

УДК 57.05:[575.113.22:632.4]

DOI: 10.18523/2617-4529.2023.6.3-16

Плигун В. В., Антонюк М. З.

## ФОРМУВАННЯ СТІЙКОСТІ ДО ПАТОГЕНІВ У РОСЛИН ЗА УЧАСТІ ЕПІГЕНЕТИЧНИХ ЧИННИКІВ І ФІТОГОРМОНІВ

У статті розглянуто особливості стійкості рослин до патогенів, яка визначається наявністю генів резистентності та регуляцією їхньої активності за допомогою фітогормонів, діяльності ядерного порового комплексу, через епігенетичні модифікації на посттранскрипційному та посттрансляційному рівні ДНК і гістонів, відповідно. Охарактеризовано ядерний поровий комплекс, який складається з нуклеопоринів, ядерного порового кошика, цитоплазматичних філаментів і має здатність вибірково транспортувати транскрипційні фактори до ядра з цитоплазми та мРНК у протилежному напрямку, впливаючи на експресію генів. Серед епігенетичних модифікацій, описаних у статті, найбільш поширеним та охарактеризованим є метилювання (описано для ДНК і гістонів), яке забезпечує стабільність геному, доступність транскрипційних факторів. Зазначено, що для гістонів додавання метильної групи до амінокислотних залишків не завжди є чинником замовчування генів, оскільки вирішальними є кількість доданих груп і те, до якої амінокислоти вони приєднані. Обговорено перехід до транскрипційної активності генів завдяки ацетилюванню гістонів. Ацетильтрансфераза гістонів загального контролю TaGCN5 здатна сприяти експресії гена еноіл-КоА-редуктази в аллогексаплоїдній пшениці, яка задіяна в біосинтезі кутикулярного воску як одного з чинників захисту. Зворотний процес деацетилювання є як позитивним регулятором через зв'язки з факторами відповіді на етилен, так і негативним, оскільки перешкоджає ацетилюванню та метилюванню амінокислот гістонів. Також наведено інформацію про вплив, крім етилену, жасмонової та саліцилової кислот, комбінації перелічених фітогормонів на формування системної набутої резистентності. Позитивним фітогормоном для патогенів є ауксин через його здатність впливати на структуру клітинної стінки. Однак патогени завдяки ефекторам здатні інгібувати імунні відповіді рослини, тому спостерігається постійна «гонка озброєнь» із добором більш ефективних засобів проникнення й розвитку в рослині та її захисних реакцій. Наголошено на важливості й актуальності вивчення шляхів формування стійкості та аспектів, які даватимуть розуміння про визначальні чинники резистентності – наявність послідовності гена та/або факторів, які регулюють її експресію.

**Ключові слова:** стійкість рослин, патогени, гени стійкості, регуляція експресії генів, молекулярно-клітинні механізми, епігенетичні зміни, фітогормони.

### Вступ

Гени стійкості до збудників захворювань рослин переважно вивчають на рівні ДНК і встановлюють їх наявність чи відсутність, послуговуючись різними молекулярними техніками [1,2]. Проте зростає інтерес до факторів регуляції

експресії генів резистентності завдяки епігенетичним змінам, дії фітогормонів та можливому синергічному або антагоністичному впливу цих чинників [3–5]. У пшеницевих одним із деструктивних захворювань є борошниста роса, викликана *Blumeria graminis* (DC) E.O. Speer f. sp. *tritici* Em. Marchal (*Bgt*) [1]. Для створення

стійких рослин здійснюють перенесення генетичного матеріалу від близькоспоріднених видів. Наприклад, найбільше вивчено ген *Pm8*, інтрогресований від жита у складі транслокації 1BL.1RS, яка містить унікальні комбінації генів стійкості та врожайності. Таку транслокацію активно використовують і вивчають з 1960-х років, що дає змогу з'ясувати наслідки її тривалого використання для взаємодії патоген-господар. Перенесені чужинні послідовності в гібридних геномах взаємодіють з іншими регуляторними чинниками (нуклеїнові кислоти, білки, фітогормони та ін.), як результат – такі чужинні гени можуть не мати прояву через негативну регуляцію експресії [2,6]. Тому актуальним є не лише вивчення самих нуклеотидних послідовностей генів інтересу, а й аналіз механізмів, які впливатимуть на їхню експресію, та виявлення регуляторних молекул різної природи в гібридних геномах.

#### **Регуляція експресії генів стійкості**

У відповідь на проникнення патогену рослини здатні реагувати на посттранскрипційному та посттрансляційному рівнях, що координуватиме регуляцію розвитку стійкості. До епігенетичних модифікацій належать модифікації послідовностей ДНК і гістонів за рахунок метилювання, ацетилювання, сумоїлювання та ін., які можуть успадковуватись для створення пам'яті про реагування на розвиток патогену на молекулярному рівні. Такі процеси відбуваються через взаємодію різних типів РНК з білками та ДНК, білок-білкові взаємодії та сприяють тонкому регулюванню експресії цільових генів [3].

Коригування активності генів стійкості може відбуватися і завдяки мультибілковому комплексу ядерної пори (**N**uclear **p**ore **c**omplex, NPC) через його вплив на транспортування транскрипційних факторів до ядра [7]. Крім того, NPC здатний регулювати реплікацію та репарацію геномної ДНК, транскрипцію, процесинг РНК, просторову організацію хроматину. Центральний канал NPC складається з нуклеопоринів, багатих на фенілаланін і гліцин (FG), які опосередковують селективне перенесення молекул, які транспортуються (cargo transport), ядерного кошика та цитоплазматичних філаментів, які потрібні для витонченої взаємодії між нуклеоплазмою та вмістом цитоплазми, відповідно. Різні компоненти NPC сприяють регулюванню різноманітних фізіологічних процесів: росту й розвитку, імунної відповіді, передачі сигналів за участі гормонів, реакції на зміну температури. Ідентифіковано низку нуклеопоринів, задіяних в імунній відповіді рослини та запрограмованій

клітинній смерті (**P**rogrammed **C**ell **D**eath, PCD) [8]. Наприклад, нуклеопорини зовнішнього кільця NPC (**O**uter **R**ing **C**omplex, ORC) NUP96, NUP160 і Seh1 задіяні в базальній імунній відповіді під час ураження бактеріями роду *Pseudomonas*, опосередковуючи експорт мРНК, транскрибованої з генів, які модулюють імунну відповідь, з ядра [9]. Регуляторами імунітету рослин також є білки, асоційовані з ядерною мембраною. До них належать:

- компоненти ETI (effector-triggered immunity) – рецептор NLR-типу SNC1 (активатор ETI) та EDS1, який стоїть нижче в сигнальному каскаді за SNC1. Комплекс зовнішнього кільця NPC необхідний для опосередкованої SNC1 активації ETI та базальної резистентності;

- транскрипційний фактор клітинного циклу E2F (активує ETI неканонічним шляхом, під час якого задіяні рецептори саліцилової кислоти NPR3 та NPR4);

- NPR1 – головний регулятор імунітету, опосередкованого саліциловою кислотою;

- мітоген-активована протеїнкіназа MPK3 – задіяна у PTI, ETI та базальній резистентності;

- регуляторні компоненти циркадного годинника – *night light-inducible and clock-regulated gene 1 (LNKs)* – потрібні для формування базальної резистентності [4].

SUPPRESSOR OF NPR1-1, CONSTITUTIVE 1 (SNC1) є NLR білком Toll-interleukin 1 receptor (TIR) типу, задіяний у взаємодії між рослинами та патогенами. Мутанти з втратою функції SNC1 є більш сприйнятливими до патогенних *Pseudomonas syringae*. Ідентифіковано мутантів *modifer of snc1 (mos)*, які втратили здатність накопичувати саліцилову кислоту у відповідь на проникнення патогену та формування стійкості. Розвиток такого фенотипу визначається компонентами NPC: MOS3/Nup96, MOS7/Nup88, імпортинами  $\alpha_3$  та  $\beta$  родини каріоферинів [10,11]. Каріоферини є адаптерами для імпорту білків типу NLR, регулюють сплайсинг їх мРНК, включно з SNC1. Компоненти NPC регулюють активацію сигнальних шляхів саліцилової кислоти через взаємодію з епігенетичними регуляторами PRC2 (polycomb repressive complex 2), які послаблюють вплив триметилювання гістону H3 (H3K27me3) [4].

Продукт гена авірулентності *AvrPiz-t Magnaporthe oryzae* (патоген рису) здатний інгібувати нуклеопорин Nup98, який є компонентом NPC, спільно з імпортинами. Результатом такої взаємодії є зниження експресії генів *R*. Для пшениці теж показано, що молекули патогену здатні негативно впливати на роботу

ядерного порового комплексу, що призводить до зниження базального рівня вродженого імунітету [12].

Крім ядерного транспорту, регуляція здійснюється і через епігенетичні модифікації. Найбільш охарактеризованим процесом є метилювання, під час якого додається метильна група ( $\text{CH}_3$ ) до амінокислотних залишків гістонів та основ ДНК [13]. Така модифікація крім регуляції генів сприяє підтриманню стабільності геному через обмеження руху мобільних генетичних елементів [3,14]. Профілі метилювання є динамічними та формуються завдяки метилюванню *de novo*, збереженню певних ділянок геному метильованими та процесам деметилювання. Зміна рівнів метилювання відбувається протягом онтогенезу. Метилювання *de novo* забезпечується ДНК-метилтрансферазами DOMAINS REARRANGED METHYLTRANSFERASE 2 (DRM2) під час РНК-залежного ДНК-метилювання. Підтримання певних рівнів метилювання забезпечують хромометилази 2 та 3 (CHROMOMETHYLASE 2, 3, CMT2, CMT3) та метилтрансфераза 1 (METHYLTRANSFERASE 1, MET1). ДНК-метилтрансферази у свою чергу здійснюють деметилювання, до них належать Demeter (DME), Demeter-Like 2 (DML2), білок-супресор сайленсингу (Repressor of Silencing 1, ROS1). Перераховані білки описано для арабідопсису [15]. У результаті метилювання послідовностей генів доступність транскрипційних факторів до хроматину змінюється [14]. Метилювання транспозонів (Transposable elements, TEs) впливає на епігенетичні модифікації *in trans*. Наприклад, siRNA, які транскрибуються з гетерохроматинних регіонів (heterochromatic siRNAs, hc-siRNAs), утворюються з повторів послідовностей, TE, послідовностей у стані гетерохроматину та задіяні у РНК-спрямованому ДНК-метилюванні (RNA-directed DNA methylation, RdDM) гістонів та цільових послідовностей ДНК [3]. З TE та повторюваними елементами пов'язані локуси PRR/NLR. У рису гени *PigmR* та *PigmS* задіяні в розвитку стійкості до *Magnaporthe oryzae*. До складу промотора гена *PigmS* входять два тандемні мініатюрні транспозони (Miniature Transposable Elements, MITEs), з яких можуть утворюватися hc-siRNAs та які здійснюють контроль експресії гена через RdDM [16].

У деяких випадках метилювання може сприяти активації експресії генів через залучення полімерази до читувача хроматину (chromatin reader). Читувачі гістонів SAWADEE HOMEODOMAIN HOMOLOG 1 (SHH1) і CLASSY (CLSY) – передбачувані ремоделери хроматину, необхідні

для асоціації PolIV з послідовностями. Метилчитувач SU(VAR)3-9 гомолог 2 (SUVH2) та SUVH9 спільно з комплексом DDR–DEFECTIVE IN MERISTEM SILENCING 3 (DMS3), DEFECTIVE IN RNA-DIRECTED DNA METHYLATION 1 (DRD1) та RNA-DIRECTED DNA METHYLATION 1 (RDM1) – необхідні для залучення PolIV до хроматину. Збирання DDR регулюється комплексом, який стимулює початок і проходження анафази [14].

У *Nicotiana tabacum*, *Oryza sativa*, *Cucumis sativus* зміна статусу метилювання послідовностей може змінюватися через проникнення патогену. У перелічених видів після взаємодії зі збудником підвищуються рівні транскрипції рРНК через гіпометилювання послідовностей [17]. Деметилювання послідовностей опосередковане ДНК-метилазами та призводить до більшої доступності ДНК для транскрипційних факторів [13,17]. Профілі метилювання ДНК навколо генів стійкості перебувають під точним контролем, що продемонстровано на арабідопсисі. Крім того, після взаємодії з патогеном *Magnaporthe oryzae* у рису деметилювання не пов'язують з експресією гена стійкості *Pib*, продуктом якого є білок з доменом NLR. Послідовність промотора *Pib* має метильовані CG-острівки. Якщо інгібувати метилювання 5-азацитидином, то рослини втрачтимуть стійкість через зниження експресії *Pib* [13]. У дослідженнях процесів метилювання/деметилювання в ліній рослин з інтрогресіями немає консенсусу стосовно ролі метилювання в розвитку стійкості. Повногеномні дослідження профілів метилювання до та після проникнення патогену, його природа, можливо, дозволять дійти згоди стосовно зв'язку метилювання та фенотипу рослини після контакту з патогеном [13,18]. Види розрізняються і за рівнями метилювання послідовностей: у рису у відсотковому співвідношенні CHH, CHG та CG більш метильовані (4,7 %, 24,1 % та 44,5 %, відповідно), ніж у арабідопсису (1,7 %, 6,7 % та 24 %, відповідно) [18].

У разі метилювання гістонів додається метильна група до аміну білків гістоновими метилтрансферазами (Histone methyltransferases, HMT). Зворотним процесом є деметилювання за участі гістонових деметилтрансфераз (Histone demethyltransferases, HDMT) [13]. Метилювання не завжди пов'язують із репресією транскрипції, різні кількості доданих метильних груп та до різних амінокислотних залишків по-різному впливають на транскрипцію. Транскрипційно активні гени пов'язані з гістонами H3K4me (у гістону 3-го метильований 4-й залишок

лізину) [19] та H3K36me [3]. Гістони H3K9me3, H3K9me2, H3K27me асоціюють із транскрипційно неактивними генами, ділянками гетерохроматину, з TE та повторів [19]. Для злаків вплив метилювання/деметилювання на транскрипцію генів резистентності до *Bgt* не знайдено [3,13,19–22]. У рису білки з доменом Jumonji C (JmjC) (Jmj701-Jmj720) є консервативними лізиновими деметилазами гістонів, яким як коактиватор потрібен йон феруму для видалення двох чи трьох метильних груп із залишків лізинів. У мутантних рослин за геном *Jmj704* спостерігають підвищення рівнів метилювання H3K4me2/3, що на рівні організму проявляється як сприйнятливості до збудника бактеріального опіку *Xanthomonas oryzae pv oryzae* (*Xoo*) [13].

Ще одним процесом модифікації гістонів є ацетилювання, під час якого додається ацильна група (COCH<sub>3</sub>) за допомогою гістонових ацетилтрансфераз (**H**istone **a**cetyl**t**ransferases, HATs). Цей процес пов'язаний із переходом від конденсованого хроматину до експресії генів [19]. Ацетилювання H3K9ac, H3K27ac сприяє активації експресії [3,13]. Перехід до транскрипційно активного стану пов'язаний із нейтралізацією позитивного заряду залишків лізину, унаслідок чого зменшується фізична взаємодія між негативно зарядженою ДНК та гістонами, хроматин стає релаксованим і більш доступним для транскрипційних факторів. Експресія гена еноїл-КоА-редуктази (*Triticum aestivum* **E**noyl-**C**oA **R**eductase, *TaECR*) аллогексаплоїдної пшениці контролюється транскрипційним фактором з родини MYB – TaEPBM1 (**TaE**CR promoter-**b**inding **M**YB transcription factor 1, TaEPBM1) – через взаємодію з промотором та адаптерним білком Alteration/Deficiency in Activation 2 (TaADA2) відбувається залучення до нього ацетилтрансферази гістонів загального контролю TaGCN5 (**G**eneral **C**ontrol **N**onderepressible 5, TaGCN5) [21]. Продукт *TaECR* задіяний у біосинтезі кутикулярного воску, який потрібний для захисту рослини від патогену [21,22]. У разі замовчування гена спостерігають зменшення біосинтезу кутикулярного воску, оскільки еноїл-КоА-редуктаза є провідним ферментом у біосинтезі [22], як наслідок поширення та проростання конідії збудника борошнистої роси [23]. В описаному вище випадку показано протидію поширенню *Bgt* завдяки біосинтезу кутикулярного воску [22]. Однак є припущення, що патоген здатний посприяти компонентами кутикулярного воску (*in vitro* – довголанцюгові альдегіди) для ініціації проростання конідій та розвитку апресоріїв. Замовчування *TaECR* та гена

3-кетоацил-КоА-синтази (*3-ketoacyl-CoA synthase 6*, *TaKCS6*) перешкоджає розвитку гриба [24]. Регулятором *TaKCS6* є фактор ремоделювання хроматину TaCHR729, який через взаємодію з фактором транскрипції 1 типу bHLH спрямовує останній до промотора *TaKCS6*. Активація транскрипції *TaKCS6* відбувається і через триметилювання H3K4 в ділянці промотора [21].

Протилежним процесом до ацетилювання є деацетилювання [25]. Видалення ацильної групи (COCH<sub>3</sub>) з N-кінцевих залишків амінокислот [15], переважно лізину [13], опосередковане гістоновими деацетилазами (**H**istone **D**ea**a**cetylases, HDACs) та гістоновими ацетилтрансферазами (**H**istone **a**cetyl**t**ransferases, HATs) [25]. Гістонові деацетилази регулюють розвиток відповіді на біотичні стреси. У випадку арабідопсису експресія гена *AtHDA19* зростає після взаємодії з грибним некротрофним збудником *Alternaria brassicicola* та фітогормонами (етиленом, жасмонатом та жасмоновою кислотою). У випадку з фітогормонами спостерігають петлю позитивної регуляції: збільшення кількості AtHDA19 сприяє зростанню експресії *ERF1* (**E**thylene **r**esponse **f**actor 1, *ERF1*), продукт якого є фактором відповіді на етилен та сприяє розвитку захисної відповіді на патоген [26].

Гістонові деацетилази паралельно є і негативними регуляторами захисних реакцій до *Bgt*. TaHDT701, TaHDA6, TaHOS15 та повторюваний білок WD40 утворюють деацетилазний комплекс, у якому TaHDT701 стабілізує взаємодію TaHDA6 і TaHOS15. Нокдаун генів деацетилаз сприяє зростанню резистентності до збудника борошнистої роси через збільшення ацетилювання та метилювання амінокислотних залишків гістонів [26,27]. Комплекс Elongator (Elongator complex) у пшениці складається з 4 субодиниць та залучений у процесі набуття стійкості до збудника бурі гнилі *Rhizoctonia cerealis* шляхом посилення ацетилювання гістонів, які асоційовані з генами резистентності (*Defensin*, *Chitinase2*, *TaPAL5*, *TaAGC1*, *TaCPK7-D*). Пригнічення експресії *TaELP4* сприяє розвитку й поширенню *R. cerealis* через зменшення рівнів ацетилювання гістонів [25].

На арабідопсисі як модельному організмі показано, що існують перехресні посттрансляційні модифікації гістонів, що сприяє тонкій регуляції експресії цільових генів. Ацетилювання H3K4ac та H3K9ac пов'язують із додаванням однієї метильної групи до H3K4 (H3K4me). Хоч ацетилювання та метилювання мають протилежні ефекти на експресію генів, однак регуляція балансу між цими взаємодіями може сприяти більш точному перебігу експресії генів у рослини [21].

Отже, регуляція експресії генів за рахунок посттрансляційних модифікацій гістонів сприяє регуляції розвитку відповіді на проникнення збудників захворювань і має як позитивний, так і негативний вплив на експресію цільових генів.

#### **Регуляція стійкості фітогормонами**

Після розпізнавання патогену та подальшого розвитку реакції гіперчутливості відбувається формування системної набутої резистентності (**S**ystemic **A**cquired **R**esistance, SAR), тобто імунітету до широкого спектра вірулентних збудників. Розвиток SAR корелює з підвищенням активності пероксидази, експресією генів SAR, які кодують білки, пов'язані з патогенезом (**P**athogenesis-related, PR), збільшенням відкладання лігніну [28]. Розвиток SAR пов'язаний зі зміною сигнальних шляхів за участі фітогормонів: саліцилової та жасмонової кислот, етилену. Фітогормони можуть синергічно або/та антагоністично діяти для розвитку реакції рослини на патоген або інші сигнали з навколишнього середовища. Саліцилова кислота позитивно регулює захист рослини від біотрофних патогенів, які розвиваються в тканинах рослини-господаря, інколи від певних некротрофних патогенів. Сигнальні шляхи за участі етилену та жасмонової кислоти активуються у разі патогенів-некротрофів, котрі руйнують тканини рослини в процесі свого розвитку та залучені у взаємодію рослини з травоядними шкідниками [5].

#### **Розвиток SAR за участі саліцилової кислоти**

Саліцилова кислота (**S**alicylic **A**cid, SA) є ендогенним метаболітом і задіяна у формуванні SAR у відповідь на проникнення патогену [28]. Біосинтез саліцилової кислоти починається перетворенням шикимату на хоризмат, далі утворення SA може йти через ізохоризмат або фенілпропаноїди. Перетворення хоризмату на ізохоризмат каталізує ізохоризматсинтаза (**I**schorismate **s**ynthase, ICS1). Фенілаланін аміак-ліаза (**P**henylalanine **a**mmonia-**l**yase, PAL) перетворює фенілаланін на *trans*-саліцилову кислоту [29]. Сажковий гриб *Ustilago maydis* здатний протистояти імунним реакціям кукурудзи, елімінуючи попередники біосинтезу SA (хоризмату або ізохоризмату) [30]. Гени шляху PAL починають транскрибуватися після проникнення збудника в тютюн, тоді як гени шляху ICS1 – ні. В арабідопсису є 4 гени PAL, нокаут одразу 4 генів призводить до зменшення базального рівня саліцилової кислоти до 75 %, скорочується і патоген-індуковане утворення саліцилової кислоти на 50 % [31].

Ще одним шляхом протидії є деградація SA саліцилатгідроксилазою Shy1 (**S**alicylate **h**ydroxylase 1, Shy1). Продукти деградації саліцилової кислоти гриб використовує як джерело вуглецю. Експресія *shy1* відбувається лише після проникнення та початку колонізації грибом рослини, хоча делеція *shy1* не має впливу на вірулентність [30].

Процеси біосинтезу SA у представників *Triticeae* мало досліджено [32,33]. У ячменю описано сім генів PAL та один ген ICS, розташований на хромосомі 5Н. Замовчування ICS сприяє розвитку резистентності до *Fusarium graminearum* (збудник фузаріозу), при цьому спостерігають затримку росту в рослин. Сайленсинг або надекспресія PAL не впливає на ріст і стійкість. Гени PAL та ICS ідентифіковані в рису, ячменю та *Brachypodium* і є висококонсервативними, їхні продукти в цих видів гомологічні на 90 % [33]. Експресія ICS1 перебуває під контролем кальмодулін-зв'язувального білка CBPg60 (**c**almodulin-**b**inding **p**rotein 60-like g) та SARD1 (SAR-deficient 1, SARD1), які є транскрипційними факторами та здатні зв'язувати з промотором гена [29].

Синтезована SA в результаті проникнення збудника перетворюється на метилсаліцилат під дією метилтрансферази (**S**A-**m**ethyl **t**ransferase, SAMT). Метилсаліцилат дифундує в цитоплазму, де знову стає саліциловою кислотою через естеразну активність SABP2 (**S**A-**b**inding **p**rotein 2, SABP2). Поступово рівень SA у цитоплазмі зростає, унаслідок чого руйнується олігомерний NPR1 (**N**onexpresser of **P**athogenesis-**R**elated protein 1, NPR1) та утворюються мономери, які мігрують у ядро. Високі рівні SA спричиняють окисно-відновні зміни, як наслідок тіоредоксини (TRXh3 та TRX-h5) здатні відновлювати міжмолекулярні дисульфідні зв'язки між залишками цистеїну у NPR, зазвичай між 156 залишками в різних NPR, що й викликає утворення мономерів [29,34,35]. Мономери NPR1 активують експресію генів стійкості, індукованих SA (рис. 1) [31], через зв'язування NPR1 з TGA (TGACG-binding factor) цих генів [29,34]. Гомологами NPR1 є співрецептори саліцилової кислоти NPR3 і NPR4, які діють як білки-адаптори лігази CUL3 в опосередкованій протеасомами деградації NPR1. За низьких концентрацій SA NPR4 взаємодіє з NPR1, що сприяє деградації останнього та запобігає передчасній активації транскрипції генів за відсутності SA. У разі підвищеної кількості саліцилової кислоти спостерігають полегшене зв'язування NPR1 та NPR3, що теж сприяє деградації NPR1, що активує апоптоз. NPR1

є негативним регулятором запрограмованої клітинної смерті. За проміжної концентрації SA – NPR1 накопичуються, що дає змогу регулювати SA-чутливі гени захисту [34].

клітинної стінки відбувається через  $\beta$ -сендвіч-домен, який також називають модулем зв'язування вуглеводів із родини 63 (family-63 carbohydrate binding module, CBM63). Домен

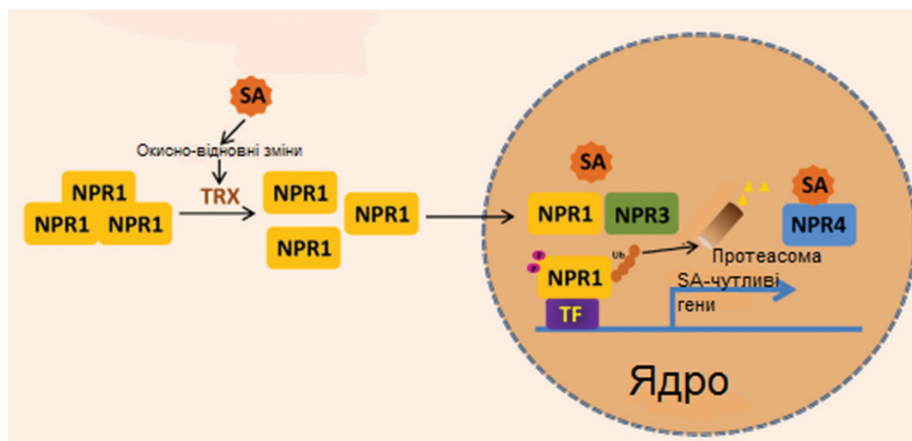


Рис. 1. Активації експресії SA-чутливих генів [34]

У ядрі NPR1 після активації транскрипції фосфорилюється комплексом ініціації транскрипції, після чого NPR1 зазнає убіквітинуювання лігазою Cullin3 (CUL3) E3, після чого зазнає деградації в протеасомі 26S [29,30,34,36]. Лігаза розпізнає NPR1 завдяки фосфорильованим залишкам серину Ser11 та Ser15 [29,34]. За відсутності саліцилової кислоти або за низьких рівнів NPR перебувають у стані олігомерного комплексу. В інтактних клітинах NPR1 фосфорильований за 55 та 59 залишками серину [29].

Ауксини, навпаки, сприяють розвитку патогенів, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, наприклад, має більш сприйнятливі умови для розвитку, якщо рис перебуває під впливом екзогенної індолілоцтової кислоти (ІОК). ІОК активує утворення білків екпансинів клітинної стінки, як наслідок вона стає більш пухкою та менше перешкоджає проникненню патогену. Ауксини також здатні впливати на сигнальні каскади інших гормонів або РТІ [5]. Екпансини – це білки клітинної стінки, які мають форму торпеди та складаються з 250–300 амінокислот, об'єднаних у два домени: N-кінцевий (**d**ouble-**p**si **b**eta-**b**arrel, DPBB) у формі  $\beta$ -бочки, який щільно упакований поруч із C-кінцевим доменом, який має  $\beta$ -сендвіч-складку [37]. Вони каталізують розщеплення водневих зв'язків між целюлозою та гліканами, які її поперечно зшивають. Така активність порушує формування клітинної стінки I типу через відсутність зшивок між молекулами целюлози, геміцелюлози GAX та  $\beta$ -глюканів у клітинній стінці II типу трав'янистих рослин [38 р. 95–6]. Взаємодія з полісахаридами

DPBB структурно пов'язаний із глікозидгідролазою родини 45 (**G**lycoside **H**ydrolase Family 45, GH45), незважаючи на таку подібність, екпансини не мають  $\beta$ 1,4-глюканазної активності, на відміну від GH45 [37]. Спочатку відбувається розпушення клітинної стінки, як наслідок вона стає більш релаксованою, після чого слідує процес молекулярної «повзучості» (molecular 'creep'): мікрофібрили целюлози та полісахариди, які утримують мікрофібрили, відокремлюються і клітинна стінка стає більш розпушеною [39]. Резистентність може формуватися через блокування передачі сигналів за участі ІОК. Ген рису *OsNPR1* регулює одночасно ріст рослин і блокує передачу сигналів за участі ауксинів, як наслідок рослини будуть резистентними, але меншого розміру. Є думка, що перевага віддається захисним реакціям порівняно з ростом рослини. Продукт гена рису *Gretchen Hagen 3 (GH3s)*, глікозидгідролаза регулює модифікацію клітинної стінки та ріст рослин [40], перешкоджає дії саліцилової та жасмонової кислот через їх кон'югацію з ІОК [41].

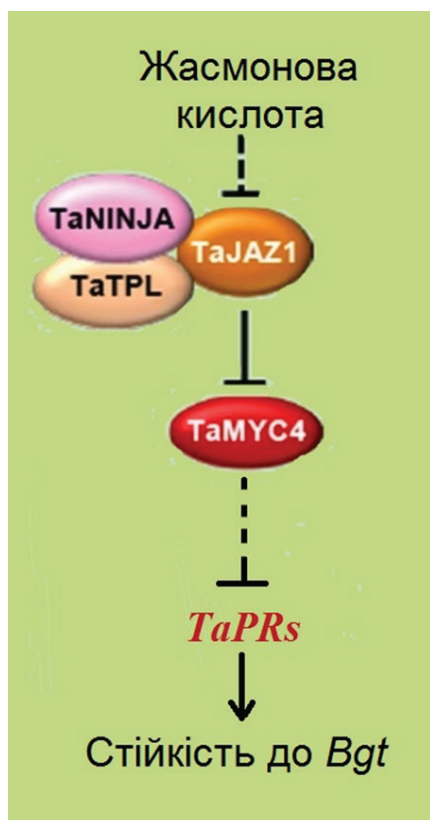
Отже, саліцилова кислота є позитивним регулятором відповіді на проникнення патогену.

#### Розвиток стійкості до *Bgt* завдяки жасмоновій кислоті

Жасмонова кислота (**J**asmonic **a**cid, JA) синтезується з ліноленової кислоти та є оксиліпіновим гормоном [42]. У пшениці ідентифіковано 14 генів *JAZ* [43], продуктами яких є репресорні білки JASMONATE-ZIM DOMAIN (JAZ),

які також є співрецепторами JA та її похідних. JAZ пшениці мають високу подібність до білків *Ae. tauschii*, *Brachypodium distachyon*, *Oryza sativa* [44] та діють як ТФ для генів, які реагують на жасмонову кислоту, здатні інгібувати інші ТФ за відсутності JA.

За присутності жасмонової кислоти TaJAZ взаємодіють із компонентом розпізнавання убіквітин-лігази E3 (SCFCO11) CORONATINE INSENSITIVE 1 (COI1). Після взаємодії відбувається убіквітування TaJAZ та деградація в протеасомі 26S [45]. Одним із компонентів JAZ є мотив Jas, без якого підвищена концентрація TaJAZ1 сприяє активації експресії генів резистентності та накопиченню АФК, що формуватиме стійкість до борошнистої роси. В інтактному стані співрепресор TaNINJA (**N**ovel **I**nteractor of **J**AZ, NINJA) за допомогою С-кінця зв'язує транскрипційний співрепресор TaTPL (**T**OP**L**ESS, TPL) із транскрипційним репресором TaJAZ1, щоб пригнітити транскрипційну активність *TaMYC4*. Після проникнення патогену TaJAZ1 зазнає деградації, як наслідок із *TaMYC4* утворюються продукти-регулятори генів резистентності *TaPRs* (*Pathogen resistance*) (рис. 2) [43].



**Рис. 2.** Розвиток захисних реакцій за участі жасмонової кислоти у відповідь на проникнення *Bgt* [43 зі змінами]

Резистентність до *Bgt* за участі JA формується завдяки білкам JAZ, які є регуляторами JA-чутливих генів стійкості.

### Етилен і регуляція захисту від *Bgt*

Етилен (**E**thylene, ET) є газоподібним гормоном, який синтезується з метіоніну в циклі Янга (Yang cycle). 1-аміноциклопропан-1-карбонової кислоти синтаза (1-**a**minocyclopropane-1-carboxylic acid, ACC) перетворює S-аденозил-метіонін на ACC [46]. Після біосинтезу етилен взаємодіє з рецепторами ETR1 (**E**THYLENE **R**ESISTANT 1, ETR1), розташованими в ендоплазматичному ретикулумі, які є негативними регуляторами сигнального шляху за участі ET. Після взаємодії ETR1 дефосфорилується через інактивацію асоційованої з рецептором Raf-подібної кінази CONSTITUTIVE TRIPLE RESPONSE 1 (CTR1) (рис. 3). Після дефосфорилування EIN2 вивільняється С-термінальний домен (C-terminal domain, CEND), здатний проникати в ядро та передавати сигнал ТФ EIN3, який є активатором експресії етилен-залежних генів, наприклад, *ETHYLENE RESPONSE FACTOR 1 (ERF1)* [29] та *OCTADECANOID-RESPONSIVE ARABIDOPSIS AP2/ERF 59 (ORA59)* [47]. *ERF1* (інше позначення – *APETALA 2 / Ethylene-responsive element binding factor, AP2/ERF*) кодує білки з родини транскрипційних факторів, задіяні в регуляції відповіді на біотичні та абіотичні чинники у *Haynaldia villosa* (VV, 2n = 14). *ERF1-V* спочатку був ідентифікований як позитивний регулятор стійкості до *Bgt*, пізніше встановлено, що його експресія індукується посухою, сольовим і холодним стресами та залежить від гормонів. Етилен та абсцизова кислота є позитивними регуляторами, саліцилова та жасмонова кислоти знижують експресію. Для пшениці м'якої також спостерігається позитивний вплив *ERF1-V* на розвиток стійкості до перерахованих вище біотичних та абіотичних чинників [48]. Регуляція генів, розташованих нижче в сигнальному каскаді, за допомогою ERF відбувається через зв'язування з послідовністю (AGCCGCC) та/або DRE/CRT (A/GCCGAC) у ділянці промотора цільових генів [47,48]. Крім того, ET стабілізує EIN3 через перешкодження дії F-box білків (EIN3 BINDING F-BOX PROTEIN 1 (EBF1) та EBF2), які спрямовують EIN3 на протеасомну деградацію за відсутності ET. Проявом негативної регуляції є репресія трансляції мРНК EBF1/2 через зв'язування С-кінця EIN2 з 3'UTR її послідовності [29].

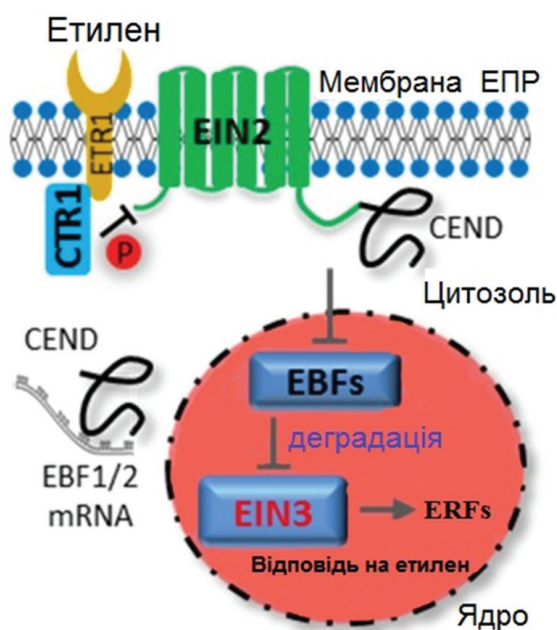


Рис. 3. Регуляція експресії етилен-чутливих генів [29]

ЕТ є позитивним регулятором формування захисту від патогенів із залученням ТФ родини MYB. У *Triticum urartu* ідентифіковано *TuACO3* та *TuMYB46L*. Продуктом *TuACO3* є оксидаза АСО 1-аміноциклопропан-1-карбонової кислоти (1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) oxidase, АСО), яка сприяє біосинтезу ЕТ. Інфіковані рослини *T. urartu* мають підвищений рівень експресії *TuACO3* та, відповідно, підвищену концентрацію АСО. Негативним регулятором *TuACO3* є ТФ *TuMYB46L*, який зв'язується з промоторною ділянкою гена. Після взаємодії рослини з *Bgt* експресія *TuMYB46L* зменшується, що дозволяє активації *TuACO3*. Вважають, що *TuACO3* та *TuMYB46L* є генним модулем, який регулює біосинтез етилену. Генним модулем називають сукупність генів, які співекспресуються та мають спільний набір ТФ для їхньої регуляції [49]. У *T. urartu* вниз за течією відносно *TuACO3-TuMYB46L* стоять гени хітиназ: *TuG1812G0300003072*, *TuG1812G0200004054*, *TuG1812G0200004053*, *TuG1812G0100002418* [50]. Хітинази за хімічною природою є глюкангідролізази та здійснюють гідроліз хітину (полі-N-ацетил-D-глюкозо-2-аміну) [51] з утворенням низькомолекулярних N-ацетилглюкозамінів і хітоолігосахаридів [52], які протидіють грибним патогенам. Гени хітиназ можуть експресуватися як індуковано, так і конститутивно під час нормального розвитку рослин. Підвищення рівня експресії спостерігають під час абіотичних стресів (посухи, забруднення ґрунту металами та ін.) [51], інфікування *Bgt*, збільшення кількості

ендогенного етилену чи обробки екзогенним. У разі інгібування експресії *TuMYB46L* гени хітинази експресуються, тобто генний модуль *TuACO3-TuMYB46L* є негативним регулятором 4 генів хітиназ [50].

У *T. urartu* генний модуль *TuACO3-TuMYB46L* є регулятором біосинтезу етилену та активності генів хітиназ як одних із чинників захисту від грибних патогенів. ЕПР-асоційовані рецептори ETR1 здійснюють регуляцію експресії генів стійкості до біотичних та абіотичних чинників.

#### Перехресні взаємодії між гормонами для тонкої регуляції цільових генів

Антагоністичні або синергічні перехресні зв'язки під час взаємодії з патогенами дають змогу швидко та з меншими енергетичними затратами формувати відповідь. Приклади таких взаємодій для впливу на стійкість – JA-ET, JA-SA [29,53]. Жасмонова кислота та етилен є позитивними регуляторами стійкості, як окремо, так і скоординовано, до некротрофних грибів (наприклад, *Botrytis cinerea*), гемібіотрофних (*Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*) та біотрофних патогенів (*Pseudomonas syringae*, *Blumeria graminis*) [53]. Мутантні рослини арабідопсису з порушеними сигнальними шляхами етилену та жасмонової кислоти мають підвищену чутливість до некротрофного патогену *Botrytis cinerea*, однак не до біотрофів. Зараження рослин патогеном *P. syringae* запускає SA-опосередковану захисну реакцію, що призводить до значного зниження стійкості до некротрофів через



пригнічення сигнального шляху ЕТ/JA [29]. Біотрофні грибні патогени беруть поживні речовини з живих клітин господаря, некротрофні вбивають клітини, щоб отримати поживні речовини, гемібіотрофні спочатку живляться за рахунок метаболітів рослини-господаря, а потім спричиняють смерть уражених клітин. Успішною програмою захисту від поширення біотрофа є апоптоз клітин навколо місця інфекції, тобто розвивається реакція гіперчутливості [54]. Для більшості біотрофів і гемібіотрофів відбувається взаємодія між рослиною та патогеном за моделлю ген-наген, тобто рослина має домінуючий ген стійкості, до продукту якого в патогену є комплементарний ефектор, кодований геном авірулентності [38 р. 985–9]. Під час проникнення патогену в рослинні клітини ефектори біотрофів і гемібіотрофів через взаємодію з рецепторами клітин-господаря (наприклад, LRR) викликають реакцію гіперчутливості, при цьому обмежується ріст патогену, але він здатний використовувати продукти біосинтезу рослини для свого існування. Проникнення таких патогенів у рослину за допомогою гаусторій нечасто викликає біосинтез інгібіторів до ферментів гриба, на відміну від некротрофних патогенів [54]. Ефектори некротрофних грибів активують імунну відповідь, викликану ефектором, через білок резистентності, унаслідок чого виникає реакція гіперчутливості та клітинна смерть, що їй потрібно некротрофам для живлення та розповсюдження. Прикладом такого ефектора є циклічний пептид вікторин, який секретується патогеном *Cochliobolus victoriae*, відповідальним за фітофтороз у вівса (іржа / плями Вікторії) та інших злаків. Прояв захворювання спостерігають лише в рослин, які мають ген стійкості *Pc2*, який пов'язується зі стійкістю до біотрофного гриба *Puccinia coronata*. Геном резистентності до *C. victoriae* вважають *Vb*, однак

*Vb* та *Pc2* є одним і тим самим геном. В арабідопсису чутливість до *C. victoriae* опосередкована NBS-LRR R LOCUS ORCHESTRATING VICTORIN EFFECTS1 (*LOV1*). За відсутності *LOV1* вікторин здатний інгібувати пов'язаний із захистом тіоредоксин *TRX-h5*, що призводить до виникнення симптомів інфекції, але не до хвороби. За наявності *LOV1* він зв'язується з *TRX-h5*, що викликає зміну окисно-відновного стану клітини, як наслідок розвивається реакція гіперчутливості та запрограмована клітинна смерть [55,56].

До перехресних взаємодій між етиленом і жасмоновою кислотою залучені *EIN3*, його гомолог *EIL1* (**E**IN3-like 1, *EIL1*) (сигнальний шлях ЕТ) та *JAZs-MYC2* з каскаду жасмонової кислоти (рис. 4). Екзогенна *JA* призводить до деградації *JAZ*, при цьому вивільняється *MYC2* та регулює гени стійкості до рослиноїдних комах (*ORA59/ERF1* та *VSP2*). Крім того, *JAZ* безпосередньо взаємодіють з *EIL2/EIN3*, що інгібує активність обох білків, але активує *ORA59/ERF1*, розташовані вниз за течією, ціллю яких є *PLANT DEFENSIN 1.2* (*PDF1.2*) [57], ген основної хітинази (**B**ASIC **C**HITINASE, *ChiB*), *AGMATINE COUMARYL TRANSFERASE* (*ACT*) [58], який кодує фермент синтезу амідів гідроксикоричної кислоти (**h**ydroxy**c**innamic **a**cid **a**mides, *HCAAs*) [59]. *ERF1* і *ORA59* зв'язуються з послідовністю *GCC* у промоторі *PDF1.2* [53]. *MYC2* та *EIN3* також фізично взаємодіють і пригнічують активність один одного для координації захисних реакцій та розвитку рослини [58]. У результаті рослина формує захисні реакції проти некротрофних і гемібіотрофних патогенів [57]. Описані події характерні для арабідопсису, який є дводольним. Під час вивчення захисних реакцій потрібно враховувати природу збудника та вид рослини [53].

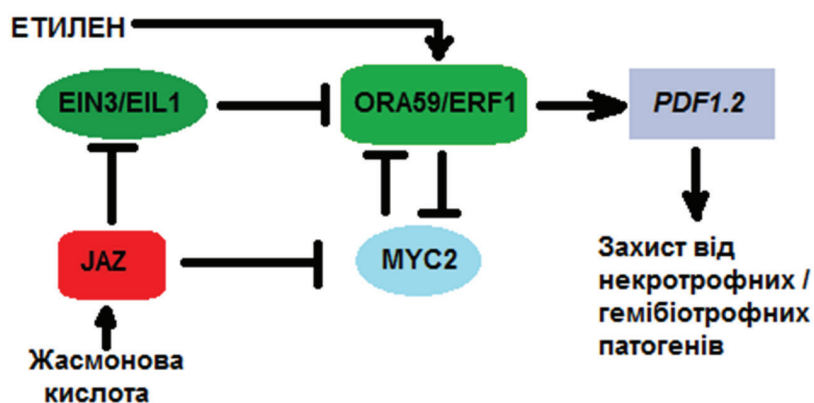


Рис. 4. Перехресні зв'язки між фітогормонами [57 зі змінами]

У випадку JA та SA ефекти переважно антагоністичні, тобто відбувається блокування біосинтезу / активності один одного, проте така взаємодія індукує стійкість до абіогічних і біогічних чинників. Як і для етилену та жасмонової кислоти, впливу SA–JA зазнають *MYC2*, *PDF 1.2* (*plant defensin 1.2*), *TGA*, *MAPK*, *WRKY62*, *NPR1*, *WRKY70*, *ERF1*, *GRX480*, *ORA59* (*octadecanoid-responsive Arabidopsis*, *AP2/ERF 59*) та *JAZ* [60]. МРК4 є позитивним регулятором рослино-специфічного глутаредоксину *GRX480* (інші назви – *ROXY19* та *GRXC9*) арабідопсису в сигнальному шляху саліцилової кислоти та може блокувати TGA-опосередковану експресію генів відповіді на JA, наприклад *ORA59* [57], водночас є негативним регулятором *MYC2* (сигнальний шлях JA) [29,57,60], який необхідний для регуляції JA-чутливих генів – *PDF1.2* та *THI2.1* [35,57]. Транскрипція *GRX480* є SA-індукованою та вимагає *NPR1* з сигнального шляху саліцилової кислоти [35], продукт гена є окисно-відновним ферментом, мономери якого транспортуються в ядро та фізично взаємодіють з TGA, котрі модулюють експресію генів стійкості [29,57,60]. *GRX480* та TGA – це транскрипційні фактори, які зв'язуються з GCC-боксом цільових генів. Після обробки рослин попередником біосинтезу етилену 1-аміноциклопропан-1-карбоною кислотою (1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid, ACC) спостерігають активацію генів, раніше пригнічених SA за допомогою TGA. За наявності ACC, GCC-бокс розпізнають *APETALA2/ETHYLENE* (*AP2/ERF*). Найбільше SA пригнічує *ORA59* і *ERF96* серед одинадцяти *AP2/ERF*. *ORA59* вважають головним регулятором захисту за перехресних взаємодій JA та ET, оскільки промотор *ORA59* має сайт зв'язування TGA класу II [61]. Ектопічна експресія *GRX480* пригнічує індуковану ET/JA експресію *ORA59* і *PDF1.2* (сигнальний шлях жасмонової кислоти) залежно від типу TGA [29].

Щоб блокувати біосинтез і накопичення саліцилової кислоти, JA модулює взаємодію між *MYC2* та родиною транскрипційних факторів *NAC* (*ANAC019*, *ANAC055* і *ANAC072*) [61], інша назва – білки з доменами *NAC*. Гени білків *NAC* ідентифіковані в арабідопсису, тополі бальзамічної (*Populus trichocarpa* L.), сої (*Glycine max* L.) та рису, кодують білки з висококонсервативним N-кінцевим ДНК-зв'язувальним доменом і варіабельним C-кінцевим доменом, який відповідає за трансактивацію *NAC*. Більшість представників родини *NAC* залучені в регуляцію старіння листя в рису, бамбука, пшениці та арабідопсису. Надекспресія *TaNAC-S* у пшениці призводить до сповільнення старіння листя,

при цьому збільшується врожайність і концентрація білка, у рису та бамбука спостерігають пришвидшене старіння [62]. Більшість членів родини *JAZ* взаємодіють із *MYC2*. Близькоспоріднений до *MYC2* ТФ *MYC5* (*bHLH28*) індукується жасмоновою кислотою та необхідний для чоловічої фертильності [63]. Жасмонова кислота індукує зв'язування *MYC2* з промоторними ділянками генів *NAC*, що пригнічує експресію *ISOCHORISMATE SYNTHASE1* (*ICS1*), яка відповідає за ініціацію експресії *BSMT1* (*BENZOIC ACID/SA CARBOXYL MEHYLTRANSFERASE 1*) під час біосинтезу SA [64]. Ключовими регуляторами перехресних взаємодій JA та SA є *MYC2* та МРК4, розташований вище в сигнальному шляху, що забезпечує скоординовану регуляцію стійкості рослин до некротрофних і гемібіотрофних грибів за участі двох гормонів. Саліцилова кислота є раннім регулятором генів стійкості, тоді як JA індукує пізню експресію генів [57].

У перехресних взаємодіях між SA та JA важливою є редокс-опосередкована зміна активності транскрипційних регуляторів. Підвищення концентрації глутатіону відбувається після екзогенного впливу саліцилової кислоти на рослину, SA здатна пригнічувати JA-індуковану експресію *PDF1.2*. Якщо використовувати інгібітор глутатіону, то таке інгібування не спостерігають. Жасмонова кислота сприяє зменшенню загальної кількості глутатіону, при цьому він перебуває в окисленому стані. У разі одночасного збільшення концентрації обох гормонів пріоритетним є сигнальний шлях SA (рис. 5) [35,65]. У разі вірусу мозаїки тютюну (*Тобacco mosaic virus*, *TMV*) найвищі рівні SA ідентифіковано в ділянках некротичного ураження та навколо, що характерно для реакції гіперчутливості. У клітинах листків, не уражених вірусом, більшість SA кон'югована з глюкозою (O-β-D-glucosyl-SA). Підвищення кількості глутатіону або S-нітрозоглутатіону в ураженому листі відбувається екзогенним шляхом або через використання трансгенних рослин із надекспресією гена *GSH*, який кодує γ-глутаміл-цистеїнсинтазу, задіяну в біосинтезі глутатіону. Це впливає на підвищення концентрації саліцилової кислоти та регуляцію SA-чутливих генів стійкості. Регуляція генів в інфікованих клітинах відбувається через окисно-відновну активацію основного регулятора транскрипції *NPR1* [66]. В арабідопсису з надмірною експресією злитого білка *NPR1* він зберігається в цитозолі, що призводить до пригнічення експресії *PDF1.2*, індукованого JA. Аналогічні ефекти є і в рису, що вказує на роль збереження *NPR1* у цитозолі для формування перехресних взаємодій між гормонами [35].

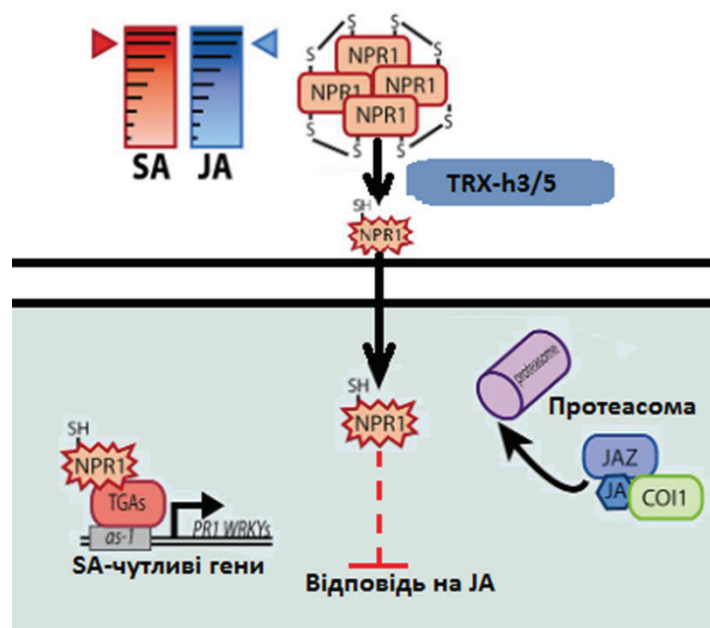


Рис. 5. Вплив редокс-стану клітини на перехресні зв'язки між жасмоновою та саліциловою кислотами [35]

Отже, вияв стійкості до грибних патогенів потребує скоординованої взаємодії компонентів сигнальних шляхів жасмонової, саліцилової кислот та етилену.

### Висновки

Регуляція розвитку стійкості рослин до патогенів формується завдяки посттранскрипційним, посттрансляційним модифікаціям на рівні, відповідно, ДНК і гістонів, які можуть сприяти або запобігати транскрипційній активності генів імунної відповіді залежно від типу модифікації. До регуляторів належать і складові ядерного

порового комплексу через вибіркоку здатність до транспорту мРНК та транскрипційних факторів. Для зазначених чинників описано зв'язок із молекулами, задіяними в сигнальних каскадах фітогормонів. Серед фітогормонів абсцизова, саліцилова та жасмонова кислоти та етилен сприяють формуванню імунної відповіді, ауксин, навпаки, може відкривати вікно можливостей патогену через більш пухкий стан клітинної стінки. Перехресні взаємодії між фітогормонами у разі впливу на формування стійкості розглядають залежно від гормону та залежно від того, на які компоненти сигнальних каскадів ці взаємодії спрямовані.

### References

- Bapela T, Shimelis H, Terefe T, Bourras S, Sánchez-Martín J, Douchkov D, et al. Breeding wheat for powdery mildew resistance: Genetic Resources and methodologies – a review. *Agronomy*. 2023;13(4):1173. DOI: 10.3390/agronomy13041173
- Kunz L, Sotiropoulos AG, Graf J, Razavi M, Keller B, Müller MC. The broad use of the *Pm8* resistance gene in wheat resulted in hypermutation of the *AVRPM8* gene in the powdery mildew pathogen. *BMC Biology*. 2023;21(1). DOI: 10.1186/s12915-023-01513-5
- Huang C-Y, Jin H. Coordinated epigenetic regulation in plants: A potent managerial tool to conquer Biotic Stress. *Frontiers in Plant Science*. 2022;12. DOI: 10.3389/fpls.2021.795274
- Wu X, Han J, Guo C. Function of nuclear pore complexes in regulation of plant defense signaling. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022;23(6):3031. DOI: 10.3390/ijms23063031
- Denancé N, Sánchez-Vallet A, Goffner D, Molina A. Disease resistance or growth: The role of plant hormones in balancing immune responses and fitness costs. *Frontiers in Plant Science*. 2013;4. DOI: 10.3389/fpls.2013.00155
- Müller MC, Kunz L, Schudel S, Lawson AW, Kammerecker S, Isaksson J, et al. Ancient variation of the *AvrPm17* gene in powdery mildew limits the effectiveness of the introgressed rye *Pm17* resistance gene in wheat. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2022;119(30). DOI: 10.1073/pnas.2108808119
- Poretti M, Sotiropoulos AG, Graf J, Jung E, Bourras S, Krattinger SG, et al. Comparative transcriptome analysis of wheat lines in the field reveals multiple essential biochemical pathways suppressed by obligate pathogens. *Frontiers in Plant Science*. 2021;12. DOI: 10.3389/fpls.2021.720462
- Lin DH, Hoelz A. The structure of the Nuclear Pore Complex (an update). *Annual Review of Biochemistry*. 2019;88(1):725–83. DOI: 10.1146/annurev-biochem-062917-011901
- Roth C, Wiermer M. Nucleoporins Nup160 and seh1 are required for disease resistance in *Arabidopsis*. *Plant Signaling & Behavior*. 2012;7(10):1212–4. DOI: 10.4161/psb.21426
- Lowe AR, Tang JH, Yassif J, Graf M, Huang WY, Groves JT, et al. Importin- $\beta$  modulates the permeability of the nuclear pore complex in a ran-dependent manner. *Elife*. 2015 Mar 6;4:e04052. DOI: 10.7554/elife.04052
- Li X, Gu Y. Structural and functional insight into the nuclear pore complex and nuclear transport receptors in plant stress signaling. *Curr Opin Plant Biol*. 2020;58:60–68. DOI: 10.1016/j.pbi.2020.10.006

12. Tamura K. Nuclear pore complex-mediated gene expression in *Arabidopsis thaliana*. *J Plant Res.* 2020;133(4):449–455. DOI: 10.1007/s10265-020-01177-0
13. Hoang TV, Vo KTX, Hong W-J, et al. Defense response to pathogens through epigenetic regulation in rice. *J Plant Biol.* 2018;61(1):1–10. DOI: 10.1007/s12374-017-0434-z
14. Gallego-Bartolomé J. DNA methylation in plants: mechanisms and tools for targeted manipulation. *New Phytol.* 2020;227(1):38–44. DOI: 10.1111/nph.16529
15. Zhi P, Kong L, Liu J, et al. Histone Deacetylase TaHDT701 Functions in TaHDA6-TaHOS15 Complex to Regulate Wheat Defense Responses to *Blumeria graminis* f.sp. *tritici*. *Int J Mol Sci.* 2020;21(7):2640. DOI: 10.3390/ijms21072640
16. Deng Y, Zhai K, Xie Z, Yang D, Zhu X, Liu J, et al. Epigenetic regulation of antagonistic receptors confers rice blast resistance with yield balance. *Science.* 2017 Mar 3;355(6328):962–5. DOI: 10.1126/science.aai8898
17. Wambui Mbichi R, Wang Q-F, Wan T. RNA directed DNA methylation and seed plant genome evolution. *Plant Cell Reports.* 2020 Jun 27;39(8):983–96. DOI: 10.1007/s00299-020-02558-4
18. Liu J, He Z. Small DNA Methylation, Big Player in Plant Abiotic Stress Responses and Memory. *Frontiers in Plant Science.* 2020 Dec 10;11(11). DOI: 10.3389/fpls.2020.595603
19. Ge C, Moolhuijzen P, Hickey L, Wentzel E, Deng W, Dinglasan EG, et al. Physiological Changes in Barley *mlo-11* Powdery Mildew Resistance Conditioned by Tandem Repeat Copy Number. *International Journal of Molecular Sciences.* 2020 Nov 20; 21(22):8769. DOI: 10.3390/ijms21228769
20. Cheng Y, Yao J, Zhang H, Huang L, Kang Z. Cytological and molecular analysis of nonhost resistance in rice to wheat powdery mildew and leaf rust pathogens. *Protoplasma.* 2014;252(4):1167–79. DOI: 10.1007/s00709-014-0750-9
21. Kong L, Zhi P, Liu J, Li H, Zhang X, Xu J, et al. Epigenetic Activation of *Enoyl-CoA Reductase* By An Acetyltransferase Complex Triggers Wheat Wax Biosynthesis. *Plant Physiology.* 2020 May 21;183(3):1250–67. DOI: 10.1104/pp.20.00603
22. Zheng J, Yang C, Zheng X, Yan S, Qu F, Zhao J, et al. Lipidomic, Transcriptomic, and BSA-660K Single Nucleotide Polymorphisms Profiling Reveal Characteristics of the Cuticular Wax in Wheat. *Frontiers in Plant Science.* 2021 Nov 24;12. DOI: 10.3389/fpls.2021.794878
23. Lambertucci S, Orman KM, Das Gupta S, Fisher JP, Gazal S, Williamson RJ, et al. Analysis of Barley Leaf Epidermis and Extrahaustorial Proteomes During Powdery Mildew Infection Reveals That the PR5 Thaumatin-Like Protein TLP5 Is Required for Susceptibility Towards *Blumeria graminis* f. sp. *hordei*. *Frontiers in Plant Science.* 2019 Oct 30;10. DOI: 10.3389/fpls.2019.01138
24. Wang X, Kong L, Zhi P, Chang C. Update on Cuticular Wax Biosynthesis and Its Roles in Plant Disease Resistance. *International Journal of Molecular Sciences.* 2020 Aug; 21(15):5514. DOI: 10.3390/ijms21155514
25. Wang K, Rong W, Liu Y, Li H, Zhang Z. Wheat Elongator subunit 4 is required for epigenetic regulation of host immune response to *Rhizoctonia cerealis*. *The Crop Journal.* 2020 Aug; 8(4):565–76. DOI: 10.1016/j.cj.2019.11.005
26. Jin P, Gao S, He L, Xu M, Zhang T, Zhang F, et al. Genome-Wide Identification and Expression Analysis of the Histone Deacetylase Gene Family in Wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plants.* 2020 Dec 24;10(1):19. DOI: 10.3390/plants10010019
27. Liu J, Zhi P, Wang X, Fan Q, Chang C. Wheat WD40-repeat protein TaHOS15 functions in a histone deacetylase complex to fine-tune defense responses to *Blumeria graminis* f.sp. *tritici*. *Journal of Experimental Botany.* 2018 Sep 11;70(1):255–68. DOI: 10.1093/jxb/ery330
28. Grant JJ, Chini A, Basu D, Loake GJ. Targeted Activation Tagging of the *Arabidopsis* NBS-LRR gene, *ADR1*, Conveys Resistance to Virulent Pathogens. *Molecular Plant-Microbe Interactions®.* 2003 Aug;16(8):669–80. DOI: 10.1094/MPMI.2003.16.8.669
29. Li N, Han X, Feng D, Yuan D, Huang L-J. Signaling Crosstalk between Salicylic Acid and Ethylene/Jasmonate in Plant Defense: Do We Understand What They Are Whispering? *International Journal of Molecular Sciences.* 2019 Feb 4;20(3):671. DOI: 10.3390/ijms20030671
30. Rabe F, Seitner D, Bauer L, Navarrete F, Czedik-Eysenberg A, Rabanal FA, et al. Phytohormone sensing in the biotrophic fungus *Ustilago maydis* – the dual role of the transcription factor Rss1. *Molecular Microbiology.* 2016 Aug 8;102(2):290–305. DOI: 10.1111/mmi.13460
31. Huang W, Wang Y, Li X, Zhang Y. Biosynthesis and Regulation of Salicylic Acid and N-Hydroxy-pipecolic Acid in Plant Immunity. *Mol Plant.* 2020 Jan;13(1):31–41. DOI: 10.1016/j.molp.2019.12.008
32. Lefevre H, Bauters L, Gheysen G. Salicylic Acid Biosynthesis in Plants. *Frontiers in Plant Science.* 2020;11. DOI: 10.3389/fpls.2020.00338
33. Hao Q, Wang W, Han X, Wu J, Lyu B, Chen F, et al. Isochorismate-based salicylic acid biosynthesis confers basal resistance to *Fusarium graminearum* in barley. *Molecular Plant Pathology.* 2018 Apr 25;19(8):1995–2010. DOI: 10.1111/mpp.12675
34. Kumar D. Salicylic acid signaling in disease resistance. *Plant Science.* 2014 Nov 1;228:127–34. DOI: 10.1016/j.plantsci.2014.04.014
35. Caarls L, Pieterse CMJ, Van Wees SCM. How salicylic acid takes transcriptional control over jasmonic acid signaling. *Frontiers in Plant Science.* 2015;6. DOI: 10.3389/fpls.2015.00170
36. Moreau M, Tian M, Klessig DF. Salicylic acid binds NPR3 and NPR4 to regulate NPR1-dependent defense responses. *Cell Research.* 2012 Jun 26;22(12):1631–3. DOI: 10.1038/cr.2012.100
37. Cosgrove D. Plant expansins: diversity and interactions with plant cell walls. *Current Opinion in Plant Biology.* 2015;25:162–72. DOI: 10.1016/j.pbi.2015.05.014
38. Buchanan BB, Gruissem W, Jones RL, editors. *Biochemistry and Molecular Biology of Plants.* 2nd ed. Nashville, TN: John Wiley & Sons; 2015. 1280 p.
39. Sampedro J, Cosgrove DJ. The expansin superfamily. *Genome Biol.* 2005;6:242. DOI: 10.1186/gb-2005-6-12-242
40. Li X, Yang D-L, Sun L, Li Q, Mao B, He Z. The Systemic Acquired Resistance Regulator OsNPR1 Attenuates Growth by Repressing Auxin Signaling through Promoting IAA-Amido Synthase Expression. *Plant Physiology.* 2016 Jul 4;172(1):546–58. DOI: 10.1104/pp.16.00129
41. Dempsey DA, Klessig DF. How does the multifaceted plant hormone salicylic acid combat disease in plants and are similar mechanisms utilized in humans? *BMC Biology.* 2017 Mar 23; 15(1). DOI: 10.1186/s12915-017-0364-8
42. Liu H, Carvalhais LC, Kazan K, Schenk PM. Development of marker genes for jasmonic acid signaling in shoots and roots of wheat. *Plant Signaling & Behavior.* 2016 Apr 26;11(5):e1176654. DOI: 10.1080/15592324.2016.1176654
43. Jing Y, Liu J, Liu P, Ming D, Sun J. Overexpression of TaJAZ1 increases powdery mildew resistance through promoting reactive oxygen species accumulation in bread wheat. *Scientific Reports.* 2019 Apr 5;9(1). DOI: 10.1038/s41598-019-42177-y
44. Wang Y, Qiao L, Bai J, Wang P, Duan W, Yuan S, et al. Genome-wide characterization of *JASMONATE-ZIMDOMAIN* transcription repressors in wheat (*Triticum aestivum* L.). *BMC Genomics.* 2017 Feb 13;18(1). DOI: 10.1186/s12864-017-3582-0
45. Wager A, Browse J. Social Network: JAZ Protein Interactions Expand Our Knowledge of Jasmonate Signaling. *Frontiers in Plant Science.* 2012;3. DOI: 10.3389/fpls.2012.00041
46. Binder BM. Ethylene signaling in plants. *Journal of Biological Chemistry.* 2020 Apr 24;295(22):7710–25. DOI: 10.1074/jbc.REV120.010854
47. Zhao Z, Feng Q, Liu P, He X, Zhao J, Xu Y, et al. RPW8.1 enhances the ethylene-signaling pathway to feedback-attenuate its mediated cell death and disease resistance in *Arabidopsis*. *New Phytologist.* 2020 Sep 5;229(1):516–31. DOI: 10.1111/nph.16857

48. Xing L, Di Z, Yang W, Liu J, Li M, Wang X, et al. Overexpression of *ERF1-V* from *Haynaldia villosa* Can Enhance the Resistance of Wheat to Powdery Mildew and Increase the Tolerance to Salt and Drought Stresses. *Frontiers in Plant Science*. 2017 Nov 29;8. DOI: 10.3389/fpls.2017.01948
49. Bar-Joseph Z, Gerber GK, Lee TI, Rinaldi NJ, Yoo JY, Robert F, et al. Computational discovery of gene modules and regulatory networks. *Nature Biotechnology*. 2003 Nov 1;21(11):1337–42. DOI: 10.1038/nbt890
50. Zheng H, Dong L, Han X, Jin H, Yin C, Han Y, et al. The *TuMYB46L – TuACO3* module regulates ethylene biosynthesis in einkorn wheat defense to powdery mildew. *New Phytologist*. 2019 Dec 16;225(6):2526–41. DOI: 10.1111/nph.16305
51. Gregorová Z, Socha P, Maglovski M, Moravčíková J, Libantová J, Kuna R, et al. Wheat pathogen resistance and chitinase profile. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*. 2015 Feb 2;4(special issue 2 (Biotechnology)):15–8. DOI: 10.15414/jmbfs.2015.4.special2.15-18
52. Kumar M, Brar A, Yadav M, Chawade A, Vivekanand V, Pareek N. Chitinases—Potential Candidates for Enhanced Plant Resistance towards Fungal Pathogens. *Agriculture*. 2018 Jun 22;8(7):88. DOI: 10.3390/agriculture8070088
53. Ma F, Yang X, Shi Z, Miao X. Novel crosstalk between ethylene- and jasmonic acid-pathway responses to a piercing-sucking insect in rice. *New Phytologist*. 2019;225(1):474–87. DOI: 10.1111/nph.16111
54. McCombe CL, Greenwood JR, Solomon PS, Williams SJ. Molecular plant immunity against biotrophic, hemibiotrophic, and necrotrophic fungi. *Essays in Biochemistry*. 2022 May 19. DOI: 10.1042/EBC20210073
55. Wang X, Jiang N, Liu J, Liu W, Wang G-L. The role of effectors and host immunity in plant–necrotrophic fungal interactions. *Virulence*. 2014 Jul 17;5(7):722–32. DOI: 10.4161/viru.29798
56. Wolpert TJ, Lorang JM. Victoria Blight, defense turned upside down. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 2016 Jul; 95:8–13. DOI: 10.1016/j.pmp.2016.03.006
57. Yang J, Duan G, Li C, Liu L, Han G, Zhang Y, et al. The crosstalks between jasmonic acid and other plant hormone signaling highlight the involvement of jasmonic acid as a core component in plant response to biotic and abiotic stresses. *Front Plant Sci*. 2019;10:1349. DOI: 10.3389/fpls.2019.01349
58. Liu H, Timko MP. Jasmonic Acid Signaling and Molecular Crosstalk with Other Phytohormones. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(6):2914. DOI: 10.3390/ijms22062914
59. Carere J, Powell J, Fitzgerald T, Kazan K, Gardiner DM. *BdACT2a* encodes an agmatine coumaroyl transferase required for pathogen defence in *Brachypodium distachyon*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 2018;104:69–6. DOI: 10.1016/j.pmp.2018.09.003
60. Wang Y, Mostafa S, Zeng W, Jin B. Function and Mechanism of Jasmonic Acid in Plant Responses to Abiotic and Biotic Stresses. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(16):8568. DOI: 10.3390/ijms22168568
61. Zander M, Thurow C, Gatz C. TGA Transcription Factors Activate the Salicylic Acid-Suppressible Branch of the Ethylene-Induced Defense Program by Regulating *ORA59* Expression. *Plant Physiology*. 2014;165(4):1671–83. DOI: 10.1104/pp.114.243360
62. Zhu Z, Li G, Yan C, Liu L, Zhang Q, Han Z, et al. *DRL1*, Encoding A NAC Transcription Factor, Is Involved in Leaf Senescence in Grapevine. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019 May 31;20(11):2678. DOI: 10.3390/ijms20112678
63. Ruan J, Zhou Y, Zhou M, Yan J, Khurshid M, Weng W, Cheng J, Zhang K. Jasmonic Acid Signaling Pathway in Plants. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019;20(10):2479. DOI: 10.3390/ijms20102479
64. Choudhary KK, Singh S, Agrawal M, et al. Role of Jasmonic and Salicylic Acid Signaling in Plants under UV-B Stress. In: *Jasmonates and Salicylates Signaling in Plants*. Springer International Publishing; 2021. p. 45–63.
65. Zhu F, Zhang Q, Che Y, Zhu P, Zhang Q, Ji Z. Glutathione contributes to resistance responses to TMV through a differential modulation of salicylic acid and reactive oxygen species. *Molecular Plant Pathology*. 2021;22(12):1668–87. DOI: 10.1111/mpp.13138
66. Künstler A, Király L, Kátay G, Enyedi AJ, Gullner G. Glutathione Can Compensate for Salicylic Acid Deficiency in Tobacco to Maintain Resistance to *Tobacco Mosaic Virus*. *Frontiers in Plant Science*. 2019 Sep 13;10. DOI: 10.3389/fpls.2019.01115

V. Plyhun, M. Antonyuk

## FORMATION OF PLANT RESISTANCE TO PATHOGENS INVOLVING EPIGENETIC FACTORS AND PHYTOHORMONES

The development of resistance to plant pathogens is determined by the presence of resistance genes and regulation of their activity due to phytohormones, the activity of the nuclear pore complex, and epigenetic modifications at the post-transcriptional and post-translational levels of DNA and histones, respectively. Changes in gene expression due to such modifications can be inherited in generations and contribute to the selection of resistant plants in populations.

The nuclear pore complex is composed of nucleoporins, a nuclear pore basket, cytoplasmic filaments and is able to selectively transport transcription factors to the nucleus from the cytoplasm and mRNA in the opposite direction, affecting gene expression. Methylation is the most common and well-studied among the epigenetic modifications. It is described for DNA and histones and ensures genome stability and the availability of transcription factors. Incorporation of methyl groups to amino acid residues is not always a factor in gene silencing for histones. The number of the incorporated groups as well as an amino acid they are attached to are crucial. Histone acetylation is associated with the transition to transcriptional activity.

The general control histone acetyltransferase TaGCN5 is able to promote expression of the enoyl-CoA reductase gene in allohexaploid wheat, which is involved in the biosynthesis of cuticular wax as one of the resistance factors. The reverse process of deacetylation acts both as a positive regulator, through ethylene response factors, and a negative one, as it interferes with acetylation and methylation

of histone amino acids. Jasmonic and salicylic acids, along with combinations of the mentioned phytohormones, mediate formation of systemic acquired resistance in addition to ethylene. Auxin is a positive phytohormone for pathogens due to its ability to influence the structure of the cell wall. At the same time, pathogens, due to effectors, are able to inhibit the plant's immune responses, so there is a constant "arms race" resulting in the selection of more effective means of penetration and development in the plant as well as its protective reactions. Investigation of the mechanisms of resistance formation and identifying the main factors of resistance, such as either presence of a gene sequence and/or factors regulating its expression, are of great importance.

**Keywords:** plant resistance, pathogens, resistance genes, regulation of gene expression, molecular cell mechanisms, epigenetic changes, phytohormones.

*Матеріал надійшов 26.05.2023*



Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0)