

MECANISME GENETICO-MOLECULARE ALE REZISTENȚEI PLANTELOR LA STRESUL BIOTIC

Șestacova Tatiana, Tabără Olesea

*Centrul universitar Biologie Moleculară,
Universitatea Academiei de Științe a Moldovei*

Rezumat

Controlul bolilor la plante este un obiectiv major al ameliorării, programelor de monitorizare a patologiilor și chimiei agricole. Plantele au dezvoltat pe parcursul evoluției mecanisme de apărare **constitutive**, pre-existente, reprezentate de barierele mecanice (peretele celular, cuticula etc.) sau compuși secundari antimicrobieni pre-existenți – fitoanticipine, și **induse**, determinate de atacul patogenilor, cum ar fi fortificarea peretelui celular sau inducerea sintezei fitoalexinelor, substanțelor fenolice ș.a. Reacția de răspuns a plantelor se manifestă prin procese biochimice și fiziologice similare, indiferent de tipul rezistenței, însă inducerea acestei este diferită.

Articolul prezintă o analiză a datelor recente, privind diferite tipuri de rezistență și mecanismele de apărare cunoscute la plante sub aspectul genetico-molecular.

Cuvinte cheie: rezistență specifică, rezistență nespecifică, SAR, gene de rezistență, răspuns hipersensibil.

Depus la redacție 24 septembrie 2015

Adresă pentru corespondență: Șestacova Tatiana, Universitatea Academiei de Științe a Moldovei, str. Academiei, 3/2, MD 2028 Chișinău, Republica Moldova; E-mail: tatiana.shestacova@gmail.com; tel. (+373 22) 737431.

Introducere

Pe parcursul evoluției plantele au dezvoltat mecanisme complexe de recunoaștere și răspuns la infecții provocate de un număr mare de agenți patogeni [29]. Sunt descrise mai multe tipuri de rezistență la plante: non-gazdă, specifică, nespecifică, locală dobândită, sistemică dobândită, sistemică indusă ș.a. În articolul respectiv însă ne vom axa pe cele trei tipuri de bază: specifică, nespecifică și sistemică dobândită.

Rezistența specifică este determinată de interacțiunea între genele R (*Resistance*) ale plantei și genele Avr (*Avirulence*) ale patogenului [18]. Recunoașterea efecturilor patogenului declanșează activarea unor cascade de semnalizare, care asigură răspunsul de apărare [18, 29, 35].

Rezistența nespecifică sau **cantitativă** este determinată de efectul cumulativ al genelor de rezistență minore, și de condițiile de mediu [16, 51].

Rezistența sistemică dobândită (*Systemic Acquired Resistance – SAR*) este asociată cu inducerea expresiei genelor codificatoare de proteine asociate cu patogeneză (*Pathogenesis-Related – PR*) și are efect durabil la un spectru larg de patogeni [16].

Actualmente, se observă o tendință clară de unificare a conceptelor în descrierea diverselor tipuri de rezistență, întrucât mecanismele defensive sunt similare, dar se activează în mod diferit în dependență de tipul rezistenței [24, 51].

Rezistența specifică la plante

Unul dintre obiectivele de bază în controlul bolilor la plante este obținerea soiurilor, hibridilor și varietăților cu gene de rezistență majore. Acest tip de rezistență este ușor de obținut prin ameliorare, cu un nivel înalt de eficiență până ce nu se dezvoltă rase de agenți patogeni mai agresivi. În cazul când se identifică o altă genă, care determină rezistență la rasele noi ale patogenului, aceasta poate fi introdusă în alte genotipuri de perspectivă. Astfel, amelioratorul aplică principiul ipotezei „genă-pentru-genă” (*gene-for-gene hypothesis*), propusă de Flor (1956), ca cea mai simplă explicație a rezultatelor unor studii, privind moștenirea patogenității la rugina inului *Melampsora lini*. Pentru fiecare gena de rezistență (**gena R**) la gazdă există o genă corespunzătoare la parazit care condiționează patogenitatea acestuia (**gena Avr**). Fiecare genă a unui membru al sistemului gazdă-parazit poate fi identificată doar de către omologul său în alt membru al sistemului [18].

Genele de rezistență asigură o reacție selectivă față de genele de virulență din populația parazitului [64]. Rezistența specifică mai este numită și rezistență verticală [60] sau rezistență diferențială [1]. Alte denumiri similare sunt: rezistența monogenică, oligogenică, majoră, rasială [64].

În majoritatea cazurilor identificarea diferitor gene R și a proteinelor efectoare corespunzătoare, a stimulat cercetările privind baza moleculară ale rezistenței de tipul „genă-pentru-genă” [9, 34]. Majoritatea proteinelor R sunt clasificate în cinci clase, formate în primul rând pe combinarea unui număr limitat de motive structurale [35].

Clasa 1 include un singur reprezentant, gena *Pto* de la tomate, care are o regiune catalitică kinazei serină/treonină și un motiv de miristoilare la capătul N-terminal [35, 36].

Clasa 2 cuprinde un număr mare de proteine, caracterizate prin prezența unei regiuni de repetări bogate în leucină “*leucine-rich repeats*” (LRR), unui *site* de legare a nucleotidelor “*nucleotide binding site*” (NBS sau NB), și la capătul N-terminal “*leucine-zipper*” (LZ) sau altor secvențe cu structura elicei duble “*coiled-coil*” (CC). [35].

Clasa 3 este similară cu clasa 2, dar domeniul CC în proteinele respective este înlocuită la capătul N-terminal cu secvența similară receptorilor *Toll* și *Interleucină 1* (IL-1R) animalelor, care este numită regiune TIR. Proteinele R din primele trei clase se caracterizează prin lipsa domeniilor transmembranare (TM) și toate sunt localizate intracelular. [35].

Clasa 4 include *Cf* proteine, care au fost descrise la tomate. Acestea se deosebesc prin lipsa site-ului NBS, deși au domeniul transmembranar (TM), repetarea LRR extracelulară și o coadă mică fără motive evidente, care posibil are o localizare citoplasmatică [13, 35].

Clasa 5 include proteină *Xa21* de la orez, care are în afară de o repetare LRR extracelulară și un domeniu TM, o regiune citoplasmatică caracteristică kinazei serină/treonină. Unele proteine R nu se încadrează în clasele descrise [35].

Există și alte clasificări ale genelor R [63]. Astfel, Gerben van Ooijen și colaboatorii evidențiază patru clase caracteristice proteinelor R: clasa CNL (CC-NB-LRR proteine, analogul clasei 2), TNL (TIR-NB-LRR proteine, analogul clasei 3), RLP (Receptor-Like Proteins, analogul clasei 4) și RLK (Receptor-Like Kinases, analogul clasei 5) și alte proteine, care nu se includ în clasele respective (Fig. 1) [63].

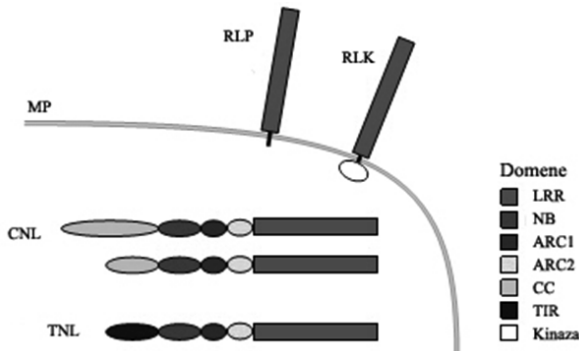


Fig. 1. Reprezentarea schematică a celor patru clase a proteinelor R. Sunt indicate domenele proteice și localizarea lor prezumptivă [63].

Utilizarea sistemelor model plantă-patogen a contribuit în mare măsură la clonarea și caracterizarea genelor R [20]. Numai pînă în anul 2007 au fost identificate și clonate mai mult de 55 gene R, care asigură rezistență specifică la diferite plante mono- și dicotiledonate [63].

Majoritatea genelor R au fost izolate de la *Arabidopsis*. Numeroase gene R, au fost izolate de la speciile din familia *Solanaceae* (tomate, cartof, ardei și tutun) [63], orz, orez și in. Importanța utilizării unei game largi de specii de plante pentru studiul genelor R este evidentă, reieșind din faptul că, pînă în prezent, nu există nici o genă R la *Arabidopsis* clonată, care să se încadreze în clasele 1, 4 și 5. Cu toate acestea, genele omoloage pentru fiecare dintre aceste gene sunt prezente la *Arabidopsis* și este posibil

că ele între ele vor activa ca gene ale rezistenței. De exemplu, FLS2 de la *Arabidopsis*, nu este o proteina R, deși are o similaritate cu *Xa21* și joacă un rol în recunoașterea flagelinei bacteriene [20].

Preponderent au fost identificate și descrise genele R la specii dicotiledonate și doar câteva gene R au fost clonate din cele monocotiledonate (*Xa21*, *Rpg1*, seria *Mla*) [5, 22, 68]. Analiza bazelor de date EST (*Expressed Sequence Tags*) la plante a relevat că plantele monocotiledonate nu au proteine similare cu TIR-NBS-LRR [38, 48] și acest lucru sugerează ideea că ar putea exista unele diferențe fundamentale în mecanismele de rezistență între speciile di- și monocotiledonate.

Genetica clasică demonstrează tendința genelor de rezistență spre clusterizare/grupare în cadrul genomului. Primele studii preponderent au fost focusate pe un singur patogen, însă apariția hărților genetice complexe bazate pe markeri moleculari a permis cartarea genelor R multiple unul față de altul. Locusul R poate să prezinte o singură genă cu mai multe variante alelice. Exemple de acest tip sunt locusul *L* la in (13 alele) și *RPM1* la *Arabidopsis* (2 alele). Cel mai des, genele R sunt organizate în clustere și arată un nivel variabil de recombinare între genele din componența grupurilor. Genele dintr-un singur cluster pot determina rezistența la patogeni foarte diferiți [39].

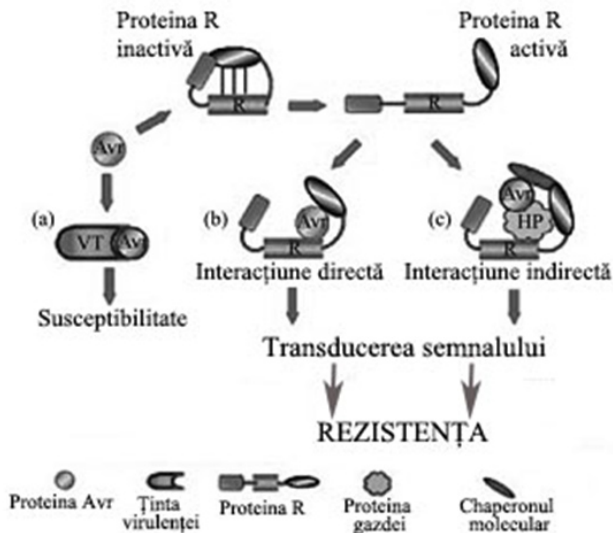


Fig. 2. Mecanisme de interacțiune a genelor R cu genele Avr.

(a) La plante lipsesc genele R, proteina Avr se leagă cu ținta de virulență (virulence target (VT)). (b) Când plantele dispun de gene R, însă nu sunt atacate de patogeni, proteina R apare în celulele gazdă în configurație inactivă. Când proteina Avr este introdusă în celulele de la patogen, proteina R este activată prin două modele pentru asigurarea

transferului semnalului de rezistență: proteina Avr interacționează cu proteina R direct, declanșând răspunsul de rezistență (b), sau indirect prin intermediu proteinei-gazdă (host protein, HP), precum, și unui șaperon molecular (MC), formând complexul R-Avr și inducând rezistența(c) [29].

Astfel, pentru genele R sunt cunoscute două tipuri de organizare genomică: variație alelică și tandemurile cromozomiale sau clustere de gene strâns linkate. Această distribuție a locurilor R în genomurile vegetale pune în evidență două probleme importante: originea acestui tip de organizare a genelor și distribuirea lor, precum și evoluția locurilor R [39].

Pentru înțelegerea mai profundă a rezistenței specifice este necesară cunoașterea mecanismului de interacțiune a genelor R cu cele Avr. Astfel, a fost stabilit că în

modelul genă-pentru-genă, interacțiunea între părțile sistemului are loc după modelul receptor-ligand. Se presupune că proteinele R acționează în calitate de receptori, care recunosc proteinele Avr ale patogenului, formând un complex R-Avr pentru activarea diverselor răspunsuri defensive (Fig. 2) [18].

Actualmente, sunt cunoscute două mecanisme alternative, ce explică modul de acțiune în cadrul acestui model: interacțiune directă și indirectă. Interacțiunea directă sugerează că efectorul patogenului Avr este legat direct de produsul genei R pentru declanșarea semnalizării în cadrul rezistenței mediate de gene R. De exemplu, a fost arătat că gena R de la orez *Pita* interacționează direct cu *AVR-Pita* de la *Magnaporthe grisea*, însă în cazul alelei genei *Pi-ta* asociate cu susceptibilitate interacțiunea lipsește [23]. O asemenea interacțiune directă, specifică de alelă este cunoscută pentru alele *L* la in, care corespund genelor Avr a ruginii inului [15].

Totodată, majoritatea datelor pun în evidență modelul indirect de asemenea numit “ipoteza de gardă” (“*guard hypothesis*”) (fig. 2) [10, 24, 58, 59]. În acest model proteina R joacă rolul unui “*supraveghetor*” (“*guard*”), care monitorizează modificarea proteinelor gazdei după legarea cu efectorul Avr corespunzător. Pentru prima dată acest model a fost aplicat în explicarea semnalizării de apărare asigurate de *AvrPto/AvrPtoB-Pto-Prf* [58]. În conformitate cu acest model, *Prf* reprezintă o genă R, care codifică proteina LZ-NBS-LRR ce determină activitatea *Pto*, o parte componentă a complexului R-Avr și ținta *AvrPto* [24]. Un alt exemplu ce denotă “ipoteza de gardă”, este ghidarea activității proteinelor RPM1 și RPS2, care interacționează cu trei efectori diferiți de tip III *AvrRpm1/AvrB* și *AvrRpt2* de la *Pseudomonas syringae* [30, 31].

Rezistență nespecifică. Mecanisme de rezistență a plantelor la stresul biotic

Rezistența nespecifică reprezintă un sistem de protecție, care întârzie ciclul sau capacitatea de reproducere a unui patogen. Planta-gazdă încearcă să se protejeze prin dezvoltarea de bariere împotriva invaziei și a capacității patogenului de a crește, de a se extinde și reproduce. Rezistența nespecifică este, în general, un sistem de protecție complex - morfologic, histologic și metabolic - depinzând de condițiile de mediu și cele ontogenetice. Complexitatea ei oferă siguranță și durabilitate, dar implică dificultăți de manipulare, evaluare, acumulare și transfer. Întrucât rezistența nespecifică se realizează împotriva tuturor raselor sau izolatelor patogenului, nu există interacțiuni specifice soi-rasă [64].

Rezistența nespecifică este considerată de tip orizontal [60] sau uniformă [1], fiind denumită și poligenică, multigenică, generală, parțială sau rezistență de câmp. O astfel de rezistență are o durată mai lungă, fiind mai greu de învins de rasele noi ale patogenului. Rezistența orizontală sau uniformă este controlată poligenic de gene nespecializate, implicând numeroși factori pe care gazda rezistentă îi opune pătrunderii parazitului în țesuturile gazdă [64].

Mecanismele constitutive sau de apărare pasivă includ barierele morfologice, structurale și chimice și reprezintă primul obstacol, care trebuie să fie depășit de patogen. Un exemplu bine cunoscut de bariere morfologice este dimensiunea osteolelor stomatelor [26]. Astfel, unii fungi, ce produc rugina la plante, posedă mecanisme de detectare fină a dimensiunilor osteolelor plantelor susceptibile. Astfel, atunci când hifele găsesc o osteolă de dimensiune corespunzătoare, acestea sunt programate să fie

supuse unui proces de dezvoltare, care rezultă cu formarea de structuri invazive, ce pătrund în stomate și încep colonizarea interiorului frunzei.

Barierelor structurale, cum ar fi ceara, cutina, suberina, lignina, celuloza, caloza și proteinele peretelui celular, sunt rapid fortificate în timpul procesului infecțional [26]. Totodată, plantele constitutiv produc o multitudine de metaboliți secundari și proteine antifungice majoritatea cărora acționează ca compuși antimicrobieni în timpul apărării împotriva microorganismelor [26]. Acestea includ fenoli de diferită structură, saponine, terpenoizi și steroizi. Unii compuși constitutivi posedă acțiune toxică, în timp ce alții apar ca conjugate, cum ar fi glicozidele care nu sunt toxice în sine, dar își capătă toxicitatea în urma distrugerii conjugatului. De exemplu, la invazia patogenului glicozidele plantelor sunt adesea hidrolizați de glicozidaze vacuolare, eliberând agliconii care pot fi destul de toxici, nu numai pentru fitopatogen, dar și pentru celulele plantelor localizate în vecinătate [26].

Mecanismele de rezistență induse sau active includ sisteme, care necesită consum de energie pentru recunoașterea specifică a patogenului, care în cele din urmă, determină producerea proteinelor sau a metaboliților antagoniști invadatorului [26]. Ele sunt considerate al doilea obstacol la invazia patogenului. Mecanismele de apărare induse au mai multe avantaje, cum ar fi reducerea costurilor biosintetice de apărare sau evitarea faptului că alte organisme pot exploata apărarea în beneficiul propriu [8, 67].

Răspunsurile de apărare induse sau active includ stresul oxidativ, moartea celulelor locală, acumularea fitoalexinelor, sinteza proteinelor PR (*pathogenesis-related*) și altor proteine care participă la fortificarea peretelui celular, cum ar fi glicoproteinele bogate în hidroxiprolină și creșterea nivelului de transcripție a genelor pentru enzimele implicate în fluxul de carbon de la metabolismul primar la secundar, cum ar fi peroxidazele, lipooxigenazele, superoxid-dismutazele și fenilalanin-amonia-liaza (PAL), o enzimă-cheie în biosinteza compușilor fenolici cu activitate antimicrobiană [41].

Mecanismele de apărare induse sunt declanșate sistematic la plante în răspunsul la infecții. În primul rând, local apare o necroză limitată în spațiu, frecvent indusă ca rezultat al morții celulelor cauzate de acțiunea agentului patogen într-o interacțiune compatibilă sau de moartea celulelor vegetale endogene după recunoașterea agentului patogen de către gazdă, într-o interacțiune incompatibilă – **răspuns hipersensibil (RH)** [32]. RH reprezintă apoptoza indusă de agentul patogen, rapidă și localizată în locul de infecție, astfel, celulele plantei reacționează la atacul patogenului prin moartea programată a celulelor, ce include scurgeri de electroliți din citoplasmă și stresul oxidativ – „explozie oxidativă” [41, 49]. Ca rezultat, patogenul rămâne limitat la leziunile necrotice lângă *site*-ul de infecție.

Cunoștințele despre transducerea semnalelor în RH sunt încă incomplete, dar mai multe gene au fost deja identificate, inclusiv proteinkinazele și fosfatazele, genele calmodulinei și altele cu funcții biochimice necunoscute, care induc în cele din urmă transcripția genelor răspunsului defensiv. Rezistența dobândită localizată într-un inel de celule în jurul leziunilor necrotice asigură insensibilitatea completă a acestora la infecții ulterioare [4].

Timp de câteva ore după apariția necrozei localizate, planta începe a exprima un set de gene de apărare atât la nivel local, la punctul de infecție, cât și sistemic, în alte

organe ale plantei [61]. Astfel, RH locale de multe ori declanșează un semnal sistemic, care transformă rezistență nespecifică la nivelul plantei întregi, în **rezistența sistemică dobândită** (*SAR – systemic acquired resistance*), care conferă protecție sporită de lungă durată împotriva infecțiilor ulterioare de un spectru larg de agenți patogeni [16, 52, 55, 66].

Spre deosebire de RH, dezvoltarea SAR este lentă și treptată. În acest răspuns defensiv sistemic, semnalul se extinde de la locul interacțiunii plantă-patogen și este mediat de un set de molecule endogene de semnalizare defensivă, care au fost identificate ca mesageri la plante, inclusiv acidul salicilic (AS), acidul jasmonic (AJ), etilena (ET), oxidul de azot (NO) sau speciile reactive ale oxigenului (SRO) [2, 3, 40, 47].

Mesagerii respectivi interacționează cu proteinele specifice, care sunt implicate în activarea transcripției genelor de răspuns la patogen (*pathogen-responsive genes*). Aceste gene SAR sunt considerate a fi responsabile de rezistența sporită a țesuturilor non-infectate, secundare ale plantelor la infecțiile ulterioare de către același patogen sau chiar agenți patogeni independenți [32, 40].

Rezistența sistemică dobândită

SAR este activată în multe specii de plante de către agenții patogeni ce cauzează necroza, în calitate de parte componentă a HR sau ca un simptom al bolii. Rezistența conferită este de lungă durată, uneori, pentru întreaga viață a plantelor, precum și eficientă împotriva unui spectru larg de agenți patogeni, inclusiv – virusuri, bacterii, fungi și oomicete [52].

La nivel molecular SAR se caracterizează prin creșterea expresiei unui număr mare de gene PR în țesuturi la nivel local și sistemic [61,62].

Posibil că SAR este rezultatul efectelor acțiunii mai multor proteine PR, decât a unei singure proteine specifice. Totodată, rolul lor în stabilirea SAR nu este clar, deși genele PR servesc în calitate de markeri moleculari utili pentru depistarea SAR [16].

NON-EXPRESSOR OF PATHOGENESIS-RELATED1 (NPR1), de asemenea cunoscut ca NON-IMMUNITY1 (NIM) este reglatorul pozitiv central în semnalizarea SAR [14, 19, 42]. Proteina NPR1 conține repetarea ankirin și domeniul BTB/POZ [6], și funcționează dependent de AS. Acumularea de AS induce schimbări ale potențialului redox celular, declanșând reducerea NPR1 din oligomeri citozolici, ce au legături disulfurice în monomerii activi, care sunt transportați spre nucleu, unde interacționează cu factori de transcripție TGA [11, 43]. Interacțiunea respectivă stimulează legarea factorilor TGA cu elementele AS-răspunzătoare în promotorii genelor PR și reprogramarea transcripțională ulterioară, astfel contribuind la stabilirea SAR. Spre exemplu, expresia excesivă NPR1 în orez (sau ortologului acestei în orez – NH1) asigură rezistența sporită la bacteria fitopatogenă *Xanthomonas oryzae pv. oryzae*, ce denotă faptul că funcția NPR1 pare să fie conservată între plantele mono- și dicotiledonate [7]. Dintre factorii de transcripție TGA, anume TGA2, TGA5 și TGA6 joacă un rol important în inducerea SAR (Fig. 3) [16].

Rolul NPR1 nu este limitat numai la SAR, NPR1 reglează de asemenea interrelațiile în semnalizarea AS și AJ, funcționând ca un reglator-cheie în integrarea și declanșarea răspunsurilor sistemice dependente de natura patogenului. Semnalizarea în cadrul rezistenței sistemice induse (*ISR/Induced Systemic Resistance*) dependentă

de NPR1 nu necesită localizarea nucleară NPR1 activată de potențialul redox [56], astfel, AJ și AIA (acidul indolilacetic), fiind semnalul de inducere [57].

Alte ținte posibile ale NPR1 sunt factorii de transcripție WRKY, ce se leagă cu W-boxă ale genelor PR, precum ar fi regulatorul pozitiv a semnalizării AS – WRKY70 [28]. Totodată, țintele NPR1 pot fi regulatori negativi a semnalizării AS, precum *mitogen-activated protein (MAP) kinase 4 (MAPK4)*, ce reglează negativ răspunsul de apărare mediat de AS și pozitiv acela de AJ [50].

Nu toate răspunsurile mediate de SAR sunt dependente de NPR1. Factorul de transcripție *Whirly (AtWHY1)* de la *Arabidopsis* funcționează în calitate de factor dependent de AS și independent de NPR1. AtWHY1 se leagă la PB-boxe, care sunt supra-reprezentate în transcripți asociati cu inductorul SAR [12, 33]. Nu este clar de ce *AtWhy1* și *AtWhy2* sunt localizate în cloroplaste și mitocondrii [27], ce necesită studii ulterioare.

Se consideră că semnalul mobil al SAR derivă din metabolismul lipidelor și este de natură lipidică [53]. Elucidarea rolului fundamental al biosintezei lipidelor în SAR a fost reflectată datorita studiilor mutațiilor recesive *steroyl-acyl carrier protein desaturase* la *Arabidopsis ssi2 (suppressor of SA-insensitivity 2)* și supresorul *npr1-5* [25]. Plantele *ssi2* sunt incapabile să convertească acidul stearic în acid oleic. Acest deficit de oleat activează moartea celulelor spontană și duce la reacția SAR constitutivă și la o susceptibilitate sporită la patogenul necrotrof *Botrytis cinerea* [45, 54].

Spre deosebire de acestea, activitatea supresorului *ssi2 – sfd1 (suppressor of fatty acid desaturase 1)* este compromisă în SAR, și multe dintre defectele de creștere a plantelor asociate cu *ssi2* sunt atenuate [44, 46]. SFD1 codifică dihidroxiaceton fosfat reductaza, care formează scheletul din glicerol-3-fosfat al glicerolipidelor. Proteina SFD1 este necesară atât pentru acumularea AS după atacul patogenului la nivel local și la distanță, ca urmare rezistența bazală rămâne neafectată în mutații *sfd1*, sugerând că SFD1 funcționează în generarea, translocarea și/sau percepția unui semnal mobil SAR [21].

ENHANCED DISEASE SUSCEPTIBILITY 1 (EDS1), *PHYTOALEXIN DEFICIENT 4 (PAD4)* și *SENESCENCE-ASSOCIATED GENE 101 (SAG101)* sunt trei regulatori ai răspunsului de apărare, care au omologie cu acil-transferazele. EDS1, PAD4 și SAG101 interacționează direct în combinații diferite pentru dirijarea imunității bazale și a unor interacțiuni genă-pentru-genă [17, 37, 65]. EDS1 acționează în amonte de explozia oxidativă și este necesară pentru sinteza AS în fenotipurile *expressor of pathogenesis-related gene – scpr1* și *cpr6* cu SAR constitutivă. De asemenea, se presupune că EDS1 contribuie la stabilirea și păstrarea SAR. Blocarea creșterii bacteriilor indusă de SAR dispăre în cazul *background-ului eds1* și *pad4*, chiar și atunci când recunoașterea combinației AVR-R genă este independentă de EDS1 [21, 65].

Multe procese, ce contribuie la SAR sunt necesare în ambele cazuri de activare a mecanismelor locale și sistemice și contribuie la rezistența bazală. Acestea includ sinteza AS, modificări în starea redox și inducerea expresiei genelor de apărare. Recunoașterea patogenului invadator declanșează schimbări în țesutul local infectat, întrucât sistemic în organism acestea sunt induse de percepția semnalelor multiple. Există dovezi pentru *feedback* negativ și pozitiv al semnalizării AS și interrelațiile între diferite căi de semnalizare, ce complică înțelegerea răspunsului de apărare la plante. Rolul central

în răspunsul de apărare este asigurat de proteina NPR1, însă există numeroase rezultate care pun în evidență existența căii de semnalizare independente de NPR1, ce induce expresia genelor de apărare (Fig. 3) [16].

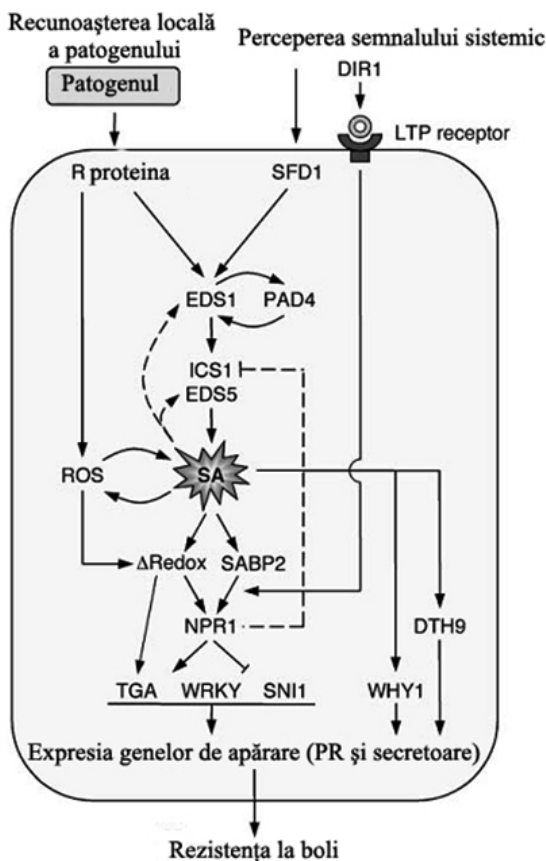


Fig. 3. Secvența de evenimente de la recunoașterea agentului patogen până la inducerea expresiei genelor de apărare [16].

Generalizînd cele expuse mai sus și informațiile din literatura de specialitate a fost elaborată ”Schema generală de clasificare a rezistenței la plante și mecanismelor implicate în asigurarea acestei” (Tabelul 1).

Tabelul 1. Schema generală de clasificare a rezistenței la plante și mecanismelor implicate în asigurarea acestei.

| Caracteristici | Rezistența | | | | | |
|--------------------|---------------------------------------|--|---|---|-----------------------|---------------------------|
| | Înnăscută | | | Dobândită | | |
| | Specifică | Nespecifică | | Locală | Sistemică | |
| | Genă-pentru-genă | Non-gazdă | Cantitativă/nespecifică | LAR | SAR | ISR |
| Natura patogenilor | Rasele specifice a diferitor patogeni | Patogeni nespecifici pentru gazda respectivă | Spectru larg de patogeni, preponderent necrotrofi | Patogeni de natură diferită, care provoacă RH | Preponderent biotrofi | Rizobacterii non-patogene |

| | | | | | | |
|--|---------------------------------------|--|---|--------------------------|--|---|
| Modul de recunoaștere a patogenului sau inducere a rezistenței | Interacțiunea R-Avr | Prin recunoașterea PAMP* de PRR* | Prin recunoașterea PAMP* de PRR* | Se induce la nivel local | Este indusă de infecția primară și RH, se instalează împotriva infecțiilor secundare | Se instalează împotriva infecțiilor secundare |
| Mecanismele principale | SRO, RH, fitoalexine compuși fenolici | RH, SRO | Fortificarea barierelor structurale, SRO, sinteza compușilor antimicrobieni, se realizează prin expresia QTL/QRL majore și minore | RH, SRO | Expresia proteinelor PR | Expresia proteinelor defensive diferite de PR – de ex. PDF1.2 |
| Elemente-cheie în semnalizare și răspuns | Produsul genelor R | Receptori PRR, SRO, activitatea MAPK, modificarea concentrației Ca ²⁺ citoplasmatic | Receptorii PRR* | AS | AS, NPR1, compuși de natura lipidică | AJ, Etilena, NPR1 |

*PAMP - Pathogen-associated molecular pattern, pattern-ul molecular asociat cu patogenul; PRR – pattern recognition receptors, receptori de recunoaștere a pattern-ului.

Concluzii

Datele privind rezistența plantelor la patogeni și interacțiunile gazdă-parazit crează o bază fundamentală pentru înțelegerea coexistenței organismelor respective. Plantelor le este caracteristică prezența unei game largi de mecanisme de recunoaștere și apărare față de patogeni, însă fitopatogenii au dezvoltat pe parcursul evoluției un set de proteine efectoriale, care supresează sistemul imunitar al gazdei. Deși există succese semnificative în cercetarea rezistenței plantelor la patogeni și interacțiunile în fitopatosisteme la nivel citologic, biochimic și genetic, înțelegerea coevoluției gazdă-parazit și rolul multor compuși importanți pentru răspunsul defensiv este limitată și necesită studii în continuare. O înțelegere mai bună a căilor de semnalizare asociate cu rezistența va duce cu siguranță la apariția noilor metode ecologice de protecție a culturilor agricole.

Cercetările au fost realizate în cadrul proiectului instituțional ” *Rezistența florii-soarelui (Helianthus annuus L.) la lupoaie (Orobanche cumana Wallr.): mecanisme genetico-moleculare și fiziologice* ”

Bibliografie

1. Abdalla M. M. F. and Hermsen J. O. Th. A two-loci system of gametophytic incompatibility in *Solanum phureja* and *S. stenotomum*. //Euphytica, 1971, vol. 20, p. 345-350.
2. Baker B., Zambryski P., Staskawicz B. and Dinesh-Kumar S.P. Signaling in plant-microbe interactions. //Science, 1997, vol. 276, p. 726-733.

3. Beckers G.J. and Spoel S.H. Fine-tuning plant defence signalling: salicylate versus jasmonate. //Plant Biol. (Stuttg), 2006, vol. 8, p. 1–10.
4. Bonas U. and Lahaye T. Plant disease resistance triggered by pathogen-derived molecules: refined models of specific recognition. //Curr. Opin. Microbiol., 2002, vol. 5, p. 44–50.
5. Brueggeman R., Rostoks N., Kudrna D. et al. The barley stem rust-resistance gene Rpg1 is a novel disease-resistance gene with homology to receptor kinases. //Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2002, vol. 99, p. 9328–9333
6. Cao H., Glazebrook J., Clarke J.D. et al. The Arabidopsis NPR1 gene that controls systemic acquired resistance encodes a novel protein containing ankyrin repeats. //Cell, 1997, vol. 88, p. 57–63.
7. Chern M., Fitzgerald H.A., Canlas P.E. et al. Overexpression of a rice NPR1 homolog leads to constitutive activation of defense response and hypersensitivity to light. //Mol Plant Microbe Interact, 2005, vol. 18, p. 511–520.
8. Cipollini D., Purrington C.B. and Bergelson J. Costs of induced responses in plants. //Basic Appl. Ecol., 2003, vol. 4, p. 79–89.
9. Cohn J., Sessa G., Martin G.B. Innate immunity in plants. //Curr. Opin. Immunol., 2001, vol. 13, p. 55–62.
10. Dangl J. L. and Jones J. D. G. Plant pathogens and integrated defence responses to infection. //Nature, 2001, vol. 411, p. 826–833.
11. Despres C., Chubak C., Rochon A. et al. The Arabidopsis NPR1 disease resistance protein is a novel cofactor that confers redox regulation of DNA binding activity to the basic domain/leucine zipper transcription factor TGA1. //Plant Cell, 2003, vol. 15, p. 2181–2191.
12. Desveaux D., Subramaniam R., Despres C. et al. A ‘whirly’ transcription factor is required for salicylic acid-dependent disease resistance in *Arabidopsis*. //Dev Cell, 2004, vol. 6, p. 229–240.
13. Dixon M.S., Jones D.A., Keddle J.S. et al. The tomato Cf-2 disease resistance locus comprises two functional genes encoding leucine-rich repeat proteins. //Cell, 1996, vol. 84, p. 451–459.
14. Dong X. NPR1, all things considered. //Curr Opin Plant Biol, 2004, vol. 7, p. 547–552.
15. Doods P.N., Lawrence G.J., Catanzart I.A.M. et al. Direct protein interaction underlies gene-for gene specificity and coevolution of the flax resistance genes and flax rust avirulence genes. //Proc Nat Acad Sci USA, 2006, vol. 103, p. 8888–8893.
16. Durrant W.E., Dong X. Systemic acquired resistance. //Annu Rev Phytopathol, 2004, vol. 42, p. 185–209.
17. Feys B.J., Wiermer M., Bhat R.A. et al. Arabidopsis SENESCENCE-ASSOCIATED GENE101 stabilizes and signals within an enhanced disease susceptibility 1 complex in plant innate immunity. //Plant Cell, 2005, vol. 17, p. 2601–2613.
18. Flor H. The current status of the gene-for-gene concept. //Annu Rev Phytopathol, 1971, vol. 9, p. 275–296.
19. Fobert P.R., Despres C. Redox control of systemic acquired resistance. //Curr Opin Plant Biol, 2005, vol. 8, p. 378–382.
20. Gomez-Gomez L., Boller T. FLS2: an LRR receptor-like kinase involved in the perception of the bacterial elicitor flagellin in *Arabidopsis*. //Mol. Cell, 2000, vol. 5, p. 1003–1011.
21. Grant M. and Lamb C. Systemic immunity. //Current Opinion in Plant Biology, 2006, vol. 9, p. 414–420.
22. Halterman D., Zhou F., Wei F. et al. The MLA6 coiled-coil, NBS-LRR protein confers AvrMla6-dependent resistance specificity to *Blumeria graminis f. sp. hordei* in barley and wheat. //Plant J., 2001, vol. 25, p. 335–348.
23. Jia Y.L., Sean A.M., Gregory T.B. et al. Direct interaction of resistance gene and avirulence gene products confers rice blast resistance. //EMBO J, 2000, vol. 19, p. 4004–4014.

24. Jones J.D.G., Dangl J.L. The plant immune system. //Nature, 2006, vol. 444, p. 323–329.
25. Kachroo P., Shanklin J., Shah J. et al. A fatty acid desaturase modulates the activation of defense signaling pathways in plants. //Proc Natl Acad Sci USA, 2001, vol. 98, p. 9448–9453.
26. Keen N. Mechanisms of Pest Resistance in Plants. //Proceedings of Workshop on Ecological Effects of Pest Resistance Genes in Managed Ecosystems, Bethesda, 1999.
27. Krause K., Kilbiński I., Mulisch M. et al. DNA-binding proteins of the Whirly family in *Arabidopsis thaliana* are targeted to the organelles. //FEBS Lett, 2005, vol. 579, p. 3707–3712.
28. Li J., Brader G., Palva E.T. The WRKY70 transcription factor: a node of convergence for jasmonate-mediated and salicylate-mediated signals in plant defense. //Plant Cell, 2004, vol. 16, p. 319–331.
29. Liu J., Liu X., Dai L. et al. Recent progress in elucidating the structure, function and evolution of disease resistance genes in plants. //J Genet Genomics, 2007, vol. 34(9), p. 765–776.
30. Mackey D., Belkhair Y., Alonso J.M. et al. *Arabidopsis* RIN4 is a target of the type III virulence effector AvrRpt2 and modulates RPS2-mediated resistance. //Cell, 2003, vol. 112, p. 379–389.
31. Mackey D., Holt B.F. III, Wiig A. et al. RIN4 interacts with *Pseudomonas syringae* type III effector molecules and is required for RPM1-mediated resistance in *Arabidopsis*. //Cell, 2002, vol. 108, p. 743–754.
32. Maleck K. and Dietrich R.A. Defense on multiple fronts: how do plants cope with diverse enemies? //Trends Plant Sci, 1999, vol. 4, p. 215–219.
33. Maleck K., Levine A., Eulgem T. et al. The transcriptome of *Arabidopsis thaliana* during systemic acquired resistance. //Nat Genet, 2000, vol. 26, p. 403–410.
34. Martin G.B. Functional analysis of plant disease resistance genes and their downstream effectors. //Curr. Opin. Plant Biol., 1999, vol. 2, p. 273–279.
35. Martin G.B., Bogdanove A.J. and Sessa G. Understanding the functions of plant disease resistance proteins. //Annu. Rev. Plant Biol., 2003, vol. 54, p. 23–61.
36. Martin G.B., Brommonschenkel S.H., Chunwongse J. et al. Map-based cloning of a protein kinase gene conferring disease resistance in tomato. //Science, 1993, vol. 262, p. 1432–1436.
37. Matthews B.F., Beard H., Brewer E. et al. *Arabidopsis* genes, AtNPR1, AtTGA2 and AtPR-5, confer partial resistance to soybean cyst nematode (*Heterodera glycines*) when overexpressed in transgenic soybean roots. //BMC Plant Biology, 2014, vol. 14:96.
38. Meyers B.C., Dickerman A.W., Michelmore R.W. et al. Plant disease resistance genes encode members of an ancient and diverse protein family within the nucleotide-binding superfamily. //Plant J., 1999, vol. 20, p. 317–332.
39. Michelmore R.W., Meyers B.C. Clusters of resistance genes in plants evolve by divergent selection and a birth-and-death process. //Genome Res., 1998, vol. 8, p. 1113–1130.
40. Montesano M., Brader G. and Palva E.T. Pathogen derived elicitors: searching for receptors in plants. //Mol. Plant Pathol., 2003, vol. 4, p. 73–79.
41. Montesinos E. Pathogenic plant–microbe interactions. What we know and how we benefit. //Int. Microbiol., 2000, vol. 3, p. 69–70.
42. Moreau M., Tian M., Klessig D.F. Salicylic acid binds NPR3 and NPR4 to regulate NPR1-dependent defense responses. //Cell Research, 2012, vol. 22, p. 1631–1633.
43. Mou Z., Fan W., Dong X. Inducers of plant systemic acquired resistance regulate NPR1 function through redox changes. //Cell, 2003, vol. 113, p. 935–944.
44. Nandi A., Krothapalli K., Buseman C.M. et al. *Arabidopsis* sfd mutants affect plastidic

lipid composition and suppress dwarfing, cell death, and the enhanced disease resistance phenotypes resulting from the deficiency of a fatty acid desaturase. //Plant Cell, 2003, vol. 15, p. 2383-2398.

45. Nandi A., Moeder W., Kachroo P. et al. *Arabidopsis* ssi2-conferred susceptibility to *Botrytis cinerea* is dependent on EDS5 and PAD4. //Mol Plant Microbe Interact, 2005, vol. 18, p. 363-370.

46. Nandi A., Welti R., Shah J. The *Arabidopsis thaliana* dihydroxyacetone phosphate reductase gene SUPPRESSOR OF FATTY ACID DESATURASE DEFICIENCY1 is required for glycerolipid metabolism and for the activation of systemic acquired resistance. //Plant Cell, 2004, vol. 16, p. 465-477.

47. Niu D.D., Liu H.X., Jiang C.H., et al. The Plant Growth-Promoting Rhizobacterium *Bacillus cereus* AR156 Induces Systemic Resistance in *Arabidopsis thaliana* by Simultaneously Activating Salicylate- and Jasmonate/Ethylene-Dependent Signaling Pathways. //MPMI, 2011, vol. 24(5), p. 533-542.

48. Pan Q., Wendel J., Fluhr R. Divergent evolution of plant NBS-LRR resistance gene homologues in dicot and cereal genomes. //J. Mol. Evol., 2000, vol. 50, p. 203-213.

49. Perez I.B. and Brown P.J. The role of ROS signaling in cross-tolerance: from model to crop. //Front. Plant Sci, 2014, vol. 5:754, doi:10.3389/fpls.2014.00754

50. Petersen M., Brodersen P., Naested H. et al. *Arabidopsis* map kinase 4 negatively regulates systemic acquired resistance. //Cell, 2000, vol. 103, p. 1111-1120.

51. Reignault P, Sancholle M. Plant-pathogen interactions: will the understanding of common mechanisms lead to the unification of concepts? //C. R. Biologies, 2005, vol. 328, p. 821-833.

52. Ryals J.A., Neuenschwander U.H., Willits M.G. et al. Systemic acquired resistance. // Plant Cell, 1996, vol. 8, p. 1809-1819.

53. Shah J. Lipids, lipases, and lipid-modifying enzymes in plant disease resistance. // Annu Rev Phytopathol, 2005, vol. 43, p. 229-260.

54. Shah J., Kachroo P., Nandi A. et al. A recessive mutation in the *Arabidopsis* SSI2 gene confers SA- and NPR1-independent expression of PR genes and resistance against bacterial and oomycete pathogens. //Plant J, 2001, vol. 25, p. 563-574.

55. Somssich I.E. Closing another gap in the plant SAR puzzle. //Cell, 2003, vol. 113, p. 815-816.

56. Spoel S.H., Koornneef A., Claessens S.M. et al. NPR1 modulates cross-talk between salicylate- and jasmonate-dependent defense pathways through a novel function in the cytosol. //Plant Cell, 2003, vol. 15, p. 760-770.

57. Staswick P.E., Tiryaki I. The oxylipin signal jasmonic acid is activated by an enzyme that conjugates it to isoleucine in *Arabidopsis*. //Plant Cell, 2004, vol. 16, p. 2117-2127.

58. Van der Biezen E.A., Jones J.D.G. Plant disease-resistance proteins and the gene for gene concept. //Trends Biochem Sci, 1998, vol. 23, p. 454-456.

59. Van der Hoorn RAL, De Wit PJGM, Joosten MHAJ. Balancing selection favors guarding resistance proteins. //Trends Plant Sci, 2002, vol. 7, p. 67-71.

60. Van der Plank J. E. Disease resistance in plants. //Academic Press, 1968. 206 p.

61. Van Loon L.C. Pathogenesis-related proteins. //Plant. Mol. Biol., 1985, vol. 4, p. 111-116.

62. Van Loon L.C., Rep M. and Pieterse C.M. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. //Annu. Rev. Phytopathol., 2006, vol. 44, p. 135-162.

63. Van Ooijen G., van den Burg H.A., Cornelissen B.J. et al. Structure and function of resistance proteins in solanaceous plants. //Annu Rev Phytopathol., 2007, vol. 45, p. 43-72.

64. Vrânceanu A. Floarea-soarelui hibridă. //București: Ceres, 2000. 520 p.

65. Wiermer M., Feys B.J., Parker J.E. Plant immunity: the EDS1 regulatory node. //Curr

Opin Plant Biol, 2005, vol. 8, p. 383-389.

66. Winter P.S., Bowman C.E., Villani P.J. et al. Systemic Acquired Resistance in Moss: Further Evidence for Conserved Defense Mechanisms in Plants. //PLoS ONE, 2014, vol. 9(7), e101880. doi:10.1371/journal.pone.0101880

67. Zangerl A.R. Evolution of induced plant responses to herbivores. //Bas. Appl. Ecol. 2003, vol. 4, p. 91–103.

68. Zhou F., Kurth J., Wei F. et al. Cell-autonomous expression of barley Mla1 confers race-specific resistance to the powdery mildew fungus via a Rar1-independent signaling pathway. // Plant Cell, 2001, vol. 13, p. 337–350.