Наукові записки НаУКМА
Біологія і екологія 2024;7:3-15

NaUKMA Research Papers
Biology and Ecology 2024;7:3-15

БІОЛОГІЯ

BIOLOGY

DOI: 10.18523/2617-4529.2024.7.3-15
УДК 57.05:[575.113.22:632.4]

Павлюк Д. В., Терновська Т. К., Антонюк М. З.
Національний університет «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), Київ, Україна

СТІЙКІСТЬ РОСЛИН ДО ЗБУДНИКІВ ЯК РЕЗУЛЬТАТ ВЗАЄМОДІЇ ГЕНІВ

Сучасна інформація щодо геноміки рослин та збудників їхніх захворювань і досягнення молекулярної біології дали змогу констатувати участь продуктів генів, білків, в організації складних молекулярних комплексів, які збираються для реалізації певної ознаки фенотипу. Ознака стійкість/чутливість рослини до певного біотичного чинника цікава ще й тим, що відбувається взаємодія не лише між генами одного організму, а й між генами організмів, які належать до різних царств живого.

Стійкість рослин до патогенів може бути пасивною (забезпечується переважно ознаками морфології рослини) і активною. Активна стійкість формується внаслідок проникнення до рослини збудника або його елісіторів та ефекторів. Активний захист рослини на молекулярному рівні виражається в запуску МАРК-каскаду, накопиченні активних форм кисню, збільшенні потоку йонів кальцію до клітини. Активний захист може реалізовуватися на двох рівнях. Перший рівень, PTI (PAMP Triggered Immunity), розвивається у відповідь на контакт рослини з широким спектром неадаптованих патогенів. Стійкість (імунітет), що при цьому формується, називають неспецифічною, або горизонтальною, або кількісною. Молекулярним інструментом ініціації захисних реакцій є рецептори PRR (Pattern Recognition Receptors). Адаптовані патогени здатні долати PTI, надсилаючи в рослинні клітини ефектори. Це білкові молекули, функцією яких є створення всередині клітини умов, більш пермісивних для збудника. Ефектор може розпізнаватися специфічним рецептором рослини NLR (Nod-Like Receptors), і між ними відбувається комплементація. Є інші специфічні рослинні молекули, nonNLR, з іншим типом взаємодії білкових продуктів для розпізнавання. В обох випадках розвивається другий рівень захисту, ETI (Effector Triggered Immunity). Перелік молекулярних процесів на другому рівні захисту не відрізняється від переліку першого рівня, проте процеси відбуваються більш інтенсивно і супроводжуються загибеллю вражених клітин. Це перешкоджає подальшому розповсюдженню збудника по рослині. Молекулярні події першого та другого рівнів захисту не є ізольованими. Взаємодію між ними із залученням продуктів рослинних генів і генів збудника описують моделі «zig-zag-zig», «invasion model», інтегрована модель айсберга. Взаємодію рослинних генів для розпізнання ефектора описують моделі «охоронець» і «вловлювач». Для ініціації захисної реакції рослинні рецептори, які можуть іноді диференціюватися на сенсори та хелпери, утворюють білкові комплекси, резистосоми.

Ключові слова: стійкість рослин, рослинні гени стійкості, ефектори патогену, *R-Avr* взаємодія, резистосома.

Вступ

Взаємодія генів – одне з класичних питань генетики. Теорія взаємодії, формулювання понять, термінологія про взаємодію генів розвивались з часів формальної генетики. Це питання висвітлено в концептуальній літературі 1970–1980-х років. Якщо порівнювати тексти різних джерел, присвячених взаємодії генів, в очі впадають дві речі: по-перше, для одних і тих самих типів міжгенної взаємодії (а типи взаємодії оцінювались виключно на фенотипному рівні) наводили одні й ті самі приклади, і інших у літературі знайти неможливо;

© *Павлюк Д. В., Терновська Т. К., Антонюк М. З.,* 2024
© Національний університет «Києво-Могилянська академія» (засновник і видавець), 2024

по-друге, автори текстів оперують одиницями алель гена. Пишуть: алель А (першого гена) впливає на алель В (другого гена) таким чином, що алель А не проявляється. Це – домінантний епістаз. На зміну ері формальної генетики прийшла ера генетики молекулярної, правильніше сказати – ера молекулярної біології. Стало можливим перевести взаємодію між генами в площину фізико-хімічної взаємодії між продуктами їхньої експресії – білками. Це сталося завдяки появі адекватних методів молекулярної біології, які щороку поповнюються. Припущення, що стійкість рослин до збудника, принаймні облігатного біотрофа, формується як результат комплементарної взаємодії генів різних геномів, з'явилося наприкінці 1940-х років, але загальноприйнятим поглядом на формування стійкості у рослин стало набагато пізніше. Ближче до кінця XX століття модель взаємодії генів ускладнилась, тому що для розвитку резистентності рослини до збудника взаємодіють гени не лише рослини і патогену, а й власне рослинні гени. І доволі швидко відбувається ускладнення цієї моделі із залученням не лише рослинних генів, що взаємодіють, а й генів патогену. Генетика формування стійкості рослин до патогену виявилась надзвичайно цікавим і багатим на експериментальні приклади полем у генетиці. У нашому огляді ми обмежимося розглядом стійкості рослин лише до облігатних біотрофів. Вважаємо, що накопичення фактичного матеріалу і стійкість одного виду до іншого слід розглядати окремо для різних патогенів і шкідників рослин. Це дасть змогу згодом виявити вузлові моменти на шляху взаємодії генів (їхніх продуктів), якими характеризується формування рослинного імунітету до рослинних патогенів загалом.

Типи стійкості рослин до мікробного збудника

У природних середовищах існування рослини постійно тісно контактують з біогенними стресорами, зокрема з такими мікроорганізмами, як гриби та бактерії. За спільної еволюції рослин і мікроорганізмів сформувалися системи молекулярно-генетичних взаємодій між представниками різних царств, завдяки яким рослина може розвивати фенотип стійкості до збудника/збудників, а патоген – здатність вражати рослину, щоб використати її внутрішньоклітинні ресурси для власної репродукції [1-4].

Серед систем захисту, що їх розвивають рослини, розрізняють системи пасивного та активного захисту. Елементи пасивного захисту – це фізико-хімічні бар'єри, тобто воскова осуга, клітинна стінка, вторинні метаболіти з різною протимікробною активністю [1,2]. Пасивні механізми стійкості загалом є універсальними для рослин, варіюючи лише залежно від таксономічного статусу виду. Пасивними ці елементи стійкості називають тому, що риси стійкості формуються незалежно від того, чи атакує рослину патоген [3,5].

Активну стійкість, що розвивається як відповідь рослини на контакт із патогеном, поділяють на нехазяйську (non-host resistance), або стійкість широкого спектра, неспецифічну чи горизонтальну стійкість [4,6-8], та хазяйську (host resistance), або расоспецифічну чи вертикальну стійкість [4,9]. Активна стійкість рослин до патогенів розвивається, якщо мікроорганізм(и) розпізнає(ю)ться певними цитоплазматичними або внутрішньоклітинними рецепторами, які в результаті цього активують імунні відповіді рослини [1].

Молекулярне підґрунтя активної стійкості

Патогенний мікроорганізм, потрапляючи до рослини, продукує і виділяє в рослинне середовище (апопласт, клітини) пептиди, різні полісахариди, пептидоглікани, ліпіди, фрагменти нуклеїнових кислот. За походженням вони є зовнішніми для рослини, сприймаються рослиною як чужинні молекули і разом створюють консервативні патоген-асоційовані молекулярні патерни (Patogen Associated Molecular Patterns, PAMPs), або MAMPs (Microbe Associated Molecular Patterns). Одночасно рослина виділяє в позаклітинне середовище (апопласт) молекули та їхні частини, які утворюються в результаті пошкодження рослинних клітин і для рослини є сигналами небезпеки. Ці молекули формують Damage-Associated Molecular Patterns (DAMPs) [10]. Згадані молекулярні патерни розпізнаються рослинними рецепторами PRRs (Pattern Recognition Receptors) [11], і запускається формування PAMP-спрямованого імунітету (PAMP Triggered Immunity, PTI або MTI) [11-13]. PRRs представлені рецепторо-подібними кіназами (Receptor-Like Kinases, RLKs) та рецепторо-подібними білками (Receptor-Like Proteins, RLPs). Рослинні RLKs складаються з позаклітинного ектодомену, трансмембранного домену та цитоплазматичного кіназного домену. RLPs на відміну від RLKs кіназного домену не мають [5].

Розпізнавши PAMP, PRRs запускають сигнальний каскад, який активує реакції для забезпечення захисту рослини від патогену, отже, формується PTI (Pathogen Triggered Immunity): МАРК-каскад, викид активних форм кисню (АФК), викид Ca^{2+}. Всі ці молекулярні події є елементами захисної реакції рослини [12,14].

Оксидативний вибух є однією з перших імунних реакцій рослин, він пов'язаний з надчутливою відповіддю [15,16]. АФК є, серед іншого, сигнальною молекулою з антимікробними властивостями [15,17]. Вторинний месенджер кальцій відіграє величезну роль у розвитку реакції рослини на стрес. Широко відоме його значення для апоптозу, він регулює передачу деяких сигналів. Усі перелічені молекулярні події є складовими частинами розвитку системної набутої резистентності (Systemic Acquired Resistance, SAR) [15].

Отже, рослина реагує формуванням PTI на будь-який патоген. Патогени, які викликають PTI, називають неадаптованими. На неадаптовані патогени рослина реагує неспецифічною або горизонтальною стійкістю. Патоген має можливість здолати таку стійкість, тоді він отримує статус адаптованого патогену [1]. Для того щоб обійти системи захисту рослин PTI, адаптовані патогени секретують велику кількість молекул-ефекторів, які спрямовуються до рослини [18]. Ефектори можуть бути позаклітинними, тоді вони просто уникають контакту з PRRs, не розпізнаються і не викликають PTI з боку рослини на адаптований збудник [19]. Ті ефектори, які потрапляють до клітини, можуть впливати на компоненти імунної системи рослини, долати імунітет і сприяти вразливій реакції. Якщо рослина має гени стійкості до такого збудника і продукти таких генів розпізнають ефектор, розвивається ефектор-асоційований імунітет (Effector Triggered Immunity, ETI) [20].

Для організації захисту від адаптованих патогенів рослини мають внутрішньоклітинні NOD-подібні рецептори (Nod-like receptors, NLR) з нуклеотид-зв'язувальними сайтами та багатими на лейцинові повтори доменами. Саме ці рецептори, якщо розпізнають ефекторну молекулу, активують ефектор-асоційований імунітет (ETI), який є другим рівнем активного захисту рослин після PTI. Результатом активації ETI, як і у разі неспецифічної стійкості, є запуск MAPK-каскаду, викид АФК, підвищення рівня Ca^{2+} та зміни гормонального фону [21,22]. Однак ініціація запуску ETI має високоспецифічний характер, розвивається як реакція на адаптованого збудника і часто супроводжується надчутливою відповіддю та програмованою смертю клітин у місцях ураження. Це перешкоджає поширенню інфекції по рослині, тобто відбувається обмеження осередку ураження [23].

Гени рослин, які здатні забезпечувати специфічний захист від одного чи більше штамів патогену, називають генами резистентності (*R*-генами), або генами вертикальної стійкості. Хоча не всі NLR кодуються *R*-генами, усі вони відіграють роль у стійкості рослин до принаймні одного патогенного організму [12].

Терміни «нехазяйська стійкість» та «хазяйська стійкість», які часто трапляються в літературі, самостійного значення не мають, їх замінюють на терміни «стійкість до неадаптованих збудників – нехазяйська», «стійкість до адаптованих – хазяйська». Нехазяйська стійкість формується рослиною в результаті контакту з представниками всього розмаїття мікробних збудників, які вражають рослину (неспецифічна стійкість), і забезпечується всім спектром молекулярних подій, які вже згадано для неспецифічної стійкості. До того ж додається пасивна стійкість.

Хазяйська стійкість – це стійкість до адаптованих патогенів, забезпечується ETI і легко долається збудником, щойно рецептор рослини перестає розпізнавати ефектор збудника. Тобто стійкість до адаптованих збудників розвивається в результаті взаємодії продуктів генів, один з яких є частиною геному рослини, а інший – частиною геному збудника. Як ефектор, так і рецептор можуть змінитися завдяки відомим генетичним процесам, що розширюють мінливість організму. Крім того, зміна може торкнутися епігенетичного рівня реалізації генетичної інформації, тобто регуляції її експресії. В обох випадках втрачається можливість реакції розпізнання ефектора з боку продукту гена стійкості і рослина стає вразливою.

Нехазяйська стійкість, як і хазяйська, може виражатися як реакція гіперчутливості з формуванням осередку апоптозу. Проте вважають, що надчутлива відповідь у результаті реакції на адаптовані грибні патогени триває довше, ніж на неадаптовані [4]. Саме хазяйська стійкість контролюється здебільшого взаємодією «ген на ген» між *R*-генами та генами авірулентності патогенів (*Avr*-генами), які продукують ефектори [1,24,25].

Будова молекул, що беруть участь в організації стійкості

Молекули з боку рослини. На сьогодні описано принаймні чотири типи молекул, які беруть участь в організації стійкості рослин через активацію механізмів PTI/ETI. Молекули типу 1 викликають расоспецифічну стійкість, ETI. Вони представлені внутрішньоклітинними імунними рецепторами. По-перше, це NOD-подібні рецептори NLRs з центральним нуклеотид-зв'язувальним доменом (central nucleotide-binding and oligomerization domain, NOD) [5]. Залежно

від структури N-кінця розрізняють рецептори CNLs (зі спіральним доменом coiled-coil, CC), TNLs (з Toll-подібним інтерлейкін-1 N-кінцевим доменом) та з доменом RPW8 – доменом стійкості до борошнистої роси 8 (Resistance to Powdery Mildew 8). Другий спільний для всіх таких рецепторів домен – LRR (Leucine Rich Repeat) на С-кінці. Багатий на лейцинові залишки, мінливий, відповідає за розпізнання ефектора. Нуклеотид-зв'язувальні домени (Nucleotide Binding, NB) разом з доменами APAF-1 (Apoptotic Peptidase Activation Factor 1), R-доменами та CED-4 доменами (Cell Death Protein 4) формують центральний NB-ARC домен з АТФ-зв'язувальною активністю [26]. Після розпізнання ефектора з боку LRR конформація фосфат-зв'язувальної петлі домену NB-ARC змінюється, АДФ фосфорилюється до АТФ та відбувається активація NLR [27]. По-друге, це молекули non-NLR, які містять тандем доменів кіназа-псевдокіназа (Tandem Kinase Proteins, TKP) [25,28]. Такі білки кодуються генами стійкості до борошнистої роси *Pm24* та *WTK4*, геном стійкості до стеблової іржі ячменю *Rpg1* та геном стійкості пшениці до жовтої іржі *Yr15* [29,30].

Типи імунних молекул 2–4 викликають PTI. Вони розпізнають молекулярні наслідки метаболічної активності патогену в рослині через рецептори PRRs [21]. До молекул типу 2 належать рецептороподібні кінази (RLKs) та рецептороподібні білки (RLPs). RLKs містять ектодомен (ECD), трансмембранний домен і цитоплазматичний кіназний домен, а RLPs останнього домену не мають. Ектодомен містить низку доменів (LRR, lysine motifs (LysMs), лектиновий, malectin-like, epidermal growth factor (EGF)-like), які виконують функцію розпізнання PAMP-молекул, зокрема стероїдів, пептидів, полісахаридів, ліпополісахаридів [31].

Імунні молекули типу 3 – це транспортні білки, локалізовані на мембрані. Гени стійкості до борошнистої роси *Pm38* та *Pm46* кодують саме такі молекули [86,87]. Ген *Pm38* кодує транспортер абсцизової кислоти, і її перерозподіл у рослинних клітинах завдяки такому транспортеру сприяє стійкості рослин до різних патогенів [32,33]. Стійкість, що формується завдяки функціонуванню таких транспортерів, як будь-яка стійкість, що розвивається як PTI, є частковою або кількісною на противагу расоспецифічній стійкості, що супроводжує шлях ETI внаслідок наявності імунних молекул типу 1. Головна перевага такої часткової стійкості полягає в тому, що вона формується до широкого спектра збудників і тому є вкрай бажаною як генетичний аспект стійкості [5,32].

Імунними молекулами типу 4 визнано продукти генів *Mlo* та *Edr1*. Часткова нерасоспецифічна стійкість, зокрема до борошнистої роси, забезпечується рецесивними алелями вказаних генів із втратою функції [5,34,35]. MLO є мембранним протеїном [36]. Його С-термінальний домен відповідає за зв'язок із кальмодуліном, залежним від катіонів Ca^{2+}. Тобто білок задіяний у певному загальноклітинному сигнальному шляху, реалізація якого виконує роль негативного регулятора стійкості до борошнистої роси [37]. До того ж висунуто припущення, що MLO необхідний для правильного генезису везикул, необхідного для успішного патогенезу [38].

EDR1 (Enhanced Disease Resistance1), цитоплазматична кіназа (MAPKKK), також є учасником загальноклітинних сигнальних шляхів [39]. В арабідопсису цей білок негативно регулює PTI через модуляцію з боку імунного комплексу, асоційованого з RLP53 [38]. Крім того, EDR1 прямо зв'язується з PAD4 та EDS1, компонентами ETI, інтерферуючи в такий спосіб їхню участь в ETI і знижуючи резистентність [40].

Молекули з боку збудника. Роль ефекторів виконують ті молекули патогену, які продукуються ним, надсилаються до рослинної клітини і впливають на будову та функції клітини-господаря таким чином, щоб умови існування патогену в цій клітині стали більш пермесивними для патогену [21]. Ефектори поділяють на фактори вірулентності й авірулентності. Фактори вірулентності тільки сприяють розвитку інфекції, а фактори авірулентності (кодуються генами *Avr*) здатні запускати імунну відповідь господаря типу ETI [41].

Головними патогенами рослин є одноклітинні гриби, ооміцети та бактерії. Перший ген *Avr* було секвеновано в бактеріальному збуднику *Pseudomonas syringae* у 1980-х роках [42]. Для злаків, що культивуються, основними хворобами є іржа й борошниста роса. Обидві викликаються облігатними біотрофними грибами *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* та *Blumeria* (*Erysiphe*) *graminis* f. sp. *tritici* та f. sp. *hordei*, відповідно [23,43]. Хоча інтерес до природи ефекторів цих патогенів був високий, досліджувати ефектори облігатних біотрофів надзвичайно складно. Лише завдяки розробленню нових методів геноміки і генетики вдалося досягти відчутних успіхів у цьому напрямі. Було ідентифіковано ефектори вказаних грибів, секвеновано відповідні гени [44-47]. Ефектори грибних патогенів мають такі характеристики: малий розмір

(63–314 амінокислотних залишків), наявність сигналу секреції, високий рівень гомології до білків гаусторій та високий вміст цистеїну. У межах гена наявні повтори, давно визнані гарячими точками рекомбіногенезу [48].

Найкраще на сьогодні вивчено ефектори збудника борошнистої роси, який має один із найбільших серед грибних патогенів геном (150–180 мільйонів пар, транспозони становлять близько 90 % геному) [49]. 844 гени із загальної кількості 8470 генів у геномі *B.g. triciti*, тобто 10 %, кодують ефектори. Між ефектор-кодувальними генами міжгенні ділянки більші, ніж між генами, білкові продукти яких мають інше функціональне призначення. До того ж ці гени часто розташовані в кластерах, багатих на гарячі точки рекомбінації, які мають, як відомо, високий рекомбіногенний (мутагенний) потенціал [47], джерело генетичного поліморфізму. Наразі секвеновано ефектор-кодувальні гени борошнистої роси: *AvrPm1a* [50], *AvrPm2* [49], *AvrPm3*$^{a2/f2}$, *AvrPm3*$^{b2/c2}$, *AvrPm3*^{d3} [14] та *SvrPm3*$^{a1/f1}$ [51]. *AvrPm1a* має високий рівень гомології з *AvrPm2, AvrPm3*$^{a2/f2}$, *AvrPm3*$^{b2/c2}$ та *AvrPm3*^{d3} [46,47]. Для всіх продуктів цих генів характерна сигнальна послідовність, Y/FxC-мотив на N-кінці та один консервативний цистеїновий залишок біля С-кінця. На N-кінці вони мають також одну α-спіраль та три або чотири β-листи. AvrPm1a є більшим за розміром та має другу α-спіраль. AvrPm3$^{a2/f2}$ складається зі 130 амінокислотних залишків, зокрема YxC-мотиву та другого цистеїнового залишку на С-кінці. SvrPm3$^{a1/f1}$ пригнічує розпізнавання продуктів генів *AvrPm3* відповідними рецепторами господаря. Продукт цього гена має рибонуклеазну активність [24,50,52].

Продукти генів авірулентності *Avr* вважають головними детермінантами взаємодії між рослиною-господарем і грибом, що викликає борошнисту росу. Їх об'єднують у групу Candidate Secreted Effector Proteins (CSEPs) [53]. Ефектори секретуються крізь ендоплазматичний ретикулум гриба. Деякі з них залишаються в рослинному апопласті, інші входять до рослинної клітини і спрямовуються до клітинних органел, зокрема до ядра [54]. Білки з високою концентрацією в ізольованих гаусторіях утворюють групу Blumeria Effector Candidate (BEC) [55]. За даними [56], набори CSEPs та BECs майже повністю перекриваються.

Серед генів, що кодують CSEPs, на сьогодні виокремлюють дві групи. До першої належать гени, які кодують РНКазаподібні ефектори (RNase-like Effectors) [57], які зв'язуються з імунними рецепторами NLR [14,49,58]. У геномі *Bgt* вже ідентифіковано понад сто таких генів [46,49,50,57,59]. Як приклад можна навести ген *AvrPm2* [49]. Його продукт має дисульфідний місток між консервативними цистеїнами, консервативний Y(x)xC-мотив та мотив з аргініну, неконсервативного залишку, фенілаланіну або тирозину та проліну [49]. Гени другої групи кодують білки, які містять ліпід-розпізнавальний домен зі структурною гомологією до MD2-related lipid-recognition (ML) domain, це ML-like CSEPs [60]. Протеїни з таким доменом зазвичай беруть участь у регуляції метаболізму ліпідів і, як стало відомо, діють як кофактори в процесі розпізнання патоген-асоційованих ліпідів та перенесення їх крізь клітинну мембрану [61].

У збудника борошнистої роси ячменю, *Blumeria graminis* f. sp. *hordei (Bgh)*, ефектори Avr^{a10} та Avr^{k1} мають нехарактерну для авірулентних білків будову через відсутність сигнальних послідовностей. Гени цих ефекторів походять від LINE-ретротранспозонів (Long Interspersed Nurclear Elements). З двох притаманних геному LINE-транспозонів відкритих рамок зчитування для генів *Avr*^{a10} та *Avr*^{k1} використано лише першу, що кодує транспозазу. Те, що послідовність двох генів *Avr* різна, свідчить, що вони походять від LINEs різних родин [51]. Цим виразно підкреслюється значення ретротранспозонів для збільшення генетичного поліморфізму геному господаря.

Деякі бактеріальні ефектори функціонують як транскрипційні фактори. Вони належать до TAL (Transcription Activator-Like) родини та мають консервативний центральний ДНК-зв'язувальний домен із тандемних повторів у 34 амінокислоти [62].

Точний механізм доставки ефекторів до апопласту чи рослинних клітин досі не відомий, хоча давно встановлено, що для цього патоген використовує гаусторії або апресори. Можливо, промотором перенесення ефекторів крізь клітинну мембрану є консервативна послідовність HRxxH, яка входить до складу білків [51].

Сиквенс геномів збудників борошнистої роси пшениці та ячменю виявив одне й те саме: редукцію генного вмісту геномів порівняно з необлігатними біотрофами серед аскоміцетів та експансію наборів генів, які кодують можливі ефектори [53,63]. Серед усіх досі сиквенованих ефекторів спільним для всіх є лише сигнал для секреції [14,49-52]. Крім нього, білки-ефектори мають мало рис подібності, поки що знайдено лише один спільний мотив, YxC [64]. Це підтверджує припущення, що білки-ефектори мають серед рослинних білків різні цілі взаємодії та як ефектори реалізують різні функції [63,64].

Значний поліморфізм генних послідовностей спостерігається навіть на популяційному рівні, що прямо вказує на незалежну еволюцію різних алелів ефекторних генів із застосуванням різних молекулярних механізмів [14,50,52,59,65,66].

Взаємодія генів для організації стійкості

Взаємодія генів рослини і патогену. Розвиток будь-якої стійкості до патогену завжди відбувається як результат взаємодії кількох генів на рівні їхніх продуктів. Передовсім ідеться про міжорганізмову взаємодію генів, коли один ген із пари перебуває в геномі рослини, а другий – у геномі збудника.

У класичній, запропонованій Гарольдом Флором ще в 1940-ві роки, моделі «ген на ген», яка описує взаємодію рослини та патогену, реакція стійкості є наслідком розпізнання ефектора патогену рецептором господаря [67]. І хоча алелі *R* (рецептор розпізнає ефектор) та *Avr* (ефектор розпізнається рецептором) є домінантними, взаємодія рослина–патоген за умови гетерозиготності організмів за цими генами дає один випадок стійкості на три випадки чутливості, тому що стійкість розвивається тільки у разі поєднання продуктів алелів *R* та *Avr.* А три інші поєднання алелів (*R-avr, r-Avr, r-avr*) викликають реакцію чутливості.

Гіпотеза Флора «ген на ген» описувала безпосередню взаємодію між продуктами рослинного та мікробного генів: ліганд, який є продуктом гена *Avr*, приєднується до рецептора, продукту гена *R*, у результаті чого розвивається реакція стійкості. Таку стійкість було успішно описано для десятків пар господар–патоген, особливо коли збудником є гриби, переважно біотрофні [68]. На межі XX–XXI століть з'явилися більш складні моделі взаємодії генів рослини і збудника: модель «охоронця» (guard) і модель «уловлювача» (decoy). Модель «охоронця» описує механізм непрямого розпізнавання ефекторів продуктами *R*-генів. Тобто розпізнається не сам ефектор, а продукт його функціонування. У ролі «охоронця» постає продукт гена *R* [68]. Ефективність цієї моделі порівняно з попередньою виявляється у двох аспектах. По-перше, продукт гена *R* може розпізнавати різні цілі (молекули), за умови, що вони є продуктами функціонування ефектора. По-друге, зміна ефектор-кодувальної послідовності внаслідок мутації, яка не призводить до втрати функціональної активності ефектора, не є ефективною щодо втрати комплементарності до ефектора продукту гена *R*, тому що розпізнається не продукт гена *Avr* (ефектора), а продукти його функціонування. Наприклад, ефектор *Pseudomonas syringae AvrPphB* є білком із протеазною активністю. Він розщеплює протеїнкіназу *PBS1 Arabidopsis thaliana*, господаря для цього патогену. Продукт гена стійкості *RPS5*, для якого AvrPphB є ефектором, розпізнає розщеплення протеїнкінази, а не саму молекулу ефектора. Тобто ефектор може змінитися внаслідок якоїсь мутації, однак, якщо протеаза залишиться функціонально спроможною, продукти її діяльності будуть розпізнані продуктом гена стійкості і системи захисту активуються [69].

Модель «уловлювача» полягає в тому, що продукт гена *Avr* стає ефектором лише в тому разі, якщо рослина-господар має ген *R* і транслює продукт *R* для розпізнання ефектора [70]. Ефектор зв'язується з непрямою ціллю, тобто не з продуктом гена *R.* Якщо гена *R* в геномі немає, таке зв'язування не ініціює імунну реакцію. Якщо ген *R* є, зв'язування ефектора з уловлювачем активує продукт гена стійкості і розвивається імунна реакція [71]. Пізніше було запропоновано інтегровану модель «уловлювача», яка детально пояснювала роль кожного її компонента без введення в неї нових гравців [72,73].

Встановлення молекулярної картини розвитку реакції стійкості і розділення її на нехазяйську та хазяйську спочатку виділило два етапи утворення імунітету: спочатку PTI за рахунок PAMP (або MAMP, або DAMP), потім ETI, якщо залучається ефектор [74]. Ці етапи тільки спочатку розглядали як більш-менш самостійні й послідовні. З'ясування молекулярних процесів, які забезпечують формування двох етапів імунітету, одразу виявило взаємопроникність цих процесів для реалізації PTI та ETI. Подальший крок у розумінні молекулярної картини розвитку імунітету – констатація того, що розділення імунітету на PTI та ETI не є строгим, етапи перетинаються [75,76]. Ця взаємодія стала основою для створення широко відомої моделі «zig-zag-zig», яка описувала розвиток стійкості в чотири фази [21]: 1 – рослина реалізує PTI через PRRs; 2 – якщо патоген може кодувати специфічний ефектор, патоген долає PTI; 3 – якщо ефектор розпізнається рослинними білками NLR, активується ETI, яка на клітинно-молекулярному рівні розглядається як ампліфікована версія PTI, яка призводить до реакції гіперчутливості з боку уражених клітин; 4 – серед розмаїття рас патогену добираються такі, які не кодують специфічний рецептор, і стійкість рослини знову може забезпечуватися лише на рівні PTI. Добір стосується також алелів *NLR*-генів для збереження в популяції таких, які розпізнають новий ефектор.

PTI (MTI) та ETI містять багато спільних компонентів [74]. Тому на заміну zig-zag-zig-моделі було сформовано більш інтегровану модель, invasion model. У цій моделі перейменовуються гравці, і вже через це межі між PTI та ETI стираються. Імуногенні молекули, ефектори та елісітори MAMPs, які створюють картину інвазії (invasion patterns), називають IPs. Молекули, які розпізнають IPs, названо IP-рецепторами (IPRs). Взаємодія IPs та IPRs призводить до формування IPTR (IP-triggered response, IPTR) [75].

Коли в руки дослідників потрапили результати секвенування численних геномів рослин, було сформовано найсучаснішу модель – модель айсберга (iceberg model). Хоча, на нашу думку, цю модель сформовано трошки в іншій площині і вона не заміняє попередню модель. За моделлю айсберга молекулярні умови, за якими розвивається стійкість або чутливість рослини, моніторяться з боку NLRs і встановлюється певна рівновага між молекулярними гравцями щодо можливості забезпечити захист рослини від патогену або залишити її чутливою. Цих молекул – учасників процесу захисту – багато, вони становлять більшу, невидиму частину айсберга. Частина є невидимою, тому що ми не бачимо результату – стійкість/чутливість. Результат визначає менша частина айсберга, яка складається з молекул, між якими рівновага не встановлюється. Залежно від конкретного складу може розвинутися реакція або захисту, або чутливості. Важливо те, що результат «стійкість» може визначатися продуктами однієї-єдиної пари ефектор-рецептор (вертикальна стійкість, якісна). Такі пари називають інтерактивними одиницями, або одиницями взаємодії (interaction units) [77]. Звісно, для організації стійкості широкого спектра асортимент критичних молекул розширюється, одиниць взаємодії стає більше, проте специфічність взаємодії втрачається і результат кількісно виражений слабше (горизонтальна стійкість, кількісна).

Сучасне ускладнення моделі «ген-на-ген» відбувається не лише через те, що у взаємодії з боку рослини беруть участь кілька генів замість одного. З'ясовано, що з боку патогену кількість генів, залучених до реалізації вірулентності, також не обмежується одним для конкретного випадку господар–патоген. В облігатному біотрофові *Blumeria graminis* ідентифіковано гени-супресори авірулентності, *SvrPm.* Продукти таких генів супресують розпізнання специфічного ефектора з боку відповідного гена стійкості рослини. Стійкість до патогену розвивається лише за наявності рецесивного алеля супресорного гена [51].

Взаємодія рослинних генів. Тривалий період часу обговорення питання про взаємодію генів у разі розгортання імунної відповіді рослини на проникний до неї патоген стосувалось лише взаємодії між генами рослини і генами патогену. Ретельне вивчення всього розмаїття рослинних імунних рецепторів, яке спостерігається останні 20 років, вивело на перший план взаємодію саме рослинних генів між собою для організації імунної відповіді.

Спочатку було встановлено, що NLR-кодувальні гени є найбільш численними і різноманітними в геномі рослин [79,80]. Далі було з'ясовано, що серед продуктів PRRs є рецептороподібні кінази RLK та рецептороподібні протеїни RLP. Останні на відміну від перших можуть тільки розпізнати PAMP, а для передачі сигналу далі для активації необхідного сигнального шляху їм потрібен білок-посередник. Тобто структура молекули RLP робить її функціонально залежною від іншого білка і змушує працювати у взаємодії з ним [81]. Цитоплазматичні імунні рецептори NLR як мультидоменні білки походять, як припускають, від однодоменних рецепторів поверхні клітин із розпізнавальним доменом та внутрішньоклітинних рецепторів із сайт-зв'язувальним доменом NB та специфічним N-кінцем, який спеціалізується на передачі сигналу [82]. Таким чином мультидоменні рецептори NLR стали функціонально спроможними для реалізації захисту у відповідь на проникнення патогену або його ефекторів всередину клітини.

Нарешті було виявлено, що тільки частина рецепторів NLR працюють як індивідуальні генетичні та функціональні одиниці. Гени, які кодують такі рецептори, називають «singleton» [83]. Добре вивченим прикладом такого рецептора є CC-NLRs ZAR1 в арабідопсису [84] та Sr35 [85] у пшениці. ZAR1 розпізнає відповідні ефектори за моделлю «охоронець» або «вловлювач» із використанням як рецептора RLCKs (Receptor-like cytoplasmic kinases) [86]. Більша ж частина імунних рецепторів утворює функціональну пару сенсор (sensor NLR, відчуває наявність патогену) – виконавець (helper NLR, реалізує сигналювання для ініціювання імунної реакції). Наприклад, для грибного захворювання рису (збудник *Magnaporthe oryzae*) Pik-1 є сенсором, Pik-2 – хелпером [87].

Крім двокомпонентних (один сенсор – один хелпер) асоціацій, існують багатокомпонентні асоціації (networks) різних типів: багато-один, один-багато, де на першому місці стоїть сенсор, на другому – хелпер [88-90].

Приклад множини сенсорів для одного хелпера описано для Solanaceae: NLR-хелпер активується, якщо отримає сигнал від асоціації кількох сенсорних NLRs та ще одного поверхневого рецептора. Розвивається імунна реакція широкого спектра на гриби, ооміцети, віруси та бактерії, нематод і комах [88,91]. Протилежна ситуація: NLR-сенсор передає сигнал лише за умови об'єднання кількох хелперів. Це показано для арабідопсису та *Nicotiana benthamiana* [92-94]. Встановлено, що NLRs в активному і неактивному стані перебувають у різній внутрішньоклітинній локалізації [95,96], тому що від цього залежить їхня можливість контактувати як з ефектором збудника, так і з допоміжними молекулами («охоронець», «уловлювач») господаря [97-99]. Ба більше, зміна локалізації з цитоплазматичної на мембрано-асоційовану характерна також і для поодиноких (singleton) NLRs, тому таку зміну внутрішньоклітинної локалізації NLRs розглядають тепер як їхню суттєву особливість [100].

Активовані ефекторами (пряма активація) або продуктами їхнього функціонування (непряма активація) NLRs олігомеризуються і беруть участь у створенні великих протеїнових комплексів, які у рослин називають резистосомами [84,101-103]. Олігомеризація опосередковується NOD-доменами після активації рецепторів. Наразі задокументовано формування пентамерних резистосом за участю CNL [85] та тетрамерних резистосом за участю TNL [104]. Якщо NLRs діють парою сенсор–хелпер, в утворенні резистосоми беруть участь і сенсор, і хелпер [102]. Формується тунелеподібна структура, яка переміщується на плазматичну мембрану, інтегрує в неї та функціонує як Ca^{2+}-проникний канал, через який йони кальцію надходять до клітини. Тоді починається розвиток гіперчутливої реакції і смерть клітини. У разі рецепторів TNL тетрамеризація приводить до формування двох активних сайтів у TIR-доменах TNL-резистосоми [104,105], які діють як голоферменти NADази і каталізують продукування вторинних месенджерів, pRib-AMP/ADP та di-ADPR/ADPr-ATP. Через деякі проміжні молекули дія тетрамерної резистосоми все одно завершується активуванням кальцієвих каналів [102]. Резистосоми формуються не лише на шляху ETI, а й на шляху PTI [106]. Різниця між цими рівнями формування імунітету виявляється на рівні дії резистосом.

Висновки

1. Стійкість рослин до патогенів буває пасивною та активною. Нехазяйська активна стійкість формується до широкого спектра збудників, які є неадаптованими патогенами. Хазяйська активна стійкість розвивається до адаптованих патогенів, її називають расоспецифічною. Порівняно з нехазяйською стійкістю дає більш виразний захисний ефект, але легко долається патогеном завдяки добору вірулентних рас патогену.

2. Рослинний імунітет реалізується у два етапи (рівні). Перший рівень, PTE, передбачає розпізнавання PAMPs, що створюється неадаптованими патогенами, з боку рослинних рецепторів PRRs. Це ініціює молекулярні процеси, які забезпечують стійкість рослини: MAPK-каскад, викид Ca^{2+} та АФК.

3. Адаптовані патогени надсилають у рослинні клітини ефектори, які здатні пригнічувати імунну відповідь рослин PTI. Ефектори можуть розпізнаватися рослинними рецепторами NLRs, запускаючи тим самим другий рівень захисту – ETI, результатом чого є ті самі молекулярні процеси, які відбуваються на першому рівні захисту. Вони відбуваються набагато ефективніше і призводять до реакції гіперчутливості і смерті клітин, у які проникли ефектори збудника.

4. Рівні захисту PTI та ETI не є ізольованими. Взаємодія між ними відбувається із залученням продуктів рослинних генів і генів геному збудника, її описують моделі «zig-zag-zig», «invasion model», а також інтегрована модель айсберга.

5. Взаємодію рослинних генів для організації реакції розпізнання ефектора описують моделі «охоронець» і «вловлювач». Наступний рівень взаємодії відбувається, якщо функція розпізнання ефектора та функція промоції захисних реакцій належать різним рецепторам, сенсору та хелперу. Для запуску каскаду молекулярних процесів, які ведуть до формування стійкості рослини до збудника, рослинні рецептори утворюють складні молекулярні комплекси, резистосоми.

References

1. Oh S, Choi D. Receptor-mediated nonhost resistance in plants. Essays in Biochemistry. 2022 Apr 7. doi:10.1042/ebc20210080
2. He DC, He MH, Amalin DM, Liu W, Alvindia DG, et al. Biological Control of Plant Diseases: An Evolutionary and Eco-Economic Consideration. Pathogens. 2021 Oct 12;10(10):1311. doi:10.3390/pathogens10101311
3. Pélissier R, Violle C, Morel JB. Plant immunity: Good fences make good neighbors? Curr Opin Plant Biol. 2021 Aug;62:102045. doi:10.1016/j.pbi.2021.102045
4. Gill US, Lee S, Mysore KS. Host Versus Nonhost Resistance: Distinct Wars with Similar Arsenals. Phytopathology. 2015 May;105(5):580-7. doi:10.1094/phyto-11-14-0298-rv
5. Sánchez-Martín J, Keller B. NLR immune receptors and diverse types of non-NLR proteins control race-specific resistance in Triticeae. Current Opinion in Plant Biology. 2021 Aug 1;62:102053-3. doi:10.1016/j.pbi.2021.102053
6. Wu Y, Sexton W, Yang B, Xiao S. Genetic approaches to dissect plant nonhost resistance mechanisms. Molecular plant pathology. 2023 Jan 8;24(3):272-83. doi:10.1111/mpp.13290
7. Heath MC. Nonhost resistance and nonspecific plant defenses. Curr Opin Plant Biol. 2000 Aug;3(4):315-9. doi:10.1016/s1369-5266(00)00087-x
8. Nürnberger T, Lipka V. Non-host resistance in plants: new insights into an old phenomenon. Mol Plant Pathol. 2005 May 1;6(3):335-45. doi:10.1111/j.1364-3703.2005.00279.x
9. Mysore KS, Ryu CM. Nonhost resistance: how much do we know? Trends Plant Sci. 2004 Feb;9(2):97-104. doi:10.1016/j.tplants.2003.12.005
10. Choi HW, Klessig DF. DAMPs, MAMPs, and NAMPs in plant innate immunity. BMC Plant Biol. 2016 Oct 26;16(1):232. doi:10.1186/s12870-016-0921-2
11. Lu Y, Tsuda K. Intimate Association of PRR- and NLR-Mediated Signaling in Plant Immunity. Mol Plant Microbe Interact. 2021 Jan;34(1):3-14. doi:10.1094/MPMI-08-20-0239-IA. Epub 2020 Dec 2.
12. Thordal-Christensen H. A holistic view on plant effector-triggered immunity presented as an iceberg model. Cellular and Molecular Life Sciences. 2020 Apr 10;77(20):3963-76. doi:10.1007/s00018-020-03515-w
13. Bigeard J, Colcombet J, Hirt H. Signaling mechanisms in pattern-triggered immunity (PTI). Mol Plant. 2015 Apr;8(4):521-39. doi:10.1016/j.molp.2014.12.022
14. Bourras S, McNally KE, Ben-David R, Parlange F, Roffler S, et al. Multiple Avirulence Loci and Allele-Specific Effector Recognition Control thePm3Race-Specific Resistance of Wheat to Powdery Mildew. The Plant Cell. 2015 Oct 9;tpc.15.00171. doi:10.1105/tpc.15.00171
15. Guo J, Cheng Y. Advances in Fungal Elicitor-Triggered Plant Immunity. Int J Mol Sci. 2022 Oct 9;23(19):12003. doi:10.3390/ijms231912003
16. de Wit, PJGM. How plants recognize pathogens and defend themselves. Cell. Mol. Life. Sci. 2007, 64, 2726-32. doi:10.1007/s00018-007-7284-7
17. Fang Y, Gu Y. Regulation of Plant Immunity by Nuclear Membrane-Associated Mechanisms. Front Immunol. 2021 Dec 6;12:771065. doi:10.3389/fimmu.2021.771065
18. Dodds PN, Rathjen JP. Plant immunity: towards an integrated view of plant-pathogen interactions. Nat Rev Genet. 2010 Aug;11(8):539-48. doi:10.1038/nrg2812
19. Irieda H, Inoue Y, Mori M, Yamada K, Oshikawa Y, et al. Conserved fungal effector suppresses PAMP-triggered immunity by targeting plant immune kinases. Proc Natl Acad Sci U S A. 2019 Jan 8;116(2):496-505. doi:10.1073/pnas.1807297116
20. Cui H, Tsuda K, Parker JE. Effector-triggered immunity: from pathogen perception to robust defense. Annu Rev Plant Biol. 2015;66:487-511. doi:10.1146/annurev-arplant-050213-040012
21. Jones JD, Dangl JL. The plant immune system. Nature. 2006 Nov 16;444(7117):323-9. doi:10.1038/nature05286
22. Couto D, Zipfel C. Regulation of pattern recognition receptor signalling in plants. Nat Rev Immunol. 2016 Sep;16(9):537-52. doi:10.1038/nri.2016.77
23. Figueroa M, Ortiz D, Henningsen EC. Tactics of host manipulation by intracellular effectors from plant pathogenic fungi. Curr Opin Plant Biol. 2021 Aug;62:102054. doi:10.1016/j.pbi.2021.102054
24. Mapuranga J, Chang J, Yang W. Combating powdery mildew: Advances in molecular interactions between *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* and wheat. Frontiers in Plant Science. 2022 Dec 16;13. doi:10.3389/fpls.2022.1102908
25. Dolatabadian A, Fernando WGD. Genomic Variations and Mutational Events Associated with Plant-Pathogen Interactions. Biology (Basel). 2022 Mar 10;11(3):421. doi:10.3390/biology11030421
26. Ngou BPM, Ding P, Jones JDG. Thirty years of resistance: Zig-zag through the plant immune system. Plant Cell. 2022 Apr 26;34(5):1447-78. doi:10.1093/plcell/koac041
27. Zou S, Xu Y, Li Q, Wei Y, Zhang Y, et al. Wheat powdery mildew resistance: from gene identification to immunity deployment. Front Plant Sci. 2023 Sep 18;14:1269498. doi:10.3389/fpls.2023.1269498
28. Lu P, Guo L, Wang Z, Li B, Li J, et al. A rare gain of function mutation in a wheat tandem kinase confers resistance to powdery mildew. Nat Commun. 2020 Feb 3;11(1):680. doi:10.1038/s41467-020-14294-0
29. Brueggeman R, Rostoks N, Kudrna D, Kilian A, Han F, et al. The barley stem rust-resistance gene Rpg1 is a novel disease-resistance gene with homology to receptor kinases. Proc Natl Acad Sci U S A. 2002 Jul 9;99(14):9328-33. doi:10.1073/pnas.142284999
30. Klymiuk V, Yaniv E, Huang L, Raats D, Fatiukha A, et al. Cloning of the wheat Yr15 resistance gene sheds light on the plant tandem kinase-pseudokinase family. Nat Commun. 2018 Oct 3;9(1):3735. doi:10.1038/s41467-018-06138-9
31. Tang D, Wang G, Zhou JM. Receptor Kinases in Plant-Pathogen Interactions: More Than Pattern Recognition. Plant Cell. 2017 Apr;29(4):618-37. doi:10.1105/tpc.16.00891
32. Krattinger SG, Lagudah ES, Spielmeyer W, Singh RP, Huerta-Espino J, et al. A putative ABC transporter confers durable resistance to multiple fungal pathogens in wheat. Science. 2009 Mar 6;323(5919):1360-3. doi:10.1126/science.1166453
33. Moore JW, Herrera-Foessel S, Lan C, Schnippenkoetter W, Ayliffe M, et al. A recently evolved hexose transporter variant confers resistance to multiple pathogens in wheat. Nat Genet. 2015 Dec;47(12):1494-8. doi:10.1038/ng.3439
34. Wang Y, Cheng X, Shan Q, Zhang Y, Liu J, et al. Simultaneous editing of three homoeoalleles in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew. Nat Biotechnol. 2014 Sep;32(9):947-51. doi:10.1038/nbt.2969
35. Zhang Y, Bai Y, Wu G, Zou S, Chen Y, et al. Simultaneous modification of three homoeologs of TaEDR1 by genome editing enhances powdery mildew resistance in wheat. Plant J. 2017 Aug;91(4):714-24. doi:10.1111/tpj.13599
36. Büschges R, Hollricher K, Panstruga R, Simons G, Wolter M, et al. The barley Mlo gene: a novel control element of plant pathogen resistance. Cell. 1997 Mar 7;88(5):695-705. doi:10.1016/s0092-8674(00)81912-1
37. Kusch S, Panstruga R. *mlo*-Based Resistance: An Apparently Universal "Weapon" to Defeat Powdery Mildew Disease. Mol Plant Microbe Interact. 2017 Mar;30(3):179-89. doi:10.1094/MPMI-12-16-0255-CR
38. Chen R, Sun P, Zhong G, Wang W, Tang D. The RECEPTOR-LIKE PROTEIN53 immune complex associates with LLG1 to positively regulate plant immunity. J Integr Plant Biol. 2022 Sep;64(9):1833-46. doi:10.1111/jipb.13327

39. Frye CA, Tang D, Innes RW. Negative regulation of defense responses in plants by a conserved MAPKK kinase. Proc Natl Acad Sci U S A. 2001 Jan 2;98(1):373-8. doi:10.1073/pnas.98.1.373
40. Neubauer M, Serrano I, Rodibaugh N, Bhandari DD, Bautor J, et al. *Arabidopsis* EDR1 Protein Kinase Regulates the Association of EDS1 and PAD4 to Inhibit Cell Death. Mol Plant Microbe Interact. 2020 Apr;33(4):693-703. doi:10.1094/MPMI-12-19-0339-R
41. Schmidt SM, Panstruga R. Pathogenomics of fungal plant parasites: what have we learnt about pathogenesis? Curr Opin Plant Biol. 2011 Aug;14(4):392-9. doi:10.1016/j.pbi.2011.03.006
42. Staskawicz BJ, Dahlbeck D, Keen NT. Cloned avirulence gene of *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* determines race-specific incompatibility on *Glycine max* (L.) Merr. Proc Natl Acad Sci U S A. 1984 Oct;81(19):6024-8. doi:10.1073/pnas.81.19.6024
43. Takamatsu S. Origin and evolution of the powdery mildews (Ascomycota, Erysiphales). Mycoscience 2013;54(1):75-86. doi:10.1016/j.myc.2012.08.004
44. Chen J, Upadhyaya NM, Ortiz D, Sperschneider J, Li F, et al. Loss of *AvrSr50* by somatic exchange in stem rust leads to virulence for *Sr50* resistance in wheat. Science. 2017 Dec 22; 358(6370):1607-10. doi:10.1126/science.aao4810
45. Upadhyaya NM, Mago R, Panwar V, Hewitt T, Luo M, et al. Genomics accelerated isolation of a new stem rust avirulence gene-wheat resistance gene pair. Nat Plants. 2021 Sep;7(9): 1220-28. doi:10.1038/s41477-021-00971-5
46. Saur IM, Bauer S, Kracher B, Lu X, Franzeskakis L, et al. Multiple pairs of allelic MLA immune receptor-powdery mildew AVR_A effectors argue for a direct recognition mechanism. Elife. 2019 Feb 19;8:e44471. doi:10.7554/eLife.44471
47. Müller MC, Praz CR, Sotiropoulos AG, Menardo F, Kunz L, et al. A chromosome-scale genome assembly reveals a highly dynamic effector repertoire of wheat powdery mildew. New Phytol. 2019 Mar;221(4):2176-89. doi:10.1111/nph.15529
48. Selin C, de Kievit TR, Belmonte MF, Fernando WGD. Elucidating the Role of Effectors in Plant-Fungal Interactions: Progress and Challenges. Frontiers in Microbiology. 2016 Apr 27;7. doi:10.3389/fmicb.2016.00600
49. Praz CR, Bourras S, Zeng F, Sánchez-Martín J, Menardo F, et al. *AvrPm2* encodes an RN ase-like avirulence effector which is conserved in the two different specialized forms of wheat and rye powdery mildew fungus. New Phytologist. 2016 Dec 9; 213(3):1301-14. doi:10.1111/nph.14372
50. Hewitt T, Müller MC, Molnár I, Mascher M, Holušová K, et al. A highly differentiated region of wheat chromosome 7AL encodes a *Pm1a* immune receptor that recognizes its corresponding *AvrPm1a* effector from *Blumeria graminis*. New Phytol. 2021 Mar;229(5):2812-26. doi:10.1111/nph.17075
51. Bourras S, McNally KE, Müller MC, Wicker T, Keller B. Avirulence Genes in Cereal Powdery Mildews: The Gene-for-Gene Hypothesis 2.0. Frontiers in Plant Science. 2016 Mar 1;7. doi:10.3389/fpls.2016.00241
52. Bourras S, Kunz L, Xue M, Praz CR, Müller MC, et al. The AvrPm3-Pm3 effector-NLR interactions control both race-specific resistance and host-specificity of cereal mildews on wheat. Nature Communications. 2019 May 23;10(1):2292. doi:10.1038/s41467-019-10274-1
53. Spanu PD, Abbott JC, Amselem J, Burgis TA, Soanes DM, et al. Genome expansion and gene loss in powdery mildew fungi reveal tradeoffs in extreme parasitism. Science. 2010 Dec 10; 330(6010):1543-6. doi:10.1126/science.1194573
54. Koeck M, Hardham AR, Dodds PN. The role of effectors of biotrophic and hemibiotrophic fungi in infection. Cell Microbiol. 2011 Dec;13(12):1849-57. doi:10.1111/j.1462-5822.2011.01665.x
55. Bindschedler LV, McGuffin LJ, Burgis TA, Spanu PD, Cramer R. Proteogenomics and *in silico* structural and functional annotation of the barley powdery mildew *Blumeria graminis* f. sp. *hordei*. Methods. 2011 Aug;54(4):432-41. doi:10.1016/j.ymeth.2011.03.006
56. Bindschedler LV, Panstruga R, Spanu PD. Mildew-Omics: How Global Analyses Aid the Understanding of Life and Evolution of Powdery Mildews. Front Plant Sci. 2016 Feb 15;7:123. doi:10.3389/fpls.2016.00123
57. Spanu PD. Cereal immunity against powdery mildews targets RNase-Like Proteins associated with Haustoria (RALPH) effectors evolved from a common ancestral gene. New Phytol. 2017 Feb;213(3):969-71. doi:10.1111/nph.14386
58. Parlange F, Roffler S, Menardo F, Ben-David R, Bourras S, et al. Genetic and molecular characterization of a locus involved in avirulence of *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* on wheat *Pm3* resistance alleles. Fungal Genet Biol. 2015 Sep;82:181-92. doi:10.1016/j.fgb.2015.06.009
59. Müller MC, Kunz L, Schudel S, Lawson AW, Kammerecker S, et al. Ancient variation of the *AvrPm17* gene in powdery mildew limits the effectiveness of the introgressed rye *Pm17* resistance gene in wheat. Proc Natl Acad Sci U S A. 2022 Jul 26; 119(30):e2108808119. doi:10.1073/pnas.2108808119
60. Inohara N, Nuñez G. ML – a conserved domain involved in innate immunity and lipid metabolism. Trends Biochem Sci. 2002 May;27(5):219-21. doi:10.1016/s0968-0004(02)02084-4
61. Menardo F, Praz CR, Wicker T, Keller B. Rapid turnover of effectors in grass powdery mildew (*Blumeria graminis*). BMC Evol Biol. 2017 Oct 31;17(1):223. doi:10.1186/s12862-017-1064-2
62. Scholze H, Boch J. TAL effector-DNA specificity. Virulence. 2010 Sep;1(5):428-32. doi:10.4161/viru.1.5.12863
63. Wicker T, Oberhaensli S, Parlange F, Buchmann JP, Shatalina M, et al. The wheat powdery mildew genome shows the unique evolution of an obligate biotroph. Nat Genet. 2013 Sep; 45(9):1092-6. doi:10.1038/ng.2704
64. Pedersen C, Ver Loren van Themaat E, McGuffin LJ, Abbott JC, Burgis TA, et al. Structure and evolution of barley powdery mildew effector candidates. BMC Genomics. 2012 Dec 11; 13:694. doi:10.1186/1471-2164-13-694
65. Miller ME, Nazareno ES, Rottschaefer SM, Riddle J, Dos Santos Pereira D, et al. Increased virulence of Puccinia coronata f. sp.avenae populations through allele frequency changes at multiple putative Avr loci. PLoS Genet. 2020 Dec 28;16(12):e1009291. doi:10.1371/journal.pgen.1009291
66. Pliego C, Nowara D, Bonciani G, Gheorghe DM, Xu R, et al. Host-induced gene silencing in barley powdery mildew reveals a class of ribonuclease-like effectors. Mol Plant Microbe Interact. 2013 Jun;26(6):633-42. doi:10.1094/MPMI-01-13-0005-R
67. Flor, H. H. 1971. Current status of the gene-for-gene concept. Annu. Rev. Phytopathol. 9:275-96.
68. Dangl JL, Jones JD. Plant pathogens and integrated defence responses to infection. Nature. 2001 Jun 14;411(6839):826-33. doi:10.1038/35081161
69. Schornack S, Meyer A, Römer P, Jordan T, Lahaye T. Gene-for-gene-mediated recognition of nuclear-targeted AvrBs3-like bacterial effector proteins. Journal of Plant Physiology. 2006 Feb 10;163(3):256-72. doi:10.1016/j.jplph.2005.12.001
70. Bent AF, Mackey D. Elicitors, Effectors, and RGenes: The New Paradigm and a Lifetime Supply of Questions. Annual Review of Phytopathology. 2007 Sep 8;45(1):399-436. doi:10.1146/annurev.phyto.45.062806.094427
71. van der Hoorn RA, Kamoun S. From Guard to Decoy: a new model for perception of plant pathogen effectors. Plant Cell. 2008 Aug;20(8):2009-17. doi:10.1105/tpc.108.060194
72. Cesari S, Bernoux M, Moncuquet P, Kroj T, Dodds PN. A novel conserved mechanism for plant NLR protein pairs: the "integrated decoy" hypothesis. Front Plant Sci. 2014 Nov 25; 5:606. doi:10.3389/fpls.2014.00606
73. Kroj T, Chanclud E, Michel-Romiti C, Grand X, Morel JB. Integration of decoy domains derived from protein targets of pathogen effectors into plant immune receptors is widespread. New Phytol. 2016 Apr;210(2):618-26. doi:10.1111/nph.13869

74. Todd JNA, Carreón-Anguiano KG, Islas-Flores I, Canto-Canché B. Fungal Effectoromics: A World in Constant Evolution. Int J Mol Sci. 2022 Nov 3;23(21):13433. doi:10.3390/ijms232113433
75. Cook DE, Mesarich CH, Thomma BP. Understanding plant immunity as a surveillance system to detect invasion. Annu Rev Phytopathol. 2015;53:541-63. doi:10.1146/annurev-phyto-080614-120114
76. Yuan M, Jiang Z, Bi G, Nomura K, Liu M, et al. Pattern-recognition receptors are required for NLR-mediated plant immunity. Nature. 2021 Apr;592(7852):105-109. doi:10.1038/s41586-021-03316-6
77. Thordal-Christensen H. A holistic view on plant effector-triggered immunity presented as an iceberg model. Cell Mol Life Sci. 2020 Oct;77(20):3963-76. doi:10.1007/s00018-020-03515-w
78. Geng S, Kong X, Song G, Jia M, Guan J, et al. DNA methylation dynamics during the interaction of wheat progenitor *Aegilops tauschii* with the obligate biotrophic fungus *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*. New phytologist. 2018 Sep 6;221(2):1023-35. doi:10.1111/nph.15432
79. Baggs E, Dagdas G, Krasileva KV. NLR diversity, helpers and integrated domains: making sense of the NLR IDentity. Curr Opin Plant Biol. 2017 Aug;38:59-67. doi:10.1016/j.pbi.2017.04.012
80. Barragan AC, Weigel D. Plant NLR diversity: the known unknowns of pan-NLRomes. Plant Cell. 2021 May 31;33(4):814-31. doi:10.1093/plcell/koaa002
81. Jamieson PA, Shan L, He P. Plant cell surface molecular cypher: Receptor-like proteins and their roles in immunity and development. Plant Sci. 2018 Sep;274:242-51. doi:10.1016/j.plantsci.2018.05.030
82. Andolfo G, Di Donato A, Chiaiese P, De Natale A, Pollio A, et al. Alien Domains Shaped the Modular Structure of Plant NLR Proteins. Genome Biol Evol. 2019 Dec 1;11(12):3466-77. doi:10.1093/gbe/evz248
83. Contreras MP, Lüdke D, Pai H, Toghani A, Kamoun S. NLR receptors in plant immunity: making sense of the alphabet soup. EMBO Rep. 2023 Oct 9;24(10):e57495. doi:10.15252/embr.202357495
84. Wang J, Hu M, Wang J, Qi J, Han Z, et al. Reconstitution and structure of a plant NLR resistosome conferring immunity. Science. 2019 Apr 5;364(6435):eaav5870. doi:10.1126/science.aav5870
85. Zhao YB, Liu MX, Chen TT, Ma X, Li ZK, et al. Pathogen effector AvrSr35 triggers Sr35 resistosome assembly via a direct recognition mechanism. Sci Adv. 2022 Sep 9;8(36):eabq5108. doi:10.1126/sciadv.abq5108
86. Hailemariam S, Liao CJ, Mengiste T. Receptor-like cytoplasmic kinases: orchestrating plant cellular communication. Trends Plant Sci. 2024 May 29:S1360-1385(24)00111-0. doi:10.1016/j.tplants.2024.04.006
87. Maqbool A, Saitoh H, Franceschetti M, Stevenson CE, Uemura A, et al. Structural basis of pathogen recognition by an integrated HMA domain in a plant NLR immune receptor. Elife. 2015 Aug 25;4:e08709. doi:10.7554/eLife.08709
88. Wu CH, Abd-El-Haliem A, Bozkurt TO, Belhaj K, Terauchi R, et al. NLR network mediates immunity to diverse plant pathogens. Proc Natl Acad Sci U S A. 2017 Jul 25;114(30):8113-18. doi:10.1073/pnas.1702041114
89. Adachi H, Derevnina L, Kamoun S. NLR singletons, pairs, and networks: evolution, assembly, and regulation of the intracellular immunoreceptor circuitry of plants. Curr Opin Plant Biol. 2019 Aug;50:121-31. doi:10.1016/j.pbi.2019.04.007
90. Feehan JM, Castel B, Bentham AR, Jones JD. Plant NLRs get by with a little help from their friends. Curr Opin Plant Biol. 2020 Aug;56:99-108. doi:10.1016/j.pbi.2020.04.006
91. Kourelis J, Contreras MP, Harant A, Pai H, Lüdke D, et al. The helper NLR immune protein NRC3 mediates the hypersensitive cell death caused by the cell-surface receptor Cf-4. PLoS Genet. 2022 Sep 22;18(9):e1010414. doi:10.1371/journal.pgen.1010414
92. Bonardi V, Tang S, Stallmann A, Roberts M, Cherkis K, et al. Expanded functions for a family of plant intracellular immune receptors beyond specific recognition of pathogen effectors. Proc Natl Acad Sci U S A. 2011 Sep 27;108(39):16463-8. doi:10.1073/pnas.1113726108
93. Qi T, Seong K, Thomazella DPT, Kim JR, Pham J, et al. NRG1 functions downstream of EDS1 to regulate TIR-NLR-mediated plant immunity in *Nicotiana benthamiana*. Proc Natl Acad Sci U S A. 2018 Nov 13;115(46):E10979-E10987. doi:10.1073/pnas.1814856115
94. Castel B, Ngou PM, Cevik V, Redkar A, Kim DS, et al. Diverse NLR immune receptors activate defence via the RPW8-NLR NRG1. New Phytol. 2019 Apr;222(2):966-80. doi:10.1111/nph.15659
95. Lüdke D, Yan Q, Rohmann PFW, Wiermer M. NLR we there yet? Nucleocytoplasmic coordination of NLR-mediated immunity. New Phytol. 2022 Oct;236(1):24-42. doi:10.1111/nph.18359
96. Shepherd S, Yuen ELH, Carella P, Bozkurt TO. The wheels of destruction: Plant NLR immune receptors are mobile and structurally dynamic disease resistance proteins. Curr Opin Plant Biol. 2023 Aug;74:102372. doi:10.1016/j.pbi.2023.102372
97. Duggan C, Moratto E, Savage Z, Hamilton E, Adachi H, et al. Dynamic localization of a helper NLR at the plant-pathogen interface underpins pathogen recognition. Proc Natl Acad Sci U S A. 2021 Aug 24;118(34):e2104997118. doi:10.1073/pnas.2104997118
98. Wang S, McLellan H, Bukharova T, He Q, Murphy F, et al. Phytophthora infestans RXLR effectors act in concert at diverse subcellular locations to enhance host colonization. J Exp Bot. 2019 Jan 1;70(1):343-56. doi:10.1093/jxb/ery360
99. El Kasmi F, Chung EH, Anderson RG, Li J, Wan L, et al. Signaling from the plasma-membrane localized plant immune receptor RPM1 requires self-association of the full-length protein. Proc Natl Acad Sci U S A. 2017 Aug 29;114(35):E7385-E7394. doi:10.1073/pnas.1708288114
100. Bi G, Su M, Li N, Liang Y, Dang S, et al. The ZAR1 resistosome is a calcium-permeable channel triggering plant immune signaling. Cell. 2021 Jun 24;184(13):3528-3541.e12. doi:10.1016/j.cell.2021.05.003
101. Hohmann U, Lau K, Hothorn LA. The Structural Basis of Ligand Perception and Signal Activation by Receptor Kinases. Annual Review of Plant Biology. 2017 Apr 28;68(1):109-37. doi:10.1146/annurev-arplant-042916-040957
102. Huang S, Jia A, Ma S, Sun Y, Chang X, Han Z, Chai J. NLR signaling in plants: from resistosomes to second messengers. Trends Biochem Sci. 2023 Sep;48(9):776-87. doi:10.1016/j.tibs.2023.06.002
103. Hu Z, Chai J. Assembly and Architecture of NLR Resistosomes and Inflammasomes. Annu Rev Biophys. 2023 May 9;52:207-228. doi:10.1146/annurev-biophys-092922-073050
104. Martin R, Qi T, Zhang H, Liu F, King M, et al. Structure of the activated ROQ1 resistosome directly recognizing the pathogen effector XopQ. Science. 2020 Dec 4;370(6521):eabd9993. doi:10.1126/science.abd9993
105. Ma S, Lapin D, Liu L, Sun Y, Song W, et al. Direct pathogen-induced assembly of an NLR immune receptor complex to form a holoenzyme. Science. 2020 Dec 4;370(6521):eabe3069. doi:10.1126/science.abe3069
106. Feehan JM, Wang J, Sun X, Choi J, Ahn HK, et al. Oligomerization of a plant helper NLR requires cell-surface and intracellular immune receptor activation. Proc Natl Acad Sci U S A. 2023 Mar 14;120(11):e2210406120. doi:10.1073/pnas.2210406120

D. Pavlyuk, T. Ternovska, M. Antonyuk
National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Kyiv, Ukraine

PLANT RESISTANCE TO PATHOGENS AS A RESULT OF GENE INTERACTION

Abstract

Modern information on the genomics of plants and plants' pathogens as well the achievements of molecular biology have made it possible to state the participation of gene products, proteins, in the organization of molecular complexes that are assembled to implement a certain character of the phenotype. The character of plant "resistance/sensitivity" to a certain biotic factor is also interesting because there is an interaction not only between the genes of one organism, but between the genes of organisms that lie in different kingdoms of life.

Plant resistance to pathogens can be passive (provided mainly by characters of plant morphology) and active. Active resistance is formed as a result of the penetration of the pathogen or its elicitors and effectors into the plant. Active protection of the plant at the molecular level is expressed in the launch of the MAPK cascade, the accumulation of reactive oxygen species, and an increase in the flow of calcium ions to the cell. Active protection can be implemented on two levels. The first level, RTI (PAMP Triggered Immunity), develops in response to plant contact with a wide range of non-adapted pathogens. The resistance (immunity) that is formed in this case is called non-specific, or horizontal, or quantitative. The molecular instrument for initiating the defensive reaction is the PRR (Pattern Recognition Receptors). Adapted pathogens are able to overcome RTI by sending effectors to plant cells. These are protein molecules whose function is to create conditions within the cell that are more permissive to the pathogen. The effector can be recognized by the plant's specific NLR (Nod-Like Receptors), and complementation occurs between the two. There are other specific plant molecules, nonNLR, with a different type of protein product interaction for recognition. In both cases, the second level of protection, ETI (Effector Triggered Immunity), develops. The set of molecular processes that occur at the second level of protection does not differ from the set of the first level, but the processes occur more intensively and are accompanied by the death of the affected cells. This prevents the further spread of the pathogen throughout the plant. The molecular events of the first and second levels of protection are not isolated. The interaction between them involving the products of plant genes and pathogen genes is described by the "zig-zag-zig"-model, invasion model, and the integrated iceberg model. The interaction of plant genes for effector recognition is described by the "guard" and "decoy" models. To initiate a defensive reaction, plant receptors, which can sometimes differentiate into sensors and helpers, form protein complexes, resistosomes.

Keywords: plant resistance, plant resistance genes, pathogen effectors, *R-Avr* interaction, resistosome.

Матеріал надійшов 19.06.2024

Відомості про авторів
Notes about authors

Павлюк Дарина Володимирівна – студентка бакалаврської програми «Біологія та біотехнологія» кафедри біології Національного університету «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), Київ, Україна

Pavlyuk Daryna – student of the Bachelor's Program "Biology and Biotechnology" of the Biology Department, National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Kyiv, Ukraine

e-mail: daryna.pavliuk@ukma.edu.ua

Терновська Тамара Костянтинівна – доктор біологічних наук, професор кафедри біології Національного університету «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), Київ, Україна

Ternovska Tamara – Doctor of Science in Biology, Professor of Biology Department, National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Kyiv, Ukraine

https://orcid.org/0000-0002-9712-1516

e-mail: ternovska@ukma.edu.ua

Антонюк Максим Зиновійович – доктор біологічних наук, завідувач кафедри біології Національного університету «Києво-Могилянська академія» (НаУКМА), Київ, Україна

Antonyuk Maksym – Doctor of Science in Biology, Head of Biology Department, National University of Kyiv-Mohyla Academy (NaUKMA), Kyiv, Ukraine

https://orcid.org/0000-0002-5877-969X

e-mail: antonyuk.m@ukma.edu.ua

Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0)