenic Bacterium , *Bacillus thuringiensis* var . *kurstaki*. *Journal of Chemical Ecology*, 44(10), 947–956.

Shrestha, G., & Reddy, G. V. P. (2017). Field efficacy of insect pathogen, botanical, and jasmonic acid for the management of wheat midge *Sitodiplosis mosellana* and the impact on adult parasitoid *Macroglanes penetrans* populations in spring wheat . *Insect Science*, 523–535. <https://doi.org/10.1111/1744-7917.12548>

Schoonhoven, L. M., van Loon, J. J. A., & Dicke, M. (2005). *Insect-plant biology*.

Ti, A. C., Erbilgin, N. S. N., Krokene, P., Christiansen, E., Zeneli, G., & Gershenzon, J. (2006). Exogenous application of methyl jasmonate elicits defenses in Norway spruce (*Picea abies*) and reduces host colonization by the bark beetle *Ips typographus*. *Plant-Animal Interactions*, 426–436. <https://doi.org/10.1007/s00442-006-0394-3>

Taiz, L., & Zeiger, E. (2002). *Plant Physiology* (Third). <https://doi.org/doi:10.1093/aob/mcg079>

Tůma, J. (2018). *Vybrané kapitoly z fyziologie rostlin*. Hradec Králové.

- Vanková, R. (2010). *Plant Hormone Functions in Abiotic and Biotic Stress Responses*. 191–211. <https://doi.org/10.1201/b10329-11>
- Varsani, S., Grover, S., Zhou, S., Koch, K. G., Huang, P.-C., Kolomiets, M. V., ... Louis, J. (2019). 12-Oxo-Phytodienoic Acid Acts as a Regulator of Maize Defense against Corn Leaf Aphid. *Plant Physiology*, 179(4), 1402–1415. <https://doi.org/10.1104/pp.18.01472>
- Wu, J., & Baldwin, I. T. (2009). Herbivory-induced signalling in plants: Perception and action. *Plant, Cell and Environment*, 32(9), 1161–1174. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2009.01943.x>
- Ye, M., Glauser, G., Lou, Y., Erb, M., & Hu, L. (2019). Molecular Dissection of Early Defense Signaling Underlying Volatile-Mediated Defense Regulation and Herbivore Resistance in Rice. *The Plant Cell*, 31(3), 687–698. <https://doi.org/10.1105/tpc.18.00569>
- Zavala, J. A., Gog, L., & Giacometti, R. (2017). Anthropogenic increase in carbon dioxide modifies plant–insect interactions. *Annals of Applied Biology*, 170(1), 68–77. <https://doi.org/10.1111/aab.12319>
- Zhang, P., He, Y., Zhao, C., Ye, Z., & Yu, X. (2018). Jasmonic Acid-Dependent Defenses Play a Key Role in Defending Tomato Against *Bemisia tabaci* Nymphs , but Not Adults. *Frontiers in Plant Science*, 9(July), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01065>
- Zhu, F., Poelman, E. H., & Dicke, M. (2014). Insect herbivore-associated organisms affect plant responses to herbivory. *New Phytologist*, 204(2), 315–321. <https://doi.org/10.1111/nph.12886>