

# TRANSFERUL INTERSPECIFIC DE ACIZI NUCLEICI ÎN PATOSISTEMELE VEGETALE

**Port Angela, Duca Maria**

*Centrul Genetică Funcțională, Universitatea de Stat din Moldova*

## **Rezumat**

Transferul intersecific al materialului genetic reprezintă un subiect prioritar al proiectelor de cercetări filogenomice din ultimul deceniu. Angiospermele parazite, datorită conexiunilor vasculare comune (în special cele directe floem-floem) cu cele ale gazdelor, sunt modele excelente de studii ale transferului orizontal de gene, inclusiv al macromoleculelor de acizi nucleici (ARNm, microARN, ARN interferent etc.), cu funcții importante în dezvoltarea patosistemului și a interacțiunilor biotice cu diferite organisme. Lucrarea reprezintă o sinteză de date și interpretări recente cu referire la transferul bidirecțional al diferitelor clase de acizi nucleici, fiind relevată semnificația acestor compuși în dezvoltarea relațiilor de dependență parazită.

*Cuvinte-cheie:* plante parazite, transfer orizontal de gene, schimb interspecific de acizi nucleici, patosistem.

-----  
*Adresa pentru corespondență:* dr. Port Angela, Universitatea de Stat din Moldova, str. Academiei 3/2, MD-2028, Chișinău, Republica Moldova, e-mail: [portang@yahoo.com](mailto:portang@yahoo.com)

## **Introducere**

Controlul răspândirii plantelor parazite este un obiectiv anevoios de realizat, deoarece ciclul lor de viață este conjugat cu cel al gazdelor, ultimele prezentând, în

funcție de caz, pierderi considerabile ale productivității biologice. O problemă relativ nouă în fitopatologie, însă de o importanță deosebită, atât pentru elucidarea proceselor de patogeneză, cât și pentru cele de rezistență, constituie cunoașterea particularităților de interacțiune interspecifică prin care au loc translocări bidirecționale ale varii metaboliți, inclusiv ale unor virusuri și fitoplasmă [8, 10, 48].

Majoritatea cercetărilor în domeniul parazitismului vegetal, în special la plantele de cultură, sunt axate pe transferul de nutrienți *de la gazdă la parazit*, în relație cauzală cu dereglări morfoanatomice și fiziologice, manifestate în fenotipuri cu caracteristici agronomice inferioare [9, 24, 33, 58].

În ultimele decenii, grație progresului metodologic de investigare la nivel molecular și ultrastructural, prin aplicarea unor sisteme de marcarea și analiză a transriptomului, se conturează noi priorități de cercetare, axate pe transferul diferitelor entități moleculare *de la parazit la gazdă* [12, 15]. Astfel, un număr tot mai mare de studii recente documentează procesele și efectele transferului unor compuși fără semnificație nutrițională, așa ca fitohormonii [11, 16, 34, 40], acizii nucleici [13, 22], metaboliții secundari [5] etc., implicați în reglarea dezvoltării patogenului, interacțiunilor biotice cu diferite organisme sau în alte procese antagoniste plantei gazdă [20, 23, 38].

Lucrarea reprezintă o sinteză de date și interpretări recente cu referire la transferul interspecific a diferitelor clase de acizi nucleici, precum și diverse implicații ale acestor compuși în dezvoltarea structurilor invazive și a relației de dependență parazitară.

### **Transferul orizontal de gene în patosisteme**

Secvențierea genomului la un număr mare de virusuri, organisme pro- și eucariote a evidențiat transferul interspecific de material genetic ca o componentă importantă în evoluția organismelor [39, 51]. În natură, transferul orizontal de gene (TOG) între eucariotele multicelulare, comparativ cu virusurile și bacteriile, are loc extrem de rar [22, 54].

La plante, numărul investigațiilor privind evenimentele TOG este în creștere, îndeosebi, la speciile care formează patosisteme [13, 25, 47, 53]. Antofitele parazite în asociere cu gazdele lor sunt considerate modele excelente de studii ale TOG datorită conexiunilor vasculare comune (în special cele directe floem-floem) prin care se poate realiza schimbul de gene nucleare sau citoplasmatică. Multe dintre cazurile TOG descrise, au loc prin intermediul organitelor, în principal al mitocondriilor, fapt ce poate fi explicat printr-o serie de caracteristici unice ale acestora, așa ca rata sporită de inserare a fragmentelor de ADN de origine diferită, nuclear sau plastidic, a frecvenței înalte de fuziune și fisiune [35, 42, 56]. Recent, au fost publicate mai multe cercetări privind transferul de ADN nuclear [25, 47, 51, 54].

Prima informație, privind o genă nucleară dobândită (xenogenă) de o plantă parazit de la gazda sa, se referă la gena *ShContig9483*, identificată la *Striga hermonthica* ce parazitează pe plantele de *Sorghum bicolor* (Poaceae). Întrucât a fost constatată lipsa intronilor și prezența unei secvențe asemănătoare cu poli-A la capătul 3' al genei, autorii au concluzionat că acest transfer, posibil, a avut loc prin intermediul ARNm, care ulterior a fost inserat în genom prin transcriere inversă [55]. În alte două evenimente TOG constatate la reprezentanții din familia *Orobanchaceae*, genele transferate conțin introni în regiuni similare cu cele ale ortologilor din planta gazdă, fapt ce indică că aceste fragmente de ADN au fost inserate direct în genom [46, 57].

Multe aspecte privind mecanismele naturale de transfer a materialului genetic, peste barierele de specie la plante, sunt slab elucidate, însă, evident este faptul că acest proces poate fi mediat de macromoleculele de ADN și ARNm (revers-transcris) [38, 54]. Identificarea evenimentelor TOG presupune cunoașterea secvenței genomurilor speciilor de plante donatoare și receptoare și vaste analize *in silico* proiectate pentru investigații filogenetice și evoluții moleculare. Astfel, un studiu mult mai amplu axat pe transferul interspecific de material genetic în patosisteme, care a inclus secvențierea genomurilor a cinci specii din familia *Orobanchaceae* cu diferită dependență nutrițională de gazda lor (*Orobanche minor* și *Aeginetia indica* - paraziți obligați și *Pedicularis keiskei*, *Phtheirospermum japonicum* și *Melampyrum roseum* - paraziți facultativi) a fost publicat recent de Tomoyuki K. și Hideki I. [25]. Prin analiza filogenomică a plantelor parazit, în raport cu genomurile de referință și/sau transcriptomurile a 14 specii din *Fabaceae* și *Poaceae* - principalele familii gazdă, au fost identificate 106 xenogene la paraziții obligați *O. minor* (22) și *A. indica* (84). De menționat că, nu au fost constatate evenimente TOG la nici unul din cei trei paraziți facultativi studiați. Aceste date indică asupra faptului că relația de dependență parazit-gazdă ar putea avea o semnificație importantă în frecvența transferului orizontal de gene [25]. Secvențele nucleotidice dobândite de plantele parazit constituie aproximativ 0,1% (*O. minor*) și 0,2% (*A. indica*) din totalul genelor codificatoare. Majoritatea xenogenelor (90 din 106) conțin introni în regiuni similare cu cele din omologii lor în genomul speciilor de plante-gazdă, demonstrând prevalența transferului orizontal de gene mediat de ADN. Autorii cercetării consideră ipotetic că unele gene au fost transferate simultan, întrucât au o localizare apropiată între ele pe cromozomii din genomul de referință al gazdei. Astfel, a fost dedus că lungimea fragmentului de ADN transferat este de aproximativ 100 kb. Alte concluzii importante, emise în baza investigațiilor filogenomice, se referă la păstrarea posibilă a funcției la xenogenele identificate. Structura exon-intron, bine conservată, la genele transferate prin TOG și prezente în genomul actual al speciei de plante parazite, precum și lipsa unor mutații *missense* sau de modificare a cadrului de citire, susțin aceste afirmații. Toate evenimentele TOG relevate au avut loc doar în direcția gazdă-parazit [25].

Rolul semnificativ al interacțiunii de dependență parazit-gazdă în sporirea frecvenței transferului orizontal de gene este argumentat și de rezultatele unui alt studiu genomic realizat, de asemenea, la specii din familia *Orobanchaceae* diferite după capacitățile de parazitare (*Striga hermonthica* - hemiparazit obligat, *Triphysaria versicolor* - hemiparazit facultativ, *Phelipanche aegyptica* - holoparazit obligat) precum și o specie de plantă neparazită - *Lindenbergia* [53]. A fost raportată identificarea a 52 de evenimente TOG, majoritatea fiind la plantele cu modul obligat de nutriție. Pentru robustețea și veridicitatea mai mare a datelor, autorii acestor investigații s-au axat pe *screening*-ul genomic al unor potențiali donatori situați pe scara filogenetică la o distanță relativ mare față de plantele receptoare *Orobanchaceae* (de exemplu *Rosaceae*, *Poaceae*). Rezultatele acestor cercetări sunt în concordanță cu cele expuse anterior, care au demonstrat realizarea transferului orizontal de gene de la gazdă la parazit fiind mediat prevalent de ADN și nu de ARNm (revers-transcris).

În baza datelor moleculare a fost dedusă ipoteza corelării directe a frecvenței evenimentelor TOG cu sporirea gradului de heterotrofie [25, 53]. Această concluzie

ipotecă este explicată reieșind din particularitățile de dezvoltare timpurie (la scurt timp după germinare) a structurilor intruzive la paraziții obligați, stabilirea conexiunilor vasculare comune cu cele ale gazdei și ulterior creșterea vegetativă. În contrast, paraziții facultativi au în ontogeneza lor o perioadă de creștere vegetativă independent de gazdă [49]. Se presupune ca mutațiile sau evenimentele TOG, care pot apărea în haustorii terminali, au o probabilitate mare de a afecta și celulele germinale, cu șanse reale de a fi propagate și fixate în fondul genetic al populației [25].

Analiza categoriilor *Gene Ontology* pentru genele dobândite de plantele parazit (*O. minor* și *A. indica*) de la gazdele lor a evidențiat asocieri cu funcții în metabolismul ARN și în cel al tiaminei [25]. În cazul investigațiilor care au inclus speciile *Striga hermonthica*, *Triphysaria versicolor* și *Phelipanche aegyptica* [53] a fost elucidat un spectru mai larg de categorii funcționale pentru genele transferate, o pondere semnificativă revenindu-le funcțiilor de apărare și rezistență la patogeni, ceea ce indică asupra unui avantaj adaptiv de supraviețuire și răspândire a plantelor parazite. Aceste informații relevă diversitatea materialului genetic transferat interspecific în funcție de specia plantei parazit.

Date similare au fost raportate și la alte holoparazite obligate. De exemplu, genele care au fost dobândite de *Cuscuta campestris* (*Convolvulaceae*) prin TOG prezintă un nivel înalt de expresie în haustori și sunt implicate în răspunsuri de apărare și metabolismul aminoacizilor, sugerând că fenomenele de transfer orizontal de gene contribuie la eficientizarea mecanismului de interacțiune parazit-gazdă, dezvoltat pe parcursul evoluției relației parazitare. Fragmente de ADN transferate de la gazdă la parazit reprezintă gene sau elemente necodificatoare, precum sunt transpozonii și secvențele repetitive [41, 47, 54].

Până în prezent, la speciile din familia *Orobanchaceae*, transferul orizontal de ADN de la parazit la gazdă a fost constatat doar în cazul genelor mitocondriale [13, 25, 33, 53]. Însă, pentru unele specii de plante parazite (*Cuscuta*, *Convolvulaceae*) sunt informații privind posibilitatea unui flux bidirecțional de ADN, conjugat și cu transferul altor macromoleculare, așa ca ARNm, ARN-uri de dimensiuni mici. Totuși, autorii subliniază că, transferul orizontal de ADN de la gazda la planta parazit este forma predominantă, iar TOG de la parazit la gazdă are loc foarte rar [54].

### Schimbul interspecific de ARNm

În patosistemele vegetale se atestă un schimb interspecific de ARNm care, deși implică acizi nucleici, similar fenomenului TOG, pare să aibă la bază alte mecanisme moleculare. Prezența unor alogene în genom, în general, este descoperită prin investigații filogenomice și bioinformatică, reprezentând rezultatul unor transferuri de material genetic, care au avut loc cu mii de ani în urmă. Cu toate că, este posibilă stabilirea căii de transfer (ADN sau ARNm/ADNc), în baza analizei secvențelor nucleotidice pentru a identifica prezența și poziția intronilor sau alte părți de structură a genei, se cunoaște puțin despre frecvența producerii evenimentelor TOG și a introgresiei genelor străine în genomul receptorului [25, 47, 51, 54].

Transferul de ARNm, comparativ cu cel al fragmentelor de ADN, între plantele parazite și gazdele lor a prezentat subiectul a numeroase investigații academice, din ultimele decenii [3, 8, 33], dintre care, în mare parte, au vizat patosistemele cu *Cuscuta* [26, 37, 50]. Astfel, prin studii transcriptomice (RT-PCR și qPCR) urmate de

secvențiere, a fost relevată mobilitatea a câtorva mii de transcripti (ARNm), prezenți în fluxul bidirecțional între *Cuscuta* spp. și gazdele lor [26, 44]. De exemplu, în sistemul *Arabidopsis* - *Cuscuta pentagona*, aproximativ 1% din ARNm este transferat de la gazdă la parazit și 0,6% - de la parazit la gazdă, acoperind 45% și 24% din totalul unigenelor exprimate de gazdă și, respectiv, parazit [26, 50].

ARNm-urile gazdei translocate în parazit codifică proteine cu diferite funcții. De exemplu, dintre cele care au fost identificate la *Cuscuta*, reprezintă factori de transcripție, precum CmNACP și CmWRKYP [37], Gibberellic Acid Insensitive (GAI) [21]; factori de inițiere a translării; proteine ribozomale [28], inhibitorul proteazei catepsina D, implicat în răspunsuri de apărare etc. [32]. ARNm a subunităților mari și mici ale proteinei RuBisCO sunt alte macromolecule preluate de parazit, fapt surprinzător, deoarece subunitatea mică este considerată, în general, non-circulantă și este utilizată în studiul ARN-urilor mobile prin floem în calitate de indicator al unei potențiale contaminări extra-floem [12].

David-Schwartz și colab. [12] au detectat RNAm al gazdei (fosfofructochinaza de la tomate) în celulele parenchimului și ale floemului plantei parazit *Cuscuta*, sugerând că ARN-urile sunt transferate prin conexiuni simplastice celula-celulă, precum și prin cele vasculare, la distanțe mari. Astfel, au fost identificate macromoleculele gazdei în tulpina parazitului la o distanță de până la 30 cm de la situsul de interacțiune [12, 29, 37]. De asemenea, prezența unor ARNm-uri străine a fost relevată și peste 8 ore de la detașarea parazitului de țesuturile gazdei [29].

La plante, plasmodesmele sunt structuri complexe prin care se realizează joncțiunea celulară și este reglat transportul macromoleculor pe distanțe scurte sau lungi. De regulă, plasmodesmele permit transportul pasiv al moleculelor mici (sub 1kDa). Translocarea macromoleculor are loc prin transportul facilitat, mediat de formarea unor complexe cu proteine specifice [30]. O categorie de astfel de *proteine de mișcare* (movement proteins, MPs) sunt cele utilizate de ribovirusuri (Viral movement proteins) pentru răspândirea sistemică în organismul vegetal [37]. Omologii acestor proteine în plante - *non-cell autonomous proteins* [19], interacționează specific cu molecula de ARNm, represează translarea și direcționează translocarea complexului ribonucleoproteic prin simplast de la celulă la celulă [37]. Un exemplu în acest sens este gena cartofului *BEL5* care codifică un ARNm mobil al cărui capăt 3' este recunoscut de proteinele de legare polipirimidinice, formând un complex circulant de la frunze la stoloni [17, 59].

Conform unui model ipotetic de transfer gazdă-parazit a ARNm, complexe de ribonucleoproteice se asociază cu proteine *chaperone* și proteine specifice plasmodesmelor himere, fiind direcționate prin simplast în celulele parazitului, unde sunt procesate similar altor tipuri de ARN. Acest model conține multe întrebări referitor la accesibilitatea conexiunilor gazdă-parazit pentru astfel de macromolecule (*continuitatea membranei plasmatică, a desmotubulilor*), fiind cunoscut faptul că funcția primară a interacțiunilor compatibile constă în achiziționarea de nutrienți [30].

La plante a fost demonstrată prezența abundentă în floem a macromoleculor de ARNt, fiind sugerat rolul general al acestuia în transport. ARNt, datorită conformației specifice de buclă, poate interacționa cu ARNm la capetele 3' ale acestuia, formând un complex hibrid ce poate fi translocat prin plasmodesme. Mai mult ca atât, au fost identificați transcripti care codifică ARNt dicistronic la capetele 3' / 5' și cu care ulterior se pot asocia în complexe circulante [59].

Translocarea interspecifică a ARNm circulant pare să aibă un caracter selectiv, deoarece cantitatea de transcripti transferați diferă în funcție de componentele patosistemului. De exemplu, peste 9000 de ARNm-uri ale gazdei au fost identificate la parazit în cazul interacțiunii compatibile *Arabidopsis - Cuscuta pentagona* și doar 2000 în cazul interacțiunii *Arabidopsis-Cuscuta reflexa*. Fenomene similare sunt observate și în funcție de specia plantei gazdă. La *C. pentagona* care parazitează pe plantele de *Solanum lycopersicon* a fost relevat un număr mai mic de transcripti diferiți derivați de la gazdă, în comparație cu plantele atașate la *Arabidopsis* [26].

A fost pusă în evidență o corelare directă dintre conținutul unor transcripti în regiunea interfeței haustoriale și mobilitatea acestora, fiind relevat caracterul nespecific al transferului de acizi ribonucleici [26]. Totodată au fost elucidate și particularități specifice de mobilitate a ARNm, care nu țin de gradul de acumulare a macromoleculor în regiunile de contact gazda-parazit. În favoarea acestor afirmații sunt datele Real-time PCR și RNA-Seq, care prezintă diferențe în conținutul transcriptiilor *Gibberellic Acid Insensitive (GAI)* [18] și *cathepsin D proteinase inhibitor (PI)* [45] prezenți la *C. pentagona* atunci când parazitează pe plantele de *Solanum lycopersicum* sau *Arabidopsis*. În cazul parazitului atașat la gazdă, au fost identificate valori de 0,002% ARNm - GAI și 0,3% ARNm - PI din conținutul total de transcripti prezenți în tulpinile gazdei [18, 29]. Autorii cercetării subliniază faptul că, translocarea și distribuția ARNm al gazdei în diferite regiuni ale plantei parazit *C. pentagona* indică asupra unor căi diferite de transfer.

Proprietatea moleculelor de ARN de a circula, intra- sau intercelular, pe distanțe mari în interiorul organismelor sau între diferite specii, este din ce în ce mai des recunoscută ca una dintre funcțiile acestor macromolecule de acizi nucleici de a influența specific creșterea și dezvoltarea celulelor receptoare.

S-a demonstrat că ARNm-urile și proteinele mobile la plantele fotosintetizante influențează fenotipul frunzelor, procesele de înflorire etc. [18, 31]. Unii autori au sugerat că timpul de înflorire la *Cuscuta* depinde de cel al înfloririi la gazda sa, invocând astfel posibilitatea ca, ARN-ul și proteina FT (Flowering locus T) sintetizate în gazdă pot fi translocate cu păstrarea funcției și în parazit [9]. Aceste rezultate generează ipoteze pentru noi cercetări cu referire la capacitatea plantelor parazite de a decodifica informația în ARNm-ul circulant, provenit de la gazdă, despre starea fiziologică și astfel de a se adapta la schimbările metabolice ale plante fotosintetizante.

Actualmente, sunt puține dovezi privind funcționalitatea ARN-urilor dobândite, prin transfer interspecific în patosisteme. Posibilitatea translării în proteine este sugerată, în mare parte, de rezultatele procesului de altoire la plante, care au pus în evidență proteine produse de ARNm mobile în țesuturile grefate [27, 50]. ARNm transportat în organismul receptor ar putea fi matriță pentru sinteza proteinelor sau pentru producerea de microARN-uri cu funcție de silențiere. Multe dintre aceste macromolecule, provenite de la planta-donor (gazda), posibil nu au o funcție metabolică sau de reglare, servind ca sursă de nutrienți pentru parazit [8, 30].

### **Rolul ARN-urilor necodificante în reglarea relației planta-parazit**

Plantele produc diverse tipuri de ARN-uri de dimensiuni mici (small RNAs, sRNAs) care, de regulă conțin 21 - 24 de nucleotide și au funcții de reglare a expresiei genelor, sunt responsabile de diferențierea celulară, creștere și dezvoltare, de răspunsuri

celulare la stresul biotic și abiotic [3, 22, 52]. Cele mai multe studii se referă la microARN (miRNA) și ARN interferent de dimensiuni mici (small interfering RNA, siRNA), fiind constatăată mobilitatea acestora în celulele și țesuturile adiacente, precum și capacitatea de translocare la distanțe mari [3].

MicroARN este generat de endonucleaza DCL1 (Dicer-like) în rezultatul procesării unui ARN precursor (transcris de ARN polimeraza II), printr-un proces din mai multe etape de formare a duplexului microARN care, ulterior, este modificat și asamblat în complexul proteic Argonaut (AGO). Complexul microARN/AGO format reglează posttranscripțional acumularea unor ARNm - țintă, translarea fiind supresată prin clivare endonucleolitică [22, 36].

ARN-ul interferent de dimensiuni mici (în continuare ARNm) prezintă un potențial înalt de silențiere transcripțională a genelor virale, transgenelor cu o expresie alterată, transpozozonilor, prin reglarea unor cai de metilare a ADN, ARN-dependente [5]. ARNm este generat în rezultatul scindării moleculelor dublu catenare de ARN de către endonucleaze DCL specifice. Acest ARN reglator determină silențierea genelor țintă într-un *mod celular non-autonom (non-cell autonomous manner)*, fiind transportat prin plasmodesme în celule adiacente și prin floem la distanțe lungi [3].

La plante, primele cercetări axate pe rolul ARN-lui reglator în declanșarea interspecifică a mecanismelor de silențiere genică au fost descrise la specia *Gossypium hirsutum* [58]. Autorii au identificat două tipuri de microARN (miR159 și miR166) la *G. hirsutum*, asociate cu rezistență față de patogenul fungic *Verticillium dahliae*. Sinteza acestor microARN-uri în plantă este indusă de infecția fungică, prezența lor fiind stabilită și în hifele fungului, izolate din țesuturile infectate. A fost sugerat că transcripții țintă, pentru acțiunea ARN reglatoare, codifică proteine care asigură virulența patogenului. Ulterior, cercetările în acest context au fost extinse și la alți patogeni ai plantelor [8, 20, 38].

În cazul patosistemelor formate din antofite fotosintetizante și parazite sunt obținute rezultate privind transferul de ARN-uri reglatoare de la planta parazit la gazdă. Astfel, în asociațiile cu parazitul obligat *Cuscuta campestris*, a fost constatăată acumularea specifică a diferitor tipuri de microARN în țesuturile haustoriale [38], care fiind transferate în celulele gazdei receptor (*Arabidopsis thaliana*, *Nicotiana benthamiana*) aveau ca țintă transcripții gazdei ce codifică receptori auxinici (*Auxin F-box related3*, *AFB3*), regulatori de creștere și dezvoltare (*Schizoriza/Heat shock transcription factor B4*, *SCZ SCZ/HSFB4*), componenți de semnalizare în reacțiile de apărare față de agenții patogeni (*Botrytis-induced kinase 1*, *BIK1*) și regulatori ai transportului prin floem, (*Sieve element occlusion related1*, *SEOR1*). Formele mutante ale plantelor gazdă, care conțin mutațiile genelor *AFB3* și *SEOR1*, sunt sensibile la infecția cu *C. campestris*, fiind relevată dezvoltarea intensă a patogenului. Aceste date susțin ipoteza, conform căreia, inactivarea genelor gazdă de către microARN-uri endogene ale *C. campestris* sporește rata de supraviețuire și dezvoltare a patogenului. Prin urmare, microARN-urile plantei *C. campestris* acționează ca factori de virulență [8, 38].

Cercetări similare au fost obținute de Yang Z. și colab. (2019) care au presupus că genele dobândite de planta parazit prin TOG pot fi o sursă de bază în sinteza moleculelor de ARN de mici dimensiuni [54]. Autorii prezintă rezultate moleculare și filogenetice în favoarea acestei ipoteze. Au fost identificate un șir de xenogene la

plantele de *Cuscuta*, care codifică proteine ce conțin domenii repetate bogate în leucină (leucine-rich repeat domain LRR), cunoscute prin efectul de generare a ARNm, dependent de microARN. Una dintre aceste gene, înalt exprimată în haustor, codifică o protein-kinază LRR (*Cc\_v0.1\_Contig437972\_11875*) similară cu *ccm-MIR12494a15*, a cărei expresie, de asemenea este indusă în haustor, unde declanșează clivarea ARNm-ul gazdei - *Arabidopsis Heat Shock Factor Binding 4 / Schizoriza (HSFB4/SCZ)* cu formarea de ARN interferent secundar. În *Arabidopsis*, SCZ reglează diferențierea celulelor stem în țesuturi corticale [43] și formarea rădăcinilor noi [6].

Au fost identificate diferite elemente transpozabile și fragmente repetitive în genomul plantei parazit, ca rezultat ale evenimentelor TOG, reprezentând surse de ARNm [54]. Transferul microARN sau/și ARNm de la parazit la gazdă reprezintă una din numeroasele strategii moleculare pentru a periclita sistemul de apărare al gazdei sau a remodela fiziologia gazdei în avantajul lor. Deși, la plante transferul acizilor nucleici și rolul potențial al ARN-urilor de mici dimensiuni în reglarea interspecifică a genelor reprezintă descoperiri recente, au fost obținute mai multe rezultate promițătoare privind aplicarea strategiei de *Silențiere a genelor indusă de gazdă*, SGIG (Host-induced gene silencing, HIGS) în controlul expresiei genice la patogeni, cu scopul inhibării creșterii și răspândirii acestora [14, 22]. Astfel, utilizarea plantelor gazdă transgenice pentru sinteza precursorilor ARN interferent (ARNi) complementar unor ARNm țintă în planta parazit a fost utilizată cu succes în patosistemele *Lactuca sativa - Triphysaria versicolor* [45]. De asemenea, a fost obținută silențierea expresiei genelor care codifică mannozo 6-fosfat reductaza la *Orobanche aegyptiaca* [2] și acetil-coenzima A carboxilaza la *Triphysaria versicolor* [4]. Inhibarea sintezei acetil-coenzimei A carboxilaza în plantele *T. versicolor* atașate la gazdele transgenice (*Medicago truncatula*) a cauzat o reducere de 80% a parametrilor de creștere și dezvoltare a parazitului. În cazul plantelor de *C. pentagona*, supresia sintezei factorului de transcriptie Shoot Meristemless-like (STM) a determinat stoparea răspândirii parazitului, confirmând utilitatea tehnicii de inactivare genică prin utilizarea constructului transgenic de interferență [1].

Aceste rezultate demonstrează că transferul bidirecțional al ARN-ului de mici dimensiuni este unul dintre mecanismele endogene de reglare a proceselor de comunicare interspecifică și semnalizare în patosistemele vegetale [22, 50], care poate fi explorat în scopuri de monitoring și biocontrol al plantelor parazite [2, 4, 14]. Succesul strategiei SGIG depinde de capacitatea de a identifica corect secvențele/ genele ținta pentru constructul antisens. Genele de interes pot fi prezente în planta gazdă, fiind necesare și pentru dezvoltarea patogenului sau prezente în agentul patogen, dar absente în planta gazdă, or pot fi derivate de la alte organisme.

Progresul tehnologic al științelor „omice” (genomica, proteomica, metabolomica etc.) oferă perspective noi pentru identificarea genelor unice de interes. Totodată, urmează o etapă lungă de cercetări suplimentare pentru evaluarea eficienței și stabilității efectului de rezistență față de patogeni, obținut prin strategia SGIG, în câmp. Întrucât, interacțiunile ecologice și coevoluția gazdă - parazit implică apariția unor patogeni mai virulenți, cu potențial sporit de a evita recunoașterea de către sistemul imun al gazdei, silențierea genelor responsabile de reproducerea și supraviețuirea plantelor parazite prezintă un real interes pentru crearea rezistenței durabile a culturilor agricole.



## Concluzii

- În patosistemele cu antofite parazite, mecanismele naturale de transfer interspecific a materialului genetic implică molecule de ADN și ARNm (ADNc) translocate preponderent în direcția *gazdă-parazit*. La speciile din familia *Orobanchaceae*, transferul orizontal de ADN *de la parazit la gazdă* a fost constatat doar în cazul genelor mitocondriale. Au fost stabilite corelații dintre frecvența evenimentelor de transfer orizontal de gene și gradul de heterotrofie a plantelor.

- Cele mai multe dovezi, privind transferul de material genetic *de la plantele parazit la gazdele lor*, au vizat translocarea macromoleculilor de ARNm în patosistemele cu *Cuscuta (Convolvulaceae)*. Transferul bidirecțional de ARN-uri este specific în funcție de componentele patosistemului și are loc prin simplast *celula-celulă* sau/și prin conexiuni vasculare (floem) la distanțe mari.

- În contextul funcționalității ARN-urilor dobândite prin transfer interspecific, se presupune că ARNm în organismul receptor poate fi translat în proteine sau utilizat pentru producerea de microARN cu funcție de silențiere. Totodată, se consideră că multe dintre aceste macromolecule provenite de la planta-donor (gazda) posibil nu au o funcție metabolică sau de reglare, servind doar ca sursă de nutrienți pentru parazit.

- Transferul bidirecțional al ARN-ului de mici dimensiuni este unul dintre mecanismele de reglare a proceselor de semnalizare în patosistemele vegetale, care poate fi explorat în scopuri de monitoring și biocontrol al plantelor parazite.

**Cercetările au fost realizate în cadrul programului instituțional 20.80009.5107.01 „Studii genetico-moleculare și biotehnologice ale florii-soarelui în contextul asigurării managementului durabil al ecosistemelor agricole”.**

## Bibliografie

1. Alakonya A. et al. Interspecific RNA interference of SHOOT MERISTEMLESS-like disrupts *Cuscuta pentagona* plant parasitism. *Plant Cell*. 2012, v.24, p. 3153–3166.

2. Aly R. et al. Gene silencing of mannose 6-phosphate reductase in the parasitic weed *Orobanche aegyptiaca* through the production of homologous dsRNA sequences in the host plant. *Plant Biotechnol. J.*, 2009, v. 7, p. 487–498.

3. Bailey-Serres J., Zhai J., Seki M. The dynamic kaleidoscope of RNA biology in plants. *Plant physiology*, 2020, v. 182(1), 9 p.

4. Bandaranayake P., Yoder J. Trans-specific gene silencing of acetyl-CoA carboxylase in a rootparasitic plant. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 2013, v.26, p. 575–584.

5. Borges F., Martienssen R. The expanding world of small RNAs in plants. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2015, v. 16, p.727–741.

6. Bustillo-Avendano E. et al. Regulation of hormonal control, cell reprogramming, and patterning during *de novo* root organogenesis. *Plant Physiol.* 2018, v. 176, p. 1709–1727.

7. Cheng X. et al. The role of endogenous strigolactones and their interaction with ABA during the infection process of the parasitic weed *Phelipanche ramosa* in tomato plants. *Frontiers in Plant Science.* 2017, v. 8 p. 392, 13 p.

8. Clarke C. et al. Molecular dialog between parasitic plants and their hosts. *Annu Rev Phytopathol.* 2019, v. 57(1), p. 279-299.

9. Corbesier L. et al. FT protein movement contributes to long-distance signaling in floral induction of arabidopsis. *Science*, 2007, v. 316, p. 1030–1033.

10. Cui S. et al. Haustorial hairs are specialized root hairs that support parasitism in the facultative parasitic plant *Phtheirospermum japonicum*. *Plant Physiology.* 2016, vol. 170, p. 1492–1503.

11. Cui S. Ethylene signaling mediates host invasion by parasitic plants. *Sci Adv.* 2020, v. 6 p.
12. David-Schwartz R. et al. Long-distance transport of fRNA via parenchyma cells and phloem across the host-parasite junction in *Cuscuta*. *New Phytol.* 2008, v. 179, p. 1133–1141.
13. Davis C., Xi Z. Horizontal gene transfer in parasitic plants. *Curr Opin Plant Biol.* 2015, v. 26, p.14-19.
14. Ghag S. Host induced gene silencing, an emerging science to engineer crop resistance against harmful plant pathogens, *Physiological and Molecular Plant Pathology.* 2017, v.100, p. 242-254.
15. Goyet V. et al. Haustorium Inducing Factors for Parasitic Orobanchaceae. *Front Plant Sci.* 2019, v. 10, p. 1-8.
16. Goyet V. et al. Haustorium initiation in the obligate parasitic plant *Phelipanche ramosa* involves a host-exudated cytokinin signal. *J. Exp. Bot.* 2017, v. 68, p. 5539–5552.
17. Hannapel D., Sharma P., Lin T. Phloem-mobile messenger RNAs and root development. *Front Plant Sci.* 2013, v. 4, p.1-12.
18. Haywood V. et al. Phloem long-distance trafficking of GIBBERELLIC ACID-INSENSITIVE RNA regulates leaf development. *Plant J.* 2005, v. 42, p. 49-68.
19. Haywood V., Kragler F., Lucas W. Plasmodesmata: Pathways for Protein and Ribonucleoprotein Signaling. *The Plant cell.* 2002, v.14, p.303-325.
20. Hou Y. et al. A *Phytophthora* effector suppresses trans-kingdom RNAi to promote disease susceptibility. *Cell Host Microbe.* 2019, v. 25, p. 153–165.
21. Huang N., Yu T. The sequences of Arabidopsis GA-INSENSITIVE RNA constitute the motifs that are necessary and sufficient for RNA long-distance trafficking. *Plant J.* 2009, 59(6), p. 921-929.
22. Hudzik C. et al. Exchange of Small Regulatory RNAs between Plants and Their Pests. *Plant Physiol.* 2020, v. 182(1) p. 51-62.
23. Ichihashi Y. et al. Common mechanisms of developmental reprogramming – lessons from regeneration, symbiosis and parasitism. *Frontiers in Plant Science.* 2020, v.11, 10 p.
24. Joel D. et al. Biology and Management of Weedy Root Parasites. In: Janick, J., (Ed.), *Horticultural Reviews.* John Wiley and Sons, 2006, v. 33, p. 267-349.
25. Kado T., Innan H. Horizontal Gene Transfer in Five Parasite Plant Species in Orobanchaceae, *Genome Biology and Evolution.* 2018, v. 10 (12), p. 3196–3210.
26. Kim G. et al. Genomic-scale exchange of mRNA between a parasitic plant and its hosts. *Science.* 2014, v. 345, p. 808–811.
27. Kim J. et al. A novel cell-to-cell trafficking assay indicates that the KNOX homeodomain is necessary and sufficient for intercellular protein and mRNA trafficking. *Gene Dev.* 2005, v. 19, p. 788–793.
28. Kragler F. RNA in the phloem: a crisis or a return on investment? *Plant Sci.* 2010, v.178 p. 99-104.
29. Leblanc M. et al. Quantification of tomato and Arabidopsis mobile RNAs trafficking into the parasitic plant *Cuscuta pentagona*. *New Phytol.*, 2013, v. 200, p. 1225–1233.
30. Leblanc M., Kim G., Westwood, J. RNA trafficking in parasitic plant systems. *Frontiers in plant science*, 2012, v. 3, 11 p.
31. Li C. et al. Mobile FT mRNA contributes to the systemic florigen signalling in floral induction. *Sci. Rep.* 2011, v. 1 (73), 6 p.
32. Lisón P., Rodrigo I., Conejero V. A novel function for the cathepsin D inhibitor in tomato. *Plant physiology*, 2006, v.142(3), p. 1329–1339.
33. Mutuku J. et al. Orobanchaceae parasite – host interactions. *New Phytol.* 2020, 14 p.
34. Okazaki M. et al. Abscinazole-E2B, a practical and selective inhibitor of ABA 8'-hydroxylase CYP707A. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2012, v. 20, p. 3162–3172.
35. Richardson A., Palmer J. Horizontal gene transfer in plants. *J Exp Bot.* 2007, v.58(1), 9 p.

36. Rogers K., Chen X. Biogenesis, turnover, and mode of action of plant microRNAs. *Plant Cell*. 2013, v. 25, p. 2383–2399.
37. Roney J., Khatibi P., Westwood J. Cross-species translocation of mRNA from host plants into the parasitic plant dodder. *Plant physiology*, 2007, v. 143(2), p. 1037–1043.
38. Shahid S. et al. MicroRNAs from the parasitic plant *Cuscuta campestris* target host messenger RNAs. *Nature*. 2018, v. 553, p. 82–85.
39. Soucy S., Huang J., Gogarten J. Horizontal gene transfer: building the web of life. *Nature Reviews Genetics*. 2015, v. 16, p. 472–482.
40. Spallek T. et al. Interspecies hormonal control of host root morphology by parasitic plants. *PNAS*. 2017. v. 114, p. 5283–5288.
41. Sun T. et al. Two hAT transposon genes were transferred from Brassicaceae to broomrapes and are actively expressed in some recipients. *Sci Rep*, 2016, v. 6, p.1-12.
42. Taylor Z., Rice D., Palmer J. The complete moss mitochondrial genome in the angiosperm *Amborella* is a chimera derived from two moss whole-genome transfers. *PLOS ONE*, 2015, 21 p.
43. ten Hove C. et al. SCHIZORIZA encodes a nuclear factor regulating asymmetry of stem cell divisions in the *Arabidopsis* root. *Curr. Biol*. 2010, v. 20, p. 452–457.
44. Thieme C. et al. Endogenous *Arabidopsis* messenger RNAs transported to distant tissues. *Nature Plants*. 2015, v. 1(4), p. 1-7.
45. Tomilov A. et al. Trans-specific gene silencing between host and parasitic plants. *Plant J.*, 2008, v.56, p. 389–397.
46. Uematsu K. et al. Role of cAMP in gibberellin promotion of seed germination in *Orobanche minor* Smith. *Journal of Plant Growth Regulation*. 2007, v. 26, p. 245–254.
47. Vogel A. et al. Footprints of parasitism in the genome of the parasitic flowering plant *Cuscuta campestris*. *Nat. Commun*. 2018, v. 9, p. 1-9.
48. Wakatake T. et al. An auxin transport network underlies xylem bridge formation between the hemi-parasitic plant *Phtheirospermum japonicum* and host *Arabidopsis*. *Development*. 2020, v.147 (14), 12 p.
49. Westwood J. et al. The evolution of parasitism in plants. *Trends Plant Sci*. 2010, vol. 15 (4), p. 227-235.
50. Westwood J. Kim G. RNA mobility in parasitic plant - host interactions, *RNA Biology*, 2017, v. 14(4), p. 450-455. p.
51. Wickell D., Li F. On the evolutionary significance of horizontal gene transfers in plants. *New Phytol*. 2020, v. 225(1), p. 113-117.
52. Wu J. miRNAs as a Secret Weapon in the Battlefield of Haustoria, the Interface between Parasites and Host Plants. *Mol Plant*. 2018, v. 11(3), p. 354-356.
53. Yang Z. et al. Horizontal gene transfer is more frequent with increased heterotrophy and contributes to parasite adaptation. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016, v. 113(45). p. 7010-7019.
54. Yang Z. et al. Convergent horizontal gene transfer and cross-talk of mobile nucleic acids in parasitic plants. *Nat. Plants*, 2019, v. 5, p. 991–1001.
55. Yoshida S. et al. Horizontal gene transfer by the parasitic plant *Striga hermonthica*. *Science*, 2010, v. 328, 2 p.
56. Yoshida S. et al. The Haustorium, a Specialized Invasive Organ in Parasitic Plants. *Annu Rev Plant Biol*. 2016, v. 67, p. 643-667.
57. Zhang D. et al. Root parasitic plant *Orobanche aegyptiaca* and shoot parasitic plant *Cuscuta australis* obtained Brassicaceae-specific strictosidine synthase-like genes by horizontal gene transfer. *BMC Plant Biol*. 2014, v. 14 (19), p. 1-14.
58. Zhang T. et al. Cotton plants export microRNAs to inhibit virulence gene expression in a fungal pathogen. *Nat Plants*. 2016, v. 2 (10), 6 p.
59. Zhang W. et al. tRNA-related sequences trigger systemic mRNA transport in plants. *Plant Cell*. 2016, v. 28, p.1237-1249.