

# UNIVERZITA PALACKÉHO V OLOMOUCI

Přírodovědecká fakulta

Katedra biotechnologií



## Využití endofytů v biotechnologiích se zaměřením na zemědělství a farmakologii

### BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Autor:	<b>Vendula Spáčilová</b>
Studijní program:	B0512A130007 Biotechnologie a genové inženýrství
Specializace:	Biotechnologie a genové inženýrství
Forma studia:	Prezenční
Vedoucí práce:	<b>Mgr. Pavel Matušinsky, Ph.D.</b>
Rok:	2024

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně s vyznačením všech použitých pramenů a spoluautorství. Souhlasím se zveřejněním bakalářské práce podle zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách, ve znění pozdějších předpisů. Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, ve znění pozdějších předpisů.

V Olomouci dne .....

..... Podpis studenta

## **Poděkování**

Děkuji vedoucímu práce Mgr. Pavlu Matušinskému Ph. D. za trpělivost, odborné rady, pomoc a motivaci při realizaci bakalářské práce.

Rodině děkuji za podporu ve studiu a vhodné zázemí.

## Bibliografická identifikace

Jméno a příjmení autora	Vendula Spáčilová
Název práce	Využití endofytů v biotechnologiích se zaměřením na zemědělství a farmakologii
Typ práce	Bakalářská
Pracoviště	Katedra botaniky
Vedoucí práce	Mgr. Pavel Matušinsky Ph. D.
Rok obhajoby	2024

### Abstrakt

Endofyty jsou definovány jako organismy žijící uvnitř rostlin, aniž by způsobovaly symptomy chorob. Endofytismus byl potvrzen u mnoha druhů organismů, v této práci bylo pracováno s endofytickými houbami *Serendipita indica* a *Microdochium bolleyi* a houbovými patogeny *Ceratobasidium cereale* a *Fusarium culmorum* a byl sledován jejich vliv na růst rostliny *Triticum aestivum*, nekrotizaci listů a zvýšení odolnosti rostlin související s expresí genů spojených s rostlinou imunitou; geny spojené s patogenezí 1 (*PR1*) a chitinázy (*B2H2*). Patogenní houby *F. culmorum* a *C. cereale* vyvolaly vyšší expresi genů chitinázy než endofytické houby *S. indica* a *M. bolleyi*. V budoucnu by endofyty mohly hrát významnou roli v biologické ochraně rostlin, a sloužit jako náhrada pesticidů, případně by se mohly uplatnit jako producenti sekundárních metabolitů s využitím ve farmakologii.

Klíčová slova	Endofyt, imunitní odpověď rostlin, kyselina salicylová, <i>PR1</i> , chitináza, <i>Serendipita indica</i> , <i>Microdochium bolleyi</i> , <i>Ceratobasidium cereale</i> , <i>Fusarium culmorum</i>
Počet stran	65
Počet příloh	0
Jazyk	Český

## Bibliografická identifikace

Autor's first name and surname	Vendula Spáčilová
Title	Use of endophytes in biotechnology with a focus on agriculture and pharmacology
Type of thesis	Bachelor
Department	Department of botany
Supervisor	Mgr. Pavel Matušinsky Ph. D.
The year of presentation	2024

### Abstract

This bachelor thesis focuses on endophytes, defined as organisms living inside plants that do not cause disease symptoms. There are many endophytes, but this thesis worked with *Serendipita indica* and *Microdochium bolleyi* and their effect on the plant compared to the effect of pathogens *Ceratobasidium cereale* and *Fusarium culmorum*. The effect of endophytes on the plant was studied in leaf necrosis, growth and expression of plant genes associated with plant immunity, *pathogenesis-related gene 1 (PR1)* and chitinase (*B2H2*). *F. culmorum* and *C. cereale* induced higher expression of chitinase genes than endophytes. In the future, endophytes could play a biocontrol role, as substitutes for herbicides, pesticides, and fungicides or as producers of secondary metabolites for pharmacology.

Key words	Endophyte, plant immune response, salicylic acid, <i>PR1</i> , chitinase, <i>Serendipita indica</i> , <i>Microdochium bolleyi</i> , <i>Ceratobasidium cereale</i> , <i>Fusarium culmorum</i>
Number of pages	65
Number of appendices	0
Language	Czech

# Obsah

1. Úvod.....	1
2. Současný stav řešené problematiky.....	2
2.1 Endofyt, endofytismus .....	2
2.2 Vztahy mezi mikroorganismy a rostlinami .....	3
2.3 Mechanismy působení endofytů.....	3
2.3.1 Endofytické houby.....	3
2.3.1.1 Endofyté s potenciálem v biologické ochraně rostlin, biotický stres .....	5
2.3.1.2 Endofyté a tolerance k abiotickému stresu.....	7
2.3.2 Rostlinná obrana.....	10
2.3.2.1 Indukovaná rezistence .....	12
2.3.2.2 SAR – systémová získaná rezistence .....	13
2.3.2.3 ISR - indukovaná systémová rezistence.....	15
2.3.3 Biologická ochrana rostlin.....	16
2.3.3.1 Konkurence s patogeny .....	18
2.3.3.2 Antibakteriální a antifungální aktivita endofytů .....	18
2.3.3.3 Hyperparaziti a predace.....	19
2.3.4 Další možnosti využití endofytů.....	19
2.3.4.1 Podpora růstu rostlin .....	19
2.3.4.2 Sekundární metabolity .....	20
2.3.4.3 Sekrece lytických enzymů.....	20
2.3.4.4 Využití enzymu 1-aminocyklopropan-1-karboxylát deamináza (ACCD) .....	21
2.3.4.5 Produkce fytohormonů.....	21
2.3.4.6 Solubilizace fosforu .....	22
2.3.4.7 Siderofory.....	23
2.3.5 Využití endofytů ve farmakologii.....	24
2.3.5.1 Endofytické bakterie a houby jako producenti bioaktivních látek .....	24
2.3.5.2 Protinádorová aktivita a sloučeniny .....	24
2.3.5.3 Antioxidační aktivita .....	25
2.3.5.4 Antidiabetická činnost.....	25
2.3.5.5 Imunosupresivní činnost .....	26
2.3.5.6 Antivirová činnost.....	26
2.3.5.7 Antimalarická činnost .....	27

2.3.5.8	Protituberkulózní činnost .....	27
3.	Popis organismů .....	28
3.1	Popis organismu <i>Serendipita indica</i> .....	28
3.2	Popis organismů <i>Fusarium culmorum</i> , <i>Microdochium bollei</i> , <i>Ceratobasidium cereale</i> .....	28
3.3	Popis rostliny <i>Triticum aestivum</i> a její využití .....	29
4.	Materiály a metody .....	30
4.1	Materiály .....	30
4.2	Přístrojové vybavení .....	30
4.3	Metody .....	30
4.3.1	Výsev semen <i>T. aestivum</i> a inokulace houbovými organismy .....	30
4.3.2	Odběr listů <i>T. aestivum</i> pro izolaci RNA .....	31
4.3.3	Izolace RNA .....	31
4.3.4	Převod RNA do cDNA .....	31
4.3.5	Real-time PCR .....	31
4.3.6	Vizuální hodnocení rostlin <i>T. aestivum</i> .....	32
4.3.6.1	Výška rostlin .....	32
4.3.6.2	Nekrotizace listů .....	32
4.3.6.3	Zahnědnutí báží .....	32
4.3.7	Statistické vyhodnocení .....	33
5.	Výsledky .....	33
5.1	Vizuální hodnocení rostlin <i>T. aestivum</i> .....	33
5.1.1	Výška rostlin .....	33
5.1.2	Míra nekrotizace listů .....	35
5.1.3	Zahnědnutí báží .....	36
5.2	Exprese <i>PR1</i> .....	36
5.3	Exprese <i>Tab2H2</i> .....	38
6.	Diskuze .....	40
7.	Závěr .....	45
8.	Literatura .....	46
9.	Zkratky .....	65

## **Cíle**

Cílem této práce je představit různé mechanismy působení endofytů při ochraně rostlin a farmacii a uvést některé biologické aktivity důležité pro lidskou populaci se zvláštním důrazem na endofytické houby.

### **Teoretická část**

- a.** Zpracování literární rešerše k danému tématu
- b.** Charakterizace endofytických organismů
- c.** Popis současných znalostí o využití endofytů v biotechnologiích. V biologické ochraně rostlin a ve farmakologii

### **Praktická část**

- d.** Založení a vedení experimentů ve skleníku, popř. fytotronu (kultivace hub, příprava hostitele)
- e.** Izolace RNA, převod RNA do cDNA, měření exprese genů pomocí real-time PCR
- f.** Vyhodnocení a zpracování dat



## 1. Úvod

Endofyty jsou organismy, které obývají vnitřní části rostlin nezpůsobující jasně viditelné symptomy infekce (Li et al., 2018) a pomáhají rostlinám přežít v nepříznivých podmínkách, které by mohly jejich přežití ohrozit (Fadiji & Babalola, 2020).

Endofyty vstupují do semen, listů, stonků nebo kořenů. V přírodě spolu endofyty a rostliny interagují, což může ovlivnit růst rostliny, její vývin a obrannou odpověď (Fontana et al., 2021). Endofyty mohou zlepšovat zdraví rostlin, obranyschopnost vůči patogenům či stresovým podmínkám jako je sucho, přítomnost těžkých kovů aj. (Fadiji & Babalola, 2020; Lata et al., 2018).

Choroby rostlin způsobené patogeny jsou podstatnou výzvou pro zemědělství. Současné metody ochrany proti chorobám spočívají ve využití genetické resistance hostitele nebo jsou odkázány na použití chemických pesticidů (Hirooka & Ishii, 2013). Nadužívání pesticidů však představuje zátěž pro životní prostředí, přináší rizika pro konzumenty a vede k selekci rezistentních populací patogenů (Fontana et al., 2021). Proto je třeba hledat alternativní metody ochrany rostlin (Walters et al., 2005). Využití endofytů v zemědělství je příslibem nejen pro ekologické zemědělské praxe, ale také pro zvyšování výnosů a snižování závislosti na chemických hnojivech a pesticidech v konvenčních systémech hospodaření.

Endofytické houby jsou stále více studovány kvůli schopnosti napomáhat zdravím rostlin. V biologické ochraně rostlin mají poměrně vysoký potenciál, zde slouží jako aktivátory rostlinných obranných odpovědí (Fontana et al., 2021), a to díky jejich schopnosti produkovat řadu bioaktivních metabolitů a biotechnologicky významných enzymů (Fadiji & Babalola, 2020), které mohou stimulovat růst rostlin, posilovat imunitní systém a přispívat k lepšímu využití živin. Díky těmto vlastnostem mohou endofyty významně přispět k udržitelnému zemědělství, kde je potřeba minimalizovat negativní dopady na životní prostředí a zároveň zajistit dostatečnou produkci potravin pro rostoucí světovou populaci.

Sekundární bioaktivní metabolity produkované endofyty by však nemusely pomáhat pouze v zemědělství. V současné době existuje mnoho prací, které potvrzují, že se mikroorganismy využití v rámci biotechnologií mohou velmi dobře uplatnit také v medicíně i průmyslu (Archana et al., 2015; Yadav et al., 2015; Singh et al., 2016; Sahay et al., 2017). Jedním z příkladů využití endofytů v humánní medicíně je objev uznávaného protirakovinného léku paclitaxel (Taxol™), který napomohl urychlit výzkum biologie endofytů a přinesl prospektivní kandidáty, které by bylo možné využít jako léky s antimikrobiálními, imunosupresivními, antioxidačními a anti-neurodegenerativními funkcemi (Tiwari & Bae, 2022). Endofytické houby asociované s rostlinami představují nový a nevyužitý zdroj přírodních a bioaktivních produktů využitelných v lékařství (Fontana et al., 2021).

Ačkoliv endofytické mikroorganismy slouží jako „biosyntetické platformy“ významných sekundárních metabolitů a jejich potenciál v biotechnologiích je obrovský, stále čelíme v rámci jejich výzkumu mnoha výzvám. Důležitá je kromě výzkumu interakcí mezi endofyty a jejich hostitelskými rostlinami také optimalizace podmínek pro jejich komerční využití a překonání legislativních a tržních bariér.

Tento úvod představuje základní kontext pro hlubší pochopení tématu využití endofytů v biotechnologiích se zaměřením na zemědělství a farmakologii, kde budeme zkoumat specifické příklady úspěšného využití těchto mikroorganismů, současné výzvy a budoucí perspektivy v této dynamicky se rozvíjející oblasti.

## **2. Současný stav řešené problematiky**

### **2.1 Endofyt, endofytismus**

Jedna z prvních definic pro termín endofyt (endo = uvnitř, fyto = rostlina) byl vytvořen Antonem de Bary již v roce 1866 pro „jakýkoli organismus rostoucí v rostlinných pletivech“ (Collinge et al., 2022).

Rostliny a mikroorganismy v přírodě žijí ve vzájemných interakcích, které mohou ovlivňovat růst, vývin, a dokonce i obranné reakce rostlin na různé formy biotického a abiotického stresu (Nataraja et al., 2019). Všechny vyšší rostliny jsou hostiteli jednoho nebo více endofytických mikroorganismů.

Endofytické mikroorganismy mohou být bakterie, eukaryoty a archea. Jako endofytismus je označován způsob symbiotického soužití daného organismu v rostlině, který trvá alespoň část životního cyklu tohoto organismu a nezpůsobuje viditelné příznaky napadení rostlinných pletiv ani jejich modifikace. Vliv endofyta na hostitele se ohraničuje od mírného negativního působení až k mutualismu (Hyde & Soyong, 2008; Rodriguez et al., 2009; Wilson, 1995).

Endofyté působí jako biologické činitele ochrany rostlin i jako aktivátory obranné reakce rostlin na biotické a abiotické stresy (Fontana et al., 2021), a to díky své schopnosti produkovat mnoho bioaktivních metabolitů a biotechnologicky významných enzymů (Khan et al., 2014; Rajamanikyam et al., 2017).

Endofytické druhy v jedné rostlině tvoří celá společenstva, v nichž některé organismy dominují a některé jsou vzácnější či omezené na určitý orgán. Endofytické mikroorganismy byly nalezeny v mnoha druzích rostlin, například v rajčatech, rýži, pšenici, kukuřici, u jahod a mnoha dalších (Fadiji & Babalola, 2020).

## 2.2 Vztahy mezi mikroorganismy a rostlinami

Většina mikroorganismů, žijících ve spojení s rostlinami, je schopná kolonizovat a přetrvávat pouze na povrchu rostlinných pletiv či v rhizosféře.

Endofyty jsou mikroorganismy pocházející z fylosféry či rhizosféry (Singh et al., 2017) a jsou schopny proniknout dovnitř rostlinných pletiv hostitele. Endofyty žijí v úzkém spojení s hostitelem po většinu svého životního cyklu (Bacon & Hinton, 2006). Kolektivní společenství mikroorganismů asociovaných s rostlinami se označují jako rostlinný mikrobiom. V tomto kontextu lze na rostliny nahlížet jako na superorganismy, které se částečně spoléhají na svůj mikrobiom pro specifické funkce a vlastnosti (Mendes et al., 2013), rostlina a její mikrobiom tvoří ekologickou a evoluční jednotku (Uroz et al., 2019).

Příznivé interakce lze definovat jako některé přímé nebo nepřímé mechanismy, jako je přenos živin, který provádějí mykorhizní houby a rhizobia, které se spojují s kořeny a poskytují rostlinám minerální živiny a vázaný dusík; přímá stimulace růstu prostřednictvím fytohormonů, antagonismus vůči patogenním mikroorganismům a zmírňování stresů. Na druhou stranu některé interakce s mikroorganismy jsou pro rostliny nežádoucí, a mohou vést k poškození a usmrcení rostlinných pletiv. Rozluštění interakcí mezi rostlinami a mikroorganismy je proto zásadní součástí rozpoznávání pozitivních a negativních dopadů mikroorganismů na rostliny (Dolatabadian, 2021).

## 2.3 Mechanismy působení endofytů

Endofytické mikroorganismy pomáhají zvyšovat kondici rostlin několika mechanismy (Fadiji & Babalola, 2020). Endofyty prokázaly svou schopnost posílit obranu hostitele proti chorobám a snížit škody způsobené patogenními mikroorganismy (Ganley et al., 2008; Mejía et al., 2008). Nejčastější strategií prokázání vztahů mezi mikroorganismy a rostlinami, kterou výzkumníci využívají, je přímá antagonistická reakce na destičkách *in vitro* proti patogenům nebo porovnání míry přežití inokulované rostliny ve srovnání s kontrolou. Ačkoli některé studie představily nové mechanismy využívané endofyty při snižování účinků patogenů, současné znalosti o regulacích endofytů, patogenu a rostliny stále nejsou zcela pochopeny (Ganley et al., 2008).

### 2.3.1 Endofytické houby

Houby hrají důležitou roli v organické a anorganické přeměně, koloběhu prvků, přeměnách hornin a minerálů, biologickém zvětrávání, tvorbě mykogenních minerálů, interakcích s půdou a kovy. Endofytické houby také ukázaly potenciál pro posílení fytořemediace, tedy odstranění znečišťujících látek z prostředí. Ve srovnání s bakteriemi většina hub vytváří vlákna, která mají schopnost se formovat v lineární orgány agregovaných hyf a jsou schopny se adaptovat na prostředí formou explorativní (shromažďování informací) nebo exploatační (využití metabolitů) růstové strategie (Deng & Cao, 2017).

Endofytické houby byly poprvé definovány jako organismy žijící uvnitř rostliny, ať už se jednalo o asymptomatické nebo symptomatické infekce, a to v antagonistickém, nebo symbiotickém stavu (Fontana et al., 2021), tato terminologie je však dnes již zastaralá. Novější názory pojmají endofyty jako organismy, které žijí ve zdravém rostlinném pletivu, aniž by způsobovaly příznaky infekce a jsou v přírodě hojně rozšířeny (Petrini, 1991). Dlouhodobá koexistence endofytů a hostitelských rostlin činí jejich vztah komplexní, takže endofyty mohou produkovat stejné nebo podobné aktivní sekundární metabolity jako rostliny (Petrini, 1991).

Ze vzájemné interakce mezi endofytem a rostlinou mají prospěch jak endofytické houby, tak hostitelská rostlina. Na jedné straně endofytické houby těží z ochrany, výživy a úkrytu v rostlině. Na druhé straně endofyty také pomáhají svým hostitelským rostlinám tím, že stimulují jejich růst, vývoj, adaptaci a toleranci vůči stresu (Fontana et al., 2021) a napomáhají k ochraně rostlin před chorobami, ke které dochází snížením úrovně infekce a také potlačením a omezením růstu patogenů (Bacon & White, 2016). V tomto smyslu se předpokládá, že přítomnost endofytů během evolučního procesu umožnila rostlinám lépe růst a být odolnější vůči hmyzu, býložravcům a patogenním organismům. Totéž lze usuzovat na nepříznivé podmínky prostředí, jako je nízká vlhkost a/nebo vysoké teploty (Fontana et al., 2021).

Endofytické houby mohou kolonizovat nadzemní části rostlin i kořeny, aniž by byly rostlinám nebezpečné. Endofyty osidlují především pletiva pod epidermálními buněčnými vrstvami (Bacon & White, 2000, Li et al., 2018), systematicky osidlují apoplast, cévní pletiva a někdy i buňky samotné (Fontana et al., 2021). Kolonizace rostlin endofyty je dána interakcí mezi mikroorganismy a rostlinou, schopnost kolonizace může být vysvětlena ekologickou teorií, kde metabolická produkce rostlin je závislá na ekologické nise, do které je rostlina i mikroorganismus zasazen (Strobel & Daisy, 2003). Ke kolonizaci rostlin endofyty nedochází náhodou, ale pravděpodobně jejich selekcí a adaptací pro růst v této nise. Protože endofytické houby obývají podobnou niku jako fytopatogeny, jsou schopny konkurence produkcí antagonistických látek (toxinů), paratizmu nebo vyvolání rezistence či tolerance u svého hostitele.

Přestože jsou endofyty úzce spjaty s rostlinami, musí při jejich kolonizaci překonat obrannou bariéru, kterou rostliny kladou. Před úspěšnou kolonizací musí mikroorganismy přežít oxidační prostředí v hostitelské rostlině (Mengistu, 2020). Jedním z příkladů obranné bariéry rostlin mohou být rostlinné sekundární metabolity, takže endofytické houby musí pro úspěšnou kolonizaci vytvářet detoxifikační enzymy. Tyto detoxifikační sloučeniny však mají schopnost u rostlin vyvolat tvorbu jiných sekundárních metabolitů, které mohou sloužit jako zdroje obrany proti patogenům (Zhang et al., 2006).

Populační dynamika endofytických hub může souviset s některými vlastnostmi hostitelů, tj. chemickým složením, fyziologickými podmínkami, zeměpisnou polohou, stářím rostlin a

ekologickými podmínkami. Distribuce endofytických hub je ovlivňována ekologickými stavy jako teplota, vlhkost, osvětlení a lokalita (Yang et al., 2018).

Metabolity produkované rostlinou jsou využívány pro tvorbu biomasy endofyta, využitý zdroj energie je rostlině endofytem kompenzován zlepšením zdraví rostliny (Backman & Sikora, 2008). Interakce mezi rostlinou a endofytem mají intenzivní chemotaktickou signalizaci, která naznačuje jejich koevoluční adaptaci (Schulz & Boyle, 2005).

### **2.3.1.1 Endofyté s potenciálem v biologické ochraně rostlin, biotický stres**

Stres je obecně nepříznivý stav, vyvolaný působením nějakého zatěžujícího podnětu, stresoru. Stres vyvolá stresovou reakci, která aktivuje obranné mechanismy rostliny. Tyto obranné mechanismy, pokud působí dlouhodobě nebo velmi intenzivně, jsou velmi škodlivé a mohou způsobit až poškození nebo uhynutí rostliny. Biotický stres je stres vyvolaný patogenem houbového, virového nebo bakteriálního původu anebo škůdci. Eliminace stresu spočívá v omezení aktivity biotických činitelů (Iqbal et al., 2021).

V posledních letech narůstá zájem o používání biologické ochrany rostlin s využitím endofytických mikroorganismů. Většina endofytů s potenciálem biologické ochrany byla nalezena u poměrně širokého spektra plodin a je schopna potlačovat významné druhy patogenů (Fontana et al., 2021). Endofyté jsou využíváni jako zdroje biotických elicitorů, protože mají schopnost v rostlinných buňkách stimulovat reakce na choroby. Endofyté vynikli svou schopností iniciovat syntézu a akumulaci sekundárních metabolitů v pletivech svých hostitelů, které pak mohou ovlivňovat fungování antioxidantních enzymů, a tím aktivovat kaskádu obranných reakcí a podporovat pozitivní regulaci genové exprese důležitých enzymů při produkci sekundárních metabolitů (Biswas et al., 2016).

Rody hub, které se nejčastěji jako endofyté vyskytují, jsou *Trichoderma*, *Fusarium*, *Pyriformospora*, *Penicillium* a *Aspergillus*, kdy houby rodu *Trichoderma* se vyskytovaly u rostlin desetkrát častěji než houby rodu *Fusarium* (Fontana et al., 2021). Přestože se tyto rody hub vyskytují nejčastěji, nemůžeme zanedbat ani existenci jiných rodů hub, protože by mohly být přínosné ve studované problematice.

U endofytických hub je třeba si uvědomit, že zatímco pro jeden rostlinný druh působí endofyticky, pro jiný rostlinný druh mohou být patogenní (Fontana et al., 2021). Například houba *Sclerotinia sclerotinium* je patogenem řepky se škodlivým dopadem na zdravotní stav rostlin, naproti tomu v obilovinách je tato houba schopná indukovat rezistenci vůči fuzariózám klasů, žluté rzivosti, obdobně jako u rýže, kde dokáže indukovat odolnost vůči chorobě způsobené patogenem *Magnaporthe oryzae* (Tian et al., 2020).

Mezi nejprostudovanější endofytické mikroorganismy patří několik druhů hub rodu *Trichoderma*. Houby rodu *Trichoderma* jsou schopny kolonizovat širokou škálu důležitých polních plodin, příkladem je sója, pšenice a kukuřice. Houby rodu *Trichoderma* vyvolávají různorodé mechanismy, známá je její schopnost indukovat rezistenci vůči chorobám (Fontana et al., 2021).

Endofytické mikroorganismy mají schopnost produkovat velké množství sekundárních metabolitů (Zhang et al, 2006). Nedávno bylo odhaleno, že interakce endofyt-rostlina může přesahovat rovnováhu mezi virulencí a obranou, protože je mnohem složitější a přesněji kontrolovaná (Kusari et al, 2012). Mezi kontrolními mechanismy poskytovanými endofyty, jako je kompetice o prostor a živiny, mykoparazitismus, antibióza a indukovaná rezistence, existuje vysoká pravděpodobnost, že indukovaná rezistence je jedním z nejdůležitějších mechanismů používaných endofyty při kontrole chorob (Kim et al., 2007). Některé ze sloučenin, které rostlina rozpoznává, jsou běžné u všech hub, jako jsou určité složky buněčné stěny a enzymy, jako jsou xylanázy, celulózy a chitinázy (Kusari et al, 2012). Jiné sloučeniny jsou specifitější pro určité druhy, včetně vylučovaných proteinů, specializovaných metabolitů a lipidů, hormonálních molekul a těžkých sloučenin (Druzhinina et al., 2011).

Další významnou skupinou endofytů z řad hub jsou nepatogenní kmeny původně rostlinných patogenů. Například *Fusarium oxysporum* může u rostlin způsobovat odumírání kořenů a vadnutí, ale některé avirulentní kmeny mohou s rostlinou interagovat, kolonizovat ji a působit protektivně (De Lamo & Takken, 2020). Endofyt v přímé interakci s rostlinou může konkurovat s patogeny rostlin o živiny a/nebo metabolity z prostředí kořenové niky, což má za následek potlačení aktivity patogenů (Constantin et al., 2019; Fadiji & Babalola, 2020).

Některé studie prokázaly potenciál netoxigenních kmenů *Aspergillus* v obilovinách (Sarrocchio & Vannacci, 2018). Průnik nepatogenních kmenů houby *Aspergillus flavus* do hostitelských pletiv obilniny může zabránit tvorbě aflatoxinů u obilnin v předsklizňové fázi, a to díky schopnosti *Aspergillus flavus* potlačit toxigenní kmeny (Sarrocchio & Vannacci, 2018).

Dalším příkladem vhodné houby s biologickým potenciálem ochrany je houba *Purpureollicium lilacinum*. *P. lilacinum* je běžně izolována z půdy, kořenů rostlin, háďátek a hmyzu a příležitostně může infikovat lidi. Tato houba využívá flexibilní životní styl, vyskytuje se ve formě půdních saprobů, rostlinných endofytů a patogenů hlístic. Oportunní infekce houby nastává v okamžiku, kdy se vajíčka háďátek setkají s *P. lilacinum*. Po té, co půdní saprofyt *P. lilacinum* kolonizoval kořeny rostlin jako endofyt se po infekci rostlinným háďátkem stává parazitem háďátka a narušuje vývoj vajíček háďátek (Khan & Tanaka, 2023).

V důsledku studované problematiky vyvstává otázka, jak můžeme izolovat a vybrat potenciální houbové endofyty vhodné pro ochranu rostlin. Potenciální odpovědí může být právě

interakce mikroorganismů a hostitelské rostliny. Bylo prokázáno, že mikroby asociované s rostlinami jsou účinné při jejich ochraně vůči většině patogenům (Fontana et al., 2021).

### 2.3.1.2 Endofyté a tolerance k abiotickému stresu

Abiotický stres je takový, který přímo nesouvisí se živými organismy. Jedná se například o stres způsobený vodním deficitem/nadbytkem, zasolením, nerovnováhou živin anebo extrémními teplotami. V současnosti se nejvíce potýkáme především s globálními změnami souvisejícími s nárůstem teplot a zvyšováním ploch ohrožených suchem (Ali et al., 2018).

Potřeba hledat nové zemědělské postupy, které by maximalizovaly efektivitu pěstování plodin navzdory probíhajícím klimatickým změnám, je velmi vysoká. Nevhodné klimatické podmínky, ve kterých jsou rostliny pěstovány, jsou limitujícím faktorem pro tvorbu výnosu i kvality produkce. Také zvýšené hladiny kontaminantů (tj. kovů) v půdě je pro většinu rostlin toxické, kontaminanty narušují metabolismus a růst rostlin, protože jejich potenciál pro fytoextrakci kovů je velmi omezený. Využití endofytických mikroorganismů ke snížení toxicity kovů pro rostliny za účelem zlepšení účinnosti fytoremediace bylo předmětem výzkumu mnoha prací (Deng & Cao, 2017).

Schopnost endofytů zvyšovat toleranci rostlin k teplu byla pozorována mimo jiné u rostlin, jako jsou *Helianthus annuus* a *Glycine max* (Ismail et al., 2020), nebo *Cucumis sativus* (Ali et al., 2018). Ošetření termofilními endofytickými houbami *Thermomyces* spp. eliminovalo nepříznivé účinky tepelného stresu na rostliny okurek při současném zachování maximální kvantové účinnosti fotosystému PSII, rychlosti fotosyntézy i účinnosti využití vody. Po ošetření rostlin a jejich vystavení vysokým teplotám byla významně zvýšena akumulace celkových cukrů, flavonoidů, saponinů, rozpustných bílkovin v pletivech rostlin a byla zvýšena aktivita antioxidačního enzymu ve srovnání s neošetřenými rostlinami okurek v podmínkách tepelného stresu (Ali et al., 2018). Rostliny okurek ošetřené *Thermomyces* spp. také vykazovaly v podmínkách tepelného stresu zvýšení délky kořenů oproti neošetřeným rostlinám. Tato fenologická odpověď je v ekosystémech zatížených tepelným stresem zásadním projevem adaptace, umožňuje rostlině, díky delšímu a mohutnějšímu kořenovému systému, lépe pronikat do půdy a získávat z ní vlhkost a živiny i v podmínkách omezeného množství vody (Ali et al., 2018).

Běžnou reakcí rostlin na tepelný stres je zvýšená stomatální aktivita a vysoká míra transpirace. Rostliny v takových podmínkách po ošetření endofytickými houbami zpomalují a omezují otevírání stomat a vykazují nižší míru transpirace (Ali et al., 2018). Bylo prokázáno, že následkem inokulace houbami rodu *Thermomyces* spp. došlo ke zlepšení udržování optimálního množství vody v listech, zvyšovala se efektivita využití vody (Water Use Efficiency) a díky optimalizaci procesu uzavírání stomat došlo k omezení nadměrných ztrát vody (Ali et al., 2018). Byla také zvýšena tvorba a akumulace primárních a sekundárních metabolitů, cukrů a flavonoidů, které

v rostlinných pletivech slouží k fixaci reaktivních forem kyslíku (ROS) anebo slouží jako signální molekuly, díky nimž jsou rostliny tolerantní vůči různým formám stresu (Abdelrahman et al., 2015).

Problémem může být také nadměrné zamokření pěstebních ploch. Úloha endofytů při zajišťování tolerance k vodnímu stresu prostřednictvím regulace genů indukovatelných stresem byla popsána u *C. sativus* (Waqas et al., 2012), *Zea mays* (Guler et al., 2016; Hosseini Moghaddam et al., 2021), *Oryza sativa* (Pandey et al., 2016), *Solanum lycopersicum* (Valli & Muthukumar, 2018), *Triticum aestivum* (Ripa et al., 2019) a *Citrus reticulata* (Sadeghi et al., 2020). Zmírnění vodního stresu v důsledku působení endofytů může být důsledkem zvýšení produkce antioxidantních enzymů, bioaktivních látek, obsahu chlorofylu, karotenoidů a optimalizace míry fluorescence chlorofylu. Kromě změny všech těchto parametrů u rostlin *Citrus reticulata* byl po aplikaci endofytů *Penicillium citrinum*, *Aureobasidium pullulans* a *Dothideomycetes* spp. také podpořen růst rostlin (Sadeghi et al., 2020). Endofyticky zprostředkované mechanismy usnadňují adaptaci rostlin prostřednictvím tvorby fytohormonů, ROS, exopolysacharidů, deaminás a těkavých látek; díky těmto metabolitům jsou pozorovány pozitivní změny v morfologii kořenů; biosyntéza protistresových metabolitů a pozitivní regulace genů pomáhají rostlinám lépe reagovat na stres (Abdelrahman et al., 2015). Jedna z hypotéz tolerance k vodnímu stresu zprostředkovaná činností endofytů je využití oxidu uhličitého, který endofyty v rostlině uvolňují. Nedostatek oxidu uhličitého ve stresovaných rostlinách při uzavření stomat byl zmírněn díky aktivitě endofyta *Populus deltoides*. Bylo zjištěno, že část oxidu uhličitého, vyprodukovaného aktivitou endofyta, bylo spotřebováno rostlinou na fotosyntézu (Bloemen et al., 2013).

Úloha endofytů při zajišťování tolerance vůči stresům způsobeným těžkými kovy byla pozorována mimo jiné u rostlinných kultur, jako je *T. aestivum* (Ikram et al., 2018; Malik et al., 2020), *Lycopersicon esculentum* (Zhu et al., 2018) a *G. max* (Bilal et al., 2020). Endofytická houba *Penicillium roqueforti* indukovala toleranci u rostlin *T. aestivum* pěstovaných v půdě kontaminované těžkými kovy, protože omezila přenos těžkých kovů z půdy do rostlin, a to díky produkci kyseliny indolactové. Kromě toho tyto rostliny pšenice inokulované endofytickou houbou a zalévané kontaminovanou zbytkovou vodou vykazovaly vyšší růst, absorpci živin a nižší koncentrace těžkých kovů ve stéblech i kořenech. Naproti tomu rostliny pšenice neinokulované po vystavení stresu těžkými kovy vykazovaly zpomalený růst s příznaky chlorózy. Po inokulaci houbou *P. roqueforti* s hostitelskými rostlinami byl vytvořen symbiotický vztah, který umožnil hostitelským rostlinám prosperovat v půdě, která byla silně kontaminována těžkými kovy (Ikram et al., 2018), přímo prostřednictvím zvýšené mobilizace těžkých kovů, čímž byla zmírněna úroveň toxicity kovů v rostlinách (Babu & Reddy, 2011), i nepřímo zlepšením růstu a tolerance rostlin vůči stresu (Ikram et al., 2018). Endofytické houby tedy kromě buněčné



detoxikace enzymatickou aktivitou zvyšovaly také schopnost hostitelské rostliny akumulovat těžké kovy, působily tedy na zvýšení tolerance přímými i nepřímými mechanismy.

Endofyty mohou hostitelské rostlině prospět tím, že zvyšují její schopnost přijímat základní živiny z kontaminované půdy. Exogenní přísun fytohormonů s pomocí endofytů může přinést pozitivní fyziologické změny v hostitelské rostlině, aby odolala stresovým podmínkám. Kromě fytohormonů může biofertilizační schopnost endofytických hub zvýšit dostupnost živin pro hostitelskou rostlinu v půdě kontaminované těžkými kovy prostřednictvím solubilizace (Khan et al., 2010). Dále mohou tyto houby rozkládat znečišťující látky přítomné v kontaminované půdě a převádět je do netoxické formy (Fontana et al., 2021).

Problematika využití endofytických mikroorganismů při zajišťování tolerance vůči solnému stresu byla pozorována u rostlinných kultur, jako jsou *Z. mays* (Gul Jan et al., 2019), *Solanum lycopersicum* (Abdelaziz et al., 2019), *O. sativa* (Jogawat et al., 2013), *T. aestivum* (Zhang et al., 2016), *C. sativus* (Waqas et al., 2012) a *G. max* (Radhakrishnan et al., 2013, 2015). Například endofytická houba *Piriformospora indica* zvýšila růst a výnos *S. lycopersicum* v podmínkách solného stresu tím, že vyvolala řadu morfologických a biochemických dějů, které společně přispěly ke zmírnění dopadu solného stresu. Tento endofyt podpořil zvýšení obsahu chlorofylu a kyseliny indolactové, enzymů, jako je kataláza a superoxiddismutáza, zvýšil navětvění kořenů, hmotnost čerstvé a suché biomasy rostlin a produkci plodů pod vlivem solného stresu. Rostliny rajčat kolonizované endofyty navíc snížily hladinu kyseliny abscisové (ABA) a prolinu ve srovnání s nekolonizovanými rostlinami (Abdelaziz et al., 2019). Zdá se, že enzymy sekvestrující ROS významně přispěly ke zlepšení tolerance vůči solnému stresu (Hosseini et al., 2017).

Rostliny využívají několik mechanismů k přežití v extrémních podmínkách, jako je sucho, zasolení anebo chlad. Mezi rychle pozorované biochemické a morfologické změny patří hypersenzitivní reakce, buněčná nekróza a produkce fytoalexinu. Abiotické stresy, včetně oxidačního stresu, sucha, záplav, zasolení a tepelného stresu, jsou vzájemně propojeny, což vede k syntéze reaktivních forem kyslíku (ROS), které při delším působení způsobují poškození buněk (Waqas et al., 2012), mohou způsobit oxidační degradaci RNA a DNA (Mittler, 2002), peroxidaci lipidů a oxidační stres a následně buněčnou smrt (Waqas et al., 2012). Existuje hypotéza, že endofyty také zpočátku vylučují malé množství ROS, například peroxid vodíku, který spouští antioxidantní enzymy infikovaného hostitele (White & Torres, 2010). Trvalé uvolňování ROS v malém množství zabraňuje přecitlivělosti buněk na ROS, zlepšuje vstřebávání živin (vápníku, draslíku, hořčíku a fosforu) rostlinami a zvyšuje další endosymbiotické interakce hostitele (Overmyer et al., 2003). Pravděpodobné mechanismy, kterými může docházet k hypersenzitivním reakcím a získané systémové rezistenci hostitelů, zahrnují vzájemné ovlivňování mezi endofyty a hostitelskými rostlinami, jakož i tvorbu ROS a antioxidantů (Tanaka et al., 2006). Zatímco některé houbové endofyty produkují ROS, aby získávaly živiny z hostitelských buněk a udržovaly

své mutualistické interakce s rostlinami, jiné houbové endofyty snižují koncentrace ROS, aby zmírnily účinek abiotických stresů na své hostitele (Rodriguez & Redman, 2008).

### 2.3.2 Rostlinná obrana

V dlouhodobé evoluci jsou nescifická (obecná) rezistence a specifická rezistence příklady vrozené rezistence vyvinuté pro odolnost vůči patogenům (Király et al., 2007). Rostliny, které mají specifickou rezistenci, mohou odolávat infekci vyvolanou jedním nebo několika málo patogeny, zatímco v případě nescifická rezistence je imunitní systém aktivní proti mnoha patogenům.

Imunitní systém rostlin je založen na konstitutivní a indukované obraně, kterou lze zvýšit biotickými a/nebo abiotickými podněty, čímž se zvyšuje obranyschopnost proti patogenům a škůdcům. Tento jev lze považovat za možnou obranu rostlin proti chorobám (De Kesel et al., 2021). Rostliny však nemají mobilní obranné buňky a somatický adaptivní imunitní systém jako savci. Místo toho se spoléhají na geneticky danou imunitu každé buňky a na systémové signály přicházející z míst infekce (Ausubel, 2005; Dangl & Jones, 2001; Chisholm et al., 2006).

Indukovaná rezistence má několik výhod, může být účinná proti virům, bakteriím, houbám, hádátkám a abiotickým stresům. Kromě toho vykazuje stabilitu díky tomu, že různé mechanismy rezistence působí společně, což mimo jiné zdůrazňuje nescifičnost, systémovost a perzistenci (Fontana et al., 2021). Nejžádanějším výsledkem indukované rezistence je stav "primingu", kdy se rostliny vystavenému stresovému faktorům dostávají do "stavu pohotovosti" a mechanismy rezistence se s příchodem stresoru projevují intenzivněji. Tento stav nevede k energetickému výdeji vzhledem k latentnímu stavu mechanismů, které řídí odolnost (Fontana et al., 2021).

Rostliny mají geneticky danou schopnost identifikovat potenciální invazní mikroorganismy a aktivovat obranné reakce (Pandey et al., 2017). Naopak vnímání prospěšných mikroorganismů a navázání symbiotického vztahu s nimi si rostliny osvojují podobně, avšak pomocí odlišných receptorů na povrchu buněk (Zipfel & Oldroyd, 2017).

V současnosti jsou rozlišovány dva mechanismy rostlinného imunitního systému. Jeden využívá transmembránové receptory rozpoznávání vzorů (PRR), které reagují na pomalu se vyvíjející molekulární vzory spojené s mikroorganismy (MAMPS) nebo patogeny (PAMPs), příkladem elicitorů PRR jsou flagellin (flg22) (Zipfel & Felix, 2005) anebo houbový chitin (Bigeard et al., 2015). Proces rozpoznávání vzorů spouští první linii imunitní obrany, nazvanou „imunita spouštěná vzory“ (PTI) (Bigeard et al., 2015).

Molekulární vzory hrají zásadní roli v první linii imunitní obrany. První popsany receptor, který rozpoznává flagellin (flg22) z rhizobakteriemi podporujícími růst rostlin (PGPB) je FLAGELLIN-SENSING 2 (FLS2) (Trdá et al., 2014). Bakteriální flagellin je archetypický

elicitor PTI (Gómez-Gómez & Boller, 2002). Iniclace signalizace PTI je zajištěna tak, že FLS2 a jeho ko-receptory flagellin rozpoznají a iniciují tak signalizaci PTI (Zipfel & Oldroyd, 2017). Při chladvém šoku jsou aktivovány podobné obranné reakce, jako u flg22, aktivace ale nastává u patogenů bakteriálních proteinů MAMPs (Felix & Boller, 2003; Kunze et al., 2004; Zipfel et al., 2006). Aktivita flagellinu je u různých kmenů rhizobakterií rozdílná, flagellin *Xanthomonas campestris* je různě účinný při spouštění PTI zprostředkované FLS2 v *Arabidopsis*, flagellin z *Agrobacterium tumefaciens* nebo *Sinorhizobium meliloti* je méně aktivní než flagelin z *P. syringae* (Felix et al., 1999).

Patogeny však mohou první linii imunitní obrany překonat potlačením signalizace PTI nebo vyhnutím se rozpoznání PRR vylučováním efektorů virulence (Guo et al., 2009). Druhá linie obrany rostlin probíhá převážně uvnitř buňky (Glazebrook, 2005) a je nazývána efektoem spouštěná imunita (ETI). Vyvinula se tak, že rozpoznává efektoem patogenů (Jones & Dangl, 2006) prostřednictvím polymorfních proteinových produktů NB-LRR, kódované většinou genů (Glazebrook, 2005), což vede k hypersenzitivní reakci (HR), která omezuje šíření patogenu (Jones & Dangl, 2006). Polymorfní proteinové produkty jsou pojmenovány podle svých charakteristických domén bohatých na nukleotidy (NB) a leucinových repetitiv (LRR). Patogenní efektoem z různých říší jsou rozpoznávány pomocí proteinů NB-LRR a aktivují podobné obranné reakce. Odolnost vůči chorobám zprostředkovaná NB-LRR je účinná proti patogenům, které mohou růst pouze na živém rostlinném pletivu (biotrofní organismy), není účinná proti patogenům, které pletiva hostitele usmrcují (nekrotrofní organismy) (Glazebrook, 2005). Signalizace závislá na NB-LRR a signalizace zprostředkovaná MAMPs/PAMPs vyžadují částečně odlišné komponenty. Molekuly, které jsou schopny indukovat PTI, a mikroorganismy, které je mohou exprimovat, ale ne plně eliminovat.

Samotná imunitní reakce probíhá ve 4 fázích. Ve fázi 1 jsou PAMPs (nebo MAMPs) rozpoznávány PRR, což vede k imunitě spouštěné PAMPs (PTI), která může zastavit další kolonizaci. Ve fázi 2 úspěšné patogeny nasazují efektoem, které přispívají k virulenci patogenu. Efektoem mohou zasahovat do PTI. Výsledkem je citlivost vyvolaná efektoem (ETS). Ve fázi 3 je daný efektoem "specificky rozpoznán" jedním z proteinů NB-LRR, což vede k imunitě vyvolané efektoem (ETI). ETI je zrychlená a zesílená odpověď PTI, která vede k odolnosti vůči chorobě a obvykle k hypersenzitivní reakci buněčné smrti (HR) v místě infekce. Ve fázi 4 vede přirozený výběr patogeny k tomu, aby se vyhnuly ETI buď vyřazením nebo diverzifikací rozpoznávaného efektoemového genu, případně získáním dalších efektorů, které potlačují ETI. Výsledkem přirozeného výběru jsou nové geny rezistence (*R*) specifity, takže ETI může být opět spuštěna. Za bazální obranu rostlin lze tedy považovat i proces, kdy je aktivita "PTI je v součinnosti se slabou reakcí ETI, bez ETS" (Jones & Dangl, 2006)

Během PTI a ETI mohou být patogeni potlačováni, ale do jaké míry se podílejí mechanismy ETI a PTI je stále nezodpovězenou otázkou.

Většina rostlin odolává infekci proti většině patogenů; a je označována za rostliny "nehostitelské". Tato nehostitelská odolnost může být zprostředkována nejméně dvěma mechanismy. Za prvé, efekty patogenu by mohly být neúčinné na potenciálním novém, ale evolučně odlišném hostiteli, což by vedlo k malému nebo žádnému potlačení PTI a neúspěšnému růstu patogenu. Alternativně by mohl být jeden nebo více efektorů budoucího patogena rozpoznán repertoárem NB-LRR jiných rostlin, než je jeho spoluadaptovaný hostitel, což by vedlo k ETI (Jones & Dangl, 2006).

Aktivita efektorů je různá, v závislosti na typu původce. Bakteriální efekty přispívají k virulenci patogenů často tak, že napodobují nebo inhibují eukaryotické buněčné funkce (Abramovitch et al., 2006; Mudgett, 2005; Grant et al., 2006). Efekty hub a oomycet mohou působit buď v extracelulární matrixu, nebo uvnitř hostitelské buňky. Jiné houbové a oomycetové efekty pravděpodobně působí uvnitř hostitelské buňky; jsou rozpoznávány proteiny NB-LRR (Jones & Dangl, 2006). Některé kmeny hub *P. syringae* vytvářejí koronatin, napodobeninu kyseliny jasmonové, která potlačuje obranu proti biotrofním patogenům zprostředkovanou kyselinou salicylovou (Zhao et al., 2003), což vyvolává otevření stomat a napomáhá patogenním bakteriím získat přístup do apoplastu (Brooks et al., 2005).

Neméně důležitý je proces vnímání prospěšných organismů rostlinami. U vnímání prospěšných mikroorganismů rostliny rozpoznávají běžné mikrobiální sloučeniny, které organismy produkují, jako jsou bičik, lipopolysacharidy (LPS), exopolysacharidy, a chitinové oligosacharidy, jako jsou ligandy (Yu et al., 2022). Vazbou s ligandy se rostlinné receptor proteiny rekrutují na ko-receptory a vytvářejí komplexy, které fosforylují následné substráty, což vede k signální kaskádě zahrnující oxidační vzplanutí, influx  $Ca^{2+}$ , aktivaci MAPK, a aktivaci hormonální signalizace (Bazin et al., 2020). N-koncová část flagellinu, včetně epitopu flg22 o 22 aminokyselinách, je vysoce zachována u celé řady eubakterií (Felix et al., 1999). Hostitelské rostliny jsou schopny rozeznat bičik z prospěšných mikroorganismů, jako jsou například *Bacillus subtilis* a *Burkholderia phytofirmans* (Deng et al., 2019; Felix et al., 1999).

### **2.3.2.1 Indukovaná rezistence**

Dvě nejčastěji definované formy indukované rezistence jsou SAR (systémová získaná rezistence) a ISR (indukovaná systémová rezistence), které lze rozlišit na základě povahy elicitoru a zapojených regulačních cest (Yan et al., 2002). SAR, která je vyvolána infekcemi, je zprostředkována kyselinou salicylovou a souvisí s tvorbou PR proteinů (Tripathi et al., 2008). Tyto PR proteiny pomáhají při přímé lýze napadených buněk a posilování hranic buněčné stěny, a zajišťují vybudování odolnosti proti infekci a buněčné smrti (Gao et al., 2010). Indukovaná systémová rezistence je stav zvýšené obranyschopnosti, která se u rostliny vytvoří po vhodné

stimulaci (van Loon et al., 1998). ISR, která je indukována některými nepatogenními rhizobakteriemi, je mírněna etylenem nebo kyselinou jasmonovou, nelze ji spojovat s tvorbou PR proteinů souvisejících s patogenezí (Jones & Dangl, 2006). Dráhy vyvolané salicylátem a jasmonátem se vyznačují produkcí kaskády PR proteinů, které zahrnují antifungální (chitinázy, glukonázy a thaumatiny) a oxidační enzymy (peroxidázy, polyfenoloxidázy a lipoxygenázy). Mohou se také hromadit nízkomolekulární sloučeniny s antimikrobiálními vlastnostmi (fytoalexiny) (Choudhary et al., 2007).

### 2.3.2.2 SAR – systémová získaná rezistence

SAR byla poprvé objevena v roce 1961 a identifikována jako obrana rostlin závislá na kyselině salicylové (SA), vyznačující se akumulací SA a aktivací exprese genů souvisejících s patogenem (PR) (van Loon, 1985). V roce 1996 Pieterse et al. poprvé uvedli, že systémová rezistence vyvolaná rhizobakteriemi podporujícími růst rostlin (PGPR) je u *Arabidopsis thaliana* nezávislá na SA a PR proteinech, ale závisí na dráze kyseliny jasmonové (JA) a etylenu (ET) (Knoester et al., 1999; Pieterse & van Loon, 1999). Dosud se ukázalo, že různé prospěšné mikroorganismy mají potenciál vyvolat systémovou rezistenci. Užitečné bakterie, jako jsou *Bacillus* spp. a *Pseudomonas* spp., mohou stimulovat obranné reakce a pomáhat rostlinám získat širokospektrální odolnost vůči chorobám (Ongena et al., 2005; Yu et al., 2022). Užitečné houby, jako jsou *Trichoderma* spp. a arbuskulární mykorhizní houby (AMF), jsou považovány za široce rozšířené potenciální činitele ochrany rostlin (Cordier et al., 1998; Yu et al., 2022).

SAR, která je vyvolána infekcemi od patogenů, které způsobují nekrózu pletiv, a to buď jako součást hypersenzitivní reakce (HR) (Ross, 1961), nebo jako příznak onemocnění (Kuc, 1977), je zprostředkována kyselinou salicylovou a souvisí s tvorbou PR proteinů (Tripathi et al., 2008). Tyto PR proteiny mají mnoho enzymů, například 1, 3-glukanázy a chitinázy, které pomáhají při přímé lýze napadených buněk a posilování buněčných stěn, aby se vybudovala odolnost proti infekci a buněčné smrti (Gao et al., 2010).

Jednou z charakteristik SAR je rozvoj zvýšené odolnosti v distálních, neinokulovaných orgánech rostliny (Durrant & Dong, 2004; Kuc, 1977; Ross, 1961; Ryals et al., 1996; Sticher et al., 1997). Dalším charakteristickým znakem SAR je její aktivita proti širokému a charakteristickému spektru patogenů, které zahrnuje viry, bakterie, oomycety a houby (Kuc, 1977; Ryals et al., 1996). SAR navíc poskytuje dlouhodobou ochranu, která může trvat týdny až měsíce a někdy i celou sezónu (Kuc, 1977). Získaná rezistence je názorným příkladem pro existenci určité formy "rostlinné paměti".

Studie také odhalily, že systémový signál indukuje SAR ve vzdáleném pletivu druhově nesespecifickým způsobem (Dean & Kuc, 1986; Jenns, 1979). Některé experimenty naznačily, že jako přenášený signál slouží SA (Malamy et al., 1990; Métraux et al., 1990; Molders et al., 1996;

Shulaev et al., 1995), ale jiné zdroje tuto roli SA vyvrátily (Rasmussen et al., 1991; Smith-Becker et al., 1998; Vernooij et al., 1994).

Zjištění dalších prací naznačují, že k indukci SAR by mohla přispívat lipidová signalizace. Nedávná práce s mutantem *Arabidopsis* s defektem v indukované rezistenci (*dir1*) naznačila, že *dir1* by mohl hrát roli při vytváření a/nebo přenosu mobilního signálu pro SAR, pravděpodobně interakcí s molekulou odvozenou od lipidů (Maldonado et al., 2002). Také u mutantů *Arabidopsis* se zvýšenou náchylností k chorobám (*eds1*) a s nedostatkem fytoalexinu (*pad4*), které jsou defektní v lipázách (Falk et al., 1999; Jirage et al., 1999), nebylo možné SAR aktivovat (Durrant & Dong, 2004).

Předpokládá se také, že v indukci SAR hraje signalizační roli peroxid vodíku (Alvarez et al., 1998). Po oxidačním vzplanutí  $H_2O_2$  následoval výskyt nižších hladin  $H_2O_2$  v malých skupinách buněk u neinokulovaných listů. Po systémových "mikrovzplanutí" následovala ve vzdáleném pletivu tvorba tzv. mikro-HR lézí. Jak počáteční, tak sekundární  $H_2O_2$  vzplanutí byly pro aktivaci SAR nezbytné (Alvarez et al., 1998). Nedávno bylo také prokázáno, že plynný methyl salicylát, hlavní těkavá látka produkovaná v listech tabáku inokulovaných virem tabákové mozaiky, působil jako signál, který aktivoval odolnost vůči chorobě jak v infikovaných, tak v neinfikovaných pletivech napadené rostliny a také v sousedních rostlinách (Seskar et al., 1998; Shulaev et al., 1997). Podobné pokusy s transgenní linií tabáku necitlivou na etylen ukázaly, že právě etylen byl signálem pro indukci SAR (Verberne et al., 2003). Po infekci patogenem docházelo k aktivaci buněčných obranných reakcí v napadených buňkách rostlin.

V indukované rezistenci hrají důležitou roli také obranné geny. Ošetření petržele benzothiodiazolem (BTH) a dichloro-isonikotinovou kyselinou vedlo k tvorbě kyseliny salicylové, což se projevilo silnou aktivací různých buněčných obranných reakcí již při nízkých dávkách elicitorů (Katz et al., 1998; Kauss et al., 1992, 1993; Kauss & Jeblick, 1995; Thulke & Conrath, 1998). V podrobnějších studiích s buněčnou kulturou petržele bylo zjištěno, že účinek induktorů SAR na aktivaci obranných genů silně závisí na sledovaném genu (Katz et al., 1998; Thulke & Conrath, 1998). Bylo prokázáno, že jedna třída obranných genů přímo reaguje na relativně nízké koncentrace SA nebo BTH (Katz et al., 1998; Thulke & Conrath, 1998). Druhá třída genů souvisejících s obrannou reakcí u petržele reagovala na ošetření některým ze dvou testovaných aktivátorů SAR jen mírně. Přesto již při nízkých koncentracích SA nebo BTH tyto geny vykazovaly na aktivátoru závislé zesílení své exprese, ale pouze po ošetření nízkou dávkou elicitoru (Katz et al., 1998; Thulke & Conrath, 1998). K aktivaci obranného genu fenylalanin amonium-lyasy (*PAL*) pomocí SA byly zapotřebí koncentrace SA 500  $\mu$ M a vyšší, zatímco již 10  $\mu$ M SA výrazně zesílilo následnou expresi *PAL* vyvolanou elicitem (Katz et al., 1998). Silná korelace mezi SAR a přítomností primingu potvrdila předpoklad, že priming je klíčovým mechanismem v reakci rostlin na SAR. Vzhledem k tomu, že různé obranné geny se v

primovaných buňkách a rostlinách aktivují rychleji a/nebo silněji než v neprimovaných, věnuje se v poslední době při objasňování primingu a SAR zvýšená pozornost chromatinové struktuře genů souvisejících s obranou. Promotory obranných genů se totiž mohou nacházet ve více stavech než jen "zapnuto" nebo "vypnuto" a různé podněty, které společně způsobují aktivaci promotorů, na sebe často navazují se značným časovým odstupem (Cosma, 2002).

V posledním desetiletí byla identifikována řada mutantů s narušenou aktivací SAR. *Arabidopsis* mutant (*npr1*) je pravděpodobně nejvýznamnějším z těchto mutantů. *Npr1* akumuluje hladiny SA divokého typu v reakci na infekci avirulentními patogeny, ale není schopen aktivovat geny *PR* (Cao et al., 1994; Delaney et al., 1995; Shah et al., 1997), ani nastolit stav primingu (Kohler et al., 2002) nebo vyvinout biologicky či chemicky indukovanou SAR (Cao et al., 1994; Delaney et al., 1995; Shah et al., 1997). *NPR1* je tedy pravděpodobně klíčovým regulátorem SAR a primingu. Tento předpoklad byl dále podpořen dvěma studiemi, které prokázaly, že konstitutivní nadměrná exprese *NPR1* v transgenních rostlinách nevedla ke zvýšení hladiny SA ani ke konstitutivní expresi genů *PR*. Naopak, tyto rostliny vykazovaly silnější expresi genů *PR* po infekci patogeny a projevovala se u nich také výrazně zvýšená odolnost vůči chorobám (Cao et al., 1998; Friedrich et al., 2001). Mnohé práce ukázaly, že konstitutivní indukce odolnosti vůči chorobám u rostlin souvisela s aplikací aktivátorů SAR. Ve většině těchto studií byly obranné reakce aktivovány ošetřením rostlin vysokými dávkami aktivátorů SAR, transformací pomocí enzymů biosyntézy SA nebo indukci mutací pro získání rezistence u *Arabidopsis*. V případě, že byly pro testování využity rostliny pšenice a ošetřeny BTH, při pěstování v podmínkách bez patogenů a za omezeného přísunu dusíku, vykazovaly tyto rostliny snížený růst a zhoršenou tvorbu semen (Heil et al., 2000). Kromě toho transgenní rostliny *Arabidopsis* konstitutivně akumulující vysoké hladiny SA v důsledku exprese SA syntázy vykazují zakrslý fenotyp a produkují málo semen (Mauch et al., 2001). U mutantů *Arabidopsis* (*cpr1*), (*cpr5*) a (*cpr6*), které obsahují konstitutivně vysoké hladiny SA a permanentní expresi genů *PR* (Bowling et al., 1994, 1997), bylo pozorováno zakrnění, které bylo navíc spojeno se sníženou kondicí rostlin (Durrant & Dong, 2004).

### 2.3.2.3 ISR - indukovaná systémová rezistence

U rostlin se může indukovaná rezistence vyvinout v důsledku infekce patogenem, v reakci na herbivorní hmyz, při kolonizaci kořenů specifickými užitečnými mikroorganismy nebo po ošetření specifickými chemickými látkami. Termín indukovaná rezistence je obecný termín pro stav indukované rezistence u rostlin vyvolaný biologickými nebo chemickými induktory, které chrání neexponované části rostlin před budoucím napadením patogenními mikroby a býložravým hmyzem (Kuc, 1982). Indukovaný stav rezistence je charakterizován aktivací latentních obranných mechanismů, které se projeví při následné výzvě ze strany patogenu nebo hmyzího

herbivora. Indukovaná rezistence se projevuje nejen lokálně v místě indukce, ale také systémově v částech rostliny, které jsou prostorově odděleny od induktoru, z tohoto důvodu je používán termín indukovaná rezistence. ISR obecně poskytuje zvýšenou úroveň ochrany proti širokému spektru patogenů (Walters et al., 2013). Indukovaná rezistence je regulována sítí vzájemně propojených signálních drah, v nichž hrají hlavní regulační roli rostlinné hormony (Pieterse et al., 2012). Signální dráhy, které regulují indukovanou rezistenci vyvolanou užitečnými mikroorganismy, patogeny a hmyzem, mají společné signální komponenty.

ISR je podporována rhizobakteriemi podporujícími růst rostlin (PGPR), které nezpůsobují viditelné poškození kořenového systému rostlin (van Loon & Glick, 2004). Na rozdíl od SAR nezahrnuje ISR akumulaci proteinů souvisejících s patogenezí nebo kyseliny salicylové, ale spoléhá se na dráhy regulované jasmonátem a etylenem (Pieterse et al., 2001; Yan et al., 2002). ISR produkovaná endofyty může být také propojena s posílením genů, které jsou exprimovány v patogenezi. V kořenech rajčat se nacházejí významné endofyty *Fusarium solani*, které vyvolávají ISR proti *Septoria lycopersici*, Septoriové skvrnitosti rajčete, a aktivují v kořenech geny *PR*, *PR7* a *PR5* (Kavroulakis et al., 2007).

### 2.3.3 Biologická ochrana rostlin

Patogenní organismy rostlin ohrožují světovou potravinovou bezpečnost (Tian et al., 2020). Aktuální metody v oblasti ochrany rostlin nejsou dostatečným nástrojem ke regulaci a potlačení chorob a minimalizaci škod způsobovaných těmito patogeny.

Původce plísně bramborové (*Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary 1863), (Fontana et al., 2021) dodnes představuje závažný problém (Kamoun et al., 2015). Dalším příkladem mohou být parazitická hád'átka. Kořenové hád'átka (*Meloidogyne incognita*) je jedním z nejrozšířenějších škůdců. Navzdory rozdílům mezi patogeny a parazity, oba mají stále některé společné rysy z perspektivy obrany rostlin vůči nim. Široké spektrum hostitelů a nárůst virulentních populací společně způsobují problémy ve využívání rezistentních odrůd. Pesticidní průmysl se sice stále snaží vyrábět inovativní molekuly pesticidů, jejich používání však nemusí být vždy efektivní a dlouhodobě udržitelné (Mhlongo et al., 2018). Tyto faktory vedly k hledání účinných a ekologicky šetrných možností ochrany rostlin před škodlivými organismy s využitím biopesticidů (Fontana et al., 2021).

Biologická ochrana je definována jako snížení množství inokula patogenu nebo determinantu choroby organismem (Fontana et al., 2021). Je také označována jako pokus o obnovení přirozeného obranného mechanismu rostlin v zemědělských systémech s využitím zavedených a přirozených vztahů mezi rostlinami a mikroorganismy (Mathre et al., 1999). Většina původců biologické ochrany prokázala schopnost určitým způsobem interagovat a kolonizovat rostlinu, na úrovni komplexní biochemické komunikace mezi mikroorganismy a rostlinou (Rosier et al.,



2016; Venturi & Keel, 2016). Některé rostliny mají schopnost hostit mikrobiální komunitu v rhizosféře, někdy schopnost rekrutovat některé mikroorganismy v nepříznivých podmínkách (Tena, 2018). Biologická ochrana je široká a zároveň i obecná kategorie, která zahrnuje příbuzné a fylogeneticky vzdálené i potlačující patogeny. Mezi činitele biologické ochrany je zařazeno několik bezobratlých, hub, bakterií a virů. Ne všechny z nich jsou však vhodné jako biopesticidy, protože musí splňovat několik požadavků, z nichž nejdůležitější jsou (Fontana et al., 2021):

- Nejsou škodlivé pro rostliny, lidi a zvířata
- Jsou účinné proti škodlivému činiteli
- Přežívají v různých podmínkách a v nepřítomnosti škodlivého činitele
- Jsou ekonomicky životaschopné, mohou být vyráběny ve velkém měřítku
- Mají dlouhou dobu skladovatelnosti
- Jsou kompatibilní s produkty využívanými v zemědělství (pesticidy, hnojiva...)

S ohledem na tyto požadavky jsou nejvýznamnějšími a nejvíce slibnými biologickými činiteli houby a bakterie, protože jsou bohatým zdrojem různých přírodních metabolitů, které mají potenciál regulovat choroby rostlin na různých úrovních (Ayaz et al., 2023).

Jejich schopnost potlačovat patogeny je dána prostřednictvím paratismu (někdy označováno jako hyperparatismus) (Parratt & Laine, 2016), a sekrece sekundárních metabolitů (Raaijmakers et al., 1995).

Tentýž endofytický činitel často využívá více jak jeden mechanismus proti jednomu patogenu, nebo více patogenům. Například, *Trichoderma harzianum* parazituje houbu *Sclerotinia sclerotium*, kde *T. harzianum* degraduje její hyfy (Inbar et al., 1996). *T. harzianum* je ale také schopná *S. sclerotium* inhibovat tvorbou antibiotických látek a pomocí kompetice (Abdullah et al., 2008). Další příkladem je houba *Purpureocillium liliacinum*, která dokáže pomocí antibiomy antagonizovat *S. sclerotium* (Elsherbiny et al., 2019), ale současně dokáže infikovat a parazitovat vajíčka a samičky kořenových háďátek (Silva et al., 2017).

I když jsou biopesticidy v současnosti celosvětově komercializované, vývoj a následné kroky nejsou snadno proveditelné. Mezi hlavní problémy jsou často uváděny nesrovnalosti ve výsledcích získaných v kontrolovaných a polních podmínkách (Spadaro & Gullino, 2005), které mohou vést k zavádějícím závěrům (Laur et al., 2018).

Nebezpečí spojená s používáním syntetických pesticidů si vyžádala potřebu alternativního používání organických pesticidů (biopesticidů), které jsou levnější, šetrné k životnímu prostředí a udržitelné. Biopesticidy mohou pocházet z mikrobů (např. metabolitů), rostlin (např. z jejich exsudátů, esenciálního oleje a extraktů z kůry, kořene a listů) a nanočástic biologického původu. Na rozdíl od syntetických pesticidů mají mikrobiální pesticidy specifické působení, lze je snadno získat bez potřeby drahých chemikálií a jsou ekologicky udržitelné bez reziduálních účinků. Fytopesticidy mají nesčetné množství fytochemických sloučenin, díky nimž vykazují různé

mechanismy účinku, rovněž nejsou spojeny s uvolňováním skleníkových plynů a představují menší riziko pro lidské zdraví ve srovnání s dostupnými syntetickými pesticidy. Nanobiopesticidy mají vyšší pesticidní aktivitu, cílené nebo řízené uvolňování se špičkovou biologickou kompatibilitou a biologickou rozložitelností.

### **2.3.3.1 Konkurence s patogeny**

Konkurence je silným mechanismem, který endofyty využívají k zabránění kolonizace hostitelské pletiva rostlin patogeny (Martinuz et al., 2012). Endofyté mají schopnost systémově nebo lokálně kolonizovat mnoho rostlinných pletiv (Latz et al., 2018). Působí například kolonizací, vyčkávaním na dostupné živiny a obsazováním pozic, které jsou k dispozici pro činnost patogenů (Rodriguez et al., 2009). Suryanarayanan et al., 2009 zjistili, že zničení endofytů v listech manga aplikací fungicidů při jeho ošetření, umožňuje osídlení niky jinými houbami, zejména patogenními.

Mechanismus využívaný ke konkurenci většiny endofytů obvykle probíhá v kombinaci s jinými mechanismy, místo aby působil samostatně. Způsob ochrany rostlin vůči patogenům, který endofyty používají, je často lokální. Například kolonizace kořene řepky olejky endofytem *Heteroconium chaetospora* nemohla úspěšně zabránit symptomům poškození kyjatkou (Lahlali et al., 2014). Tento fakt naznačuje určitá omezení, která může využití konkurenční schopnosti endofytů, jako metody biologické ochrany rostlin, nabídnout.

Konkurence endofytických mikroorganismů byla například prokázána v práci, kde symptomy *Phytophthora* spp. byly úspěšně redukovány při ošetření směsí endofytů listů kakaovníku *Theobroma cacao* (Arnold et al., 2003). Tento výsledek potvrzuje konkurenční působení endofytů jako jeden z mechanismů potlačení choroby v rostlině. U některých kmenů však byla pozorována i produkce aktivních metabolitů. (Arnold et al., 2003).

### **2.3.3.2 Antibakteriální a antifungální aktivita endofytů**

U většiny endofytů se uvádí, že produkují některé sekundární metabolity a některé z nich vykazují antibakteriální a antifungální vlastnosti, které pomáhají inhibovat růst fytopatogenních mikroorganismů (Gunatilaka, 2006). Mnoho typů výzkumu stále probíhá ve snaze identifikovat metabolity endofytů pro možné komerční využití. Různé bioaktivní sloučeniny byly studovány pro jejich schopnost inhibovat mnoho fytopatogenů (Suryanarayanan, 2013; Daguerre et al., 2016). U endofytů bylo také objeveno mnoho metabolitů s antimikrobiálními vlastnostmi, některé nedávno recenzované publikace uvádějí, že se jedná o flavonoidy, peptidy, chinony, alkaloidy, fenoly, steroidy, terpenoidy a polyketidy (Lugtenberg et al., 2016; Mousa & Raizada, 2013). Pokud je v jedné rostlině přítomno mnoho mikrobiálních druhů, jejich asociace urychluje vylučování metabolitů endofyty nebo hostitelem, aby byla zajištěna inhibice škodlivých mikroorganismů (Kusari et al., 2012).

Silva et al (2006) se věnovali studiu endofytických vlastností houby *Phomopsis cassiae* izolované z rostliny *Cassia spectabilis*. Surový extrakt z *P. cassiae* vykazoval mírnou antifungální aktivitu proti *Cladosporium sphaerospermum* a *Cladosporium cladosporioides*. Biotestem řízená frakcionace tohoto extraktu poskytla pět nových seskviterpenů (1–5), podobných 3,11,12-trihydroxykadalenu, u všech s antifungální aktivitou (Silva et al., 2006).

V dalších pracích bylo popsáno, že také alkaloidy mají silný potenciál v inhibici proliferace mikroorganismů, například altersetin, alkaloid, který byl izolován z endofytu *Alternaria* spp., vykazoval silný antibakteriální účinek proti mnoha grampozitivním bakteriím, které jsou patogenní (Hellwig et al., 2002). Dalším metabolitem, který vykazoval antibiostatický účinek, byl těkavý olej. Endofytická houba z tropických stromů známá jako *Muscodor albus* produkovala mnoho těkavých organických sloučenin, včetně acifylenu, 2-butanonu a 2-methylfuranu, o kterých se uvádí, že mají antibiotické vlastnosti (Atmosukarto et al., 2005). Také houbové endofyty izolované *in vitro* z *Artemisia annua* mohou potlačit růst většiny fytopatogenních organismů produkcí antifungálních sloučenin, jako je n-butanol a ethylacetát (Liu et al., 2001).

### **2.3.3.3 Hyperparaziti a predace**

Hyperparazitismus je dalším mechanismem, který endofyty využívají k ochraně svého hostitele. Při tomto mechanismu endofyty přímo napadají patogeny nebo jejich propagule (Tripathi et al., 2008). Endofytické houby zachycují patogeny tím, že pronikají jejich hyfami a produkují lyázu, která ničí buněčnou stěnu patogenu. Například *Trichoderma* spp. byla schopna zachytit a proniknout hyfami *Rhizoctonia solani*, známého rostlinného patogenu (Grosch et al., 2006). Dalším mechanismem je mikrobiální predace; ta zahrnuje obecný způsob redukce patogenů rostlin. Většina endofytů vykazuje své predátorské vlastnosti v podmínkách s nedostatkem živin. Jako příklad lze uvést různé enzymy napadající přímo buněčnou stěnu houbových patogenů, které produkuje *Trichoderma* spp. (Gao et al., 2010).

## **2.3.4 Další možnosti využití endofytů**

### **2.3.4.1 Podpora růstu rostlin**

Endofyty někdy podporují obranný mechanismus hostitelské rostliny proti rostlinným patogenním mikroorganismům tím, že ovlivňují fyziologii rostliny (Gimenez et al., 2007). S růstem rostliny se zvyšuje její vitalita a odolnost vůči různým abiotickým i biotickým stresům, což je považováno za jednu ze strategií, které rostlina využívá k obraně proti patogenům (Kuldau & Bacon, 2008). Několik studií ukázalo, že u rostlin inokulovaných endofyty bylo zaznamenáno zvýšení růstu, odolnosti vůči suchu (Gao et al., 2010) a tolerance k typu půdy (Malinowski et al., 2004). Růst rostlin může být podpořen několika sloučeninami. Endofyt *Colletotrichum* spp. izolovaný z *Artemisia annua* produkuje látku zvanou kyselina indolactová (IAA), která pomáhá

regulovat fyziologii rostlin (Lu et al., 2000). Extrakty z *Fusarium* spp. E5 produkují auxin a tím podporují růst rostlin (Dai et al., 2008). Lze říci, že dalším mechanismem, který si endofyty osvojily, je uvolňování fytohormonů (Dai et al., 2008).

#### 2.3.4.2 Sekundární metabolity

Sekundární metabolity rostlin jsou sloučeniny, které mají omezenou funkci v životním cyklu rostliny, ale mají velký význam pro její adaptaci na různá prostředí (Bourgand et al., 2001).

Pozoruhodným sekundárním metabolitem je antimikrobiální molekula s nízkou molekulovou hmotností zvaná fytoalexin (Gao et al., 2010). Výsledky studií ukázaly, že fytoalexiny mohou být nyní produkovány prostřednictvím některých abiotických stresových faktorů, jako jsou ionty těžkých kovů, solný stres a UV záření (Gao et al., 2010). Některé studie se soustředily na produkci fytoalexinů při reakci rostliny vyvolané přítomností patogenů (Pedras et al., 2008). Produkce sekundárního metabolismu rostlin realizovaná endofyty je stále důležitou oblastí výzkumu. Zjištění ukázala, že elicitory *Fusarium* spp. E5 mohou pohánět produkci triterpenů a diterpenů v buněčných suspenzích *Euphorbia pекinensis*. Li & Tao, (2009) ve své práci uvedli podobný výsledek u suspenzí kultur *Taxus cuspidate*, u nichž supernatanty kultur endofytů vedly ke zvýšené produkci paklitaxelu ve srovnání s kontrolou. Předpokládá se, že společná kultivace s endofyty pak vede ke zvýšení produkce sekundárních metabolitů rostlin a zvýšení odolnosti rostlin.

Některé elicitory, jako jsou glykoproteiny, polysacharidy a lipopolysacharidy, spouštějí obranné mechanismy rostlin a zvyšují sekreci sekundárních metabolitů. Existuje však jen málo informací, pokud jde o způsob, jakým endofyty přežívají v hostitelské rostlině při produkci velkého množství sekundárních metabolitů (Gao et al., 2010).

#### 2.3.4.3 Sekrece lytických enzymů

Mnoho mikroorganismů produkuje a uvolňuje lytické enzymy, které mohou hydrolyzovat širokou škálu polymerových sloučenin, včetně chitinu, proteinů, celulózy, hemicelulózy a DNA (Tripathi et al., 2008). V okamžiku, kdy endofyté kolonizují povrch rostliny, produkují enzymy potřebné k hydrolýze buněčných stěn rostlin. V důsledku toho tyto enzymy nepřímo redukuje fytopatogeny, protože mají také schopnost degradovat buněčné stěny hub a oomycet.

Existuje mnoho typů enzymů, z nichž některé jsou chitinázy, celulózy, hemicelulózy a 1,3-glukanázy. Mutageneze genů 1,3-glukanáza v kmeni *Lysobacter enzymogenes* vykazovala omezenou biologickou aktivitu proti původci skvrnitosti košťavy vysoké z rodu *Bipolaris* a padání klíčnic rostlin cukrové řepy způsobené původcem rodu *Pythium* (Gao et al., 2010). Bakterie rodu *Streptomyces*, které produkují lytické enzymy *in vitro*, mají dodatečnou roli v antagonismu k původci choroby způsobující čarověníky u kakaovníku (Macagnan et al., 2008).

Ačkoli enzymy nemusí být nejdůležitějším prvkem v antagonismu vůči patogenům, mohou přispívat k antagonistické aktivitě prostřednictvím kombinace mechanismů.

Enzymy pektináza a celulóza jsou využívány patogeny během infekce rostlin. Ve své práci Babalola, (2007) ověřoval hypotézu, zda by mohlo přidání exogenních enzymů degradujících buněčnou stěnu zvýšit míru napadení rostlin. Přidáním pektinázy nebo celulózy do myceliární suspenze kmene *Colletotrichum coccodes* určeného k ochraně *Abutilon theophrasti* nedošlo ke zvýšení rozsahu hostitelů hub divokého typu. U rostlin ošetřených propagulemi *C. coccodes* s přidáním pektinázy anebo celulózy byl rozvoj choroby u *A. theophrasti* mnohem rychlejší a silnější. Výsledky potvrdily pozitivní vliv nadprodukce enzymů u endofytů používaných k ochraně rostlin.

#### **2.3.4.4 Využití enzymu 1-aminocyklopropan-1-karboxylát deamináza (ACCD)**

Etylen je z obecného pohledu nezbytným metabolitem pro normální růst a vývoj rostlin (Khalid et al., 2006). Tento důležitý hormon je vylučován téměř všemi rostlinami a je ovlivňován různými abiotickými a biotickými aktivitami v půdě, které zlepšují fyziologické změny u většiny rostlin. Výskyt extrémních podmínek, jako je patogenita, sucho, zasolení a těžké kovy, zvyšují hladinu etylenu, který má vedlejší účinky na růst rostliny a může mít za následek změnu buněčných procesů a defoliaci, která ovlivňuje výnos plodiny (Bhattacharyya & Jha, 2012).

Enzym 1-aminocyklopropan-1-karboxylát deamináza (ACCD) snižuje hladinu etylenu štěpením ACC, prekurzoru syntézy etylenu, na amoniak a  $\alpha$ -ketobutyryát (Hall et al., 1996). Velké množství endofytických druhů bakterií, je schopno produkovat enzym ACCD, a to v rodech jako *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Ralstonia*, *Rhizobium*, *Alcaligenes*, *Burkholderia* atd. (Kang et al., 2012). Většina bakteriálních endofytů zachycuje etylenový prekurzor ACC v rostlinách a mění jej na amoniak a 2-oxobutanoát (Arshad et al., 2007).

Je uváděno, že některé stresy, jako je radiace, kontaminace těžkými kovy, vysoká intenzita světla, poranění, vysoká koncentrace soli aj. mohou být překonány bakteriálními endofyty, které dokáží produkovat ACC deaminázu (Lugtenberg & Kamilova, 2009).

#### **2.3.4.5 Produkce fytohormonů**

Některé endofyty produkují fytohormony, které podporují růst rostlin a mění morfologii a strukturu rostliny (Sturz et al., 2000). Mechanismus, který si endofyty osvojily při produkci fytohormonů v hostitelské rostlině, je příbuzný mechanismu, který používají rhizobakterie při podpoře růstu rostlin. Pomáhají rostlinám vylučováním kyseliny gibberelové (Khan et al., 2014), auxinů (Dutta et al., 2014), kyseliny indolactové (Khan et al., 2014; Patel & Patel, 2014) a etylenu (Babalola, 2010; Kang et al., 2012).

Kyselina indolactová (IAA) spouští dělení, diferenciaci a prodlužování rostlinných buněk, stimuluje klíčení semen a hlíz, zvyšuje rychlost vývoje kořenů a xylému, posiluje laterální iniciaci, řídí rychlost vegetativního růstu a tvorbu adventivních kořenů, ale také tvorbu pigmentů a biosyntézu metabolitů, ovlivňuje reakce na gravitaci, světlo a výslednou fluorescenci, ovlivňuje fotosyntézu a odolnost vůči extrémním podmínkám (Gao et al., 2010). IAA vylučovaná bakteriemi podporujícími růst rostlin někdy zpomaluje výše uvedené fyziologické procesy tím, že ovlivňuje úroveň sekrece auxinu rostlinou. IAA produkovaná endofytickými bakteriemi má také schopnost zvětšovat délku a plochu kořenů, čímž umožňuje rostlině zlepšit přístup k živinám v půdě. Produkce IAA navíc rozšiřuje buněčné stěny bakterií a zvyšuje sekreci exudátů, spolu se schopností poskytovat více živin pro zlepšení růstu dalších užitečných bakterií přítomných v rhizosféře. IAA produkovaná endofytickými bakteriemi je z tohoto důvodu považována za hlavní molekulu zajišťující fytostimulaci, patogenezí a interakci mezi rostlinou a mikroorganismem (Gao & Tao, 2012). Několik studií prokázalo, že endofytické aktinomycety také produkují sloučeniny podporující růst rostlin, obdobné jako IAA, o kterých bylo prokázáno, že zvyšují tvorbu a prodlužování adventivních kořenů v rostlině (Fialho de Oliveira et al., 2010; Shimizu, 2011).

#### **2.3.4.6 Solubilizace fosforu**

Fosfor (P) je jedním ze základních prvků, které jsou nezbytné pro vývoj a růst rostlin; tvoří asi 0,2 % suché hmotnosti rostliny. Průměrně je v půdě obsah fosforu kolem 0,05 % (w/w); avšak pouze 0,1 % tohoto fosforu je k dispozici pro rostlinné využití (Zhu et al., 2011). Problém nedostatku půdního fosforu se tradičně řeší aplikací fosforečných hnojiv. Většina aplikovaného fosforu v hnojivech však není pro rostliny dostupná a přidávání anorganických hnojiv v přebytku množství, které se běžně používá k překonání tohoto efektu, může vést k problémům v oblasti životního prostředí, jako je kontaminace podzemních vod a eutrofizace vod (Kang et al., 2011).

Půdní mikroorganismy zvyšují příjem živin rostlinami. Podílejí se na celé řadě biologických procesů včetně přeměny nerozpustných půdních živin (Babalola a Glick, 2012a). Většina půdních mikroorganismů je schopna solubilizovat nerozpustné formy fosforu a zvýšit tak produkci dostupného fosforu, čímž jej zpřístupní pro využití rostlinami (Alori et al., 2017).

V přirozeném prostředí jsou četné mikroorganismy v půdě a rhizosféře účinné při uvolňování fosforu z celkového půdního fosforu prostřednictvím solubilizace a mineralizace (Bhattacharyya a Jha, 2012). Tato skupina mikroorganismů se označuje jako mikroorganismy solubilizující fosfor (PSM). Mnoho druhů půdních hub a bakterií je schopno solubilizovat fosfor *in vitro* a některé z nich mohou mobilizovat fosfor v rostlinách (Zhu et al., 2011). PSM zvyšuje biologickou dostupnost fosforu nerozpustného v půdě pro rostlinné využití (Zhu et al., 2011), solubilizují nerozpustný anorganický (minerální) fosfor a mineralizují nerozpustný organický fosfor (Sharma et al., 2013). Nejčastěji používaným mechanismem je rozpouštění minerálních sloučenin, jako

jsou organické kyseliny, siderofory, oxid uhličitý (CO<sub>2</sub>) a hydroxylové ionty (Olanrewaju et al., 2017).

Endofyty žijící v rostlinách vnášejí do půdy organické kyseliny pomocí vezikul, které napomáhají rozpouštět fosfátové komplexy a měnit je na ortofosfáty pro absorpci a využití rostlinami. Velké množství mikrobiálních organismů včetně bakterií, hub, aktinomycet a řas vykazuje P solubilizační a mineralizační schopnost. Půdní bakterie, u kterých bylo prokázáno, že mobilizují špatně dostupný fosfor prostřednictvím solubilizace a mineralizace, zahrnují rody *Pseudomonas* spp., *Agrobacterium* spp. a druh *Bacillus circulans* (Babalola a Glick, 2012). Mezi další bakterie solubilizující a mineralizující fosfor patří různé kmeny *Azotobacter* (Kumar et al., 2014), *Bacillus* (Jahan et al., 2013; David et al., 2014), *Burkholderia* (Mamta et al., 2010; Zhao et al., 2014; Istina et al., 2015), *Enterobacter*, *Erwinia* (Chakraborty et al., 2009), *Kushneria* (Zhu et al., 2011), *Paenibacillus* (Bidondo et al., 2011), *Ralstonia* (Taji et al., 2012), *Rhodococcus*, *Serratia*, *Bradyrhizobium*, *Salmonella*, *Sinomonas* a *Thiobacillus* (Postma et al., 2010; David et al., 2014).

Půdní mikroorganismy tolerantní vůči solím nebo halofilní půdní mikroorganismy, které také vykazují schopnost solubilizovat nerozpustný fosfor, usnadňují rozvoj zemědělství založeného na solných a alkalických půdách (Zhu et al., 2011).

Inokulace půdy nebo plodiny mikroorganismy solubilizujícími/mineralizujícími nerozpustný anorganický anebo organický fosfor je proto slibnou strategií pro zlepšení vstřebávání fosforu rostlinami a tím snížení používání chemických hnojiv, která mají negativní dopad na životní prostředí (Alori et al., 2012).

#### **2.3.4.7 Siderofory**

Siderofory jsou malé molekulární sloučeniny schopné chelátovat železo, které mohou produkovat endofyty a zpřístupňovat železo pro využití rostlinami (Yadav et al., 2018). Některé ze sideroforů, o nichž je známo, že jsou endofyty produkovány, mohou poskytovat biologicky ochranné aktivity, jako jsou hydroxymátové, fenolátové a/nebo katecholátové typy (Rajkumar et al., 2010). Také rostlinám s nedostatkem železa pomáhají siderofory při fixaci dusíku, protože diazotrofní organismy potřebují Fe<sup>2+</sup> a Mo<sup>+</sup> faktory pro fungování a syntézu nitrogenázy (Kraepiel et al., 2009).

V případě bakterií podporujících růst rostlin je Fe<sup>2+</sup> v bakteriální membráně oxidováno na komplex Fe<sup>3+</sup>-siderofor, který je později endofyty vnášen do buňky pomocí mechanismu brány (Gao et al., 2010). Koncentrace rozpustných kovů se zvyšuje, když se siderofory vážou na povrch kovu (Rajkumar et al., 2010). Jakmile je hladina kontaminantů těžkých kovů odstraněna, využívají rostliny k příjmu železa z bakteriálních sideroforů různé mechanismy, například cheláty železa napomáhají přímé absorpci komplexů sideroforu a Fe nebo ligandové výměně (Schmidt, 1999). Bylo zjištěno, že některé endofytické aktinomycety, například *Streptomyces* spp. a

*Nocardia* spp. Jsou schopné produkovat siderofory (R. Singh & Dubey, 2015). Jako vynikající producent sideroforu popsána také *S. acidiscabies* E13 (Sessitsch et al., 2013).

### **2.3.5 Využití endofytů ve farmakologii**

#### **2.3.5.1 Endofytické bakterie a houby jako producenti bioaktivních látek**

Několik vědeckých prací uvádí, že bioaktivní metabolity vylučované endofyty jsou zdrojem léčiv pro léčbu různých typů onemocnění v humánní medicíně. Obdobně nelze podceňovat potenciálních možností využití metabolitů v potravinářství, zemědělství, a kosmetickém průmyslu (Godstime et al., 2014; Shukla et al., 2014). Jak již bylo řečeno v kapitolách souvisejících s biologickou ochranou rostlin, metabolity vylučované endofyty se dělí do různých funkčních skupin. Příkladem jsou alkaloidy, terpenoidy, flavonoidy, benzopyranony, třísloviny, fenolové kyseliny, chinony, steroidy, aj. (Godstime et al., 2014; Joseph & Priya, 2011). Uvádí se, že způsob získání metabolitů z endofytů ovlivňuje mnoho faktorů, mezi některé z nich patří zeměpisná poloha (Shukla et al., 2014). S nedávným rozvojem syntetických procesů se extrakce metabolitů z přírodního zdroje stává efektivní a perspektivní (Hussain et al., 2012). Je spojena s vývojem mikroorganismů, které mohou mít integrovanou genetickou informaci z vyšších rostlin, čímž je zajištěna jejich lepší adaptace na hostitele a mohou plnit některé funkce, jako je ochrana před hmyzem, patogeny a živočichy (Gouda et al., 2016).

Infekční a parazitární nemoci jsou zodpovědné za téměř polovinu úmrtí na celém světě (Gouda et al., 2016). Endofyty jsou uváděny jako zdroj mnoha bioaktivních sloučenin a několika sekundárních metabolitů, které jsou dnes komerčně dostupné (Singh & Dubey, 2015). Endofytické mikroorganismy jsou zásobárnou nových metabolitů, které lze využít jako antimikrobiální, antiartritická, protinádorová, imunosupresivní a insekticidní léčiva (Godstime et al., 2014; Jalgaonwala et al., 2011). V současné době byla studována rozmanitost endofytů a jejich schopnost produkovat bioaktivní sekundární metabolity jen u několika málo rostlin. Nedávné studie uvádějí, že nové bioaktivní sloučeniny produkované většinou endofytických mikroorganismů jsou důležité při překonávání problému rezistence patogenních mikroorganismů vůči antibiotikům (Godstime et al., 2014). Četné bioaktivní sloučeniny, jako je vinblastin, amptothecin, hypericin, podofylotoxin, camptothecin a další, produkované endofyty, již byly komerčně využity a ukázaly se jako užitečné v zemědělství a farmakologii (Joseph & Priya, 2011; Zhao et al., 2011).

#### **2.3.5.2 Protinádorová aktivita a sloučeniny**

Rakovina je onemocnění, které se projevuje nekontrolovaným množением abnormálních buněk a které má u člověka za následek smrt, pokud není potlačeno. Celosvětově se uvádí, že v roce 2018 se výskyt rakoviny zvýšil na 9,6 milionu úmrtí a 18,1 milionu případů (Toghueo, 2020). Na celém



světě se počet těch, kteří přežijí nádorové onemocnění do 5 let od jeho zjištění, odhaduje na 43,8 milionu (Toghueo & Boyom, 2019). Léky používané při léčbě rakoviny vykazují nespecifickou toxicitu pro množící se normální buňky, mají však mnoho vedlejších účinků a mnohé z nich stále nejsou v léčbě některých forem rakoviny účinné (Pasut & Veronese, 2009). Bylo zjištěno, že endofyty mají schopnost produkovat takové metabolity, které mohou sloužit jako protinádorové látky (Rajamanikyam et al., 2017).

### 2.3.5.3 Antioxidační aktivita

Hlavní význam antioxidačních sloučenin spočívá v tom, že jsou velmi aktivní při léčbě onemocnění spojených s přítomností volných radikálů a ROS, které mohou být zodpovědné za degeneraci buněk, poškození DNA a karcinogenezi (Singh, 2014). Antioxidanty jsou v současnosti považovány za slibnou alternativu v léčbě a prevenci onemocnění spojených s ROS, jako je diabetes mellitus, rakovina, hypertenze, Alzheimerova choroba, Parkinsonova choroba aj. Většina antioxidantů má antiaterosklerotické, antikarcinogenní, protizánětlivé, protinádorové a antimutagenní účinky (Singh, 2014; Hood & Shew, 1996). Bylo prokázáno, že *Aspergillus fumigatus* SG-17 vylučuje sloučeninu zvanou (Z)-N-(4-hydroxystyryl) formamid (NFA), ekvivalent kumarinu, která má významné antioxidační účinky jak *in vitro* tak *in vivo* podmínkách. Následná analýza pomocí metod hmotnostní spektrometrie (MS) a nukleární magnetické rezonance (NMR) toto tvrzení dále potvrdila (Qin et al., 2019).

### 2.3.5.4 Antidiabetická činnost

Příroda nám dala mnoho přírodních zdrojů, které lze využít k léčebným účelům. Byly zkoumány hypolipidemické a antidiabetické vlastnosti extraktů z endofytických hub *Salvadora oleoides* u potkanů *Wistar albino* s indukovaným diabetem při zatížení glukózou a aloxanem (Dhankhar et al., 2013). Glukózový toleranční test ukázal, že extrakty z endofytických hub jako *Phoma* spp. a *Aspergillus* spp. úspěšně snižují hladinu glukózy v krvi potkanů. Akshatha et al., 2014 ve své práci hodnotili antidiabetické vlastnosti endofytních extraktů z pletiv *Rauwolfia densiflora* a *Leucas ciliate*, dvou nejvýznamnějších léčivých rostlin používaných při léčbě diabetu. Výsledek prokázal, že inhibitor  $\alpha$ -amylázy zpomaluje vstřebávání glukózy z komplexních sacharidů v potravě a zpomaluje rychlost vstřebávání glukózy. Také Kaur et al., 2018 provedli screening endofytických hub a ověřovali jejich schopnost působit jako inhibitory alfa-glukosidázy. Ve výsledcích výzkumu uvádí, že extrakty z *Fusarium* spp. a *Alternaria* spp. působí jako inhibitory alfa-glukosidázy, tato studie stanovila endofytické houby jako zdroje farmaceuticky významných molekul pro léčbu diabetu.

### 2.3.5.5 Imunosupresivní činnost

V současné době probíhají studie zaměřené na nalezení účinné látky pro potlačení imunologických poruch, zejména autoimunitních onemocnění a rejekce štěpu (Rajamanikyam et al., 2017). Bylo zjištěno, že endofytická houba *Fusarium subglutinans* vylučuje subglutininol A a B, které působí jako imunosupresivní látka. Léky z nich vyrobené se používají k odvrácení problému odmítnutí tkáně u pacientů, kteří podstoupí transplantaci, a je slibný při léčbě autoimunitních onemocnění, jako je například diabetes závislý na inzulínu a revmatoidní artritida (Padhi et al., 2013).

Antimykotické peptidové sloučeniny nazývané pseudomyciny, produkované houbami *Streptomyces* spp., jsou účinné proti lidskému patogenu *Candida albicans*, obsahují speciální aminokyseliny, jako jsou L-chlorothreonin, kyselina L-diaminomáselná a kyselina L-hydroxylasparagová (Castillo et al., 2003). Rovněž kyselina ambuová, cyklohexenon ze skupiny pseudomycinů produkovaný mikrospórami *Pestalotiopsis*, je účinná proti lidským patogenům. Bioaktivní látka z druhu *Streptomyces*, identifikovaná rovněž jako kyselina ambuová byla účinná proti gramnegativním i grampozitivním bakteriím (Suryanarayanan, 2023). Surové extrakty endofytické houby *Penicillium* spp. ZJ-SY2 vykazovaly silnou imunosupresivní aktivitu (Liu et al., 2016). Bylo zjištěno, že deriváty xanthonu, včetně látek obsahujících síru jako přírodní produkty: sydoxanthonu A (1) a sydoxanthonu B (2) a 13-Oacetylsydowininu B (3), které vylučuje endofytická houba *Aspergillus sydowii* mají mírnou imunosupresivní aktivitu (Song et al., 2013). Chloroformové (CEEI) a metanolové extrakty produkované *Entrophospora infrequens* vykazují reakce přecitlivělosti opožděného typu (DTH) (Pur et al., 2007). Bylo zjištěno, že sloučeniny izolované z *Pestalotiopsis leucothēs* jsou účinné na T a B buňky a monocyty (Kumar et al., 2005). Madagundi et al., 2013 izolovali endofytické houby z *Ocimum sanctum* a hodnotili jejich extrakty *in vitro* z hlediska imunomodulačních vlastností na lidské polymorfonukleární (PMN) buňky, jako je fagocytóza. O imunosupresivním testu kurtachalasinu vylučovaného endofytickou houbou *Xylaria* cf. *curta* proti buněčné proliferaci T lymfocytů indukované konkanavalinem A (ConA) a proliferaci B lymfocytů indukované lipopolysacharidem (LPS) referovali také Wang et al. (2019). Surové extrakty endofytické aktinobakterie *Brevibacterium* spp. YXT131 modulovaly imunitní odpověď snížením prozánětlivých cytokinů interleukinu (IL)-12/IL-23 p40 v séru myši (Wei et al., 2018).

### 2.3.5.6 Antivirová činnost

Objev slibných antivirových sloučenin je u endofytických organismů stále nový. Počet sloučenin, které byly přisouzeny endofytům, je stále omezený. Limitujícím faktorem při produkci antivirových sloučenin endofyty je skutečnost, že neexistují žádné antivirové screeningové systémy. Je známo, že většina antibiotických produktů z endofytických hub silně inhibuje růst virů. Objasnění pomocí metod hmotnostní spektrometrie a nukleotické magnetické rezonance

ukázalo, že dva inhibitory proteázy cytomegaloviru v lidské a cytonové kyselině A a B jsou účinné proti růstu virů (Harper et al., 2001). Některé metabolity vylučované endofyty z pouštních rostlin slouží jako slibný zdroj při identifikaci účinných inhibitorů při replikaci viru HIV-1 (Wellensiek, 2013). Bylo zjištěno, že *Alternaria tenuissima* QUE1Se produkuje antivirovou sloučeninu zvanou alvertoxin, která se ukázala být účinná proti viru HIV-1 (Bashyal et al., 2014). Extrakty z endofytických druhů hub *Aspergillus*, *Pestalotiopsis*, *Fusicoccum*, *Phomopsis*, *Guignardia*, *Penicillium* a *Muscodor* byly také hodnoceny z hlediska jejich antivirové aktivity proti viru Herpes simplex typu 1, mnoho druhů hub vykazovalo slabou až střední antivirovou aktivitu (Phongpaichit et al., 2007). Také surové extrakty z 81 endofytických hub izolovaných z mnoha léčivých rostlin vykazovaly antivirovou aktivitu (Rajamanikyam et al., 2017).

#### **2.3.5.7 Antimalarická činnost**

Malárie je stále jednou z hlavních příčin úmrtnosti a nemocnosti na světě, přičemž více než 3,3 miliardy lidí žije s trvalým rizikem přenosu infekce (Ateba et al., 2018). Vzhledem k nedávnému rozšíření parazitů malárie rezistentních vůči lékům je hledání alternativních a nových léčiv pro léčbu malárie naléhavé (D'Alessandro, 2009). Munumbiciny E-4 a E-5 produkované endofytickými houbami vykazovaly antimalarickou aktivitu, u níž byl zjištěn dvojnásobný účinek chlorochinu (Suryanarayanan, 2023). Bylo zjištěno, že endofyt *Diaporthe miriciae* produkuje sekundární metabolit zvaný epoxycytochalasin H, který se projevuje silnou antimalarickou inhibicí vůči kmeni *Plasmodium falciparum*, který je rezistentní vůči chlorochinu (Ferreira et al., 2017). Endofytní druhy *Paecilomyces lilcinus* a *Penicillium janthinellum* jsou zásobárnou nových metabolitů, které jsou slibné při léčbě malárie (Ateba et al., 2018).

#### **2.3.5.8 Protituberkulózní činnost**

Tuberkulóza (TBC) je celosvětově závažné infekční onemocnění, jehož etiologickým původcem je *Mycobacterium tuberculosis* a které často postihuje plíce. Počet úmrtí v důsledku infekce TBC se celosvětově odhaduje na dvě miliardy a každý rok se objeví téměř devět milionů nových případů (Tsara et al., 2009). Tuberkulóza má na svědomí více úmrtí jinak zdravých lidí než infekční nemoci, jako je malárie a AIDS (Corbett et al., 2003). Problémem tuberkulózy je, že na tuto nemoc neexistuje účinná léčebná metoda. S příchodem kmenů *M. tuberculosis* s multirezistencí se toto onemocnění etablovalo jako hlavní zdroj obav pro člověka (Khunjamayum, 2017).

Endofyty jsou schopny vylučovat některé bioaktivní sloučeniny, které mohou úspěšně inhibovat výskyt tuberkulózy způsobené *M. tuberculosis*. Druhy endofytických hub *Fusarium solani* a *Colletotrichum gleosporoides* izolované z *Glykorhizza glabra*, vykazovaly silnou inhibici kmene *M. tuberculosis* (Shah et al., 2017). Bylo zjištěno, že surové extrakty endofytických

bakterií *Streptomyces* spp. a *Bulkholderia fungorum* vykazují silnou inhibici proti patogennímu kmeni *M. tuberculosis* (Khunjamayum et al., 2017).

### 3. Popis organismů

#### 3.1 Popis organismu *Serendipita indica*

*Serendipita indica* (synonymum *Piriformospora indica*) je houbový druh řádu *Sebacinales*, jde o endofytický druh kolonizující kořeny. Houba *S. indica* může vytvářet endofytické interakce s velkým množstvím rostlinných druhů. *S. indica* byla pozorována poprvé v rhizosféře rostlin *Prosopis juliflora* (naditce jehnědového) a *Zizyphus nummularia* (cicimku) (Verma et al., 1998). Během mnoha testování bylo prokázáno, že houba nezpůsobovala pozorovatelné symptomy infekcí, a naopak po kolonizaci hostitele indukovala jeho růst a zároveň zvyšovala odolnost proti patogenům (Varma et al., 1999) a vykazovala obdobné efekty na rostliny jako houby arbuskulární mykorhizy (Unnikumar et al., 2013) a navíc může být použit i pro kolonizaci typicky nemykorhizních rostlin, např. huseníčku rolního (*Arabidopsis thaliana*). Inokulace endofyty, jako je *S. indica* mohou minimalizovat používání chemických hnojiv a také poskytují rostlinám zvýšenou odolnost proti biotickému či abiotickému stresu (Unnikumar et al. 2013). Panuje přesvědčení, že *S. indica* má potenciál pro zvýšení produkce a tolerance plodin zvláště v měnících se klimatických podmínkách. Efektivita symbiomy závisí na komplexní interakci mezi hostiteli, symbionty a prostředím, v němž koexistují. Mechanismus vedoucí k výše zmíněným benefitům, tedy k mutualistické symbióze, byl popsán na vztahu *A. thaliana*, popř. *Hordeum vulgare* s *S. indica* (Qiang et al. 2011), lze však předpokládat, že obdobný mechanismus funguje i u dalších mutualistických interakcí. Znalost endofytických interakcí poskytuje možnost vytvoření vhodných produktů pro zvýšení produkce v zemědělství a dalších odvětvích (Lugtenberg et al., 2016).

#### 3.2 Popis organismů *Fusarium culmorum*, *Microdochium bolleyi*, *Ceratobasidium cereale*

*Microdochium bolleyi* je houba, která se běžně vyskytuje v kořenech rostlin, zejména trav (Mandyam & Jumpponen, 2015). *M. bolleyi* běžně kolonizuje kořeny pšenice a dalších plodin. Je považována za slabý patogenní nebo dokonce nepatogenní druh houby, o kterém se uvažuje také jako o potenciálním prostředku biologické ochrany proti agresivním půdním patogenům v obilovinách (Kirk & Deacon, 1987).

*Fusarium culmorum* je všudypřítomná půdní houba, která je původcem mnoha chorob. Patří mezi fakultativní patogeny, které nejčastěji napadají oslabené rostliny. *F. culmorum* je významný patogen pšenice způsobující fuzariové vadnutí u vzházejících rostlin, obecnou krčkovou a kořenovou hnilobu obilnin a růžovění klasů obilnin (*Fusarium head blight*, FHB) anebo může způsobit poškození listů. Patogen je dominantní v chladnějších oblastech, jako je severní, střední

a západní Evropa. Houba se rozmnožuje nepohlavně pomocí konidií, které jsou hlavním zdrojem šíření. Fusariová infekce pšenice před sklizní představuje nejzávažnější problém. Význam škodlivosti *F. culmorum* v produkci pšenice souvisí nejen s chorobami bázi stébel, listů a klasů, ale i kontaminací zrna mykotoxiny při sklizni infikovaných klasů. K infekci klasů dochází především během kvetení obilnin, příznivě působí vlhké počasí nebo vysoká vzdušná vlhkost a vysoké teploty. Hlavními mykotoxiny produkovanými *F. culmorum* jsou deoxynivalenol, nivalenol a zearalenon, které představují potenciální zdravotní riziko pro lidi i zvířata (Wagacha & Muthomi, 2007). Choroby způsobené patogenem *F. culmorum* způsobují značné ztráty na výnosu a kvalitě (Scherm et al., 2013).

*Ceratobasidium cereale* (anamorpha *Rhizoctonia cerealis*) je původcem lemované stébelné skvrnitosti pšenice (kořenomorky). Způsobuje tmavě hnědé, ostře ohraničené léze s tmavými okraji, nejčastěji v bazálních částech stébel. Ve stéblech pod lézemi může být přítomno bílé houbovitě mycelium se světle hnědými plodnicemi. Silná infekce může vést k odumírání slabších stébel, poléhání a běloklasosti. Rostliny pšenice se nakonec mohou v infikovaných částech stébel lámat. Příznaky lze pozorovat od stádia prodlužování stonku až po dozrání (Marshall, 2019).

### **3.3 Popis rostliny *Triticum aestivum* a její využití**

Pšenice setá (*Triticum aestivum* L.) je po rýži druhou nejpěstovanější obilovinou na světě a v mnoha zemích se konzumuje jako základní potravina (Ahmed et al., 2014). Pšenice setá má hexaploidní uspořádání genomu (šest kopií každého chromozomu) (Clark et al., 2019). Může být ozimá nebo jarní forma. Na dutých tenkostěnných stéblech se nacházejí čárkovité listy, které jsou ploché, drsné a s prodlouženým jazýčkem a dlouhými pýřitými oušky. Květenstvím je lichoklas s nelámaným vřetenem. Klasy jsou jednotlivě na uzlinách vřetene a jsou zploštělé. Plodem je nahá objemná obilka. Její zrna se využívá na pekárenské, škrobárenské, lihovarnické a krmné účely (Cibulka, 2010). Zpracovávají se i stébla (sláma) a otruby (semenné slupky).

## 4. Materiály a metody

### 4.1 Materiály

Pšenice setá (*Triticum aestivum*), cv. Bohemia. Endofytické houby *Serindipita indica* a *Microdochium bolleyi* a houbové patogeny *Fusarium culmorum* a *Ceratobasidium cereale*.

### 4.2 Přístrojové vybavení

- Mikrocentrifuga Micro Star 17R
- Homogenizátor – FastPrep - 24
- Inkubátor BIOER
- Qubit
- Cykler – Eppendorf vapoprotect mastercycler
- Bio-Rad CFX Connect
- NanoDrop 2000 ThermoScientific
- Vortex od IKA
- Minicentrifugy – VWR Mini Star silverline
- Automatické pipety

### 4.3 Metody

#### 4.3.1 Výsev semen *T. aestivum* a inokulace houbovými organismy

Bylo připraveno 5 květináčů pro každou variantu inokulace, spodní část květináčů byla do poloviny naplněna výsevním substrátem. Horní vrstvu tvořil perlit. 5 kusů obilek *T. aestivum* bylo zaseto do perlitu. Po vzejití rostlin byl celkový počet v květináčích sjednocen na 4 rostliny na 1 květináč. Rostliny byly kultivovány ve fytotronu (teplota 21°C/18°C; fotoperioda 16 hod světlo/8 hod tma). Po 11 dnech byl perlit v květináčích vyměněn za inokulum. Jako inokulum byla použita sterilní rýže kolonizovaná myceliem hub *S. indica*, *M. bolleyi*, *F. culmorum* a *C. cereale*. Inokulum bylo kultivovalo dva týdny při teplotě 20°C ve tmě. V kontrolní variantě byla použita pouze sterilní rýže.



Obr. 1 – *Triticum aestivum* v den inokulace

### 4.3.2 Odběr listů *T. aestivum* pro izolaci RNA

Pro analýzu transkripce byl odebírán druhý list pšenice ozimé (cca 100 mg), odběr probíhal 1., 2. a 3. den po inokulaci (dpi). U každé varianty byl odběr proveden a ve třech opakováních. Rostlinný materiál v mikrozkušavkách byl umístěn do tekutého dusíku a poté do hluboko mrazícího boxu (-80 °C).

### 4.3.3 Izolace RNA

Izolace byla provedena pomocí RNeasy plant mini kitu od Qiagen. Do každého ze vzorků bylo přidáno 450 µl mixu RLT pufu a β-merkaptotoethanolu a vzorek byl homogenizován po dobu 2 minut. Poté byl vzorek inkubován po dobu 2 minut při 56 °C. Celý objem vzorku byl přenesen do membránových fialových kolonek a centrifugován při 13 300 rpm po dobu 2 minut. Supernatant byl odebrán do nové zkumavky, kam bylo přidáno 0,5x 96% EtOH a po té přenesen do membránových růžových kolonek. Následná centrifugace byla prováděna při 13 000 rpm po dobu 1 minuty. Část s membránou byla přenesena na novou zkumavku, poté bylo přidáno 350 µl RW1, následně byla provedena centrifugace při 13 000 rpm po dobu 1 minuty. Poté bylo přidáno 80 µl DNasy (140 µl RDD a 20 µl DNasy) a vzorek byl inkubován po dobu 15 minut při 25 °C. Po inkubaci bylo přidáno 350 µl RW1. Další centrifugace byla provedena při 13 000 rpm po dobu 1 minuty. Poté byla kolonka přenesena a bylo přidáno 500 µl RPE, následně centrifugováno při 13 000 rpm po dobu 1 minuty. Znovu byl vzorek přenesen na novou zkumavku a bylo přidáno 500 µl RPE a centrifugováno 13 000 rpm po dobu 2 minut. Následně byl vzorek přenesen na novou zkumavku a centrifugován při 13 300 rpm po dobu 1 minuty za sucha. Na závěr byl vzorek přenesen na novou zkumavku, přidán 60 µl RNase free water a centrifugace probíhala při 10 000 rpm po dobu 1 minuty. Výsledky byly zkontrolovány na nanodropu.

### 4.3.4 Převod RNA do cDNA

Pomocí Transcriptor High Fidelity cDNA Synthesis Kit od Roche byl proveden převod. Reverzní transkriptáza s nukleotidy byla připipetována k izolované RNA a byl proveden přepis v thermocycleru obdobně jako u analýzy PCR.

### 4.3.5 Real-time PCR

Nejprve byla provedena příprava SYBRgreen master mix pro qPCR. Bylo smícháno 561 µl vody a 825 µl SYBR. Do zkumavky pro gen, který měl být amplifikován (*PRI* nebo *B2H2*) bylo přidáno 680 µl mixu, 11 µl forward primeru a 11 µl reverse primeru. Do šesti sloupců na destičku bylo rozpipetováno po 13 µl vytvořeného mixu. Obdobně byl proveden postup s referenčním genem *TaACT* (Tab. 1).

Do každé zkumavky bylo přidáno 2 µl (10ng) cDNA. U všech vzorků byla provedeny 3 technické replikáty u genu *PR1*, u genu *B2H2* byly provedeny dva technické replikáty. Poté probíhala qPCR v přístroji CFX Real Time PCR Bio-Rad. Primery jsou uvedeny v tabulce 1. Denaturace probíhala při 95 °C po dobu 20 sekund, připojování primerů probíhalo při 60 °C po dobu 30 sekund a polymerázová reakce probíhala při 72 °C po dobu 20 sekund. Cyklus byl opakován 39x.

Tabulka 1 – Seznam primerů použitých v této studii

Název genu	Forward primer	Reverse primer	Zdroj
<i>TaB2H2</i>	TCTATCGAAACGCCATTGTTACA	AGAGGCCGTTTCGCATAGTCA	Kong et al., 2005
<i>TaPR1</i>	CTGGAGCACGAAGCTGCAG	CGAGTGCTGGAGCTTGCAGT	Molina et al., 1999
<i>TaACT</i>	GGAGAAGCTCGCTTACGTG	GGGCACCTGAACCTTCTGA	Wei et al., 2015

#### 4.3.6 Vizuální hodnocení rostlin *T. aestivum*

U kontroly a rostlin inokulovaných různými druhy hub bylo provedeno hodnocení vlivu inokulantu na habitus rostlin. Hodnocení bylo provedeno 34 dnů po inokulaci (dpi) v růstové fázi pšenice druhého až třetího kolénka pšenice (BBCH 32/33). U rostlin byla hodnocena výška, míra nekrotizace listů a zahnědnutí bází. Hodnocení bylo u každé varianty provedeno u 20-ti rostlin.

##### 4.3.6.1 Výška rostlin

Výška byla měřena u rostlin inokulovaných různými druhy hub a na neošetřené kontrole. Výška rostlin byla měřena od báze rostliny po vrchol nejmladšího listu.

##### 4.3.6.2 Nekrotizace listů

Hodnocení míry nekrotizace listů (%) bylo provedeno u kontroly a všech inokulovaných variant. Byl hodnocen počet listů s projevy nekróz a míra nekrotizace listů (%).

##### 4.3.6.3 Zahnědnutí bází

Hodnocení zahnědnutí bází bylo hodnoceno na kontrole a všech inokulovaných variantách. Při hodnocení byla potvrzena nebo vyvrácena přítomnost zahnědlých bází (zahnědnutí se vyskytovalo/zahnědnutí se nevyskytovalo).



#### 4.3.7 Statistické vyhodnocení

Statistické vyhodnocení výšky rostlin, nekrotizace listů, exprese genu *PRI* a *B2H2* bylo provedeno pomocí ANOVA test a Tukey test. Expresce genů byla vypočtena pomocí aplikace Maestro Bio-Rad.

Hodnoty byly zpracovány v excelu. Průměrný stupeň napadení (P) byl vypočítán podle vzorce Townsenda a Heubergera:

$$P = \frac{\sum(nv) \cdot 100}{N},$$

kde n je počet vzorků v jednotlivých stupních napadení, v je hodnota příslušného stupně napadení, a N je počet hodnocených rostlin (Kůdela, 1989).

## 5. Výsledky

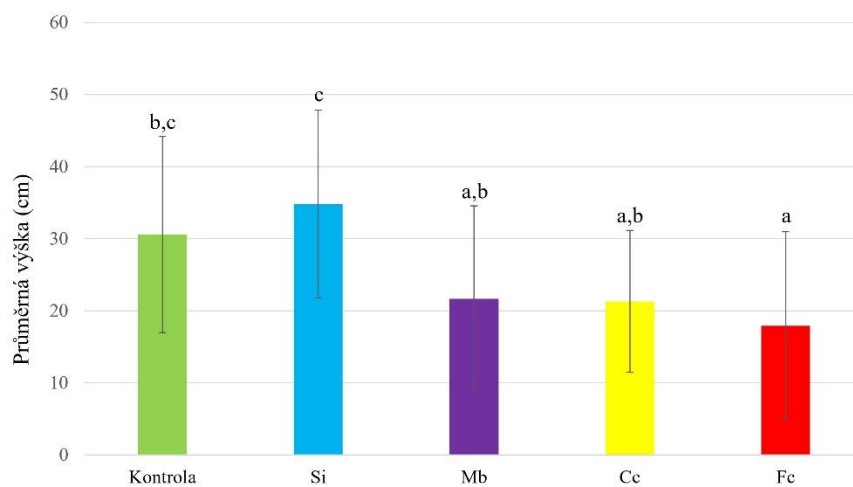
### 5.1 Vizuální hodnocení rostlin *T. aestivum*

#### 5.1.1 Výška rostlin

Průměrná výška rostlin na neošetřené kontrole dosáhla 30,58 cm. Houba *S. indica* pozitivně ovlivnila růst rostlin, zvýšila výšku o 4 cm ve srovnání s neošetřenou kontrolou. Nicméně rozdíl mezi kontrolou a *S. indica* nebyl statisticky průkazný. Rostliny inokulované houbou *S. indica* měly průkazně vyšší růst než rostliny inokulované houbou *M. bolleyi* a oběma patogeny. U rostlin inokulovaných houbou *S. indica* bylo pozorováno vybělení podél žilnatin listů (Obr. 2). Houba *M. bolleyi* se chovala spíše jako slabý patogen a snížila růst rostliny o 9 cm ve srovnání s neošetřenou kontrolou, obdobně jako houba *C. cereale*. Ani v jednom z uvedených případů však nebyly rozdíly statisticky průkazné. Houba *F. culmorum* omezila růst rostliny nejvíce, a to o 12 cm ve srovnání s neošetřenou kontrolou. Rozdíly mezi kontrolou a variantou *F. culmorum* byly statisticky významné (Obr. 3, Tab. 3). V tabulce 2 je uvedena analýza rozptylu (ANOVA).



Obr. 2 – listy *T. aestivum*; inokulované houbou *S. indica* (A) a na neinokulované kontrole (B)



Obr. 3 – Průměrná výška rostlin (n=20 u každého;  $P < 0,05$ ; ANOVA a Tukey HSD; chybové úsečky vyjadřují střední chybu průměru SE, písmena určují homogenitu skupin), K – Kontrola, Si – *Serendipita indica*, Mb – *Microdochium bolleyi*, Cc – *Ceratobasidium cereale*, Fc – *Fusarium culmorum*

Tabulka 2 – Test ANOVA: průměrná výška rostlin

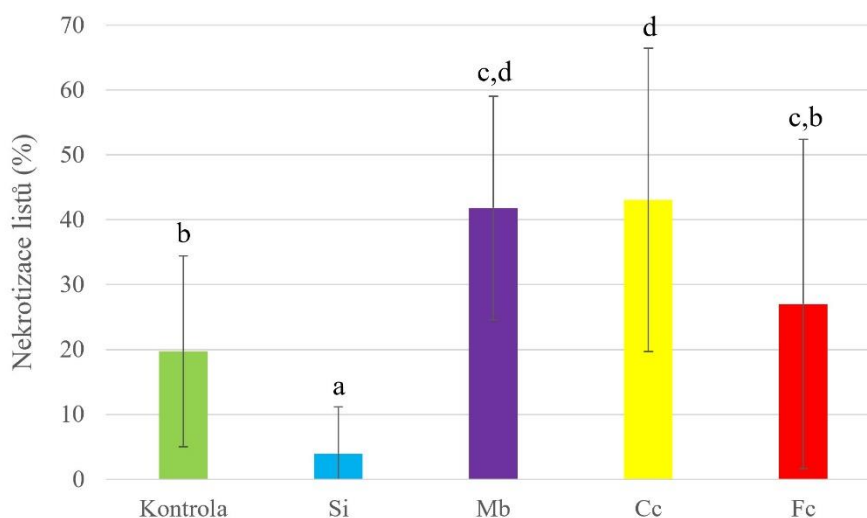
	SS	Stupeň volnosti	MS	F	P
Varianta	4040,55	4	1010,14	6,3775	0,000179
Opakování	299,69	4	74,92	0,473	0,755374
Chyba	11879,25	75	158,39		

Tabulka 3 – Tukey test: průměrné výšky rostlin

Varianta	Průměrná výška [cm]	Tukey test
Kontrola	30,58	b c
<i>Serendipita indica</i>	34,80	c
<i>Microdochium bolleyi</i>	21,65	a b
<i>Ceratobasidium cereale</i>	21,28	a b
<i>Fusarium culmorum</i>	17,93	a

### 5.1.2 Míra nekrotizace listů

Dalším sledovaným parametrem byla míra nekrotizace listů (%) kontroly a inokulovaných rostlin (Obr. 4). Rostliny inokulované houbou *S. indica* měly nejmenší zastoupení nekrotických listů, celkem se jednalo 4% listů z celkového počtu 20 rostlin. U kontroly byla nekrotizace na úrovni 20% listů. Nejvyšší míra nekrotických listů byla zjištěna u hub *M. bolleyi* a *C. cereale*. Houba *M. bolleyi* se opět chovala vůči rostlině jako patogen, obdobné výsledky byly vyhodnoceny i po inokulaci houbou *C. cereale*. Po inokulaci houbou *M. bolleyi* odumřelo 41% listů, po inokulaci houbou *C. cereale* bylo zjištěno 43% odumřelých listů. *F. culmorum* způsobila nižší míru nekrotizace listů než *C. cereale* a *M. bolleyi*, průměrně 27% listů. Rozdíly mezi kontrolou a inokulovanými variantami byly statisticky významné v případě rozdílů mezi inokulovanými variantami, nejvíce mezi kontrolou, *S. indica* a *C. cereale*. Statisticky průkazný rozdíl byl zjištěn u kontroly a *M. bolleyi* a u kontroly a *S. indica*. Průměrná nekrotizace listů inokulovaných houbou *F. culmorum* byla statisticky průkazně odlišná ve srovnání s nekrotizací listů u variant inokulovaných houbami *S. indica* a *C. cereale* (Tab. 5). V tabulce 4 je uvedena analýza rozptylu (ANOVA).



Obr. 4 – Nekrotizace listů v % (n=20 ;; ANOVA a Tukey HSD  $P < 0,05$ ; chybové úsečky jsou SE), K – Kontrola, Si – *Serendipita indica*, Mb – *Microdochium bolleyi*, Cc – *Ceratobasidium cereale*, Fc – *Fusarium culmorum*

Tabulka 4 – Test ANOVA: nekrotizace listů rostlin

	SS	Stupeň volnosti	MS	F	P
Varianta	21229,03	4	5307,26	18,8498	0,000000
Opakování	1894,19	4	473,55	1,6819	0,163065
Chyba	21116,61	75	281,55		

Tabulka 5 – Tukey test: nekrotizace listů [%]

Varianta	Průměrná nekrotizace listů	Tukey test	
Kontrola	19,72	b	
<i>Serendipita indica</i>	3,94	a	
<i>Microdochium bolleyi</i>	41,81	c	d
<i>Ceratobasidium cereale</i>	43,06		d
<i>Fusarium culmorum</i>	27,01	b	c

### 5.1.3 Zahnědnutí báží

U rostlin bylo hodnoceno také zahnědnutí báží (zahnědnutí se vyskytovalo/zahnědnutí se nevyskytovalo). U kontroly ani u rostlin inokulovaných houbou *S. indica* nebyly zjištěny žádné zahnědlé báze. Po inokulaci rostlin houbou *M. bolleyi* se vyskytovaly zahnědlé báze u 40% rostlin, nejvyšší podíl zahnědlých báží (90%) byl vyhodnocen u rostlin inokulovaných houbou *C. cereale*. Po inokulaci houbou *F. culmorum* bylo zjištěno 20% zahnědlých báží, Vzhledem k tomu, že část rostlin po inokulaci *F. culmorum* odumřelo, bylo hodnocení provedeno pouze u sníženého počtu vzorků živých rostlin.

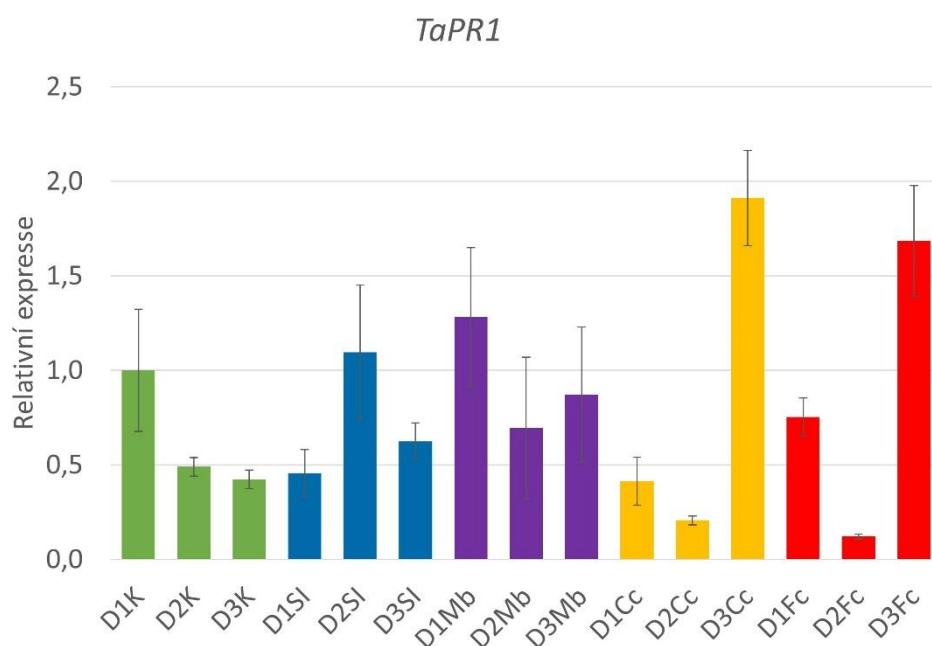
## 5.2 Exprese *PR1*

*TaPR1* je gen patřící rodiny genů spojenou s patogenezí. První den sledování byla hodnota relativní exprese genu *PR1* po inokulaci houbou *S. indica* 0,46 ( $p=0,65238$ ) nižší ve srovnání s kontrolou. Druhý den se rozdíl v expresi (Fold difference - FD) oproti kontrole zvýšil, naměřená hodnota byla 2,24x vyšší ( $p=0,36589$ ), třetí den byla naměřená hodnota FD oproti kontrole 1,48x vyšší ( $p=0,45230$ ). Ani v jednom případě však rozdíly v expresi nebyly statisticky průkazné. Průměrná hodnota FD byla u varianty inokulované houbou *S. indica* 1,12x vyšší ve srovnání s průměrnou hodnotou FD u kontroly ( $p=0,62303$ ), současně šlo o nejnižší expresi ze všech inokulovaných variant.

Po inokulaci rostlin houbou *M. bolleyi* se lišily hodnoty exprese genu *PR1* již první den po inokulaci, kdy hodnota FD byla 1,28x vyšší ( $p=0,23103$ ) ve srovnání s kontrolou. Také druhý a

třetí den byly hodnoty exprese vyšší než u kontroly. Druhý den byla hodnota FD 1,42x ( $p=0,52319$ ) vyšší než u kontroly. Třetí den po inokulaci byla naměřena hodnota FD 2,06x ( $p=0,09562$ ) vyšší než u kontroly. Průměrná hodnota FD bylo po inokulaci houbou *M. bolleyi* 1,36x vyšší ( $p=0,21354$ ) ve srovnání s průměrnou hodnotou FD u kontroly a byla druhou nejnižší expresí ze všech inokulovaných variant.

Při inokulaci rostliny *C. cereale* byla hodnota exprese první den po inokulaci 0,41x nižší ( $p=0,62350$ ), hodnota exprese byla nižší jak ve srovnání s neošetřenou kontrolou, tak s variantou inokulovanou houbou *S. indica*. Druhý den byla hodnota FD 0,42x nižší ( $p=0,13843$ ) než u kontroly. Třetí den po inokulaci byla hodnota FD 4,52x vyšší ( $p=0,18456$ ) ve srovnání s kontrolou, současně se jednalo o nejvyšší naměřenou hodnotu FD. Průměrná hodnota FD u *C. cereale* byla 1,57x vyšší ( $p=0,62109$ ) ve srovnání s kontrolou. Po inokulaci rostlin *Fusarium culmorum* byla hodnota exprese 0,75x nižší ve srovnání s kontrolou ( $p=0,36258$ ). Druhý den byla hodnota opět nižší, a to 0,25x ( $p=0,13843$ ), jednalo se o nejnižší naměřenou hodnotu exprese. Třetí den po inokulaci byla hodnota FD 3,98x vyšší ve srovnání s kontrolou. ( $p=0,08512$ ). Výsledky FD nebyly statisticky významně rozdílné u žádné z inokulovaných variant (Obr. 5, Tab. 6)



Obr. 5 – Relativní genová exprese *PR1* ( $n=3$ ,  $p < 0,05$ ; chybové úsečky SE), D1 = den 1; D2 = den 2, D3 = den 3; K – Kontrola, Si – *Serendipita indica*, Mb – *Microdochium bolleyi*, Cc – *Ceratobasidium cereale*, Fc – *Fusarium culmorum*

Tabulka 6 - Fold difference (FD) a p u exprese *PR1* genů *Triticum aestivum* po inokulaci, *Si* – *Serendipita indica*, *Mb* – *Microdochium bolleyi*, *Cc* – *Ceratobasidium cereale*, *Fc* – *Fusarium culmorum*

<i>TaPR1</i>	První den po inokulaci		Druhý den po inokulaci		Třetí den po inokulaci		Průměrná hodnota	
	FD	P	FD	P	FD	P	FD	P
<i>Serendipita indica</i>	0,46	0,65238	2,24	0,36589	1,48	0,45230	1,12	0,62303
<i>Microdochium bolleyi</i>	1,28	0,23103	1,42	0,52319	2,06	0,09562	1,36	0,21354
<i>Ceratobasidium cereale</i>	0,41	0,62350	0,42	0,13843	4,52	0,18456	1,57	0,62109
<i>Fusarium culmorum</i>	0,75	0,36258	0,25	0,61033	3,98	0,08512	1,56	0,38913

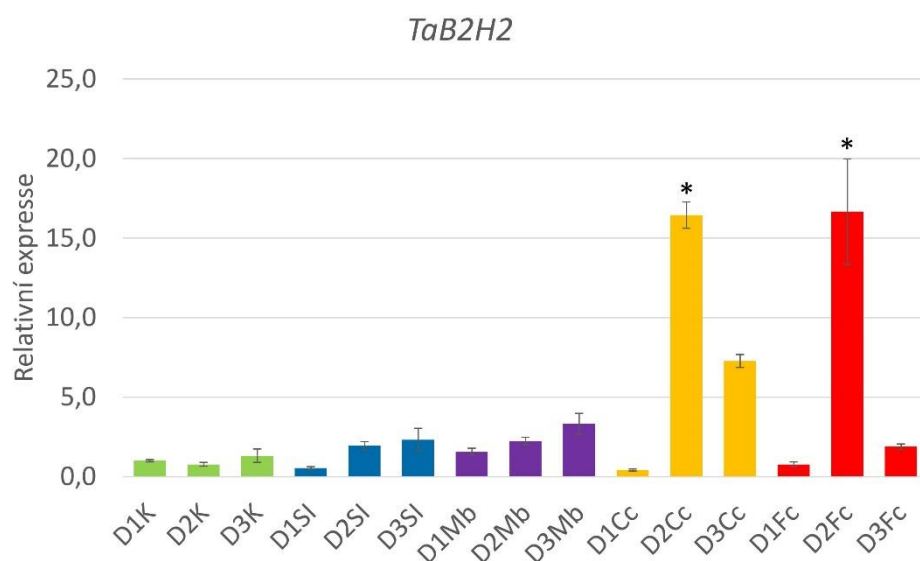
### 5.3 Exprese *TaB2H2*

*TaB2H2* je gen kódující enzym chitinázu. U inokulace rostliny houbou *S. indica* byla hodnota FD první den 0,53x nižší než u kontroly ( $p=0,5034$ ), druhý den byla hodnota FD 2,52x vyšší ( $p=0,58267$ ) a také třetí den byla hodnota FD 1,75x vyšší ( $p=0,68913$ ). Průměrná hodnota FD byla 1,53x vyšší než u kontroly ( $p=0,10690$ ).

Po inokulaci houbou *M. bolleyi* byla hodnota FD 1,56x vyšší ve srovnání s kontrolou ( $p=0,57353$ ), současně se jednalo nejvyšší hodnotu FD ze všech sledovaných variant inokulace v prvním dnu hodnocení. Druhý den byla hodnota 2,91x vyšší ( $p=0,61007$ ) a třetí den byla hodnota FD 2,52x vyšší ( $p=0,76036$ ). Průměrná hodnota FD u *M. bolleyi* byla 2,25x vyšší než u kontroly ( $p=0,12465$ ).

Po inokulaci rostliny houbou *C. cereale* byla hodnota FD v prvním dnu 0,42x nižší ( $p=0,44662$ ) ve srovnání s kontrolou. Druhý den po inokulaci byla hodnota FD 21,27x vyšší ( $p=0,00198$ ). Třetí den byla hodnota FD hodnota 5,51x vyšší ( $p=0,69062$ ). Průměrná hodnota FD po inokulaci houbou *C. cereale* byla 3,83x vyšší ( $p=0,11321$ ) ve srovnání s kontrolou.

Po inokulaci houbou *F. culmorum* byla první den hodnota FD 0,77x nižší ( $p=0,60681$ ) než u kontroly. Druhý den po inokulaci byla hodnota FD 21,55x vyšší ( $p=0,00102$ ), třetí den po inokulaci byla hodnota FD 1,43x vyšší ( $p=0,71583$ ). Průměrná hodnota FD byla u rostlin inokulovaných houbou *F. culmorum* 2,98x vyšší ( $p=0,08406$ ) ve srovnání s kontrolou (Obr. 6, Tab. 7).



Obr. 6 – Relativní exprese genu chitinázy (*B2H2*) (dvě biologická opakování a tři technická  $p < 0,05$ ; chybové úsečky SE), D1 = den 1; D2 = den 2, D3 = den 3; K – Kontrola, Si – *Serendipita indica*, Mb – *Microdochium bolleyi*, Cc – *Ceratobasidium cereale*, Fc – *Fusarium culmorum*. Hvězdička (\*) označuje statisticky významné hodnoty ( $P < 0,01$ ) hodnoceno pomocí ANOVA testu.

Tabulka 7 - Fold diference (FD) a p u exprese *B2H2* genů *Triticum aestivum* po inokulaci, Si – *Serendipita indica*, Mb – *Microdochium bolleyi*, Cc – *Ceratobasidium cereale*, Fc – *Fusarium culmorum*

<i>TaB2H2</i>	První den po inokulaci		Druhý den po inokulaci		Třetí den po inokulaci		Průměrná hodnota	
	FD	P	FD	P	FD	P	FD	P
<i>Serendipita indica</i>	0,53	0,5903	2,52	0,5827	1,75	0,6891	1,53	0,1069
<i>Microdochium bolleyi</i>	1,56	0,5735	2,91	0,6101	2,52	0,7604	2,25	0,1246
<i>Ceratobasidium cereale</i>	0,42	0,4466	21,27	0,0020	5,51	0,6906	3,83	0,1132
<i>Fusarium culmorum</i>	0,77	0,6068	21,55	0,0010	1,43	0,7158	2,98	0,0841

## 6. Diskuze

Endofyty jsou organismy, které žijí uvnitř částí rostlin, ale nezpůsobují viditelné symptomy infekce (Li et al., 2023; Petrini, 1991) a jsou schopné rostlinám pomoci překonat stres (Fadiji & Babalola, 2020) a zprostředkovat toleranci vůči stresu (Kamran et al., 2022). Jednou ze skupin endofytických organismů jsou endofytické houby. Tyto houby jsou bohatým zdrojem bioaktivních látek, jako hormony (např. auxin), hydrolytické enzymy (např. chitináza) a antimikrobiální látky, které jsou důležité pro přežití hostitelské rostliny (Eid et al., 2019), tyto metabolity mají také potenciál využití v biotechnologiích (Rana et al., 2019; Rustamova et al., 2020).

Přestože endofyty dokáží syntetizovat stejné nebo podobné sekundární metabolity, není jasné jak a proč se tyto metabolity tvoří. Některé studie naznačují, že tvorba sekundárních metabolitů mohla vzniknout koevolucí endofytů s rostlinnými hostiteli (Naik et al., 2019; Tan & Zou, 2001).

Jedním z témat, která jsou v současnosti předmětem výzkumu, jsou možnosti ochrany rostlin před chorobami bez potřeby využití chemických pesticidů. Například v roce 2019 došlo v důsledku poškození rostlin patogeny a škůdci celosvětově ke ztrátám na produkci pšenice 21.5% (Savary et al., 2019). Přestože využití pesticidů je možností, jak negativní vliv patogenů a škůdců snížit anebo eliminovat, může jejich používání negativně působit na zdraví farmářů (Damalas & Koutroubas, 2016) a životní prostředí kontaminací půdy a povrchové vody (Aktar et al., 2009). Jednou z možností, jak se těmto rizikům vyhnout, by mohla být biologická ochrana s využitím endofytických mikroorganismů (De Silva et al., 2019). Další možností využití endofytů je například ve farmaceutickém průmyslu. Rostliny mohou být považovány za bioproducenty z důvodu tvorby sloučenin, které mají terapeutickou hodnotu (Baker & Satish, 2012). Přírodní produkty, které disponují antimikrobiální aktivitou, lze využít přímo anebo nepřímo, vyvoláním rezistence rostlin, což povede ke snížení využití pesticidů při ochraně rostlin proti chorobám (Stangarlin et al., 2011). Fytopatogeny jsou omezovány používáním rostlinných extraktů, které jsou získávány hlavně z rostlin, jako kafr, řebříček, zázvor a jiné (Stangarlin et al., 2011). Některé studie uvádějí produkci antimykotických, antibiotických, imunosupresivních sloučenin a inhibitorů topoizomeráz nalezených v endofytech, avšak houbové endofyty jsou méně studovanou skupinou (Verma et al., 2008). Léčivé rostliny jsou považovány i za zásobárnu endofytů, které mohou syntetizovat farmaceuticky významné sekundární metabolity (Elgorban et al., 2019) Jeden z příkladů je Taxol, což je protinádorová látka (Sze et al., 2008). Tyto zjištěné vlastnosti by mohly být využity ve farmaceutickém odvětví biotechnologie. Tyto objevy se však zatím nepromítly do průmyslových bioprocésů pro komerční výrobu (Kusari et al., 2014).

V této práci byl sledován vliv endofytických mikroorganismů *S. indica* a *M. bolleyi* a patogenů *C. cereale* a *F. culmorum* na růst rostlin, míru nekrotizace listů a dále na expresi genu *PR1* a expresi chitinázy (*B2H2*) u pšenice *T. aestivum*.



Po inokulaci pšenice endofytickým mikroorganismem *S. indica* byl u pšenice pozorováno zlepšení růstu, ve srovnání s kontrolou i rostlinami inokulovanými endofytickým mikroorganismem *M. bolleyi* a patogeny *F. culmorum* a *C. cereale*. Bylo prokázáno, že houba *S. indica* je jedním z endofytických mikroorganismů, které pozitivně ovlivňují růst rostlin (Mensah et al., 2020; Varma et al., 2012) a to například u zelí (Saleem et al., 2021), salátu (Abdelaziz et al., 2019), rajčete (Wang et al., 2015). Bylo také zjištěno, že *S. indica* pomáhá zvyšovat toleranci rostlin k abiotickému a biotickému stresu (Kaval et al., 2023). Také v této práci bylo prokázáno, že po inokulaci endofytem *S. indica* došlo k nejnižší míře nekrotizace listů pšenice, což mohlo souviset se schopností *S. indica* zlepšovat metabolismus ROS (Nath et al., 2016). U inokulovaných rostlin nebylo zjištěno zahnědnutí bází rostlin, přestože u ostatních inokulovaných variant byly projevy zahnědnutí prokázány. Rostliny pšenice reagovaly na inokulaci endofytickou houbou *S. indica* vyblednutím žilnatiny, u ostatních inokulovaných variant k vyblednutí žilnatiny nedošlo.

Po inokulaci pšenice endofytickým mikroorganismem *M. bolleyi*, bylo patrné, že reakce rostlin byla obdobná jako po inokulaci patogenem a *C. cereale*, přestože u obilnin je na základě vědeckých studií předpokládán endofytický vztah, který byl potvrzen u ječmene (Murray & Gadd, 1981), pšenice (Reinecke & Fokkema, 1981) nebo *Brachypodium distachyon* (Matušinsky et al., 2022). Výsledky našeho testování však prokázaly, že za určitých podmínek se může endofytický mikroorganismus *M. bolleyi* chovat spíše jako slabý patogen (Reinecke & Fokkema, 1981), což bylo prokázáno i u lnu setého a psinečku (Hong et al., 2008). Po inokulaci pšenice endofytickým mikroorganismem *M. bolleyi* došlo ke snížení růstu rostlin, a to v míře velmi podobné po inokulaci patogenem *C. cereale*. Během hodnocení byla také prokázána vyšší míra nekrotizace listů u pšenice. V práci Shadmani et al., 2018 zjistili, že *M. bolleyi* zlepšuje růst ječmene. Nekrotizace listů byla zjištěna u *Microdochium paspalum* v *Paspalum vaginatum* v Číně (Ünal, 2024). Při studování patogenity *M. bolleyi* bylo zjištěno že z 31 izolátů bylo 13 patogenních, tyto patogenní izoláty způsobovaly nekrózu hypokotylů u trav (Ünal, 2024). Současně byly také poškozeny báze rostlin, došlo k jejich zahnědnutí. Míra zahnědnutí byla u testovaných rostlin vyšší než u rostlin inokulovaných patogenem *F. culmorum*, ale nižší než po inokulaci patogenem *C. cereale*.

Patogen rostlin *C. cereale* je u některých druhů obilnin původcem choroby lemovaná stébelná skvrnitost pšenice (kořenomorka), která se projevuje poškozením bází stébel a snížením kořenové hmoty, což naše výsledky potvrdily. Po inokulaci patogenem *C. cereale* došlo ke snížení růstu rostlin a byla pozorována zvýšená míra nekrotizace listů, a dále také nejvyšší procento zahnědlých bází. *C. cereale* způsobuje ztrátu na výnosech (Hamada et al., 2011; Lemańczyk & Kwaśna, 2013) u pšenice a snižuje její růst (Lemańczyk & Kwaśna, 2013), což bylo pozorováno u kořenů i stébel (Mazzola et al., 1997).

U patogena *F. culmorum* jsme předpokládali, že půjde o nejagresivnějšího patogena s nejvyšším negativním dopadem na růst pšenice. Na základě získaných a vyhodnocených výsledků však míra nekrotizace listů nebyla nejvyšší, je však třeba zdůraznit, že mezi nekrotizované listy nebyly započítávány listy mrtvých rostlin. Navíc u rostlin inokulovaných patogenem *F. culmorum* bylo méně listů než u kontrolní varianty nebo varianty inokulované jinými houbami. Přestože jsme u rodu *Fusarium* spp. očekávali vysoký podíl zahnědlých bází, protože se jedná o jednoho z hlavních původců zahnědnutí a chorob bází rostlin (Alananbeh et al., 2023), zjištěná míra zahnědnutí byla po inokulaci *F. culmorum* nižší než u rostlin inokulovaných *C. cereale*.

Expresí genu *PR1* u rostlin inokulovaných *S. indica* byla první den po inokulaci nižší než u kontroly a rostlin inokulovaných houbou *M. bolleyi*. Pokud by nebylo při hodnocení výšky rostlin zjištěno, že rostliny mají po inokulaci *M. bolleyi* nižší růst, pak by mohla být důvodem nižší exprese domněnka, že efekt akumulace kyseliny salicylové (SA) je rychlejší u *M. bolleyi*, než u *S. indica*, a *F. culmorum*. Během testování byla prokázána u rostlin inokulovaných *M. bolleyi* vyšší exprese *PR1* než po inokulaci *C. cereale*, která poukazuje na schopnost houby *C. cereale* potlačit imunitní reakci rostliny. Druhý den byla u rostlin inokulovaných houbou *S. indica* exprese genu *PR1* vyšší, což poukazuje na zvýšenou akumulaci kyseliny salicylové (SA), jelikož *PR* geny jsou indukovány SA a mohou tedy být považovány za biomarkery systémové získané resistance (Ali et al., 2018), která je SA indukovaná (Tripathi et al., 2008). Také v článku autorů Saleem et al., 2022, bylo popsáno, že *S. indica* zvyšuje expresi *WRKY* genů, které jsou zapojené v obranných drahách rostlin. Zvýšená koncentrace kyseliny salicylové může rostlinám pomoci v růstu (Li et al., 2022) a obraně vůči patogenům (Benjamin et al., 2022; War et al., 2011), ale na druhé straně dlouhodobě zvýšená neregulovaná koncentrace SA může způsobit hypersenzitivní reakci (Radojičić et al., 2018). Na základě hodnocení růstu rostlin inokulovaných houbou *S. indica* lze považovat akumulaci SA za prospěšnou pro rostliny, protože hodnocení potvrdilo zlepšení jejich růstu. Expresí *PR1* po inokulaci *S. indica* ve srovnání s expresí po inokulaci rostlin *M. bolleyi* byla vyšší, z čehož vyplývá, že *M. bolleyi* mohla začít indukovat tvorbu látek potlačujících imunitní reakci rostlin. V článku Matusinsky et al. 2022 sledovali expresi *TaPR1.1* u *B. distachyon* způsobenou *M. bolleyi*, kde jejich relativní exprese vykazuje stejný průběh, jako v našich výsledcích.

Expresí *PR1* genů u rostlin inokulovaných *C. cereale* byla nižší než u kontroly a u rostlin inokulovaných houbami *S. indica* a *M. bolleyi*, ale vyšší než u *F. culmorum*. Rostliny inokulované houbou *F. culmorum* vykazovaly nejnižší expresi *PR1* genů. Toto zjištění však můžeme vyhodnotit tak, že rostliny inokulované *C. cereale* a *F. culmorum* se zaměřovaly primárně na expresi chitinázy (*B2H2*).

Třetí den po inokulaci rostliny inokulované houbou *S. indica* stále vykazovaly vyšší expresi *PR1* genů, ale ve srovnání s expresí ve druhém dnu po inokulaci byla hodnoty exprese nižší.

Inokulace houbou *S. indica* vedla ke zvýšení exprese *PR* genů a chitináz pod abiotickým stresem (Wan et al., 2024) a při biotickém stresu oproti kontrole trochu zvýšily expresi, ale když byly společně inokulované s patogenem *Bipolaris sorokiniana* tak expresi *PR* genů snížily (Sarkar et al., 2019). Rostliny inokulované *M. bolleyi* vykazovaly třetí den po inokulaci vyšší expresi *PR1* genů než druhý den, podobně jako v práci u Matušinsky et al. (2022) a také v této práci vykazovaly vyšší expresi než u rostlin inokulovaných *S. indica*. Ve srovnání s expresí genů po inokulaci *C. cereale* a *F. culmorum* byla hodnota exprese po inokulaci *M. bolleyi* nižší. U rostlin inokulovaných *C. cereale* se třetí den hodnota exprese zvýšila a převyšovala doposud všechny naměřené hodnoty. Podobný efekt byl pozorován také u rostlin inokulovaných *F. culmorum*, tato houba ale vyvolala u rostlin nižší hodnoty exprese *PR1* genů, než bylo zjištěno po inokulaci *C. cereale*. U česneku inokulace houbou *F. culmorum* vyvolala vyšší expresi *PR1* genů už v první den než oproti kontrole (Anisimova et al., 2021), ale třetí den vyvolala ještě vyšší expresi (Anisimova et al., 2021). Exprese *PR* genů u rostlin inokulovaných *R. cerealis* u citlivé odrůdy pšenice byla druhý den snížena, ale čtvrtý den byla zvýšena. U odolné odrůdy pšenice byla také druhý den exprese genu snížena (Geng et al., 2022). Zvýšená exprese *Pr5* genu vedla ke zvýšené resistenci proti *R. cerealis* (Datta et al., 1999).

Exprese *B2H2* u rostliny inokulované *S. indica* byla v první den nižší než u kontroly, druhý a třetí den byly hodnoty exprese genu *B2H2* vyšší než u kontroly, bylo zjištěno že chitináza z *S. indica* snižuje tvorbu konidií *Magnaporthe oryzae*. Tzv. ‚housekeeping‘ chitinázy u hub kontinuálně regulují přestavbu buněčné stěny. Exogenní chitinázy jsou součástí buněčného dělení nebo autolýzy u hub (Langner & Göhre, 2016). Chitinázy také mohou být využívány houbou jako obrana proti konkurenčním houbám (Langner & Göhre, 2016). Zvýšená exprese chitinázy rostlinou po inokulaci *S. indica* může být způsobena regulací endofyta rostlinou nebo spoluprací rostliny s endofytem na přestavbě buněčné stěny pro zvýšenou výměnu látek. Jak bylo výše zmíněno, houba *M. bolleyi* se chovala na základě hodnot exprese *PR1* genů a výsledků hodnocení růstu a míry nekrotizace listů spíše jako slabý patogen, oproti kontrole vyvolala ve všech dnech po inokulaci vyšší expresi genu pro chitinázu a to i ve srovnání exprese rostliny nainokulované houbou *S. indica*. Oproti inokulaci houbou *C. cereale* nebyla u rostlin vyvolána dostatečná exprese genu *B2H2*, to naznačuje, že rostliny buď využívaly jiný typ imunitní reakce na houbu *M. bolleyi* nebo pro ně houba nebyla infekčním rizikem, růst rostlin pak mohl být ovlivněn faktory prostředí nebo genotypem rostliny a mikroorganismu (Brader et al., 2017). Inokulace rostlin *C. cereale* v první den vyvolala nižší hodnoty exprese chitinázy než u kontroly, podobně jako při expresi genu *PR1*. Podobný efekt nižší exprese byla vyvolána také po inokulaci *F. culmorum*, jak u *PR1* tak i u chitinázy, ale v obou případech inokulace houbou *C. cereale* vyvolala u rostlin menší hodnoty exprese. Druhý den *C. cereale* vyvolala expresi *B2H2*, tedy ve stejný den, kdy exprese *PR1* byla nejnižší. Inokulace houbou *F. culmorum* vyvolala druhý den také vysokou expresi chitinázy, a to nepatrně vyšší hodnotu než po inokulaci houbou *C. cereale*. Exprese *PR1*

genu byla v druhý den nižší, poukazující, že rostlina začala exprimovat více chitinázy na svou imunitní obranu. To pravděpodobně poukazuje na to, že přestože se houba *M. bolleyi* chovala jako slabý patogen, což potvrdilo také hodnocení růstu a nekrotizace listů, tak nebyla tak patogenní, jako *C. cereale* a *F. culmorum*. V článku Matusínský et al. (2022) při delší expozici (8 dní po inokulaci) *M. bolleyi* se exprese *PR1* genů zvýšila, ale exprese chitinázy byla stále nízká. Třetí den byla exprese chitinázy u rostlin inokulovaných houbou *C. cereale* snížena oproti druhému dnu, ale ve srovnání s kontrolou byla hodnota exprese stále vyšší. Houba *C. cereale* mohla zapojit obranné mechanismy vůči imunitní odpovědi rostliny, případně byla rostlina oslabená. Na základě sledování vzrůstu rostlin bylo vyhodnoceno, že šlo spíše o oslabené rostliny. Houbové patogeny vylučují LysM efekторы, které odstraňují chitinové oligomery a tím zabraňují rozpoznávání chitinu hostitelem (Sánchez-Vallet et al., 2020). U pšeničného patogenu *Zymoseptoria tritici* se zjistilo, že jedna LysM doména obsahuje efektor Mg1LysM, který se podílí na tvorbě dvou typů dimerů: dimeru závislého na chitinu a homodimeru nezávislého na chitinu. Tímto způsobem získává schopnost vytvářet supramolekulární strukturu chitinem indukovanou oligomerizací chitin-nezávislých homodimerů Mg1LysM, což je vlastnost, která poskytuje ochranu buněčným stěnám hub proti chitinázám hostitele (Sánchez-Vallet et al., 2020). Po inokulaci rostlin houbou *F. culmorum* byla zjištěna nižší exprese chitinázy, její hodnota ale byla stále vyšší než u kontroly. Imunitní reakce byla nejpravděpodobněji potlačena patogenem. Při inokulaci melounu *Fusarium oxysporum* a následném sledování exprese chitináz pod abiotickými stimuly byla nejbližší našim výsledkům *ClChi20* a v publikaci je uvedeno, že exprese byly zvýšené většinou po 24 nebo 48 hodinách po inokulaci (Xuan et al., 2024). U *F. oxysporum* byl nalezen efektor Avr1, který může vyvolávat rezistenci vůči chorobě způsobené *F. oxysporum* (De Lamo & Takken, 2020), případně došlo ke zvýšené expresi *PR2* genu, který kóduje glukonázy (Anisimova et al., 2021), tento gen jsme v naší práci nesledovali. Wróbel-Kwiatkowska et al. (2004) zjistili, že při zvýšení exprese glukonáz mají rostliny lnu setého vyšší rezistenci vůči houbám rodu *Fusarium*. Také bylo zjištěno, že chitinázy a glukonázy jsou v synergii, při obraně vůči patogenům (Gkizi et al., 2021; Mauch et al., 2001).

Produkce potravin v Evropě je závislá na používání chemických pesticidů pro udržování výnosů plodin. Choroby jsou tradičně potlačovány pomocí genetické rezistence a pomocí chemických pesticidů, které mají ve většině případů dobrou účinnost (Hirooka & Ishii, 2013). Používání pesticidů se však v průběhu let potýkalo s obtížemi kvůli jeho nadměrnému používání, které vedlo k selekci populací rezistentních patogenů (Lucas et al., 2015). V důsledku tohoto se v posledních letech zvýšil zájem o studium alternativních opatření. Jedním z nástrojů, kterým byla věnována pozornost, byla biologická ochrana (O'Brien, 2017) a indukovaná rezistence (Hammerschmidt, 1999; Walters et al., 2013).

Rozsáhlé používání chemických pesticidů má negativní vliv na životní prostředí a způsobuje kontaminaci vody, půdy a ovzduší, negativně ovlivňuje biodiverzitu a vede k tvorbě rezistentních

populací škůdců. Vystavení chemickým pesticidům způsobuje u lidí chronická onemocnění, jako jsou například rakovina, srdeční, neurologická a respirační onemocnění (European Environment Agency, 2023). I když je expozice jednotlivým pesticidům krátká a nízká, směsi pesticidů a dalších chemických látek mohou způsobit nežádoucí účinky (Rizzati et al., 2016). Některé pesticidní účinné látky jsou schopné narušit endokrinní systém (systém žláz s vnitřní sekrecí) a mohou mít nežádoucí vliv na zdraví už při nízkých dávkách (Leemans et al., 2019). Některé potenciální toxikologické účinky pesticidů spojené s expozicí účinným látkám nemusí být stávajícími testovacími metodami detekovány a mohou způsobovat choroby, jako například diabetes, Parkinsonova choroba, dětská leukémie, imunotoxicita, duševní choroby a další neuropsychologické účinky (European Commission. Directorate General for Research and Innovation. & European Commission's Group of Chief Scientific Advisors, 2018).

Vzhledem k výše zmíněným rizikům spojeným s používáním pesticidů a neustálé hrozbě negativního vlivu patogenů na zdraví rostlin by mohlo být použití mikroorganismů pro biologickou ochranu rostlin slibným řešením.

## 7. Závěr

V teoretické části byla vypracovaná rešerše na aktuální stav endofytů, popis imunitního systému rostlin a popis rostliny *T. aestivum*, houbových endofytů *S. indica* a *M. bolleyi*, houbových patogenů *C. cereale* a *F. culmorum*. Také bylo pojednáno o významu endofytických organismů v biotechnologiích a farmacii.

V experimentální části byla pěstována pšenice setá (*T. aestivum*), která pak byla inokulována endofyty *S. indica* a *M. bolleyi* nebo patogeny *F. culmorum* a *C. cereale*. Byl hodnocen stav rostlin měsíc po setí, kde *S. indica* měla nejlepší účinek na růst a snížila nekrotizaci listů, *M. bolleyi* se chovala spíše jako patogen, *C. cereale* vyvolala nejvyšší nekrotizaci listů a *F. culmorum* některé rostliny usmrtila.

Pomocí qPCR byla změřena genová exprese dvou genů *PR1* a *B2H2*, které se podílí na imunitní reakci rostlin a hodnocen vliv endofytů nebo patogenů. Houba *S. indica* vyvolala nejnižší expresi u obou genů. Houba *M. bolleyi* vyvolala vyšší expresi *PR1* genů, ale nevyvolala tak vysokou expresi *B2H2*. Houby *C. cereale* a *F. culmorum* vyvolaly vyšší expresi *PR1* až třetí den po inokulaci. Statisticky významná byla exprese genu *B2H2* u hub *C. cereale* a *F. culmorum*, která byla 20x vyšší.

Získané výsledky potvrdily, že endofyti *S. indica* a *M. bolleyi* vyvolávají nižší imunitní reakci rostlin *T. aestivum* než patogeny *C. cereale* a *F. culmorum*. Naše výsledky by mohly pomoci s pochopením interakce rostlin s endofyty a pochopením imunitní reakce rostlin.

## 8. Literatura

Abdelaziz, M. E., Abdelsattar, M., Abdeldaym, E. A., Atia, M. A. M., Mahmoud, A. W. M., Saad, M. M., & Hirt, H. (2019). Piriformospora indica alters Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> homeostasis, antioxidant enzymes and LeNHX1 expression of greenhouse tomato grown under salt stress. *Scientia Horticulturae*, 256, 108532. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.05.059>

Abdelrahman, M., Sawada, Y., Nakabayashi, R., Sato, S., Hirakawa, H., El-Sayed, M., Hirai, M. Y., Saito, K., Yamauchi, N., & Shigyo, M. (2015). Integrating transcriptome and target metabolome variability in doubled haploids of *Allium cepa* for abiotic stress protection. *Molecular Breeding*, 35(10), 195. <https://doi.org/10.1007/s11032-015-0378-2>

Abdullah, M. T., Ali, N. Y., & Suleman, P. (2008). Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary with *Trichoderma harzianum* and *Bacillus amyloliquefaciens*. *Crop Protection*, 27(10), 1354–1359. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2008.05.007>

Abhijeet Singh, Y. M. (2014). Understanding the Biodiversity and Biological Applications of Endophytic Fungi: A Review. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, s8(01). <https://doi.org/10.4172/1948-5948.S8-004>

Abramovitch, R. B., Anderson, J. C., & Martin, G. B. (2006). Bacterial elicitation and evasion of plant innate immunity. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 7(8), 601–611. <https://doi.org/10.1038/nrm1984>

Ahmed, A., Randhawa, M. A., & Sajid, M. W. (2014). Bioavailability of Calcium, Iron, and Zinc in Whole Wheat Flour. In *Wheat and Rice in Disease Prevention and Health* (s. 67–80). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-401716-0.00006-4>

Akshatha, V. J., Nalini, M. S., D'Souza, C., & Prakash, H. S. (2014). Streptomycete endophytes from anti-diabetic medicinal plants of the Western Ghats inhibit alpha-amylase and promote glucose uptake. *Letters in Applied Microbiology*, 58(5), 433–439. <https://doi.org/10.1111/lam.12209>

Aktar, W., Sengupta, D., & Chowdhury, A. (2009). Impact of pesticides use in agriculture: Their benefits and hazards. *Interdisciplinary Toxicology*, 2(1), 1–12. <https://doi.org/10.2478/v10102-009-0001-7>

Alananbeh, K., Al-Abdallat, A., & Al-Hiary, H. (2023). First report of *Fusarium culmorum* (W.G. Sm.) Sacc causing crown rot on wheat in Jordan. *Plant Disease*, PDIS-08-23-1714-PDN. <https://doi.org/10.1094/PDIS-08-23-1714-PDN>

Ali, A. H., Abdelrahman, M., Radwan, U., El-Zayat, S., & El-Sayed, M. A. (2018). Effect of *Thermomyces* fungal endophyte isolated from extreme hot desert-adapted plant on heat stress tolerance of cucumber. *Applied Soil Ecology*, 124, 155–162. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.11.004>

Ali, S., Ganai, B. A., Kamili, A. N., Bhat, A. A., Mir, Z. A., Bhat, J. A., Tyagi, A., Islam, S. T., Mushtaq, M., Yadav, P., Rawat, S., & Grover, A. (2018). Pathogenesis-related proteins and peptides as promising tools for engineering plants with multiple stress tolerance. *Microbiological Research*, 212–213, 29–37. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.04.008>

Alori, E. T., Glick, B. R., & Babalola, O. O. (2017). Microbial Phosphorus Solubilization and Its Potential for Use in Sustainable Agriculture. *Frontiers in Microbiology*, 8, 971. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00971>

Alvarez, M. E., Pennell, R. I., Meijer, P.-J., Ishikawa, A., Dixon, R. A., & Lamb, C. (1998). Reactive Oxygen Intermediates Mediate a Systemic Signal Network in the Establishment of Plant Immunity. *Cell*, 92(6), 773–784. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81405-1](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81405-1)

Anisimova, O. K., Shchennikova, A. V., Kochieva, E. Z., & Filyushin, M. A. (2021). Pathogenesis-Related Genes of PR1, PR2, PR4, and PR5 Families Are Involved in the Response to *Fusarium* Infection in Garlic (*Allium sativum* L.). *International Journal of Molecular Sciences*, 22(13), 6688. <https://doi.org/10.3390/ijms22136688>

Arnold, A. E., Mejía, L. C., Kylo, D., Rojas, E. I., Maynard, Z., Robbins, N., & Herre, E. A. (2003). Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 100(26), 15649–15654. <https://doi.org/10.1073/pnas.2533483100>

- Arshad, M., Saleem, M., & Hussain, S. (2007). Perspectives of bacterial ACC deaminase in phytoremediation. *Trends in Biotechnology*, 25(8), 356–362. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2007.05.005>
- Ateba, J., Toghuego, R., Awantu, A., Mba'ning, B., Gohlke, S., Sahal, D., Rodrigues-Filho, E., Tsamo, E., Boyom, F., Sewald, N., & Lenta, B. (2018). Antiplasmodial Properties and Cytotoxicity of Endophytic Fungi from *Symphonia globulifera* (Clusiaceae). *Journal of Fungi*, 4(2), 70. <https://doi.org/10.3390/jof4020070>
- Ausubel, F. M. (2005). Are innate immune signaling pathways in plants and animals conserved? *Nature Immunology*, 6(10), 973–979. <https://doi.org/10.1038/ni1253>
- Ayaz, M., Li, C.-H., Ali, Q., Zhao, W., Chi, Y.-K., Shafiq, M., Ali, F., Yu, X.-Y., Yu, Q., Zhao, J.-T., Yu, J.-W., Qi, R.-D., & Huang, W.-K. (2023). Bacterial and Fungal Biocontrol Agents for Plant Disease Protection: Journey from Lab to Field, Current Status, Challenges, and Global Perspectives. *Molecules*, 28(18), 6735. <https://doi.org/10.3390/molecules28186735>
- Babalola, O. (2010). *Ethylene\_quantification\_in\_three\_rhizobacterial\_is.pdf*. <https://www.ajol.info/index.php/ejb/article/view/56572>
- Babu, A. G., & Reddy, M. S. (2011). Dual Inoculation of Arbuscular Mycorrhizal and Phosphate Solubilizing Fungi Contributes in Sustainable Maintenance of Plant Health in Fly Ash Ponds. *Water, Air, & Soil Pollution*, 219(1–4), 3–10. <https://doi.org/10.1007/s11270-010-0679-3>
- Backman, P. A., & Sikora, R. A. (2008). Endophytes: An emerging tool for biological control. *Biological Control*, 46(1), 1–3. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.03.009>
- Bacon, C. W., & White, J. F. (2016). Functions, mechanisms and regulation of endophytic and epiphytic microbial communities of plants. *Symbiosis*, 68(1–3), 87–98. <https://doi.org/10.1007/s13199-015-0350-2>
- Bacon, & Hinton. (2006). *Plant-Associated Bacteria*. <https://link.springer.com/book/10.1007/978-1-4020-4538-7>
- Baker, S., & Satish, S. (2012). Endophytes: Natural Warehouse of Bioactive Compounds. *Drug Invention Today*. [https://www.researchgate.net/publication/235780569\\_Drug\\_Invention\\_Today\\_Endophytes\\_Natural\\_Warehouse\\_of\\_Bioactive\\_Compounds](https://www.researchgate.net/publication/235780569_Drug_Invention_Today_Endophytes_Natural_Warehouse_of_Bioactive_Compounds)
- Bashyal, B. P., Wellensiek, B. P., Ramakrishnan, R., Faeth, S. H., Ahmad, N., & Gunatilaka, A. A. L. (2014). Alttoxins with potent anti-HIV activity from *Alternaria tenuissima* QUE1Se, a fungal endophyte of *Quercus emoryi*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 22(21), 6112–6116. <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2014.08.039>
- Bazin, J., Mariappan, K., Jiang, Y., Blein, T., Voelz, R., Crespi, M., & Hirt, H. (2020). Role of MPK4 in pathogen-associated molecular pattern-triggered alternative splicing in Arabidopsis. *PLOS Pathogens*, 16(4), e1008401. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008401>
- Benjamin, G., Pandharikar, G., & Frendo, P. (2022). Salicylic Acid in Plant Symbioses: Beyond Plant Pathogen Interactions. *Biology*, 11(6), 861. <https://doi.org/10.3390/biology11060861>
- Beth Mudgett, M. (2005). NEW INSIGHTS TO THE FUNCTION OF PHYTOPATHOGENIC BACTERIAL TYPE III EFFECTORS IN PLANTS. *Annual Review of Plant Biology*, 56(1), 509–531. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.56.032604.144218>
- Bhattacharyya, P. N., & Jha, D. K. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(4), 1327–1350. <https://doi.org/10.1007/s11274-011-0979-9>
- Bigeard, J., Colcombet, J., & Hirt, H. (2015). Signaling Mechanisms in Pattern-Triggered Immunity (PTI). *Molecular Plant*, 8(4), 521–539. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2014.12.022>
- Bilal, S., Shahzad, R., Imran, M., Jan, R., Kim, K. M., & Lee, I.-J. (2020). Synergistic association of endophytic fungi enhances *Glycine max* L. resilience to combined abiotic stresses: Heavy metals, high temperature and drought stress. *Industrial Crops and Products*, 143, 111931. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111931>

- Biswas, T., Kalra, A., Mathur, A. K., Lal, R. K., Singh, M., & Mathur, A. (2016). Elicitors' influenced differential ginsenoside production and exudation into medium with concurrent Rg3/Rh2 panaxadiol induction in *Panax quinquefolius* cell suspensions. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *100*(11), 4909–4922. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-7264-z>
- Bloemen, J., McGuire, M. A., Aubrey, D. P., Teskey, R. O., & Steppe, K. (2013). Transport of root-respired CO<sub>2</sub> via the transpiration stream affects aboveground carbon assimilation and CO<sub>2</sub> efflux in trees. *New Phytologist*, *197*(2), 555–565. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2012.04366.x>
- Bourgau, F., Gravot, A., Milesi, S., & Gontier, E. (2001). Production of plant secondary metabolites: A historical perspective. *Plant Science*, *161*(5), 839–851. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(01\)00490-3](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00490-3)
- Bowling, S. A., Clarke, J. D., Liu, Y., Klessig, D. F., & Dong, X. (1997). The cpr5 mutant of *Arabidopsis* expresses both NPR1-dependent and NPR1-independent resistance. *The Plant Cell*, *9*(9), 1573–1584. <https://doi.org/10.1105/tpc.9.9.1573>
- Bowling, S. A., Guo, A., Cao, H., Gordon, A. S., Klessig, D. F., & Dong, X. (1994). A mutation in *Arabidopsis* that leads to constitutive expression of systemic acquired resistance. *The Plant Cell*, *6*(12), 1845–1857. <https://doi.org/10.1105/tpc.6.12.1845>
- Brader, G., Compant, S., Vescio, K., Mitter, B., Trognitz, F., Ma, L.-J., & Sessitsch, A. (2017). Ecology and Genomic Insights into Plant-Pathogenic and Plant-Nonpathogenic Endophytes. *Annual Review of Phytopathology*, *55*(1), 61–83. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080516-035641>
- Brooks, D. M., Bender, C. L., & Kunkel, B. N. (2005). The *Pseudomonas syringae* phytotoxin coronatine promotes virulence by overcoming salicylic acid-dependent defences in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Plant Pathology*, *6*(6), 629–639. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2005.00311.x>
- Cao, H., Bowling, S. A., Gordon, A. S., & Dong, X. (1994). Characterization of an *Arabidopsis* Mutant That Is Nonresponsive to Inducers of Systemic Acquired Resistance. *The Plant Cell*, *1583*–1592. <https://doi.org/10.1105/tpc.6.11.1583>
- Cao, H., Li, X., & Dong, X. (1998). Generation of broad-spectrum disease resistance by overexpression of an essential regulatory gene in systemic acquired resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *95*(11), 6531–6536. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.11.6531>
- Castillo, U., Harper, J. K., Strobel, G. A., Sears, J., Alesi, K., Ford, E., Lin, J., Hunter, M., Maranta, M., Ge, H., Yaver, D., Jensen, J. B., Porter, H., Robison, R., Millar, D., Hess, W. M., Condrón, M., & Teplow, D. (2003). Kakadumycins, novel antibiotics from *Streptomyces* sp. NRRL 30566, an endophyte of *Grevillea pteridifolia*. *FEMS Microbiology Letters*, *224*(2), 183–190. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(03\)00426-9](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(03)00426-9)
- Cibulka, R. (2010). *TRITICUM AESTIVUM L. – pšenice setá \_ pšenica letná \_ BOTANY.cz.pdf*. <https://botany.cz/cs/triticum-aestivum/>
- Clark, D. P., Pazdernik, N. J., & McGehee, M. R. (2019). Genome Defense. In *Molecular Biology* (s. 622–653). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813288-3.00020-3>
- Collinge, D. B., Jensen, B., & Jørgensen, H. J. (2022). Fungal endophytes in plants and their relationship to plant disease. *Current Opinion in Microbiology*, *69*, 102177. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2022.102177>
- Constantin, M. E., de Lamo, F. J., Vlieger, B. V., Rep, M., & Takken, F. L. W. (2019). Endophyte-Mediated Resistance in Tomato to *Fusarium oxysporum* Is Independent of ET, JA, and SA. *Frontiers in Plant Science*, *10*, 979. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00979>
- Corbett, E. L., Watt, C. J., & Walker, N. (2003). The Growing Burden of Tuberculosis Global Trends and Interactions With the HIV Epidemic. *JAMA Internal Medicine*.
- Cordier, C., Pozo, M. J., Barea, J. M., Gianinazzi, S., & Gianinazzi-Pearson, V. (1998). Cell Defense Responses Associated with Localized and Systemic Resistance to *Phytophthora parasitica* Induced in Tomato by an Arbuscular Mycorrhizal Fungus. *Molecular Plant-Microbe Interactions*®, *11*(10), 1017–1028. <https://doi.org/10.1094/MPMI.1998.11.10.1017>



- Cosma, M. P. (2002). Ordered Recruitment. *Molecular Cell*, 10(2), 227–236. [https://doi.org/10.1016/S1097-2765\(02\)00604-4](https://doi.org/10.1016/S1097-2765(02)00604-4)
- Dai, C., Yu, B., & Li, X. (2008). Screening of endophytic fungi that promote the growth of *Euphorbia pekinensis*. <https://www.ajol.info/index.php/ajb/article/view/59361>
- D'Alessandro, U. (2009). Existing antimalarial agents and malaria-treatment strategies. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 10(8), 1291–1306. <https://doi.org/10.1517/14656560902942319>
- Damalas, C., & Koutroubas, S. (2016). Farmers' Exposure to Pesticides: Toxicity Types and Ways of Prevention. *Toxics*, 4(1), 1. <https://doi.org/10.3390/toxics4010001>
- Dangl, J. L., & Jones, J. D. G. (2001). Plant pathogens and integrated defence responses to infection. *Nature*, 411(6839), 826–833. <https://doi.org/10.1038/35081161>
- Datta, K., Velazhahan, R., Oliva, N., Ona, I., Mew, T., Khush, G. S., Muthukrishnan, S., & Datta, S. K. (1999). Over-expression of the cloned rice thaumatin-like protein (PR-5) gene in transgenic rice plants enhances environmental friendly resistance to *Rhizoctonia solani* causing sheath blight disease: *Theoretical and Applied Genetics*, 98(6–7), 1138–1145. <https://doi.org/10.1007/s001220051178>
- De Kesel, J., Conrath, U., Flors, V., Luna, E., Mageroy, M. H., Mauch-Mani, B., Pastor, V., Pozo, M. J., Pieterse, C. M. J., Ton, J., & Kyndt, T. (2021). The Induced Resistance Lexicon: Do's and Don'ts. *Trends in Plant Science*, 26(7), 685–691. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2021.01.001>
- De Lamo, F. J., & Takken, F. L. W. (2020). Biocontrol by *Fusarium oxysporum* Using Endophyte-Mediated Resistance. *Frontiers in Plant Science*, 11, 37. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00037>
- De Silva, N. I., Brooks, S., Lumyong, S., & Hyde, K. D. (2019). Use of endophytes as biocontrol agents. *Fungal Biology Reviews*, 33(2), 133–148. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2018.10.001>
- Dean, & Kuć. (1986). *Induced systemic protection in cucumbers: The source of the "signal"*. [https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1986Articles/Phyto76n10\\_966.PDF](https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/Documents/1986Articles/Phyto76n10_966.PDF)
- Delaney, T. P., Friedrich, L., & Ryals, J. A. (1995). Arabidopsis signal transduction mutant defective in chemically and biologically induced disease resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(14), 6602–6606. <https://doi.org/10.1073/pnas.92.14.6602>
- Deng, Y., Chen, H., Li, C., Xu, J., Qi, Q., Xu, Y., Zhu, Y., Zheng, J., Peng, D., Ruan, L., & Sun, M. (2019). Endophyte *Bacillus subtilis* evade plant defense by producing lantibiotic subtilomycin to mask self-produced flagellin. *Communications Biology*, 2(1), 368. <https://doi.org/10.1038/s42003-019-0614-0>
- Deng, Z., & Cao, L. (2017). Fungal endophytes and their interactions with plants in phytoremediation: A review. *Chemosphere*, 168, 1100–1106. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.10.097>
- Dhankhar, S., Dhankhar, S., & Parkash Yadav, J. (2013). Investigations Towards New Antidiabetic Drugs from Fungal Endophytes Associated with *Salvadora Oleoides* Decne. *Medicinal Chemistry*, 9(4), 624–632. <https://doi.org/10.2174/1573406411309040017>
- Dolatabadian, A. (2021). *Plant–Microbe Interaction*. <https://doi.org/10.3390/biology10010015>
- Durrant, W. E., & Dong, X. (2004). SYSTEMIC ACQUIRED RESISTANCE. *Annual Review of Phytopathology*, 42(1), 185–209. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.42.040803.140421>
- Dutta, D., Puzari, K. C., Gogoi, R., & Dutta, P. (2014). Endophytes: Exploitation as a tool in plant protection. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 57(5), 621–629. <https://doi.org/10.1590/S1516-8913201402043>
- Eid, A. M., Salim, S. S., Hassan, S. E.-D., Ismail, M. A., & Fouda, A. (2019). Role of Endophytes in Plant Health and Abiotic Stress Management. In V. Kumar, R. Prasad, M. Kumar, & D. K. Choudhary (Ed.), *Microbiome in Plant Health and Disease* (s. 119–144). Springer Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-8495-0\\_6](https://doi.org/10.1007/978-981-13-8495-0_6)

- Elgorban, A. M., Bahkali, A. H., Al Farraj, D. A., & Abdel-Wahab, M. A. (2019). Natural products of *Alternaria* sp., an endophytic fungus isolated from *Salvadora persica* from Saudi Arabia. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(5), 1068–1077. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.04.010>
- Elsherbiny, E. A., Taher, M. A., & Elsebai, M. F. (2019). Activity of *Purpureocillium lilacinum* filtrates on biochemical characteristics of *Sclerotinia sclerotiorum* and induction of defense responses in common bean. *European Journal of Plant Pathology*, 155(1), 39–52. <https://doi.org/10.1007/s10658-019-01748-5>
- European Commission. Directorate General for Research and Innovation. & European Commission's Group of Chief Scientific Advisors. (2018). *EU authorisation processes of plant protection products from a scientific point of view: Group of Chief Scientific Advisors : scientific opinion 5 (supported by SAPEA evidence review report No. 3) : Brussels, 4 June 2018*. Publications Office. <https://data.europa.eu/doi/10.2777/238919>
- European Environment Agency. (2023). *How pesticides impact human health and ecosystems in Europe*. Publications Office. <https://data.europa.eu/doi/10.2800/760240>
- Fadiji, A. E., & Babalola, O. O. (2020). Elucidating Mechanisms of Endophytes Used in Plant Protection and Other Bioactivities With Multifunctional Prospects. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 8, 467. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.00467>
- Falk, A., Feys, B. J., Frost, L. N., Jones, J. D. G., Daniels, M. J., & Parker, J. E. (1999). *EDS1*, an essential component of *R* gene-mediated disease resistance in *Arabidopsis* has homology to eukaryotic lipases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(6), 3292–3297. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.6.3292>
- Felix, G., & Boller, T. (2003). Molecular Sensing of Bacteria in Plants. *Journal of Biological Chemistry*, 278(8), 6201–6208. <https://doi.org/10.1074/jbc.M209880200>
- Felix, G., Duran, J. D., Volko, S., & Boller, T. (1999). Plants have a sensitive perception system for the most conserved domain of bacterial flagellin. *The Plant Journal*, 18(3), 265–276. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.1999.00265.x>
- Ferreira, M. C., Cantrell, C. L., Wedge, D. E., Gonçalves, V. N., Jacob, M. R., Khan, S., Rosa, C. A., & Rosa, L. H. (2017). Antimycobacterial and antimalarial activities of endophytic fungi associated with the ancient and narrowly endemic neotropical plant *Vellozia gigantea* from Brazil. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 112(10), 692–697. <https://doi.org/10.1590/0074-02760170144>
- Fialho de Oliveira, M., Germano da Silva, M., & Van Der Sand, S. T. (2010). Anti-phytopathogen potential of endophytic actinobacteria isolated from tomato plants (*Lycopersicon esculentum*) in southern Brazil, and characterization of *Streptomyces* sp. R18(6), a potential biocontrol agent. *Research in Microbiology*, 161(7), 565–572. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2010.05.008>
- Fontana, D. C., de Paula, S., Torres, A. G., de Souza, V. H. M., Pascholati, S. F., Schmidt, D., & Dourado Neto, D. (2021). Endophytic Fungi: Biological Control and Induced Resistance to Phytopathogens and Abiotic Stresses. *Pathogens*, 10(5), 570. <https://doi.org/10.3390/pathogens10050570>
- Friedrich, L., Lawton, K., Dietrich, R., Willits, M., Cade, R., & Ryals, J. (2001). *NIMI* Overexpression in *Arabidopsis* Potentiates Plant Disease Resistance and Results in Enhanced Effectiveness of Fungicides. *Molecular Plant-Microbe Interactions®*, 14(9), 1114–1124. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2001.14.9.1114>
- Ganley, R. J., Snieszko, R. A., & Newcombe, G. (2008). Endophyte-mediated resistance against white pine blister rust in *Pinus monticola*. *Forest Ecology and Management*, 255(7), 2751–2760. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2008.01.052>
- Gao, D., & Tao, Y. (2012). Current molecular biologic techniques for characterizing environmental microbial community. *Frontiers of Environmental Science & Engineering*, 6(1), 82–97. <https://doi.org/10.1007/s11783-011-0306-6>

Gao, F., Dai, C., & Liu, X. (2010). Mechanisms of fungal endophytes in plant protection against pathogens. *African Journal of Microbiology Research*. <http://www.academicjournals.org/ajmr>

Geng, X., Gao, Z., Zhao, L., Zhang, S., Wu, J., Yang, Q., Liu, S., & Chen, X. (2022). Comparative transcriptome analysis of resistant and susceptible wheat in response to *Rhizoctonia cerealis*. *BMC Plant Biology*, 22(1), 235. <https://doi.org/10.1186/s12870-022-03584-y>

Gimenez, C., Cabrera, R., Reina, M., & Gonzalez-Coloma, A. (2007). Fungal Endophytes and their Role in Plant Protection. *Current Organic Chemistry*, 11(8), 707–720. <https://doi.org/10.2174/138527207780598765>

Gkizi, D., Poulaki, E. G., & Tjamos, S. E. (2021). Towards Biological Control of *Aspergillus carbonarius* and *Botrytis cinerea* in Grapevine Berries and Transcriptomic Changes of Genes Encoding Pathogenesis-Related (PR) Proteins. *Plants*, 10(5), 970. <https://doi.org/10.3390/plants10050970>

Glazebrook, J. (2005). Contrasting Mechanisms of Defense Against Biotrophic and Necrotrophic Pathogens. *Annual Review of Phytopathology*, 43(1), 205–227. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.43.040204.135923>

Godstime, Enwa, & Jewo. (2014). Mechanisms of Antimicrobial Actions of Phytochemicals against Enteric Pathogens – A Review. *Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences*, 77–85.

Gómez-Gómez, L., & Boller, T. (2002). Flagellin perception: A paradigm for innate immunity. *Trends in Plant Science*, 7(6), 251–256. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02261-6](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02261-6)

Gouda, S., Das, G., Sen, S. K., Shin, H.-S., & Patra, J. K. (2016). Endophytes: A Treasure House of Bioactive Compounds of Medicinal Importance. *Frontiers in Microbiology*, 7. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01538>

Grant, S. R., Fisher, E. J., Chang, J. H., Mole, B. M., & Dangl, J. L. (2006). Subterfuge and Manipulation: Type III Effector Proteins of Phytopathogenic Bacteria. *Annual Review of Microbiology*, 60(1), 425–449. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.60.080805.142251>

Grosch, R., Scherwinski, K., Lottmann, J., & Berg, G. (2006). Fungal antagonists of the plant pathogen *Rhizoctonia solani*: Selection, control efficacy and influence on the indigenous microbial community. *Mycological Research*, 110(12), 1464–1474. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2006.09.014>

Gul Jan, F., Hamayun, M., Hussain, A., Jan, G., Iqbal, A., Khan, A., & Lee, I.-J. (2019). An endophytic isolate of the fungus *Yarrowia lipolytica* produces metabolites that ameliorate the negative impact of salt stress on the physiology of maize. *BMC Microbiology*, 19(1), 3. <https://doi.org/10.1186/s12866-018-1374-6>

Guler, N. S., Pehlivan, N., Karaoglu, S. A., Guzel, S., & Bozdeveci, A. (2016). *Trichoderma atroviride* ID20G inoculation ameliorates drought stress-induced damages by improving antioxidant defence in maize seedlings. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38(6), 132. <https://doi.org/10.1007/s11738-016-2153-3>

Guo, M., Tian, F., Wamboldt, Y., & Alfano, J. R. (2009). The Majority of the Type III Effector Inventory of *Pseudomonas syringae* pv. *Tomato* DC3000 Can Suppress Plant Immunity. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 22(9), 1069–1080. <https://doi.org/10.1094/MPMI-22-9-1069>

Hamada, M. S., Yin, Y., Chen, H., & Ma, Z. (2011). The escalating threat of *Rhizoctonia cerealis*, the causal agent of sharp eyespot in wheat. *Pest Management Science*, 67(11), 1411–1419. <https://doi.org/10.1002/ps.2236>

Hammerschmidt, R. (1999). Induced disease resistance: How do induced plants stop pathogens? *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 55(2), 77–84. <https://doi.org/10.1006/pmpp.1999.0215>

Harper, J. K., Mulgrew, A. E., Li, J. Y., Barich, D. H., Strobel, G. A., & Grant, D. M. (2001). Characterization of Stereochemistry and Molecular Conformation Using Solid-State NMR

Tensors. *Journal of the American Chemical Society*, 123(40), 9837–9842. <https://doi.org/10.1021/ja0109971>

Heil, M., Hilpert, A., Kaiser, W., & Linsenmair, K. E. (2000). Reduced growth and seed set following chemical induction of pathogen defence: Does systemic acquired resistance (SAR) incur allocation costs? *Journal of Ecology*, 88(4), 645–654. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2745.2000.00479.x>

Hirooka, T., & Ishii, H. (2013). Chemical control of plant diseases. *Journal of General Plant Pathology*, 79(6), 390–401. <https://doi.org/10.1007/s10327-013-0470-6>

Hong, S.-K., Kim, W.-G., Choi, H.-W., & Lee, S.-Y. (2008). Identification of *Microdochium bolleyi* Associated with Basal Rot of Creeping Bent Grass in Korea. *Mycobiology*, 36(2), 77–80. <https://doi.org/10.4489/MYCO.2008.36.2.077>

Hood, & Shew. (1996). *Applications of KOH-Aniline Blue Fluorescence in the Study of Plant-Fungal Interactions*. [https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/documents/1996articles/phyto86n07\\_704.pdf](https://www.apsnet.org/publications/phytopathology/backissues/documents/1996articles/phyto86n07_704.pdf)

Hosseini, F., Mosaddeghi, M. R., & Dexter, A. R. (2017). Effect of the fungus *Piriformospora indica* on physiological characteristics and root morphology of wheat under combined drought and mechanical stresses. *Plant Physiology and Biochemistry*, 118, 107–120. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2017.06.005>

Hosseyni Moghaddam, M. S., Safaie, N., Soltani, J., & Hagh-Doust, N. (2021). Desert-adapted fungal endophytes induce salinity and drought stress resistance in model crops. *Plant Physiology and Biochemistry*, 160, 225–238. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2021.01.022>

Hussain, Md. S., Rahman, Md. A., Fareed, S., Ansari, S., Ahmad, I., & Mohd. Saeed. (2012). Current approaches toward production of secondary plant metabolites. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 4(1), 10. <https://doi.org/10.4103/0975-7406.92725>

Hyde, & Soyong. (2008). *The fungal endophyte dilemma*. [https://www.researchgate.net/publication/261401775\\_The\\_fungal\\_endophyte\\_dilemma](https://www.researchgate.net/publication/261401775_The_fungal_endophyte_dilemma)

Chisholm, S. T., Coaker, G., Day, B., & Staskawicz, B. J. (2006). Host-Microbe Interactions: Shaping the Evolution of the Plant Immune Response. *Cell*, 124(4), 803–814. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.02.008>

Choudhary, D. K., Prakash, A., & Johri, B. N. (2007). Induced systemic resistance (ISR) in plants: Mechanism of action. *Indian Journal of Microbiology*, 47(4), 289–297. <https://doi.org/10.1007/s12088-007-0054-2>

Ikram, M., Ali, N., Jan, G., Jan, F. G., Rahman, I. U., Iqbal, A., & Hamayun, M. (2018). IAA producing fungal endophyte *Penicillium roqueforti* Thom., enhances stress tolerance and nutrients uptake in wheat plants grown on heavy metal contaminated soils. *PLOS ONE*, 13(11), e0208150. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208150>

Inbar, J., Menendez, A., & Chet, I. (1996). Hyphal interaction between *Trichoderma harzianum* and *Sclerotinia sclerotiorum* and its role in biological control. *Soil Biology and Biochemistry*. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(96\)00010-7](https://doi.org/10.1016/0038-0717(96)00010-7)

Iqbal, Z., Iqbal, M. S., Hashem, A., Abd\_Allah, E. F., & Ansari, M. I. (2021). Plant Defense Responses to Biotic Stress and Its Interplay With Fluctuating Dark/Light Conditions. *Frontiers in Plant Science*, 12, 631810. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.631810>

Ismail, Hamayun, M., Hussain, A., Iqbal, A., Khan, S. A., & Lee, I.-J. (2020). *Aspergillus niger* boosted heat stress tolerance in sunflower and soybean via regulating their metabolic and antioxidant system. *Journal of Plant Interactions*, 15(1), 223–232. <https://doi.org/10.1080/17429145.2020.1771444>

Jalgaonwala, R. E., Mohite, B. V., & Mahajan, R. T. (2011). *A review: Natural products from plant associated endophytic fungi*.

Jenns, A. E. (1979). Graft Transmission of Systemic Resistance of Cucumber to Anthracnose Induced by *Colletotrichum lagenarium* and Tobacco Necrosis Virus. *Phytopathology*, 69(7), 753. <https://doi.org/10.1094/Phyto-69-753>

- Jirage, D., Tootle, T. L., Reuber, T. L., Frost, L. N., Feys, B. J., Parker, J. E., Ausubel, F. M., & Glazebrook, J. (1999). *Arabidopsis thaliana* PAD4 encodes a lipase-like gene that is important for salicylic acid signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(23), 13583–13588. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.23.13583>
- Jogawat, A., Saha, S., Bakshi, M., Dayaman, V., Kumar, M., Dua, M., Varma, A., Oelmüller, R., Tuteja, N., & Johri, A. K. (2013). *Piriformospora indica* rescues growth diminution of rice seedlings during high salt stress. *Plant Signaling & Behavior*, 8(10), e26891. <https://doi.org/10.4161/psb.26891>
- Jones, J. D. G., & Dangl, J. L. (2006). The plant immune system. *Nature*, 444(7117), 323–329. <https://doi.org/10.1038/nature05286>
- Joseph, B., & Priya, R. M. (2011). Bioactive Compounds from Endophytes and their Potential in Pharmaceutical Effect: A Review. *American Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 1(3), 291–309. <https://doi.org/10.3923/ajbmb.2011.291.309>
- Kamoun, S., Furzer, O., Jones, J. D. G., Judelson, H. S., Ali, G. S., Dalio, R. J. D., Roy, S. G., Schena, L., Zambounis, A., Panabières, F., Cahill, D., Ruocco, M., Figueiredo, A., Chen, X., Hulvey, J., Stam, R., Lamour, K., Gijzen, M., Tyler, B. M., ... Govers, F. (2015). The Top 10 oomycete pathogens in molecular plant pathology. *Molecular Plant Pathology*, 16(4), 413–434. <https://doi.org/10.1111/mpp.12190>
- Kamran, M., Imran, Q. M., Ahmed, M. B., Falak, N., Khatoon, A., & Yun, B.-W. (2022). Endophyte-Mediated Stress Tolerance in Plants: A Sustainable Strategy to Enhance Resilience and Assist Crop Improvement. *Cells*, 11(20), 3292. <https://doi.org/10.3390/cells11203292>
- Kang, J. W., Khan, Z., & Doty, S. L. (2012). Biodegradation of Trichloroethylene by an Endophyte of Hybrid Poplar. *Applied and Environmental Microbiology*, 78(9), 3504–3507. <https://doi.org/10.1128/AEM.06852-11>
- Katz, V. A., Thulke, O. U., & Conrath, U. (1998). A Benzothiadiazole Primes Parsley Cells for Augmented Elicitation of Defense Responses. *Plant Physiology*, 117(4), 1333–1339. <https://doi.org/10.1104/pp.117.4.1333>
- Kaur, J., Kaur, R., & Kaur, A. (2018). Evaluation of antidiabetic and antioxidant potential of endophytic fungi isolated from medicinal plants. *Nternational Journal of Green Pharmacy*. <https://doi.org/10.22377/ijgp.v12i01.1517>
- Kauss, H., Franke, R., Krause, K., Conrath, U., Jeblick, W., Grimmig, B., & Matern, U. (1993). Conditioning of Parsley (*Petroselinum crispum* L.) Suspension Cells Increases Elicitor-Induced Incorporation of Cell Wall Phenolics. *Plant Physiology*, 102(2), 459–466. <https://doi.org/10.1104/pp.102.2.459>
- Kauss, H., & Jeblick, W. (1995). Pretreatment of Parsley Suspension Cultures with Salicylic Acid Enhances Spontaneous and Elicited Production of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Plant Physiology*, 108(3), 1171–1178. <https://doi.org/10.1104/pp.108.3.1171>
- Kauss, H., Theisinger-Hinkel, E., Mindermann, R., & Conrath, U. (1992). Dichloroisonicotinic and salicylic acid, inducers of systemic acquired resistance, enhance fungal elicitor responses in parsley cells. *The Plant Journal*, 2(5), 655–660. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.1992.tb00134.x>
- Kaval, A., Yılmaz, H., Tunca Gedik, S., Yıldız Kutman, B., & Kutman, Ü. B. (2023). The Fungal Root Endophyte *Serendipita indica* (*Piriformospora indica*) Enhances Bread and Durum Wheat Performance under Boron Toxicity at Both Vegetative and Generative Stages of Development through Mechanisms Unrelated to Mineral Homeostasis. *Biology*, 12(8), 1098. <https://doi.org/10.3390/biology12081098>
- Kavroulakis, N., Ntougias, S., Zervakis, G. I., Ehaliotis, C., Haralampidis, K., & Papadopoulou, K. K. (2007). Role of ethylene in the protection of tomato plants against soil-borne fungal pathogens conferred by an endophytic *Fusarium solani* strain. *Journal of Experimental Botany*, 58(14), 3853–3864. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm230>
- Khalid, A., Akhtar, M. J., Mahmood, M. H., & Arshad, M. (2006). Effect of substrate-dependent microbial ethylene production on plant growth. *Microbiology*, 75(2), 231–236. <https://doi.org/10.1134/S0026261706020196>

- Khan, A. L., Waqas, M., Kang, S.-M., Al-Harrasi, A., Hussain, J., Al-Rawahi, A., Al-Khiziri, S., Ullah, I., Ali, L., Jung, H.-Y., & Lee, I.-J. (2014). Bacterial endophyte *Sphingomonas* sp. LK11 produces gibberellins and IAA and promotes tomato plant growth. *Journal of Microbiology*, *52*(8), 689–695. <https://doi.org/10.1007/s12275-014-4002-7>
- Khan, M. S., Zaidi, A., Ahemad, M., Oves, M., & Wani, P. A. (2010). Plant growth promotion by phosphate solubilizing fungi – current perspective. *Archives of Agronomy and Soil Science*, *56*(1), 73–98. <https://doi.org/10.1080/03650340902806469>
- Khan, M., & Tanaka, K. (2023). *Purpureocillium lilacinum* for plant growth promotion and biocontrol against root-knot nematodes infecting eggplant. *PLOS ONE*, *18*(3), e0283550. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0283550>
- Khunjamayum, T. (2017). In-vitro Antimycobacterial Activities of Endophytic Bacteria Associated with Medicinal Plant of Manipur. *Journal of Bacteriology & Mycology: Open Access*, *4*(4). <https://doi.org/10.15406/jbmoa.2017.04.00097>
- Király, L., Barna, B., & Király, Z. (2007). Plant Resistance to Pathogen Infection: Forms and Mechanisms of Innate and Acquired Resistance. *Journal of Phytopathology*, *155*(7–8), 385–396. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0434.2007.01264.x>
- Kirk, J. J., & Deacon, J. W. (1987). Control of the take-all fungus by *Microdochium bolleyi*, and interactions involving *M. bolleyi*, *Phialophora graminicola* and *Periconia macrospinoso* on cereal roots. *Plant and Soil*, *98*(2), 231–237. <https://doi.org/10.1007/BF02374826>
- Knoester, M., Pieterse, C. M. J., Bol, J. F., & Van Loon, L. C. (1999). Systemic Resistance in *Arabidopsis* Induced by Rhizobacteria Requires Ethylene-Dependent Signaling at the Site of Application. *Molecular Plant-Microbe Interactions®*, *12*(8), 720–727. <https://doi.org/10.1094/MPMI.1999.12.8.720>
- Kohler, A., Schwindling, S., & Conrath, U. (2002). Benzothiadiazole-Induced Priming for Potentiated Responses to Pathogen Infection, Wounding, and Infiltration of Water into Leaves Requires the *NPR1/NIM1* Gene in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, *128*(3), 1046–1056. <https://doi.org/10.1104/pp.010744>
- Kong, L., Anderson, J. M., & Ohm, H. W. (2005). Induction of wheat defense and stress-related genes in response to *Fusarium graminearum*. *Genome*, *48*(1), 29–40. <https://doi.org/10.1139/g04-097>
- Kouipou Toghueo, R. M., & Boyom, F. F. (2019). Endophytic Fungi from Terminalia Species: A Comprehensive Review. *Journal of Fungi*, *5*(2), 43. <https://doi.org/10.3390/jof5020043>
- Kraepiel, A. M. L., Bellenger, J. P., Wichard, T., & Morel, F. M. M. (2009). Multiple roles of siderophores in free-living nitrogen-fixing bacteria. *BioMetals*, *22*(4), 573–581. <https://doi.org/10.1007/s10534-009-9222-7>
- Kuc. (1982). Induced Immunity to Plant Disease. *BioScience*, *32*(11), 854–860. <https://doi.org/10.2307/1309008>
- Kuc, J. (1977). Aspects of the Protection of Cucumber Against *Colletotrichum lagenarium* by *Colletotrichum lagenarium*. *Phytopathology*, *77*(4), 533. <https://doi.org/10.1094/Phyto-67-533>
- Kůdela, V. (1989). *Obečná fytopatologie* (Vyd. 1). Academia.
- Kuldau, G., & Bacon, C. (2008). Clavicipitaceous endophytes: Their ability to enhance resistance of grasses to multiple stresses. *Biological Control*, *46*(1), 57–71. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.01.023>
- Kumar, D. S. S., Lau, C. S., Wan, J. M. F., Yang, D., & Hyde, K. D. (2005). Immunomodulatory compounds from *Pestalotiopsis leucothēs*, an endophytic fungus from *Tripterium wilfordii*. *Life Sciences*, *78*(2), 147–156. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.04.050>
- Kunze, G., Zipfel, C., Robatzek, S., Niehaus, K., Boller, T., & Felix, G. (2004). The N Terminus of Bacterial Elongation Factor Tu Elicits Innate Immunity in *Arabidopsis* Plants. *The Plant Cell*, *16*(12), 3496–3507. <https://doi.org/10.1105/tpc.104.026765>
- Kusari, S., Hertweck, C., & Spiteller, M. (2012). Chemical Ecology of Endophytic Fungi: Origins of Secondary Metabolites. *Chemistry & Biology*, *19*(7), 792–798. <https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2012.06.004>

- Kusari, S., Singh, S., & Jayabaskaran, C. (2014). Biotechnological potential of plant-associated endophytic fungi: Hope versus hype. *Trends in Biotechnology*, *32*(6), 297–303. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2014.03.009>
- Lahlali, R., McGregor, L., Song, T., Gossen, B. D., Narisawa, K., & Peng, G. (2014). *Heteroconium chaetospora* Induces Resistance to Clubroot via Upregulation of Host Genes Involved in Jasmonic Acid, Ethylene, and Auxin Biosynthesis. *PLoS ONE*, *9*(4), e94144. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0094144>
- Langner, T., & Göhre, V. (2016). Fungal chitinases: Function, regulation, and potential roles in plant/pathogen interactions. *Current Genetics*, *62*(2), 243–254. <https://doi.org/10.1007/s00294-015-0530-x>
- Lata, R., Chowdhury, S., Gond, S. K., & White, J. F. (2018). Induction of abiotic stress tolerance in plants by endophytic microbes. *Letters in Applied Microbiology*, *66*(4), 268–276. <https://doi.org/10.1111/lam.12855>
- Latz, M. A. C., Jensen, B., Collinge, D. B., & Jørgensen, H. J. L. (2018). Endophytic fungi as biocontrol agents: Elucidating mechanisms in disease suppression. *Plant Ecology & Diversity*, *11*(5–6), 555–567. <https://doi.org/10.1080/17550874.2018.1534146>
- Laur, J., Ramakrishnan, G. B., Labbé, C., Lefebvre, F., Spanu, P. D., & Bélanger, R. R. (2018). Effectors involved in fungal–fungal interaction lead to a rare phenomenon of hyperbiotrophy in the tritrophic system biocontrol agent–powdery mildew–plant. *New Phytologist*, *217*(2), 713–725. <https://doi.org/10.1111/nph.14851>
- Leemans, M., Couderq, S., Demeneix, B., & Fini, J.-B. (2019). Pesticides With Potential Thyroid Hormone-Disrupting Effects: A Review of Recent Data. *Frontiers in Endocrinology*, *10*, 743. <https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00743>
- Lemańczyk, G., & Kwaśna, H. (2013). Effects of sharp eyespot (*Rhizoctonia cerealis*) on yield and grain quality of winter wheat. *European Journal of Plant Pathology*, *135*(1), 187–200. <https://doi.org/10.1007/s10658-012-0077-3>
- Li, A., Sun, X., & Liu, L. (2022). Action of Salicylic Acid on Plant Growth. *Frontiers in Plant Science*, *13*, 878076. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.878076>
- Li, H., Sharma, V. K., Newcombe, G., Trivella, D. B. B., & Soni, R. (2023). Editorial: Biotechnological applications of endophytes in agriculture, environment and industry. *Frontiers in Microbiology*, *14*, 1269279. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1269279>
- Li, S.-J., Zhang, X., Wang, X.-H., & Zhao, C.-Q. (2018). Novel natural compounds from endophytic fungi with anticancer activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, *156*, 316–343. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2018.07.015>
- Li, Y.-C., & Tao, W.-Y. (2009). Paclitaxel-producing fungal endophyte stimulates the accumulation of taxoids in suspension cultures of *Taxus cuspidate*. *Scientia Horticulturae*, *121*(1), 97–102. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.01.016>
- Liu, H., Chen, S., Liu, W., Liu, Y., Huang, X., & She, Z. (2016). Polyketides with Immunosuppressive Activities from Mangrove Endophytic Fungus *Penicillium* sp. ZJ-SY2. *Marine Drugs*, *14*(12), 217. <https://doi.org/10.3390/md14120217>
- Lu, H., Zou, W. X., Meng, J. C., Hu, J., & Tan, R. X. (2000). New bioactive metabolites produced by *Colletotrichum* sp., an endophytic fungus in *Artemisia annua*. *Plant Science*, *151*(1), 67–73. [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(99\)00199-5](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00199-5)
- Lucas, J. A., Hawkins, N. J., & Fraaije, B. A. (2015). The Evolution of Fungicide Resistance. In *Advances in Applied Microbiology* (Roč. 90, s. 29–92). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2014.09.001>
- Lugtenberg, B. J. J., Caradus, J. R., & Johnson, L. J. (2016). Fungal endophytes for sustainable crop production. *FEMS Microbiology Ecology*, *92*(12), fiw194. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiw194>
- Lugtenberg, B., & Kamilova, F. (2009). Plant-Growth-Promoting Rhizobacteria. *Annual Review of Microbiology*, *63*(1), 541–556. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.62.081307.162918>

- Madagundi, S., Habbu, P., Shukla, S., & Salagare, M. (2013). Free radical scavenging and in vitro immunomodulatory activities of endophytic fungi of *Ocimum sanctum* linn. *FARMACIA*, *61*. <https://farmaciajournal.com/issue-articles/free-radical-scavenging-and-in-vitro-immunomodulatory-activities-of-endophytic-fungi-of-ocimum-sanctum-linn/>
- Malamy, J., Carr, J. P., Klessig, D. F., & Raskin, I. (1990). Salicylic Acid: A Likely Endogenous Signal in the Resistance Response of Tobacco to Viral Infection. *Science*, *250*(4983), 1002–1004. <https://doi.org/10.1126/science.250.4983.1002>
- Maldonado, A. M., Doerner, P., Dixon, R. A., Lamb, C. J., & Cameron, R. K. (2002). A putative lipid transfer protein involved in systemic resistance signalling in Arabidopsis. *Nature*, *419*(6905), 399–403. <https://doi.org/10.1038/nature00962>
- Malik, A., Butt, T. A., Naqvi, S. T. A., Yousaf, S., Qureshi, M. K., Zafar, M. I., Farooq, G., Nawaz, I., & Iqbal, M. (2020). Lead tolerant endophyte *Trametes hirsuta* improved the growth and lead accumulation in the vegetative parts of *Triticum aestivum* L. *Heliyon*, *6*(7), e04188. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04188>
- Malinowski, D. P., Zuo, H., Belesky, D. P., & Alloush, G. A. (2004). Evidence for copper binding by extracellular root exudates of tall fescue but not perennial ryegrass infected with *Neotyphodium* spp. Endophytes. *Plant and Soil*, *267*(1–2), 1–12. <https://doi.org/10.1007/s11104-005-2575-y>
- Mandyam, K. G., & Jumpponen, A. (2015). Mutualism to parasitism paradigm synthesized from results of root-endophyte models. *Frontiers in Microbiology*, *5*. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00776>
- Marshall, J. (2019). *Tan, lens-shaped lesions with dark borders indicative of sharp eyespot*. Crop Protection Network. <https://cropprotectionnetwork.org/encyclopedia/sharp-eyespot-of-wheat>
- Martinuz, A., Schouten, A., & Sikora, R. A. (2012). Systemically Induced Resistance and Microbial Competitive Exclusion: Implications on Biological Control. *Phytopathology*®, *102*(3), 260–266. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-04-11-0120>
- Mathre, D. E., Cook, R. J., & Callan, N. W. (1999). From Discovery to Use: *Traversing the World of Commercializing Biocontrol Agents for Plant Disease Control*. *Plant Disease*, *83*(11), 972–983. <https://doi.org/10.1094/PDIS.1999.83.11.972>
- Matušinsky, P., Sedláková, B., & Bleša, D. (2022). Compatible interaction of *Brachypodium distachyon* and endophytic fungus *Microdochium bolleyi*. *PLOS ONE*, *17*(3), e0265357. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0265357>
- Mauch, F., Mauch-Mani, B., Gaille, C., Kull, B., Haas, D., & Reimmann, C. (2001). Manipulation of salicylate content in *Arabidopsis thaliana* by the expression of an engineered bacterial salicylate synthase. *The Plant Journal*, *25*(1), 67–77. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313x.2001.00940.x>
- Mazzola, M., Johnson, T. E., & Cook, R. J. (1997). Influence of field burning and soil treatments on growth of wheat after Kentucky bluegrass, and effect of *Rhizoctonia cerealis* on bluegrass emergence and growth. *Plant Pathology*, *46*(5), 708–715. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.1997.d01-71.x>
- Mejía, L. C., Rojas, E. I., Maynard, Z., Bael, S. V., Arnold, A. E., Hebbar, P., Samuels, G. J., Robbins, N., & Herre, E. A. (2008). Endophytic fungi as biocontrol agents of *Theobroma cacao* pathogens. *Biological Control*, *46*(1), 4–14. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.01.012>
- Mendes, R., Garbeva, P., & Raaijmakers, J. M. (2013). The rhizosphere microbiome: Significance of plant beneficial, plant pathogenic, and human pathogenic microorganisms. *FEMS Microbiology Reviews*, *37*(5), 634–663. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12028>
- Mengistu, A. A. (2020). Endophytes: Colonization, Behaviour, and Their Role in Defense Mechanism. *International Journal of Microbiology*, *2020*, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2020/6927219>



- Mensah, R. A., Li, D., Liu, F., Tian, N., Sun, X., Hao, X., Lai, Z., & Cheng, C. (2020). Versatile *Piriformospora indica* and Its Potential Applications in Horticultural Crops. *Horticultural Plant Journal*, 6(2), 111–121. <https://doi.org/10.1016/j.hpj.2020.01.002>
- Métraux, J. P., Signer, H., Ryals, J., Ward, E., Wyss-Benz, M., Gaudin, J., Raschdorf, K., Schmid, E., Blum, W., & Inverardi, B. (1990). Increase in Salicylic Acid at the Onset of Systemic Acquired Resistance in Cucumber. *Science*, 250(4983), 1004–1006. <https://doi.org/10.1126/science.250.4983.1004>
- Mhlongo, M. I., Piater, L. A., Madala, N. E., Labuschagne, N., & Dubery, I. A. (2018). The Chemistry of Plant–Microbe Interactions in the Rhizosphere and the Potential for Metabolomics to Reveal Signaling Related to Defense Priming and Induced Systemic Resistance. *Frontiers in Plant Science*, 9, 112. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00112>
- Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7(9), 405–410. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(02\)02312-9](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(02)02312-9)
- Molders, W., Buchala, A., & Métraux, J. P. (1996). Transport of Salicylic Acid in Tobacco Necrosis Virus-Infected Cucumber Plants. *Plant Physiology*, 112(2), 787–792. <https://doi.org/10.1104/pp.112.2.787>
- Molina, A., Görlach, J., Volrath, S., & Ryals, J. (1999). Wheat Genes Encoding Two Types of PR-1 Proteins Are Pathogen Inducible, but Do Not Respond to Activators of Systemic Acquired Resistance. *Molecular Plant-Microbe Interactions®*, 12(1), 53–58. <https://doi.org/10.1094/MPMI.1999.12.1.53>
- Mousa, W. K., & Raizada, M. N. (2013). The Diversity of Anti-Microbial Secondary Metabolites Produced by Fungal Endophytes: An Interdisciplinary Perspective. *Frontiers in Microbiology*, 4. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00065>
- Murray, D. I. L., & Gadd, G. M. (1981). Preliminary studies on *Microdochium bolleyi* with special reference to colonization of barley. *Transactions of the British Mycological Society*, 76(3), 397–403. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(81\)80065-4](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(81)80065-4)
- Naik, S., Shaanker, R. U., Ravikanth, G., & Dayanandan, S. (2019). How and why do endophytes produce plant secondary metabolites? *Symbiosis*, 78(3), 193–201. <https://doi.org/10.1007/s13199-019-00614-6>
- Nataraja, K. N., Suryanarayanan, T. S., Shaanker, R. U., Senthil-Kumar, M., & Oelmüller, R. (2019). Plant–microbe interaction: Prospects for crop improvement and management. *Plant Physiology Reports*, 24(4), 461–462. <https://doi.org/10.1007/s40502-019-00494-4>
- Nath, M., Bhatt, D., Prasad, R., Gill, S. S., Anjum, N. A., & Tuteja, N. (2016). Reactive Oxygen Species Generation-Scavenging and Signaling during Plant-Arbuscular Mycorrhizal and *Piriformospora indica* Interaction under Stress Condition. *Frontiers in Plant Science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01574>
- O'Brien, P. A. (2017). Biological control of plant diseases. *Australasian Plant Pathology*, 46(4), 293–304. <https://doi.org/10.1007/s13313-017-0481-4>
- Olanrewaju, O. S., Glick, B. R., & Babalola, O. O. (2017). Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33(11), 197. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2364-9>
- Ongena, M., Duby, F., Jourdan, E., Beaudry, T., Jadin, V., Dommes, J., & Thonart, P. (2005). *Bacillus subtilis* M4 decreases plant susceptibility towards fungal pathogens by increasing host resistance associated with differential gene expression. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 67(5), 692–698. <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1741-0>
- Overmyer, K., Brosché, M., & Kangasjärvi, J. (2003). Reactive oxygen species and hormonal control of cell death. *Trends in Plant Science*, 8(7), 335–342. [https://doi.org/10.1016/S1360-1385\(03\)00135-3](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(03)00135-3)
- P. Wellensiek, B. (2013). Inhibition of HIV-1 Replication by Secondary Metabolites From Endophytic Fungi of Desert Plants. *The Open Virology Journal*, 7(1), 72–80. <https://doi.org/10.2174/1874357920130624002>

- Padhi, L., Mohanta, K., & Panda, K. (2013). *Endophytic fungi with great promises: A Review*. 3(3).
- Pandey, P., Irulappan, V., Bagavathiannan, M. V., & Senthil-Kumar, M. (2017). Impact of Combined Abiotic and Biotic Stresses on Plant Growth and Avenues for Crop Improvement by Exploiting Physio-morphological Traits. *Frontiers in Plant Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00537>
- Pandey, V., Ansari, M. W., Tula, S., Yadav, S., Sahoo, R. K., Shukla, N., Bains, G., Badal, S., Chandra, S., Gaur, A. K., Kumar, A., Shukla, A., Kumar, J., & Tuteja, N. (2016). Dose-dependent response of *Trichoderma harzianum* in improving drought tolerance in rice genotypes. *Planta*, 243(5), 1251–1264. <https://doi.org/10.1007/s00425-016-2482-x>
- Parratt, S. R., & Laine, A.-L. (2016). The role of hyperparasitism in microbial pathogen ecology and evolution. *The ISME Journal*, 10(8), 1815–1822. <https://doi.org/10.1038/ismej.2015.247>
- Pasut, G., & Veronese, F. M. (2009). PEG conjugates in clinical development or use as anticancer agents: An overview. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 61(13), 1177–1188. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2009.02.010>
- Patel, M. V., & Patel, R. K. (2014). Indole-3-acetic acid (IAA) production by endophytic bacteria isolated from saline dessert, the Little Rann of Kutch. *CIBTech Journal of Microbiology*, 3. [https://www.researchgate.net/publication/265963874\\_Indole-3-acetic\\_acid\\_IAA\\_production\\_by\\_endophytic\\_bacteria\\_isolated\\_from\\_saline\\_dessert\\_the\\_Little\\_Rann\\_of\\_Kutch](https://www.researchgate.net/publication/265963874_Indole-3-acetic_acid_IAA_production_by_endophytic_bacteria_isolated_from_saline_dessert_the_Little_Rann_of_Kutch)
- Pedras, M. S. C., Zheng, Q.-A., Gadagi, R. S., & Rimmer, S. R. (2008). Phytoalexins and polar metabolites from the oilseeds canola and rapeseed: Differential metabolic responses to the biotroph *Albugo candida* and to abiotic stress. *Phytochemistry*, 69(4), 894–910. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.10.019>
- Petrini, O. (1991). Fungal Endophytes of Tree Leaves. In J. H. Andrews & S. S. Hirano (Ed.), *Microbial Ecology of Leaves* (s. 179–197). Springer New York. [https://doi.org/10.1007/978-1-4612-3168-4\\_9](https://doi.org/10.1007/978-1-4612-3168-4_9)
- Phongpaichit, S., Nikom, J., Rungjindamai, N., Sakayaroj, J., Hutadilok-Towatana, N., Rukachaisirikul, V., & Kirtikara, K. (2007). Biological activities of extracts from endophytic fungi isolated from *Garcinia* plants: Biological activities of extracts from endophytic fungi. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 51(3), 517–525. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2007.00331.x>
- Pieterse, C. M. J., Ton, J., & Loon, L. C. V. (2001). Cross-talk between plant defence signalling pathways: Boost or burden? *AgBiotechNet*, 3. [https://www.researchgate.net/publication/27691007\\_Cross-talk\\_between\\_plant\\_defence\\_signalling\\_pathways\\_Boost\\_or\\_burden](https://www.researchgate.net/publication/27691007_Cross-talk_between_plant_defence_signalling_pathways_Boost_or_burden)
- Pieterse, C. M. J., Van der Does, D., Zamioudis, C., Leon-Reyes, A., & Van Wees, S. C. M. (2012). Hormonal Modulation of Plant Immunity. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 28(1), 489–521. <https://doi.org/10.1146/annurev-cellbio-092910-154055>
- Pieterse, C. M. J., & van Loon, L. C. (1996). Systemic Resistance in Arabidopsis Induced by Biocontrol Bacteria Is Independent of Salicylic Acid Accumulation and Pathogenesis-Related Gene Expression. *The Plant Cell*. <https://doi.org/10.1105/tpc.8.8.1225>
- Prema Sundara Valli, P., & Muthukumar, T. (2018). Dark Septate Root Endophytic Fungus *Nectria haematococca* Improves Tomato Growth Under Water Limiting Conditions. *Indian Journal of Microbiology*, 58(4), 489–495. <https://doi.org/10.1007/s12088-018-0749-6>
- Pur, S., Amna, T., Khajuria, A., Gupta, A., Arora, R., Spiteller, M., & Qazi, G. (2007). Immunomodulatory activity of an extract of the novel fungal endophyte *Entrophospora infrequens* isolated from *Nothapodytes foetida* (Wight) Sleumer. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 54(3), 237–260. <https://doi.org/10.1556/amicro.54.2007.3.2>
- Qin, W., Liu, C., Jiang, W., Xue, Y., Wang, G., & Liu, S. (2019). A coumarin analogue NFA from endophytic *Aspergillus fumigatus* improves drought resistance in rice as an antioxidant. *BMC Microbiology*, 19(1), 50. <https://doi.org/10.1186/s12866-019-1419-5>

- Raaijmakers, J. M., Sluis, L. van der, Bakker, P. A. H. M., Schippers, B., Koster, M., & Weisbeek, P. J. (1995). Utilization of heterologous siderophores and rhizosphere competence of fluorescent *Pseudomonas* spp. *Canadian Journal of Microbiology*, *41*(2), 126–135. <https://doi.org/10.1139/m95-017>
- Radhakrishnan, R., Khan, A. L., Kang, S. M., & Lee, I.-J. (2015). A comparative study of phosphate solubilization and the host plant growth promotion ability of *Fusarium verticillioides* RK01 and *Humicola* sp. KNU01 under salt stress. *Annals of Microbiology*, *65*(1), 585–593. <https://doi.org/10.1007/s13213-014-0894-z>
- Radhakrishnan, R., Khan, A. L., & Lee, I.-J. (2013). Endophytic fungal pre-treatments of seeds alleviates salinity stress effects in soybean plants. *Journal of Microbiology*, *51*(6), 850–857. <https://doi.org/10.1007/s12275-013-3168-8>
- Radojčić, A., Li, X., & Zhang, Y. (2018). Salicylic Acid: A Double-Edged Sword for Programmed Cell Death in Plants. *Frontiers in Plant Science*, *9*, 1133. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01133>
- Rajamanikyam, M., Vadlapudi, V., amanchy, R., & Upadhyayula, S. M. (2017). Endophytic Fungi as Novel Resources of natural Therapeutics. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, *60*(0). <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2017160542>
- Rajkumar, M., Ae, N., Prasad, M. N. V., & Freitas, H. (2010). Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction. *Trends in Biotechnology*, *28*(3), 142–149. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2009.12.002>
- Rana, K. L., Kour, D., Sheikh, I., Dhiman, A., Yadav, N., Yadav, A. N., Rastegari, A. A., Singh, K., & Saxena, A. K. (2019). Endophytic Fungi: Biodiversity, Ecological Significance, and Potential Industrial Applications. In A. N. Yadav, S. Mishra, S. Singh, & A. Gupta (Ed.), *Recent Advancement in White Biotechnology Through Fungi* (s. 1–62). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-10480-1\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-030-10480-1_1)
- Rasmussen, J. B., Hammerschmidt, R., & Zook, M. N. (1991). Systemic Induction of Salicylic Acid Accumulation in Cucumber after Inoculation with *Pseudomonas syringae* pv *syringae*. *Plant Physiology*, *97*(4), 1342–1347. <https://doi.org/10.1104/pp.97.4.1342>
- Reinecke, P., & Fokkema, N. J. (1981). An evaluation of methods of screening fungi from the Haulm base of cereals for antagonism to *Pseudocercospora herpotrichoides* in wheat. *Transactions of the British Mycological Society*, *77*(2), 343–350. [https://doi.org/10.1016/S0007-1536\(81\)80036-8](https://doi.org/10.1016/S0007-1536(81)80036-8)
- Ripa, F. A., Cao, W., Tong, S., & Sun, J. (2019). Assessment of Plant Growth Promoting and Abiotic Stress Tolerance Properties of Wheat Endophytic Fungi. *BioMed Research International*, *2019*, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2019/6105865>
- Rizzati, V., Briand, O., Guillou, H., & Gamet-Payraastre, L. (2016). Effects of pesticide mixtures in human and animal models: An update of the recent literature. *Chemico-Biological Interactions*, *254*, 231–246. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2016.06.003>
- Rodriguez, R. J., White Jr, J. F., Arnold, A. E., & Redman, R. S. (2009). Fungal endophytes: Diversity and functional roles. *New Phytologist*, *182*(2), 314–330. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02773.x>
- Rodriguez, R., & Redman, R. (2008). More than 400 million years of evolution and some plants still can't make it on their own: Plant stress tolerance via fungal symbiosis. *Journal of Experimental Botany*, *59*(5), 1109–1114. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm342>
- Rosier, A., Bishnoi, U., Lakshmanan, V., Sherrier, D. J., & Bais, H. P. (2016). A perspective on inter-kingdom signaling in plant–beneficial microbe interactions. *Plant Molecular Biology*, *90*(6), 537–548. <https://doi.org/10.1007/s11103-016-0433-3>
- Ross, A. F. (1961). Localized acquired resistance to plant virus infection in hypersensitive hosts. *Virology*, *14*(3), 329–339. [https://doi.org/10.1016/0042-6822\(61\)90318-X](https://doi.org/10.1016/0042-6822(61)90318-X)
- Rustamova, N., Bozorov, K., Efferth, T., & Yili, A. (2020). Novel secondary metabolites from endophytic fungi: Synthesis and biological properties. *Phytochemistry Reviews*, *19*(2), 425–448. <https://doi.org/10.1007/s11101-020-09672-x>

Ryals, J. A., Neuenschwander, U. H., Willits, M. G., Molina, A., Steiner, H. Y., & Hunt, M. D. (1996). Systemic Acquired Resistance. *The Plant Cell*, 1809–1819. <https://doi.org/10.1105/tpc.8.10.1809>

Sadeghi, F., Samsampour, D., Askari Seyahooei, M., Bagheri, A., & Soltani, J. (2020). Fungal endophytes alleviate drought-induced oxidative stress in mandarin (*Citrus reticulata* L.): Toward regulating the ascorbate–glutathione cycle. *Scientia Horticulturae*, 261, 108991. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.108991>

Saleem, S., Bytešniková, Z., Richtera, L., & Pokluda, R. (2021). The Effects of *Serendipita indica* and Guanidine-Modified Nanomaterial on Growth and Development of Cabbage Seedlings and Black Spot Infestation. *Agriculture*, 11(12), 1295. <https://doi.org/10.3390/agriculture11121295>

Saleem, S., Sekara, A., & Pokluda, R. (2022). *Serendipita indica*—A Review from Agricultural Point of View. *Plants*, 11(24), 3417. <https://doi.org/10.3390/plants11243417>

Sánchez-Vallet, A., Tian, H., Rodriguez-Moreno, L., Valkenburg, D.-J., Saleem-Batcha, R., Wawra, S., Kombrink, A., Verhage, L., De Jonge, R., Van Esse, H. P., Zuccaro, A., Croll, D., Mesters, J. R., & Thomma, B. P. H. J. (2020). A secreted LysM effector protects fungal hyphae through chitin-dependent homodimer polymerization. *PLOS Pathogens*, 16(6), e1008652. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008652>

Sarkar, D., Rovenich, H., Jeena, G., Nizam, S., Tissier, A., Balcke, G. U., Mahdi, L. K., Bonkowski, M., Langen, G., & Zuccaro, A. (2019). The inconspicuous gatekeeper: Endophytic *Serendipita vermifera* acts as extended plant protection barrier in the rhizosphere. *New Phytologist*, 224(2), 886–901. <https://doi.org/10.1111/nph.15904>

Sarrocchio, S., & Vannacci, G. (2018). Preharvest application of beneficial fungi as a strategy to prevent postharvest mycotoxin contamination: A review. *Crop Protection*, 110, 160–170. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2017.11.013>

Savary, S., Willocquet, L., Pethybridge, S. J., Esker, P., McRoberts, N., & Nelson, A. (2019). The global burden of pathogens and pests on major food crops. *Nature Ecology & Evolution*, 3(3), 430–439. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0793-y>

Seskar, M., Shulaev, V., & Raskin, I. (1998). Endogenous Methyl Salicylate in Pathogen-Inoculated Tobacco Plants1. *Plant Physiology*, 116(1), 387–392. <https://doi.org/10.1104/pp.116.1.387>

Sessitsch, A., Kuffner, M., Kidd, P., Vangronsveld, J., Wenzel, W. W., Fallmann, K., & Puschenreiter, M. (2013). The role of plant-associated bacteria in the mobilization and phytoextraction of trace elements in contaminated soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 60, 182–194. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.01.012>

Shadmani, L., Jamali, S., & Fatemi, A. (2018). Biocontrol activity of endophytic fungus of barley, *Microdochium bolleyi*, against *Gaeumannomyces graminis* var. *Tritici*. *Mycologia Iranica*, 5(1). <https://doi.org/10.22043/mi.2019.118205>

Shah, A., Rather, M. A., Hassan, Q. P., Aga, M. A., Mushtaq, S., Shah, A. M., Hussain, A., Baba, S. A., & Ahmad, Z. (2017). Discovery of anti-microbial and anti-tubercular molecules from *Fusarium solani*: An endophyte of *Glycyrrhiza glabra*. *Journal of Applied Microbiology*, 122(5), 1168–1176. <https://doi.org/10.1111/jam.13410>

Shah, J., Tsui, F., & Klessig, D. F. (1997). Characterization of a S alicyclic A cid- I nsensitive Mutant ( *sail* ) of *Arabidopsis thaliana* , Identified in a Selective Screen Utilizing the SA-Inducible Expression of the *tms2* Gene. *Molecular Plant-Microbe Interactions*®, 10(1), 69–78. <https://doi.org/10.1094/MPMI.1997.10.1.69>

Shimizu, M. (2011). Endophytic Actinomycetes: Biocontrol Agents and Growth Promoters. In D. K. Maheshwari (Ed.), *Bacteria in Agrobiolgy: Plant Growth Responses* (s. 201–220). Springer Berlin Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-20332-9\\_10](https://doi.org/10.1007/978-3-642-20332-9_10)

Shukla, S. T., Habbu, P. V., Kulkarni, V. H., Jagadish, K. S., Pandey, A. R., & Sutariya, V. N. (2014). *Endophytic microbes: A novel source for biologically/pharmacologically active secondary metabolites*.

- Shulaev, V., Leon, J., & Raskin, I. (1995). Is Salicylic Acid a Translocated Signal of Systemic Acquired Resistance in Tobacco? *The Plant Cell*, 1691–1701. <https://doi.org/10.1105/tpc.7.10.1691>
- Shulaev, V., Silverman, P., & Raskin, I. (1997). Airborne signalling by methyl salicylate in plant pathogen resistance. *Nature*, 385(6618), 718–721. <https://doi.org/10.1038/385718a0>
- Scherm, B., Balmas, V., Spanu, F., Pani, G., Delogu, G., Pasquali, M., & Migheli, Q. (2013). *F usarium culmorum* : Causal agent of foot and root rot and head blight on wheat. *Molecular Plant Pathology*, 14(4), 323–341. <https://doi.org/10.1111/mpp.12011>
- Schmidt, W. (1999). Mechanisms and regulation of reduction-based iron uptake in plants. *New Phytologist*, 141(1), 1–26. <https://doi.org/10.1046/j.1469-8137.1999.00331.x>
- Schulz, B., & Boyle, C. (2005). The endophytic continuum. *Mycological Research*, 109(6), 661–686. <https://doi.org/10.1017/S095375620500273X>
- Silva, G. H., Teles, H. L., Zanardi, L. M., Marx Young, M. C., Eberlin, M. N., Hadad, R., Pfenning, L. H., Costa-Neto, C. M., Castro-Gamboa, I., da Silva Bolzani, V., & Araújo, Á. R. (2006). Cadinane sesquiterpenoids of *Phomopsis cassiae*, an endophytic fungus associated with *Cassia spectabilis* (Leguminosae). *Phytochemistry*, 67(17), 1964–1969. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.06.004>
- Silva, S. D., Carneiro, R. M. D. G., Faria, M., Souza, D. A., Monnerat, R. G., & Lopes, R. B. (2017). Evaluation of *Pochonia chlamydosporia* and *Purpureocillium lilacinum* for Suppression of *Meloidogyne enterolobii* on Tomato and Banana. *Journal of Nematology*, 49(1), 77–85. <https://doi.org/10.21307/jofnem-2017-047>
- Singh, D. P., Singh, H. B., & Prabha, R. (Ed.). (2017). *Plant-Microbe Interactions in Agro-Ecological Perspectives*. Springer Singapore. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-6593-4>
- Singh, R., & Dubey, A. K. (2015). Endophytic Actinomycetes as Emerging Source for Therapeutic Compounds. *Indo Global Journal of Pharmaceutical Sciences*, 05(02), 106–116. <https://doi.org/10.35652/IGJPS.2015.11>
- Smith-Becker, J., Marois, E., Hugué, E. J., Midland, S. L., Sims, J. J., & Keen, N. T. (1998). Accumulation of Salicylic Acid and 4-Hydroxybenzoic Acid in Phloem Fluids of Cucumber during Systemic Acquired Resistance Is Preceded by a Transient Increase in Phenylalanine Ammonia-Lyase Activity in Petioles and Stems1. *Plant Physiology*, 116(1), 231–238. <https://doi.org/10.1104/pp.116.1.231>
- Song, X.-Q., Zhang, X., Han, Q.-J., Li, X.-B., Li, G., Li, R.-J., Jiao, Y., Zhou, J.-C., & Lou, H.-X. (2013). Xanthone derivatives from *Aspergillus sydowii*, an endophytic fungus from the liverwort *Scapania ciliata* S. Lac and their immunosuppressive activities. *Phytochemistry Letters*, 6(3), 318–321. <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2013.03.012>
- Spadaro, D., & Gullino, M. L. (2005). Improving the efficacy of biocontrol agents against soilborne pathogens. *Crop Protection*, 24(7), 601–613. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2004.11.003>
- Stangarlin, J. R., Kuhn, O. J., Assi, L., & Schwan-Estrada, K. R. F. (2011). *Control of plant diseases using extracts from medicinal plants and fungi*.
- Sticher, L., Mauch-Mani, B., & Métraux, J. (1997). SYSTEMIC ACQUIRED RESISTANCE. *Annual Review of Phytopathology*, 35(1), 235–270. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.35.1.235>
- Strobel, G., & Daisy, B. (2003). Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67. <https://doi.org/10.1128/MMBR.67.4.491-502.2003>
- Sturz, A. V., Christie, B. R., & Nowak, J. (2000). Bacterial Endophytes: Potential Role in Developing Sustainable Systems of Crop Production. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 19(1), 1–30. <https://doi.org/10.1080/07352680091139169>
- Suryanarayanan. (2023). *Endophytic fungal communities in leaves of tropical forest trees: Diversity and distribution patterns*.

- Suryanarayanan, T. S., Thirunavukkarasu, N., Govindarajulu, M. B., Sasse, F., Jansen, R., & Murali, T. S. (2009). Fungal endophytes and bioprospecting. *Fungal Biology Reviews*, 23(1–2), 9–19. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2009.07.001>
- Sze, D., Miller, K., & Neilan, B. (2008). Development of Taxol and Other Endophyte Produced Anti-Cancer Agents. *Recent Patents on Anti-Cancer Drug Discovery*, 3(1), 14–19. <https://doi.org/10.2174/157489208783478685>
- Tan, R. X., & Zou, W. X. (2001). *Endophytes: A rich source of functional metabolites*. <https://doi.org/10.1039/B100918O>
- Tanaka, A., Christensen, M. J., Takemoto, D., Park, P., & Scott, B. (2006). Reactive Oxygen Species Play a Role in Regulating a Fungus–Perennial Ryegrass Mutualistic Interaction. *The Plant Cell*, 18(4), 1052–1066. <https://doi.org/10.1105/tpc.105.039263>
- Tena, G. (2018). Recruiting microbial bodyguards. *Nature Plants*, 4(11), 857–857. <https://doi.org/10.1038/s41477-018-0308-5>
- Thulke, O., & Conrath, U. (1998). Salicylic acid has a dual role in the activation of defence-related genes in parsley. *The Plant Journal*, 14(1), 35–42. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.1998.00093.x>
- Tian, B., Xie, J., Fu, Y., Cheng, J., Li, B., Chen, T., Zhao, Y., Gao, Z., Yang, P., Barbetti, M. J., Tyler, B. M., & Jiang, D. (2020). A cosmopolitan fungal pathogen of dicots adopts an endophytic lifestyle on cereal crops and protects them from major fungal diseases. *The ISME Journal*, 14(12), 3120–3135. <https://doi.org/10.1038/s41396-020-00744-6>
- Tiwari, P., & Bae, H. (2022). Endophytic Fungi: Key Insights, Emerging Prospects, and Challenges in Natural Product Drug Discovery. *Microorganisms*, 10(2), 360. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10020360>
- Toghueo, R. M. K. (2020). Bioprospecting endophytic fungi from *Fusarium* genus as sources of bioactive metabolites. *Mycology*, 11(1), 1–21. <https://doi.org/10.1080/21501203.2019.1645053>
- Trdá, L., Fernandez, O., Boutrot, F., Héloir, M., Kelloniemi, J., Daire, X., Adrian, M., Clément, C., Zipfel, C., Dorey, S., & Poinssot, B. (2014). The grapevine flagellin receptor Vv FLS 2 differentially recognizes flagellin-derived epitopes from the endophytic growth-promoting bacterium *Burkholderia phytofirmans* and plant pathogenic bacteria. *New Phytologist*, 201(4), 1371–1384. <https://doi.org/10.1111/nph.12592>
- Tripathi, S., Kamal, S., Sheramati, I., Oelmüller, R., & Varma, A. (2008). Mycorrhizal Fungi and Other Root Endophytes as Biocontrol Agents Against Root Pathogens. In A. Varma (Ed.), *Mycorrhiza* (s. 281–306). Springer Berlin Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-540-78826-3\\_14](https://doi.org/10.1007/978-3-540-78826-3_14)
- Tsara, V., Serasli, E., & Christaki, P. (2009). Problems in diagnosis and treatment of tuberculosis infection. *Hippokratia*, 13(1), 20–22.
- Ünal, F. (2024). Phylogenetic analysis of *Microdochium* spp. Associated with turfgrass and their pathogenicity in cereals. *PeerJ*, 12, e16837. <https://doi.org/10.7717/peerj.16837>
- Unnikumar, K. R., Sree, K. S., & Varma, A. (2013). Piriformospora indica: A versatile root endophytic symbiont. *Symbiosis*, 60(3), 107–113. <https://doi.org/10.1007/s13199-013-0246-y>
- Uroz, S., Courty, P. E., & Oger, P. (2019). Plant Symbionts Are Engineers of the Plant-Associated Microbiome. *Trends in Plant Science*, 24(10), 905–916. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2019.06.008>
- van Loon, L. C. (1985). Pathogenesis-related proteins. *Plant Molecular Biology*. <https://doi.org/10.1007/BF02418757>
- van Loon, L. C., Bakker, P. A. H. M., & Pieterse, C. M. J. (1998). Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria. *Annual Review of Phytopathology*, 36(1), 453–483. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.36.1.453>
- van Loon, L. C., & Glick, B. R. (2004). Increased Plant Fitness by Rhizobacteria. In H. Sandermann (Ed.), *Molecular Ecotoxicology of Plants* (Roč. 170, s. 177–205). Springer Berlin Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-08818-0\\_7](https://doi.org/10.1007/978-3-662-08818-0_7)

- Varma, A., Bakshi, M., Lou, B., Hartmann, A., & Oelmueller, R. (2012). Piriformospora indica: A Novel Plant Growth-Promoting Mycorrhizal Fungus. *Agricultural Research*, 1(2), 117–131. <https://doi.org/10.1007/s40003-012-0019-5>
- Varma, A., Savita Verma, Sudha, Sahay, N., Bütchorn, B., & Franken, P. (1999). *Piriformospora indica*, a Cultivable Plant-Growth-Promoting Root Endophyte. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(6), 2741–2744. <https://doi.org/10.1128/AEM.65.6.2741-2744.1999>
- Venturi, V., & Keel, C. (2016). Signaling in the Rhizosphere. *Trends in Plant Science*, 21(3), 187–198. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.01.005>
- Verberne, M. C., Hoekstra, J., Bol, J. F., & Linthorst, H. J. M. (2003). Signaling of systemic acquired resistance in tobacco depends on ethylene perception. *The Plant Journal*, 35(1), 27–32. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3113X.2003.01778.x>
- Verma, S., Varma, A., Rexer, K.-H., Hassel, A., Kost, G., Sarbhoy, A., Bisen, P., Bütchorn, B., & Franken, P. (1998). *Piriformospora indica*, gen. Et sp. Nov., a new root-colonizing fungus. *Mycologia*, 90(5), 896–903. <https://doi.org/10.1080/00275514.1998.12026983>
- Verma, V., Sudan, P., & Kour, A. (2008). Endophytes: A novel source for bioactive molecules. *Proceedings of the Indian National Science Academy*, 74(2), 73–86. Scopus.
- Vernooij, B., Friedrich, L., Morse, A., Reist, R., Kolditz-Jawhar, R., Ward, E., Uknes, S., Kessmann, H., & Ryals, J. (1994). Salicylic Acid Is Not the Translocated Signal Responsible for Inducing Systemic Acquired Resistance but Is Required in Signal Transduction. *The Plant Cell*, 959–965. <https://doi.org/10.1105/tpc.6.7.959>
- Wagacha, J. M., & Muthomi, J. W. (2007). Fusarium culmorum: Infection process, mechanisms of mycotoxin production and their role in pathogenesis in wheat. *Crop Protection*, 26(7), 877–885. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2006.09.003>
- Walters, D. R., Ratsep, J., & Havis, N. D. (2013). Controlling crop diseases using induced resistance: Challenges for the future. *Journal of Experimental Botany*, 64(5), 1263–1280. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert026>
- Walters, D., Walsh, D., Newton, A., & Lyon, G. (2005). Induced Resistance for Plant Disease Control: Maximizing the Efficacy of Resistance Elicitors. *Phytopathology*, 95(12), 1368–1373. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-95-1368>
- Wan, Y.-X., Kapoor, R., Da Silva, F. S. B., Abd-Allah, E. F., Kuča, K., Hashem, A., & Wu, Q.-S. (2024). Elucidating the mechanism regarding enhanced tolerance in plants to abiotic stress by *Serendipita indica*. *Plant Growth Regulation*. <https://doi.org/10.1007/s10725-024-01124-2>
- Wang, H., Zheng, J., Ren, X., Yu, T., Varma, A., Lou, B., & Zheng, X. (2015). Effects of *Piriformospora indica* on the growth, fruit quality and interaction with Tomato yellow leaf curl virus in tomato cultivars susceptible and resistant to TYCLV. *Plant Growth Regulation*, 76(3), 303–313. <https://doi.org/10.1007/s10725-015-0025-2>
- Waqas, M., Khan, A. L., Kamran, M., Hamayun, M., Kang, S.-M., Kim, Y.-H., & Lee, I.-J. (2012). Endophytic Fungi Produce Gibberellins and Indoleacetic Acid and Promotes Host-Plant Growth during Stress. *Molecules*, 17(9), 10754–10773. <https://doi.org/10.3390/molecules170910754>
- War, A. R., Paulraj, M. G., War, M. Y., & Ignacimuthu, S. (2011). Role of salicylic acid in induction of plant defense system in chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Plant Signaling & Behavior*, 6(11), 1787–1792. <https://doi.org/10.4161/psb.6.11.17685>
- Wei, L., Wang, L., Yang, Y., Wang, P., Guo, T., & Kang, G. (2015). Abscisic acid enhances tolerance of wheat seedlings to drought and regulates transcript levels of genes encoding ascorbate-glutathione biosynthesis. *Frontiers in Plant Science*, 6. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00458>
- Wei, W., Zhou, Y., Chen, F., Yan, X., Lai, Y., Wei, C., Chen, X., Xu, J., & Wang, X. (2018). Isolation, Diversity, and Antimicrobial and Immunomodulatory Activities of Endophytic Actinobacteria From Tea Cultivars Zijuan and Yunkang-10 (*Camellia sinensis* var. *Assamica*). *Frontiers in Microbiology*, 9, 1304. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01304>

White, J. F., & Torres, M. S. (2010). Is plant endophyte-mediated defensive mutualism the result of oxidative stress protection? *Physiologia Plantarum*, 138(4), 440–446. <https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2009.01332.x>

Wilson, D. (1995). Endophyte: The Evolution of a Term, and Clarification of Its Use and Definition. *Oikos*, 73(2), 274. <https://doi.org/10.2307/3545919>

Wróbel-Kwiatkowska, M., Lorenc-Kukula, K., Starzycki, M., Oszmiański, J., Kepczyńska, E., & Szopa, J. (2004). Expression of  $\beta$ -1,3-glucanase in flax causes increased resistance to fungi. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 65(5), 245–256. <https://doi.org/10.1016/j.pmpp.2005.02.008>

Xuan, C., Feng, M., Li, X., Hou, Y., Wei, C., & Zhang, X. (2024). Genome-Wide Identification and Expression Analysis of Chitinase Genes in Watermelon under Abiotic Stimuli and *Fusarium oxysporum* Infection. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(1), 638. <https://doi.org/10.3390/ijms25010638>

Yadav, A. N., Kumar, V., Dhaliwal, H. S., Prasad, R., & Saxena, A. K. (2018). Microbiome in Crops: Diversity, Distribution, and Potential Role in Crop Improvement. In *Crop Improvement Through Microbial Biotechnology* (s. 305–332). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63987-5.00015-3>

Yan, Z., Reddy, M. S., Ryu, C.-M., McInroy, J. A., Wilson, M., & Kloepper, J. W. (2002). Induced Systemic Protection Against Tomato Late Blight Elicited by Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. *Phytopathology*®, 92(12), 1329–1333. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2002.92.12.1329>

Yang, G., Li, P., Meng, L., Xv, K., Dong, F., Qiu, Y., He, L., & Lin, L. (2018). Diversity and communities of culturable endophytic fungi from different tree peonies (geoh herbs and non-geoh herbs), and their biosynthetic potential analysis. *Brazilian Journal of Microbiology*, 49, 47–58. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2018.06.006>

Yu, Y., Gui, Y., Li, Z., Jiang, C., Guo, J., & Niu, D. (2022). Induced Systemic Resistance for Improving Plant Immunity by Beneficial Microbes. *Plants*, 11(3), 386. <https://doi.org/10.3390/plants11030386>

Zhang, H. W., Song, Y. C., & Tan, R. X. (2006). Biology and chemistry of endophytes. *Natural Product Reports*, 23(5), 753. <https://doi.org/10.1039/b609472b>

Zhang, S., Gan, Y., & Xu, B. (2016). Application of Plant-Growth-Promoting Fungi *Trichoderma longibrachiatum* T6 Enhances Tolerance of Wheat to Salt Stress through Improvement of Antioxidative Defense System and Gene Expression. *Frontiers in Plant Science*, 07. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01405>

Zhao, J., Shan, T., Mou, Y., & Zhou, L. (2011). Plant-Derived Bioactive Compounds Produced by Endophytic Fungi. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 11(2), 159–168. <https://doi.org/10.2174/138955711794519492>

Zhao, Y., Thilmony, R., Bender, C. L., Schaller, A., He, S. Y., & Howe, G. A. (2003). Virulence systems of *Pseudomonas syringae* pv. *Tomato* promote bacterial speck disease in tomato by targeting the jasmonate signaling pathway. *The Plant Journal*, 36(4), 485–499. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01895.x>

Zhu, L., Li, T., Wang, C., Zhang, X., Xu, L., Xu, R., & Zhao, Z. (2018). The effects of dark septate endophyte (DSE) inoculation on tomato seedlings under Zn and Cd stress. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(35), 35232–35241. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-3456-2>

Zipfel, C., & Felix, G. (2005). Plants and animals: A different taste for microbes? *Current Opinion in Plant Biology*, 8(4), 353–360. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2005.05.004>

Zipfel, C., Kunze, G., Chinchilla, D., Caniard, A., Jones, J. D. G., Boller, T., & Felix, G. (2006). Perception of the Bacterial PAMP EF-Tu by the Receptor EFR Restricts Agrobacterium-Mediated Transformation. *Cell*, 125(4), 749–760. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.03.037>

Zipfel, C., & Oldroyd, G. E. D. (2017). Plant signalling in symbiosis and immunity. *Nature*. <https://doi.org/doi:10.1038/nature22009>



## 9. Zkratky

ROS	reaktivní formy kyslíku
ABA	kyselina abscisová
SAR	systémová získaná rezistence
ISR	indukovaná systémová rezistence
MAMPs	molekulární vzory spojené s mikroby
PAMPs	molekulární vzory spojené s patogeny
PRR	transmembránové receptory pro rozpoznávání vzorů
PTI	imunita spouštěná vzory
ETI	efektorem spouštěná imunita
PSII	fotosystém II
HR	hypersenzitivní reakce
SA	kyselina salicylová
JA	kyselina jasmonová
ET	etylen
PR	geny souvisejících s patogenem
AMF	arbuskulární mykorhizní houby
LPS	lipopolysacharidy
BIK1	<i>Botrytis</i> -indukovaná kináza 1 gen
FLS2	Flagellin sensing 2 gen
PGPR	bakterie podporující růst rostlin
MAPK	mitogen aktivovaná proteinová kináza
BRI1	Brasinosteroid insensitive 1 gen
BKK1	proteinová kináza podobná receptoru dependentní na brasinosteroid
INA	dichloroisoinikotinová kyselina
BTH	benzothiodiazol
PAL	fenylalanin amonium-lyasa
NB-LRR	polymorfní proteinové kinázy
IAA	kyselina indolactová
PSM	mikroorganismy solubilizující fosfor
ACCD	1-aminocyklopropan-1-karboxylát deamináza
ANOVA	analýza rozptylu