

<https://doi.org/10.15407/frg2024.04.279>  
УДК 581.2+579.2:578:632.3:57.05

## КЛІТИННІ, ФІЗИОЛОГО-БІОХІМІЧНІ І МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧНІ МЕХАНІЗМИ ВЗАЄМОДІЇ РОСЛИН І ЗБУДНИКІВ ХВОРОБ РІЗНИХ ТАКСОНОМІЧНИХ ГРУП

Г.Б. ГУЛЯЄВА

*Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного Національної академії наук України  
03143 Київ, вул. Академіка Заболотного, 154  
e-mail: ab\_k@ukr.net*

В огляді висвітлено сучасний стан і перспективи досліджень взаємодії у патосистемі між рослинами і збудниками хвороб різних таксономічних груп (бактерій, фітоплазм і вірусів) на клітинному, фізіолого-біохімічному, молекулярно-генетичному рівнях. Придлено увагу особливостям і механізмам дії найпоширеніших факторів вірулентності цих збудників, а саме: систем секреції та ефекторних білків, що ними секретуються (у фітопатогенних бактерій і фітоплазм), фітотоксинів (у фітопатогенних бактерій). Показано, що на відміну від бактерій і фітоплазм, для транспортування у хлоропласт нуклеїнових кислот та ефекторних протеїнів різні віруси не мають однієї стратегії. Загалом вважається, що націленість на хлоропласт і його пошкодження є одним із ключових кроків успішного як бактеріального, так і вірусного зараження. Доказом цього є знайдені у бактерій, вірусів та інших патогенів ефекторні протеїни з N-термінальними доменами локалізації хлоропласта, завдяки яким ці протеїни транспортуються всередину органели, спричинюючи структурні й функціональні зміни. Невирішеним питанням в цьому напрямі залишається: чи є хлоропласти мішенями для ефекторних протеїнів фітоплазм, або вони пошкоджуються внаслідок перепрограмування рослинного метаболізму спричиненого транслокацією їх ефекторів у ядро. Розглянуто порушення метаболізму рослин на різних рівнях організації через інфекційний вплив зазначених патогенів. Коротко розглянуто особливості рослинних захисних механізмів індукованої імунної відповіді, які активуються у разі проникнення патогенів. У зв'язку із цим обговорюється регуляторна функція фітогормонів та інших сигнальних молекул ( $H_2O_2$ , NO, іонів  $Ca^{2+}$ ) в ініціації захисних механізмів. Придлена увага стратегіям фітопатогенів для втручання у метаболізм рослини-хазяїна й інгібування імунітету, однією із яких є молекулярна мімікрія (наприклад, функціональні аналоги сигнальних молекул). Такі дослідження актуальні для розробки нових підходів захисту рослин проти широкого спектра фітопатогенів, зокрема з метою створення стратегій захисту хлоропластів від проникнення та подальшого інгібування імунної відповіді ефекторними протеїнами. З огляду на це описано дослідження регуляторних механізмів найпоширенішої у бактерій системи секреції III (T3SS) і відкриття групи сполук різної природи, які інгібують цю систему. Розглянуто модель, яка передбачає використання системи T3SS як мішені для інгібування бактеріального патогенезу. Важливим

Цитування: Гуляєва Г.Б. Клітинні, фізіолого-біохімічні і молекулярно-генетичні механізми взаємодії рослин і збудників хвороб різних таксономічних груп. *Фізіологія рослин і генетика*. 2024. 56, № 4. С. 279–310. <https://doi.org/10.15407/frg2024.04.279>

у цьому сенсі також є поглиблене дослідження регуляторних систем, локалізації, транспортних механізмів і молекулярних мішеней факторів вірулентності фітопатогенів різних таксономічних груп. Проте питання створення захисних моделей нового покоління на основі результатів лабораторних досліджень залишається відкритим, оскільки для оцінки їх ефективності необхідна перевірка та апробація у польових умовах. Такі дослідження стають дедалі актуальнішими у зв'язку з відсутністю ефективних засобів боротьби з фітопатогенами різних таксономічних груп, а також на противагу хімічним засобам захисту, які можуть спричинювати мутаційну мінливість фітопатогенних мікроорганізмів.

**Ключові слова:** бактерії, фітоплазми, віруси, рослина-хазяїн, хлоропласт, фітоімунітет, фітогормони, системи секретії, вірулентність.

В природному середовищі рослини знаходяться під постійним впливом великої кількості стресових чинників біотичної і абіотичної природи, у тому числі інфікування фітопатогенними збудниками різних таксономічних груп, наслідком дії яких є істотне зниження продуктивності та якості врожаю культурних рослин [1–5]. Загалом, фізіологічні зміни, яких зазнають рослини під час абіотичного стресу, роблять їх сприйнятливішими до біотичного стресу. Наприклад, тривала посуха послаблює розвиток і підвищує вразливість до атак патогенів. Виявлено, що певні бактерії можуть розвиватися в несприятливих для рослин абіотичних умовах. Зокрема повідомлялось про утворення біоплівки в ґрунтах із високим вмістом солі, що підвищує життєздатність клітин патогенних бактерій і, отже, імовірність захворювання рослин [2, 6].

Як відомо, на основі стратегій взаємодії з рослинами мікроорганізми поділяють на некротрофи (видобувають поживні речовини з рослин, вбиваючи її), біотрофи — колонізують клітини рослин-хазяїв, маніпулюють їхніми фізіологічними процесами та витягують воду і поживні речовини з живих клітин, а також гемібіотрофи — спочатку діють як біотрофи, але пізніше — як некротрофи [7, 8]. Попри те упродовж еволюції в рослинному організмі сформувалися складні регуляторні захисні системи фітоімунітету для розпізнавання і реакції на вплив стресових чинників на клітинному, фізіолого-біохімічному і молекулярно-генетичному рівнях (регуляція експресії генів внаслідок реакції на стрес) [3, 9–11].

Вважається, що надважливу роль у захисті від збудників хвороб за взаємодії рослина-хазяїн—фітопатоген (включно бактерії, віруси, гриби та ооміцети) відіграють хлоропласти [8, 9, 11, 12]. Відомо, що основною функцією хлоропластів є фотосинтетична. Водночас іншою важливою функцією цих органел є активація захисних реакцій рослин, оскільки хлоропласти здійснюють ретроградну передачу сигналів до ядра, ініціюють сигнальний каскад, що спричинює експресію генів захисних сполук, а також є місцем синтезу захисних гормонів і їх попередників та джерелом вторинних месенджерів, залучених у гормональну систему передачі сигналів [11]. Існує гіпотеза, що в процесі еволюції фітопатогени різних таксономічних груп виробили загальний механізм блокування захисних реакцій, ініційо-

ваних хлоропластами. Так, у праці [11] зроблене припущення, що в рослинах існує залежний від релокалізації захисних білків шлях, який фізично зв'язує плазматичну мембрану (ПМ) і хлоропласти та регулює захист, і що цей шлях був кооптований патогенами під час еволюції для інгібування захисних реакцій, пов'язаних із саліциловою кислотою (СК), і сприяння вірулентності. На підтвердження цього, в еволюційно не пов'язаних патогенів (ДНК/РНК-вірусів і бактерій) виявлено кодування ефекторних білків, зокрема С4 білка з двома субклітинними сигнальними доменами локалізації — мотивом N-міристоїлювання та N-термінальним сигнальним доменом хлоропласта [11–15].

Відомо, що багато кодованих хлоропластом генів, які беруть участь у фотосинтезі, експресуються власними трансляційними механізмами. Однак для транспортування великої кількості білків, пов'язаних із хлоропластами, які кодуються в ядерному геномі й транскрибуються в цитоплазмі, розвинувся складний механізм пост-трансляційного імпорту більшості внутрішніх білків пластид, що містять N-термінальний сигнальний домен, завдяки якому синтезовані білки транспортуються всередину органели, за цільовим призначенням, що надається відповідним доменом [9]. Транспортування білка крізь мембрану відбувається за взаємодії його N-термінального домену з компонентами комплексів Тос і Тіс, відповідно розташованих на зовнішній і внутрішній поверхні хлоропластів. До них належать представники родини Тос159, Тос33/Тос34, Тос75 і Тіс20, N-термінальні домени яких демонструють певний ступінь подібності у своєму амінокислотному складі, включно більший вміст Ala, Gly та гідроксильованих амінокислот Ser і Thr, а також відсутність кислих амінокислот. Передбачається існування двох груп N-термінальних доменів сортування: Тос159-залежні та Тос159-незалежні [16]. Система імпорту білка протеолітично регулюється убіквітин-протеасомною системою (УПС), що забезпечує централізований контроль над органелярним протеомом. Вбудований в мембрану хлоропласта апарат Тос-Тіс опосередковує імпорт і транслокацію білка, що забезпечується руховими комплексами, керованими АТФ, на мембрані внутрішньої оболонки. Після надходження в строму N-термінальний домен сортування протеолітично видаляється стромальною процесинговою пептидазою. Надалі імпортований білок може прийняти свою остаточну згорнуту конформацію або бути доставленим до одного з кількох суборганелярних пунктів призначення [17]. У праці [16] встановлено, що найкритичнішими амінокислотами, які забезпечували Тос159-залежний імпорт білка в хлоропласти, були залишки Ser в N-термінальному 12-амінокислотному домені RbcS. Показано, що заміна цих Sers на Thrs у гібридному N-термінальному домені RbcS12/E1  $\alpha$ -tp *Arabidopsis thaliana* скасувала Тос159-залежний імпорт білка в хлоропласти, таким чином чітко демонструючи, що залишки Ser у N-термінальному 12-амінокислотному домені RbcS-tp є сигналом для Тос159-залежного імпорту білка в хлоропласти [16].

Відомо [14] про наявність двох сигнальних доменів, що перекриваються: ділянка N-міристоїлювання (для зв'язування з плазматичною мембраною (ПМ)) і N-термінальний сигнальний транспортний

домен хлоропласта або транспортний пептид хлоропласта (сТР) для локалізації у хлоропласті, що містяться у білку С4 гемінівірусу *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV) [14]. Встановлено роль білка АС4 в інфекційності вірусу, що, як виявилось, залежить від закодованого мотиву N-міристоїлювання, який опосередковує зв'язування з клітинною мембраною [18]. За деякими даними, білок АС4, який кодується деякими гемінівірусами, бере участь у патогенезі [19]. Цей білок переважно зв'язується з ПМ, а також з цитозольними мембранами, включно перинуклеус, має кодований консенсусний мотив N-міристоїлювання й пригнічує специфічний захисний протівірусний механізм мовчання РНК [19].

Важливо, що співіснування обох сигнальних доменів також можна знайти в наборі рослинних білків, багато з яких мають з'ясовану роль у регуляції захисних реакцій [11]. Варто відзначити, що N-міристоїлювання є незворотним ковалентним ліпидуванням білка, що відповідає необоротному зв'язку ліпиду міристату (С:14) з N-термінальним гліцином у деяких білків. Найвідомішою роллю цієї модифікації є спрямування модифікованого білка на мембрану, де він відіграє вирішальну роль у шляхах передачі сигналу, бере участь у важливих метаболічних шляхах рослин, що приводять до специфічного імунітету [20, 21]. Припускається, що N-міристоїлювання може відповідати еволюційному механізму, який має місце у геномах рослин і дає змогу покращити їх акліматизацію [20].

У праці [11] проведено скринінг з використанням протеомів помідорів, рису, арабідопсису та встановлено білки, які містять обидва зазначені вище сигнали локалізації (мотив N-міристоїлювання та сТР). Також автори встановили, що С4 зміщує свою локалізацію з ПМ на хлоропласти після активації захисту асоційованим з реплікацією вірусним білком (Rep) або екзогенною обробкою бактеріальним елісаторним пептидом flg22 чи рослинним пептидом Pep1. Завдяки цим сигнальним доменам, С4 потрапляє всередину органели і асоціюється з тилакоїдним трансмембранним кальційзв'язувальним білком (CAS) (цей білок необхідний для РІ-індукованого перепрограмування транскрипції, біосинтезу СК, відкладення калози й антибактеріальної та протигрибної стійкості, ретроградної передачі сигналів). Виявлено, що експресія цього вірусного білка призводить до інгібування CAS-залежних імунних відповідей та СК-сигналіну й спричинює накопичення вірусів [11].

Слід також наголосити, що важливу функцію для підтримання рослинного метаболізму мають вуглеводи, які синтезуються в процесі фотосинтезу, та інші продукти фотосинтетичних реакцій (АТФ і НАДФН, інколи  $O_2$ ), оскільки вони слугують попередниками для синтезу важливих для підвищення фітостійкості речовин: первинних метаболітів (амінокислоти, жирні кислоти), фітогормонів (абсцизова кислота (АБК), саліцилова кислота (СК), жасмонова кислота (ЖаК), етилен (ЕТ)), антимікробних сполук (зокрема камалексину), полімерів клітинної стінки (калози, лігніну) [10, 12, 22]. Помітну регуляторну роль у захисних реакціях рослин також відіграє фотодихання, оскільки воно впливає на генерацію АФК у пероксисомах, де окиснення гліколату може спричинювати вивільнення великої кількості

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> [23]. На противагу цьому, фітопатогени виробляють націлені на хлоропласти ефектори та фітотоксини, які модифікують функції хлоропласта, порушуючи перебіг фотосинтетичних процесів [10, 12].

Метою огляду був аналіз клітинних, фізіолого-біохімічних і молекулярно-генетичних механізмів взаємодії рослин і збудників хвороб різних таксономічних груп для виявлення їх спільних особливостей та окреслення можливих стратегій розробки нових технологій захисту сільськогосподарських культур.

#### **Механізми бактеріальної вірулентності та захисних реакцій рослин.**

Бактерії можуть певний час існувати як епіфіти на поверхні рослин і здатні проникати в рослину-хазяїна різними способами, задіюючи хемотаксис. Бактеріальні збудники поширюються із зараженим насінням, трансплантатами, бульбами, комахами-переносниками, технікою, вітром, водою, бур'янами та стернею [2]. За природного зараження *Pseudomonas syringae* спочатку колонізує поверхню листка, утворюючи агрегати з точками ініціації на стиках клітин зовнішнього епідермісу для доставки ефекторних білків безпосередньо у поверхневі клітини та крізь апопласт всередину листка [25]. Проте частіше за все *P. syringae* інфікують рослини через природні отвори. Під час інвазії бактерії використовують комбінацію різних факторів вірулентності, таких як ефекторні білки типу III (ТЗЕ) і фітотоксини, для інгібування захисних сигналів хазяїна та сприяння патогенності [10, 26, 27].

**Бактеріальні системи секреції.** Система секреції типу III (ТЗСС) є найрозповсюдженішою у бактеріальних збудників різних видів. Так, ефекторні протеїни системи секреції ТЗСС знайдені в плазматичній мембрані багатьох грамнегативних бактерій, таких як *Pseudomonas syringae*, *Dickeya dadantii*, *Xanthomonas campestris*, *Ralstonia solanacearum* і *Erwinia spp.*, та можуть викликати реакцію гіперчутливості (РН) у стійких рослин і патогенез у чутливих. ТЗСС мають складний механізм «ін'єктосом», що кодується генами *hrp* [2, 25, 28]. Ін'єктосоми ТЗСС містять майже 20 різних білків і здатні виділяти багато ефекторних білків через транслокаційну пору в мембрані клітини-хазяїна. Ін'єктосоми складаються із внутрішнього та зовнішнього мембранних кілець, відомих як базальне тіло, і механізму, який дозволяє бактеріям вводити безпосередньо в цитоплазму клітини-хазяїна різноманітні ефекторні білки, які регулюють функції клітини-хазяїна, сприяючи бактеріальному патогенезу [23]. Ефектори секретуються у розгорнутій конформації за допомогою спільного одноетапного механізму секреції, керованого АТФ і протонною рушійною силою, що включає N-термінальні сигнальні домени, а часто також шаперонзв'язувальні домени. Завдяки сигнальним доменам, ефекторні білки через експортний механізм, де вони розгортаються, спрямовуються до каналу виділення, що складається з трансмембранних доменів, компонентів видільної системи та спіральної голчастої нитки з гідрофільним білком-транслокатором SctA, який закінчується пентамерним комплексом, що забезпечує контакт із клітиною-хазяїном. Сама секреція приводиться в рух протонною рушійною силою через внутрішню мембрану бактерії [2, 25, 29]. За допомогою ТЗСС, фітопатогенні бактерії вводять молекули ефекторів (зазвичай

ферменти з протеолітичною активністю) у клітину-хазяїна, які маніпулюють клітинною активністю на користь патогену та інгібують імунну відповідь [29, 30].

Попри те, що Т3SS є найрозповсюдженішою, у бактеріальних збудників різних видів налічується до дев'яти різних видів секреції (Т1SS — Т9SS), які беруть участь у вірулентності, імунних відповідях, специфічності до хазяїна, отриманні поживних речовин і змінах у фізіології та функціях клітин й відрізняються за структурою, функціями та специфікою [2, 31]. Системи секреції типу I (Т1SS), які включають АВС (трансмембранний) транспортер, забезпечують транспорт поліпептидів, таких як металопротеази, ліпази та токсини (у *Dickeya spp.* і *Pectobacterium spp.*) [2]. Системи секреції типу II (Т2SS), які є транслокаторами гідролітичних ферментів, токсинів тощо, використовують цитоплазматичну АТФазу (у *Pectobacterium spp.*, *Xanthomonas campestris* і *X. axonopodis* pv. *citri*) [2]. Системи секреції типу IV (Т4SS) кодується хромосомами або плазмідами та транспортують фактори вірулентності, білки та нуклеїнові кислоти, їх механізм функціонування недостатньо відомий (у *Agrobacterium tumefaciens*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* та *Xanthomonas spp.*) [2]. Системи секреції типу V (Т5SS) — складаються з білків-автотранспортерів, які беруть участь у прикріпленні до поверхні хазяїна, колонізації, інвазії та утворенні біоплівки (у *Xanthomonas spp.*) [2]. Системи секреції типу VI (Т6SS) всередині цитоплазматичної мембрани транспортують молекули шляхом перфорації, подібно до механізму бактеріофагів (*Xanthomonas spp.*, *P. syringae* і *R. solanacearum*) [2]. Механізм функціонування систем секреції VII типу (Т7SS) мало вивчений (описані у деяких грамположитивних бактерій) [2]. Системи секреції типу VIII (Т8SS) складаються з волокнистих структур та відповідають за адгезію, секрецію, агрегацію та утворення біоплівки, іноді пов'язані з колонізацією, транспортують амлідогенні білки (знайдені у *E. coli*, але не у фітопатогенних бактерій) [2]. Системи секреції типу IX (Т9SS), описані у грамнегативних бактерій, транспортують молекули через мембрану та асоціюються з адгезинами [2].

**Фітотоксини.** Фітотоксини (Фт) є вторинними метаболітами, токсичними для рослин, і ще одним фактором вірулентності [10, 32]. Відомо, що Фт діють в надмалих концентраціях і здатні інгібувати критичні точки метаболізму хазяїна. Фт можуть мати кілька мішеней з одним каталітичним реакційним центром, а також взаємодіяти з різними сайтами зв'язування [32]. Патогени рослин зазвичай синтезують не одну сполуку з фітотоксичними властивостями, а радше сімейство споріднених сполук, які відрізняються за своєю токсичністю [33]. Виявлено, що різні роди бактерій виробляють однакові або схожі Фт, зокрема коронатин (КОР) і його аналоги синтезуються бактеріями роду *Pseudomonas*, а також *Xanthomonas campestris* pv. *phormiicola* [33].

Основними напрямками дії токсинів є інгібування ферментів, вплив на властивості мембран і захисні реакції [33]. Так, таботоксин викликає необоротне інгібування глутамінсинтетази, спричинюючи накопичення аміаку в тканинах і хлороз [33]. Фазеолотоксин є трипептидом, який складається з гомоаргініну, аланіну та N6-(N1-суль-

фодіамінофосфінілу)-L-орнітину (PSom) [33]. Він є потужним і оборотним інгібітором орнітинтранскарбамоїлази (ОКТази), ферменту, який каталізує синтез цитруліну з орнітину та карбамоїлфосфату. У рослин цей токсин атакує пептидази з вивільненням PSom, що викликає інгібування ОКТази. Це призводить до блокування синтезу амінокислоти Arg через інгібування синтезу попередника — цитруліну, що спричинює зниження накопичення білка і хлороз [33]. Мішенню Фт сириноміцину є мембрани, він викликає швидкий некроз рослинних тканин, утворюючи пори всередині ПМ, проникні для катіонів (наприклад,  $K^+$ ,  $H^+$  і  $Ca^{2+}$ ). Наномолярні кількості сириноміцину достатні щоб викликати втрату цілісності мембрани та загибель клітин [34]. Фт тагетитоксин з *P. syringae* інгібує РНК-полімераза пластид, що призводить до хлоротичності [34]. Фт коронатин (КОР) спричинює інгібування захисних реакцій рослини-хазяїна [34]. КОР виробляється кількома патоварами *P. syringae* і складається з коронафацієвої кислоти, аналога метилжасмонової кислоти (МеЖаК), і коронамової кислоти, яка нагадує 1-аміноциклопропан-1-карбонову кислоту — попередник етилену. Виявлено, що КОР регулює 35 % МеЖаК-індукованих генів [35]. У праці [35] встановлено, що інтактна молекула КОР впливає на передачу сигналів у томатах через шляхи ЖаК, етилену та ауксину; КОР і МеЖаК мають подібні, але не ідентичні дії та впливають на численні фітогормональні шляхи. КОР знижує регуляцію великої кількості генів, які належать до метаболізму хлоропластів (наприклад, гени, що кодують білки, які зв'язують хлорофіл, NADPH-протохлорофілідоксидоредуктазу, білки тилакоїдного матриксу). З огляду на це зроблено припущення, що коронатин (КОР) може транслокуватися в хлоропласт, прикріплюючись до асоційованих з хлоропластами білків, й опосередковувати сигналінг генів, чутливих до МеЖаК/КОР [10, 35].

Варто відзначити, що знання шляхів біосинтезу цих токсинів і клонування структурних генів для їх біосинтезу є актуальним для розробки нових біоактивних сполук зі зміненою специфічністю, а специфічні гени в біосинтетичних шляхах Фт *P. syringae* можуть бути використані для розробки нових сполук, зокрема гербіцидів із широким спектром дії [32]. Також дослідження локалізації генів стійкості до Фт важливе у генній інженерії для створення стійких ліній рослин-хазяїв.

**Механізми бактеріальної вірулентності.** Після інвазії бактеріальні патогени використовують комбінацію різних факторів вірулентності, зокрема ефекторні білки типу III (ТЗЕ) і Фт, щоб інгібувати захист хазяїна та сприяти патогенності [10]. Припускається, що ТЗЕ, які вивільняються системою секреції III типу (ТЗСС) у грамнегативних бактерій, колективно пригнічують базовий захист рослин і перепрограмують фотосинтез і метаболізм рослин, сприяючи проліферації та живленню патогенів [10, 25]. Було показано, що ефектори *P. syringae* HopW1 і HopG1 порушують динаміку актину, щоб інгібувати імунні відповіді клітин-хазяїв [25, 36, 37].

Доведено, що фітотоксин КОР виявляє свою патогенність, зокрема активуючи жасмонатний шлях рослини-хазяїна. В праці [38] показано, що КОР перешкоджає передачі жасмонатних сигналів (ЖС)

рослин, діючи як молекулярний імітатор жасмонат-ізолейцину (ЖаК-Іле), і антагоніст ЖаК-сигналіngu. Він є лігандом, який безпосередньо зв'язується з комплексом COI1—JAZ (білка F-box коронатиннечутливого 1—білка жасмонатного домену ZIM) і пригнічує захисні реакції хазяїна шляхом активації передачі сигналів ЖаК залежним від COI1 способом. KOP і ЖаК-Іле розпізнаються одним й тим самим рецептором, але KOP у 1000 разів активніший, ніж ЖаК-Іле [10, 38]. При цьому KOP, модулюючи передачу сигналів рослиною ЖаК, здатний спричинювати відкриття продихів (не зумовлене регуляторними процесами рослин), деградацію хлорофілу та інгібування захисних реакцій, опосередкованих СК [10, 39].

Як наголошувалось, хлоропласти є мішенями ефекторів патогенів [10, 12, 40—42]. Для ефекторів патогенів, що мають cTP хлоропласта, їх локалізація в хлоропластах і N-кінцевий процесинг у рослинах важливі для повної вірулентності [10, 41, 43]. Після проникнення в хлоропласти ці ефектори можуть взаємодіяти з хлоропластними білками (наприклад, PTF1, CBSX2, Hsp70 і PsbQ) та модифікувати структуру й функції хлоропластів (наприклад, ремоделюванням тилакоїдів, експресією фотосинтетичних генів, фотосинтетичним розщепленням води та транспортом електронів, окиснювальнo-відновним статусом ферментів), стан і біосинтез СК [10].

Показано [40], що *P. syringae* pv. *tomato* DC3000 (DC3000) внаслідок транслокації ефекторних протеїнів до хлоропластів дестабілізують ФС II й спричинюють швидке непродихове інгібування фотосинтезу. Послідовне інгібування фотосинтетичного транспорту електронів зменшує генерацію АФК, індуковану мікробноасоційованими молекулярними патернами (МАМП). Разом із тим пригніченню фітоімунітету значною мірою сприяє індукована патогеном АБК.

**Молекулярно-генетичні особливості бактеріальної вірулентності, їх регуляція.** Відомо, що *P. syringae* pv. *tomato* (та інші патогени) здатні пригнічувати експресію великого набору ядернокодованих генів хлоропластів, включно транскрипти ферментів, пов'язаних з фотосинтезом, і антиоксидантних ферментів [12, 40]. Показано, що *P. syringae* pv. *tomato* DC3000 за допомогою вірулентних ефекторних протеїнів типу III перепрограмує експресію ядернокодованих генів амінокислотних послідовностей для транслокації цих протеїнів у хлоропласти, діючи як транскрипційно, так і посттранскрипційно [40].

Оскільки система секреції T3SS є основним фактором вірулентності для багатьох фітопатогенних бактерій, молекулярно-генетичним дослідженням її регуляції приділяється пильна увага. Зокрема, у праці [30] генетичний і молекулярний аналізи виявили кілька важливих регуляторів, які контролюють експресію генів T3SS у патогенних бактеріях рослин, що свідчить про регуляцію T3SS як високомодульований процес під час зараження рослин патогенами, і така регуляція часто відбувається ієрархічно. В дослідженнях з *Dickeya dadantii* знайдено кілька регуляторних компонентів, включно транскрипційні та посттранскрипційні регулятори, sRNA та бактеріальні вторинні месенджери, які регулюють T3SS. Так, *bic*-(3'-5')-циклічний димерний гуанозинмонофосфат (c-di-GMP) — бактеріальний вторинний ме-



сенджер, розповсюджений у більшості основних типів бактерій, є одним із найкритичніших і добре вивчених вузлів регуляторної мережі, яка зокрема дає змогу *D. dadantii* контролювати експресію свого гена вірулентності для адаптації до різних умов середовища [30]. Слід відзначити, що пролонговані дослідження регуляторних механізмів ТЗСС у фітопатогенних бактерій призвели до відкриття групи сполук рослинного походження та кількох хімічно синтезованих сполук, які модулюють експресію ТЗСС у основних рослинних патогенів та інгібують ТЗСС (рослинні фенольні сполуки, кумарини і саліциліденацилгідразида). Ці сполуки використовують ТЗСС як мішень для інгібування бактеріального патогенезу і є перспективними для боротьби із бактеріальними хворобами рослин. Проте оцінка впливу інгібіторів ТЗСС на мікробіом та рослину-хазяїна досліджена недостатньо [30]. В тому числі необхідним кроком є апробація моделі захисту на основі інгібіторів ТЗСС у польових умовах.

**Адаптаційні стратегії фітопатогенних бактерій.** Бактеріальний репертуар стратегій виживання включає стійкість до антимікробних сполук; ефлюксні насоси, які детоксикують клітини; спорношення (у разі грампозитивних бактерій); секрецію ефекторних білків, синтез ферментів, токсинів, фітогормонів; утворення біоплівки; утворення стійких клітин; вироблення факторів вірулентності та генетичну адаптацію [2, 44, 45]. Серед усіх захисних стратегій, які розвинулися для виживання бактерій у несприятливих і мінливих умовах середовища, утворення біоплівки є, мабуть, однією з найважливіших. Вона не лише захищає бактерії від несприятливих умов, а й викликає значний біотичний стрес у рослин [2, 44, 45]. Мікробні біоплівки — це бактеріальні спільноти, що складаються з клітин, вбудованих у позаклітинний полімерний матрикс [44]. Близько 10—25 % біоплівки складається з бактеріальних клітин, які можуть належати представникам одного виду (у цьому випадку біоплівка проста) або різних видів (змішана біоплівка). Решта 75—90 % складається з позаклітинних полімерних речовин, які стабілізують і надають форму матриксу. Біоплівка захищає бактеріальні клітини від фагоцитозу, шкідливих умов навколишнього середовища (рН, брак поживних речовин і механічних впливів), а також антибіотиків або протимікробних засобів, істотно підвищуючи їх стійкість до різних чинників [2]. Бактерії у складі біоплівки використовують спеціалізовані мембранні білки (ефлюксні насоси), які відповідають за підтримку цитоплазматичних концентрацій певних протимікробних сполук нижче від критичного для клітин порогу. Ефлюксні насоси складаються з внутрішньомембранних білків, периплазматичних мембраннозв'язаних протеїнів, і зовнішньомембранних протеїнів. Цей комплекс інкапсулює бактеріальну клітину і забезпечує ефективну транслокацію молекул широкого діапазону [44]. Фітопатогенні бактерії, які утворюють біоплівки, колонізують міжклітинні простори та судинну систему рослин-хазяїв і викликають широкий спектр симптомів, таких як некроз, в'янення, плями на листках, опіки, м'яка гниль і гіперплазія [2]. Фітопатогенні бактерії в біоплівці мають вищу вірулентність й патогенність і можуть протистояти антимікробним препаратам, синтезованим рослиною-

хазяїном, а також пригнічувати інші імунні реакції рослин, що робить фітопатогени ще шкідливішими для врожаю та його якості.

**Особливості імунної реакції рослин.** Перший фізичний і пасивний бар'єр захисту, вироблений рослинами, складається з трихом, воску та кутикули епідермісу, що ускладнює закріплення патогенів [2]. Ранні захисні події включають реорганізацію цитоскелета, зміцнення клітинної стінки, генерацію АФК, закриття продихів і синтез антимікробних вторинних метаболітів [10, 46]. Під час взаємодії рослина—патоген відбувається субклітинна реорганізація, зокрема створюються екстрагаусторіальна мембрана і біотрофний міжфазний комплекс, клітинні компоненти залучаються до місць інфекції, часто опосередкованої актиновими мікрофіламентами або мікротрубочками [7, 12, 47].

Для захисту від патогенних інфекцій рослини розробили складні конститутивні та індуковані захисні механізми [10]. Конститутивний захист (іmunітет) включає неспецифічні антимікробні токсини та попередньо сформовані структурні бар'єри, зокрема клітинні стінки [10, 48]. Індукований захист ініціюється розпізнаванням патогенасоційованих молекулярних структур (ПАМС) (рецепторний іmunітет, РІ) або ефекторних білків, які вивільнюються патогеном (ефекторний іmunітет, ЕІ) [2, 10, 49]. ЕІ починається з розпізнавання ефекторних протеїнів резистентними білками. Характерною ознакою включення ЕІ є реакція надчутливості (РН) і запрограмована клітинна загибель (ЗКЗ) [10]. Активація рецепторів розпізнавання ПАМС (РІ) приводить до ініціювання сигнальних каскадів (наприклад, мітоген-активованих протеїнкіназ (МАПК), пікових сплесків  $Ca^{2+}$ ) і перепрограмування транскрипції [24]. Схематично місцевий іmunітет розгортається таким чином: інвазивні патогени розпізнаються рослинними рецепторами розпізнавання (РР), що активує широкий спектр передачі сигналів, таких як генерація АФК і спричинюване активністю гомолога протеїну Д-оксидази дихального вибуху або НАДФ-оксидази (respiratory burst oxidase homolog protein D, RbohD), зростання  $H_2O_2$ , сплески  $Ca^{2+}$  і каскад кіназ, що включає сигнальні шляхи, опосередковані МАПК,  $Ca^{2+}$ -залежною протеїнкіназою (СПК) та іншими додатковими кіназами. Ці іmunні сигнали, посилені кіназними каскадами, запускають різноманітні захисні реакції, включно ремодельовання цитоскелета, активацію захисної функції в органелах і перепрограмування транскрипції через активність проіmunних факторів транскрипції. Загалом сума цих висококоординованих сигнальних функцій спричинює активацію сигнальних шляхів захисту рослин та стійкість до патогенів [24].

У відповідь на іmunну реакцію рослин, патогени доставляють ефектори (зазвичай білки) прямо чи опосередковано в клітину для колективного інгібування РІ, часто націлюючись на РР та їхні корцептори. Це ефекторне пригнічення (ЕП) може бути успішно подолано за допомогою внутрішньоклітинних білків стійкості рослин до хвороб, які активують ЕІ, ефективно стримуючи та знищуючи патогени через запрограмований процес клітинної загибелі, відомий як РН [12, 50]. Припускається, що обидві іmunні відповіді (РІ та ЕІ) не відокремлені, а діють скоординовано [12, 51]. Вважається, що РН

викликається генерацією  $^1\text{O}_2$ , що призводить до перекисного окиснення ліпідів [12, 52]. Розвиток РН відбувається швидко і ефективно, що стримує розвиток патогенної інфекції. РН призводить до раннього та масового накопичення як ферментативних, так і неферментативних оксиліпінів, отриманих із галактоліпідів хлоропластів, й корелює зі значним збільшенням ЖаК [12, 53]. Для розпізнавання і активації дистальної захисної сигналізації рослини також використовують різні сигнальні молекули або сполуки, пов'язані з ПАМС, які накопичуються в результаті патогенезу, пошкодження клітини та/або активації ЗКЗ (системін, пептиди, АТФ, білки з пошкоджених клітин, деградовані полісахариди клітинної стінки тощо) [24].

**Рівні імунної відповіді рослин.** На етапі проникнення збудника рослинним організмом до захисту долучаються антимікробні сполуки і вторинні метаболіти, які активуються коли імунна система рослини розпізнає патогенний мікроорганізм через дворівневу систему сигналізації [2]. На першому рівні ПАМС, такі як флагелін і ліпополіцукриди, сприймаються білками, відомими як рецептори розпізнавання ПАМС. На другому рівні внутрішньоклітинні імунні рецептори, які мають центральне нуклеотидне зв'язування і С-кінцеві домени, багаті повторами лейцину, розпізнають ефекторні білки патогенів, що транспортуються в клітину рослини-хазяїна під час інфекції. У результаті взаємодії цих двох рівнів можливі дві імунні відповіді, перша — набута системна резистентність (НСР), пов'язана із сигналінгом СК (спричинює РН і ЗКЗ інфікованих і довколишніх клітин); друга — пов'язана із синтезом ЖаК та етилену — спричинює індуквану системну резистентність (ІСР), яка виникає за впливу непатогенних бактерій, асоційованих з кореневою системою, й перешкоджає некротрофним патогенам [2, 10, 54–57]. Таким чином, ЕІ ініціюється рослиною за допомогою внутрішньоклітинних імунних рецепторів з архітектурою лейцинзбагачених повторів, що зв'язують нуклеотиди, які розпізнають патогенні ефектори [25, 58]. Рослини розвивають РН, характерну ознаку ЕІ, якщо патоген здатний пригнічувати базовий захист рослин, тобто конститутивний та індукцибельний захист [10, 49].

Транскрипція і трансляція білків для мінімізації поширення патогену відбувається на пізніших стадіях захисних відповідей рослин, пов'язаних з патогенезом та розвитком РН [10, 59, 60].

**Роль фітогормонів у механізмах захисту.** Важливу регуляторну функцію в ініціації захисних механізмів відіграють фітогормони — АБК, ЖаК, СК, ЕТ. Відомо, що ранні етапи біосинтезу важливих для ініціації захисту фітогормонів АБК, ЕТ і ЖаК відбуваються в хлоропласті, а СК переважно синтезується в хлоропласті [8, 10, 12]. Важливим фітогормоном, який відіграє багатогранну роль у захисті рослин від патогенів, є АБК. Так, синтез АБК, індукований вірулентним *P. syringae* pv. *tomato*, відбувається упродовж 6 год після зараження [12, 24, 40]. АБК спричинює закриття продихів внаслідок регулювання газообміну, пригнічує транскрипцію багатьох пластидних генів РНК-полімеразою, що кодується в пластиді, і РНК-полімеразою, що кодується в ядрі, може пригнічувати експресію генів у хлоропласті, включає АБК-опосередкований продиховий імунітет [10]. Основні

складові АБК-опосередкованого продихового імунітету включають регуляторний компонент рецептора АБК, протеїнфосфатазу 2С-типу і серин/треонін (Ser/Thr) протеїнкіназу OST1 [10, 61]. Шляхи трансдукції, за допомогою яких АБК регулює рухи продихів (рецепторна АБК-опосередкована осморегуляція шляхом активації аніонних каналів S-типу та R-типу) і експресію генів (за участю АБК-регульованих факторів транскрипції), опосередковуються складними сигнальними каскадами, в тому числі за участю сигнальних молекул ( $H_2O_2$ , NO, іонів  $Ca^{2+}$ ) [62]. У праці [62] показано, що сигнальне ядро АБК-рецепторів складається з PYR/PYL/RCAR, протеїнфосфатаз PP2C і протеїнкіназ SnRK2.

Важливу роль у трансдукції АБК-сигналіngu відіграють іони кальцію. Відомо, що сплески  $Ca^{2+}$  є компонентом ланцюга трансдукції, за допомогою якого АБК регулює активність промотора CDeT6-19 у захисних клітинах, що оточують продихи, індукуючи зниження їх тургору [63]. Іони кальцію активують аніонні канали S-типу (SLAC1), стимулюючи активність кальційзалежної протеїнкінази [62]. АБК-опосередковане закриття продихів також може посилюватися наявністю  $H_2S$  у повітрі, що викликає сплески кальцію в захисних клітинах [62].

АБК впливає на виробництво та передачу сигналів інших гормонів [10]. Як ендогенні рівні АБК, так і індуковане патогенними ефекторами збільшення рівня АБК антагонізує рівень СК [10, 64]. Ефектор-опосередкована маніпуляція біосинтезом і передачею сигналів АБК є ключовим механізмом вірулентності патогенів [10, 63]. Для посилення своєї вірулентності фітопатогени маніпулюють в тому числі антагонізмом ЖаК/СК, спричинюючи активацію синтезу ЖаК або її аналогів [10, 66].

Показано, що в хлоропласті синтезується попередник (метіонін) важливого газоподібного захисного гормону — етилену (ЕТ) [10, 67]. ЕТ може впливати на фотосинтез, регулюючи вміст хлорофілу, експресію гена хлорофіл *a/b*-зв'язувального білка, ефективність ФС I та ФС II, активність Рубіско залежно від віку рослини [10, 68].

На синтез та передачу сигналів фітогормонів впливає рівень цитозольного  $Ca^{2+}$  [8]. Зокрема вважається, що пікові сплески цитозольного  $Ca^{2+}$  є загальною ознакою АБК-опосередкованих рухів продихів і АБК-регульованої експресії ядерних генів. Так, у праці [63] відзначено, що сплески  $Ca^{2+}$  залучені до регуляції низки АБК-індукованих промоторів генів, включно *rab18*, *lti78*, *HVA1*, і *kin2*. З огляду на це припускається, що пікові сплески кальцію, імовірно, задіяні у кількох АБК-опосередкованих сигнальних шляхах рослин [63].  $Ca^{2+}$  також впливає на баланс ЕТ-АБК в рослинах [10]. Було виявлено [69], що екзогенне застосування  $Ca^{2+}$  зменшує накопичення АБК, але збільшує виробництво ЕТ у проростках пшениці, заражених патогенним грибом *Fusarium culmorum*.

АБК і ЕТ можуть мати як позитивний, так і негативний вплив на захисні реакції рослин [10, 67, 70]. З одного боку, АБК індукує закриття продихів, блокуючи проникнення бактеріальних патогенів у тканини рослин [10, 71], а з іншого — негативно впливає на реакції РІ рослин після інвазії [10, 65, 72]. ЕТ, зазвичай, пригнічує розвиток

симптомів, спричинених некротрофами, і посилює загибель клітин, викликану біотрофами та гемібіотрофами [10, 73].

ЖаК і СК позитивно впливають на захисні реакції рослин. ЖаК необхідна для захисту від некротрофів і трав'яних комах і діє синергічно з іншими гормонами: з ЕТ проти атак некротрофів, з АБК — проти трав'яних комах [10, 12, 74]. Жасмонати зазвичай асоціюються з основними стратегіями вірулентності біотрофних патогенів для інгібування передачі сигналів СК. Виявлено також, що ЖаК утворюється *de novo* під час ЕІ і бере участь у обох видах НСР та індукованій системній резистентності (ІСР) [12, 75–78]. СК здебільшого індукує резистентність до біотрофів і гемібіотрофів [10, 12]. СК пригнічує захисні реакції ЖаК-ЕТ і таким чином підвищує сприйнятливості рослин до некротрофів. СК може безпосередньо перешкоджати стратегіям вірулентності патогенів через її взаємодію з рецепторами надекспресора гена СК, пов'язаного з патогенезом. Зокрема показано, що збільшення СК у *Arabidopsis* пригнічує корепресори транскрипції NPR3 і NPR4, але активує коактиватор транскрипції NPR1, спільно індукуючи чутливі до СК гени захисту, включно ключові регулятори імунітету рослин [12, 79]. Отже, СК також є однією із ключових сигнальних молекул, що бере участь у формуванні НСР після розвитку місцевих реакцій РІ та ЕІ [24]. Відомі інші месенджери НСР, зокрема піпеколінова кислота (Pip) та її похідна — N-гідроксипіпеколінова кислота (NHP), які накопичуються в листку вже через 24 год після інокуляції [24]. СК також може функціонувати опосередковано, інгібуючи антиоксидантні ферменти, такі як каталаза та аскорбатпероксидаза, що знешкоджують АФК, генеруючи їх накопичення. Показано, що високий і низький вміст СК тісно корелював з високими і низькими концентраціями  $H_2O_2$  [10, 80], який, як відомо, бере участь у дистальній передачі сигналів шляхом  $H_2O_2$ -активації  $Ca^{2+}$ -каналів.

**Роль інших сигнальних молекул у захисті.** АФК, NO та  $Ca^{2+}$ , як правило, відіграють позитивну роль у захисті рослин від патогенів [8]. АФК здатні вироблятися ФС І та ФС ІІ; NO може утворюватися нітратредуктазою та NO-синтазоподібним ферментом у хлоропласті; сплески пікових концентрацій  $Ca^{2+}$  можуть бути утворені  $Ca^{2+}$ -чутливими білками, локалізованими на тилакоїдній мембрані [8, 10, 12]. Відомо, що локалізовані на тилакоїдній мембрані  $Ca^{2+}$ -чутливі білки і стромальні пікові концентрації  $Ca^{2+}$  важливі для регуляції та фотоаклімації фотосинтезу [10, 81]. Пікові коливання рівня  $Ca^{2+}$  є одними з чинників розвитку як РІ, так і ЕІ відповідей [2, 10, 82]. Зокрема,  $Ca^{2+}$  опосередковує численні сигнальні каскади, асоційовані з кальмодуліном, СаМ-подібними білками, кальційзалежними протеїнкіназами, кальциневрино-В-подібними білками, взаємодіючи з протеїнкіназами, і  $Ca^{2+}$ -/кальмодулінзалежними протеїнкіназами [24]. Класична модель описує дистальний кальцієвий сигналінг таким чином: вибух АФК у протопласті спричинює генерацію вторинного сигнального месенджера —  $H_2O_2$  асоційованою з ПМ кальційзалежною НАДФН-оксидазою, надалі збільшення  $H_2O_2$  активує пікові сплески  $Ca^{2+}$ , які у підсумку спричинюють активацію специфічних кальційзалежних протеїнкіназ [24].

Двофазне накопичення АФК має важливе значення для того, щоб рослини могли розпізнавати патогени, здійснювати РН та мінімізувати їхнє поширення [10, 83]. NO потенціює локалізовану загибель клітин, спричинену АФК, та індукує експресію пов'язаних із захистом генів [10, 84]. Перша низькоамплітудна і транзитрна фаза відбувається упродовж декількох хвилин після інфікування та є переважно апопластичною й тісно пов'язаною з діяльністю Rboh NADPH-оксидаз плазматичної мембрани і пероксидаз клітинної стінки [10].  $O_2^{\cdot-}$  швидко перетворюється на  $H_2O_2$ , який крізь плазматичну мембрану проникає в клітину шляхом дифузії або через аквапорини. Друга, високоамплітудна та стійка, фаза відбувається через кілька годин після зараження і зазвичай пов'язана із встановленням захисних реакцій і РН. Друга фаза відбувається в багатьох компартментах, включно апопласт, хлоропласти, мітохондрії та пероксисоми [10]. Під час захисту рослин від патогенів АФК виконують різноманітні функції: пряме знищення патогенів, зміцнення клітинних стінок, активація експресії захисних генів, опосередкування перекисного окиснення ліпідів (для здійснення локалізованої загибелі клітин), спричинюють накопичення фітоалексинів (для пригнічення росту патогенів), індукують РН, модулюють переміщення везикул (для опосередкування передачі сигналів та інтерналізації рецепторів розпізнавання) [10]. Відома важлива регуляторна роль антиоксидантів аскорбату та глутатіону у регуляції реакції клітин за АФК-індукованого некрозу, спричиненому РН, ініційованій ЕІ, завдяки їх участі у видаленні  $H_2O_2$  та регуляції окисно-відновного процесу, що впливає на резистентність рослин до патогенів. Так, аскорбат-дефіцитні мутанти *Arabidopsis* мали підвищені рівні  $H_2O_2$ , камалексину, накопичення СК, активацію індукованої патогенезом експресії генів і підвищення базової резистентності до *P. syringae* pv. *tomato* і ооміцету *Hyaloperonospora*, а глутатіондефіцитні мутанти — знижену стійкість до *P. syringae* pv. *tomato* avrRpm1 [12]. Отже, система глутатіонредуктаза/глутатіон може впливати на резистентність патогенів, включно з генами, що беруть участь у ЖаК/СК сигналіngu [23].

**Особливості взаємодії у патосистемі рослина—фітоплазма. Фактори вірулентності фітоплазм.** Фітопатогенні молекути — це плеіоморфні прокаріотичні мікроорганізми без клітинної стінки розміром 50—1000 нм, що населяють флоему інфікованих рослин [85, 86]. Вони є облігатними патогенами і спричинюють серйозні втрати врожаю в усьому світі, які можуть становити від 50 до 90 % (в деяких випадках) [87, 88]. Фітоплазми заражають комах-переносників — флоемних паразитів роду *Hemiptera*, а в рослинах обмежені флоемою [89]. Завдяки тривалому інкубаційному періоду в рослинах симптоми можуть розвиватися від 7 днів до 6—24 місяців після введення фітоплазми комахами-переносниками [89]. Глобальне потепління/зміна клімату сприятливі для чутливих до холоду переносників фітоплазми, що може спричинювати збільшення хвороб фітоплазмозом у культурних рослин у майбутньому [89].

**Пов'язані з вірулентністю молекулярно-генетичні особливості фітоплазм.** Порівняно із бактеріальними збудниками, фітоплазми мають невеликий геном (~0,7 Mb) з низьким вмістом G+C, великою

кількістю повторюваних ділянок і своєрідною варіабельністю характеристик геному в таксоні [90, 91]. Показано, що зменшення геному фітоплазми призвело до втрати більшості метаболічних шляхів, у тому числі шляхів синтезу АТФ за допомогою АТФ-синтаз F0 і F1 типу, а також синтезу амінокислот і нуклеотидів [89, 92, 93]. На противагу іншим організмам і патогенам, фітоплазми використовують стоп-кодон UGA як кодон, що кодує триптофан. Крім того, ген, що кодує фактор вивільнення пептидного ланцюга 2, який розпізнає UGA як термінальний кодон, наявний у геномі фітоплазми [94, 95]. Секвенування геному виявило, що відсутність основного метаболізму у фітоплазмах є можливою причиною захворювання флоєми в рослинах [87].

Розшифровка і порівняння геномних послідовностей фітоплазм (OY-W і OY-M) дали змогу визначити механізми, які відповідають за прояв певних симптомів. Так, при ураженні штамом фітоплазми OY-W за пожовтіння, карликовості та в'янення відповідало подвоєння кластерів гліколітичних генів, що спричинювало високе споживання джерел вуглецю, тоді як симптоматичний прояв фіолетової верхівки був спричинений активацією шляху біосинтезу антоціанів [95].

Одним із потенційних факторів вірулентності, імовірно, є також  $H_2O_2$ , який може утворюватися за окиснення NADH, або супероксиддисмутазою (СОД), яка кодується принаймні у 4-х геномах фітопатогенних молюсків, включно *A. laidlawii* [92]. Поглинання вуглеводів з клітин рослин-хазяїв важлива особливість фітоплазми. Вважається, що гліколіз, або шлях Ембдена-Мейєргофа-Парнаса є основним шляхом вироблення енергії у більшості фітоплазм, у якому молекула глюкози перетворюється на піруват з утворенням АТФ та НАДФ [91]. Проте у *Ca. P. mali* був знайдений альтернативний метаболічний шлях, в якому піруват утворюється незалежно від гліколізу. Загалом геномний аналіз показав, що використання джерел вуглецю може різнитися між видами фітоплазм [91].

Встановлено, що серед фітоплазм найпоширеніша Sec-залежна система експорту білків через цитоплазматичну мембрану до своєї периплазми та зовнішньої мембрани, а також для секреції ефекторних протеїнів безпосередньо в цитоплазму ситоподібних клітин флоєми рослин-хазяїв [91, 96, 97]. Фітоплазми мають дві системи секреції — YidC систему для інтеграції мембранних білків і Sec для інтеграції та секреції білків у цитоплазму клітини-хазяїна [98]. Гени, що кодують SecA, SecY і SecE протеїни, були ідентифіковані в геномах різних фітоплазм, а гени *secY* клоновані з багатьох штамів фітоплазми [98]. Ефекторні білки фітоплазм для втручання і перепрограмування метаболізму рослини-хазяїна націлюються на ключові білки і фактори транскрипції, які пов'язані із розвитком та імунітетом хазяїна, спричинюючи численні зміни фенотипів рослин [96]. Деякі із секретованих білків/ефекторних генів фітоплазм розташовані в потенційних мобільних одиницях. Ці регіони схильні до рекомбінацій, що сприяє нестабільності геному цих патогенів [96].

Виявлено, що ефектор фітоплазми SAP05 зв'язує та опосередковує деградацію багатьох членів двох різних родин транскрипційних факторів родини SPL та родини GATA, що призводить до уповільне-

ного старіння рослини та одночасної проліферації вегетативних тканин і пагонів [97].

За інфікування фітоплазмою сильно пошкоджується хлоропласт, може спостерігатися дезорганізація в структурі органел (дезорганізація тилакоїдів, компонентів ланцюгів транспортування електронів, антенних комплексів, активності Рубіско, порушення хлорофіл—каротиноїдних шляхів, зниження кількості хлорофілу) [8, 99, 100]. В інфікованих рослинах спостерігається також порушення гомеостазу гормонів ГК, ауксину, АБК, ЕТ, ЖаК та СК, з яких останні два є ключовими гормонами, задіяними в імунітеті рослин [8, 101].

**Морфологічні чинники вірулентності.** Фітоплазми мешкають в ситоподібних клітинах флоєми інфікованих рослин і передаються від інфікованих рослин до здорових через комах, що харчуються із флоєми, переважно цикадками. Фітоплазми не мають чітко вираженої форми (їм притаманна аморфність) — під електронним мікроскопом вони можуть виглядати овальними, довгастими або ниткоподібними [102]. Показано, що імунодомінантний мембранний протеїн (ІМП), який є одним з білків фітоплазмової мембрани, зв'язується з актином рослин. Оскільки фітоплазми не мають генів, які відповідають за рухливість, зв'язування актину полегшує транспортування їх клітин всередині ситовидних елементів і розповсюдження по флоємі крізь ситовидні пластини, що забезпечує колонізацію рослини-хазяїна [5, 95]. Встановлено, що фітоплазми здатні різко змінювати експресію майже однієї третини своїх генів, використовуючи фактори транскрипції для ініціації взаємодії між фітоплазмою і тим чи іншим хазяїном — рослинами або комахами [95]. Більша частина клітинної поверхні фітоплазми вкрита трьома мембранними білками, які називаються імунодомінантними мембранними білками (ІМР, АМР і ІДРА). Припускають, що вони беруть участь у взаємодії як з комахами-, так і з рослинами-хазяїнами [5]. Відомо, що імунодомінантні мембранні білки фітоплазм і спіроплазм зазвичай відіграють важливу роль у передачі через комах-переносників [89].

Зміни у метаболізмі хлоропластів і фотосинтезі спостерігали у багатьох різних груп патосистем природного або штучного походження за участю різних видів рослин-хазяїв і фітоплазм. З огляду на тип виникнення структурних і метаболічних модифікацій можна припустити, що хлоропласт уражується під час усіх відомих на сьогодні рослинно—фітоплазмових взаємодій. Однак його точна роль під час зараження фітоплазмою недостатньо досліджена [8]. Зважаючи на відмінності геномної організації та мультитрофічні взаємодії між фітоплазмами та рослиною-хазяїном і комахою-хазяїном, складно визначити спільну стратегію вірулентності для всіх патосистем з фітоплазмами [8]. Зрештою, пригнічуючи фотосинтетичну активність рослини-хазяїна, фітоплазма послаблює фітоімунітет [8]. Фітоплазми кодують білки холододового шоку і фактор елонгації Tu та інші, які активують РІ у рослини, що може спричинювати різні морфологічні зміни у хлоропласті. Крім того, паразитування у флоємі, зокрема у ситовидних трубках, призводить до порушення донорно-акцепторних зв'язків у рослині-хазяїні, оскільки перешкоджає нормальному транс-



порту і обігу асимілятів у флоемі, викликаючи дефіцит поживних речовин у тканинах [8, 103].

**Фізіолого-біохімічні зміни при фітоплазмах.** Внаслідок обмеження у фітопатогенних молюкут генетичного кодування багатьох метаболічних модулів, фітоплазми потребують джерел амінокислот, певних білків, АТФ, фолієвої кислоти тощо. Зокрема, неповний синтез фолієвої кислоти може вплинути на рослину-хазяїна, оскільки фолат також бере участь у фотодиханні, метаболізмі амінокислот і біосинтезі хлоропластних білків [91]. Під час ураження фітоплазмою спостерігаються зміни експресії профілів генів, пов'язаних з процесом фотосинтезу [8].

Виявлено, що за інфікування *Phytoplasma trifolii* виникають глибокі фізіологічні зміни в рослинах-хазяях, а саме: прогресивне збільшення ряду вторинних метаболітів (фенольні сполуки, флавоноїди, конденсовані таніни та антоціани), зменшення фіксації CO<sub>2</sub>, зниження активності інвертази, пригнічення гліколізу, зміни у співвідношенні розчинних вуглеводів в уражених листках та амінокислот у тканинах хазяїна [104, 105]. Так, у праці [105] наведено різкі зміни вмісту 42 метаболітів, зокрема в уражених фітоплазмою рослинах гострого перцю встановлено істотне зниження ендогенних рівнів фруктози, глюкози, мурашиної і аскорбінової кислот та збільшення концентрації аланіну, аспарагіну, фумарової кислоти, цукрози й троніну.

В інфікованих рослинах зазвичай існує гормональний дисбаланс і дуже часто порушується транспортування крохмалю та інших метаболітів [95]. У праці [106] показано, що інфікування рослин томатів фітоплазмами картоплі (РРТ) спричинює в рослинах-хазяях глибоке порушення гомеостазу гібереліну. Авторами виявлено, що ГК за зовнішнього застосування може пригнічувати гени, які кодують ключовий сигнальний компонент ГК та білок-репресор росту (DELLA), посилюючи регуляцію генів, залучених у синтезі СК, передачі сигналів і подальших захисних реакціях, щоб модулювати захист хазяїна у відповідь на інфікування фітоплазмою РРТ. Диференціальна регуляція цих генів корелювала зі збільшенням активності пов'язаних із захистом ферментів β-1,3-глюканази та хітинази. Хоча захисту, спричиненого попередньою обробкою ГК, було недостатньо для запобігання системній інфекції, така обробка знижувала титр фітоплазми та значно послаблювала симптоми захворювання [107].

На рослинах томатів (*Solanum lycopersicum*), уражених фітоплазмою пурпурової верхівки картоплі, виявлено деградацію пошкоджених хлоропластів внаслідок пригнічення розщеплення крохмалю, утруднення транспорту цукрози крізь флоему, порушення часово-просторового розподілу ауксину [108]. Молекулярно-генетичним аналізом встановлено експресію генів аспарагінсинтетази (SI-ASN) і трегалозо-6-фосфатсинтази (SI-TPS), що спричинювали їх передчасне старіння. Зафіксовано пригнічення експресії ключового гена, який відповідає за синтез гібереліну — ент-кауренсинтази (SI-KS) [108]. Показано, що ефектори фітоплазм спричинюють модуляцію вуглеводного обміну рослини-хазяїна й сприяють активності ферментів аскорбат-глутатіонового циклу [96].

**Фактори вірулентності фітоплазм. Ефекторні протеїни.** Геном фітоплазми кодує основні клітинні функції, включно реплікацію ДНК, транскрипцію, трансляцію та транслокацію білків, проте не має генів, необхідних для біосинтезу амінокислот і жирних кислот, циклу трикарбонових кислот і транспорту електронів за окиснювального фосфорилування [95]. Фітоплазми отримують поживні речовини з клітин-хазяїв, тому їх геном містить багато генів-транспортерів [5, 95]. Зокрема, у геномі фітоплазми кодуються шість АТФ-зв'язувальних транспортерів (для поглинання і переміщення метаболітів), супероксиддисмутаза (СОД) і протеаза HflV (фактор вірулентності), транслоказа SecA, частина системи секреції типу II [91, 109]. Система секреції типу II (пов'язана із Sec-системою транспортування) дає змогу доставляти білки з N-термінальним сигнальним доменом до мембрани, після розщеплення якого білки вивільнюються у внутрішнє середовище клітини-хазяїна. Відомо понад 50 секретованих білків фітоплазми [90, 93, 110].

Ефекторні білки з різних видів фітоплазми націлені на транскрипційні фактори рослини-хазяїна або впливають на експресію генів на транскрипційному рівні щоб змінити метаболізм хазяїна на свою користь [111]. Наприклад, *SAP11* з геному штаму *Ca. P. asteris*' AY-WB містить еукаріотичні сигнальні домени ядерної локалізації та локалізується в ядрах рослинних клітин [90, 93, 110]. Мішенями ефекторів є ключові рослинні білки, більшість з яких є факторами транскрипції, і всі ці білки розщеплюються 26S протеасомним шляхом. Пов'язані з фітоплазмою ефектори безпосередньо впливають на компоненти системи убіквітин-протеасома або слугують компонентами цієї системи [112]. У *Ca. P. mali* виявлено кодування білка з функцією лігази E3, наявність якого може пригнічувати базовий захист рослин [113]. У праці [96] проаналізовано 6 факторів патогенності *Ca. P. solani*' і показано, що патогенні ефектори модулюють вуглеводний метаболізм рослин і аскорбат-глутатіоновий цикл, а також індують аутофагосоми. PoStoSP06, PoStoSP13 і PoStoSP28 були локалізовані в ядрі та цитозолі. Найактивнішим ефектором у досліджуваних процесах був PoStoSP06. PoStoSP18 асоціювався зі збільшенням активності фосфоглюкомутази, тоді як PoStoSP28, раніше анотований як антигенний мембранний білок StAMP, специфічно взаємодіє з фосфоглюкомутазою.

Перепрограмування транскрипції внаслідок зараження рослин фітоплазмозом конюшини викликає широкий спектр симптомів у рослин-хазяїв, які змінюються залежно від виду рослини, стадії інфекції і стадії вегетативного росту [102, 106, 107]. Оскільки різні види фітоплазм можуть викликати схожі симптоми, для ідентифікації інфікуючої фітоплазми необхідні лабораторні дослідження (ПЛР-ампліфікація гена 16S рРНК фітоплазми та подальше секвенування ДНК амплікону) [102]. Геном фітоплазми також багатий на повторювані ділянки з дубльованими генами та транспозоноподібними елементами, які називаються потенційними мобільними одиницями. Вони мають подібні гени, організовані консервативним чином, і, як вважають, відіграють роль у регуляції експресії генів та слугують драйверами еволюції фітоплазм як в симбіозі з комахами, так і за па-

разитування в рослинах. Було виявлено, що антигенний мембранний білок утворює комплекс із мікрофіламентами рослини-хазяїна. У комах фітоплазми створюють системну інфекцію [5, 95]. Також фітоплазми містять плазмиди з химерними білками реплікації (Reps) з характеристиками як бактеріальних плазмід Reps, так і ДНК вірусних Reps [5].

Встановлено, що один ефекторний білок дає змогу облігатним паразитичним фітоплазмам індукувати безліч фенотипів розвитку у своїх хазяїв. Зокрема, білкові ефектори SAP05 з патогенних рослинних фітоплазм, перенесених комахами, беруть під контроль декілька процесів розвитку рослин, одночасно подовжуючи тривалість життя хазяїна, індукуючи примноження листків та безплідних пагонів, органів, колонізованих фітоплазмами й переносниками [97].

У праці [87] наведено ідентифікацію ефекторів фітоплазми синьої карликовості пшениці (WBD). З 37 потенційних ефекторів, що експресувалися в *Nicotiana benthamiana*, виявлено, що SWP21 відіграє особливу роль у вірулентності порівняно з TENGU і що фітоплазма WBD має ефектори, які спрямовані на проліферацію рослинних тканин і захисні реакції. В праці [114] виділено секретований збудником синьої карликовості *Candidatus Phytoplasma tritici* (*Ca. P. tritici*) потенційний ефектор SWP12. Встановлено, що цей ефектор сприяв колонізації фітоплазмами, шляхом дестабілізації *TaWRKY74*. За цих умов спостерігалось послаблення базового імунітету *Nicotiana benthamiana*, ініціація колонізації листків *Phytophthora parasitica*, *Sclerotinia sclerotiorum* та вірусом м'якої зеленої мозаїки тютюну [112]. Авторами показано, що експресія *TaWRKY74* викликала сплески АФК, посилювала регуляцію генів, пов'язаних із захистом, і знижувала транскрипцію *TaCRR6*, що призводило до зниження активності НАДН-дегідрогеназного комплексу (NDH). Доведено, що таким чином експресія цього гена підвищувала стійкість рослин пшениці до *Ca. P. tritici*, а його сайленсинг спричинював посилення чутливості рослин. Отже, *TaWRKY74* є позитивним регулятором стійкості пшениці до *Ca. P. tritici* [114].

**Особливості взаємодії у патосистемі вірус—рослина. Сайленсинг РНК.** Віруси рослин є субмікроскопічними інфекційними агентами (10—300 нм), що реплікуються лише в живих клітинах організму хазяїна й не мають клітинної будови. Вони мають спрощену структуру, простіші складаються з нуклеїнової кислоти (одноланцюгової РНК, зрідка — ДНК) і білкової оболонки. За типом існування це облігатні паразити, що розповсюджуються пасивно — комахами, нематодами, кліщами, грибами. Вірусні хвороби призводять до значних економічних втрат у сільськогосподарському виробництві. В рослині вірусні частки реплікуються й поширюються системно, захоплюючи здорові ділянки [115]. Втручаючись у рослинний метаболізм, віруси порушують донорно-акцепторні зв'язки рослини-хазяїна, відволікаючи частину енергетичних ресурсів рослинних тканин для відтворення вірусних частинок. Крім того, індукція захисних реакцій і токсична дія вірусних білків спричинює зміну кольору, деформацію органів, некроз тканин, що можуть різнитися за ступенем важкості. На прояв вірусної інфекції впливає вірулентність конкретного штаму вірусу

(або штамів для змішаних інфекцій), генотип хазяїна та умови середовища [116]. Реакція рослин на вірусне ураження залежно від умов середовища і стійкості рослин може бути різноманітною — від клітинного стресу до вад розвитку [115].

**Взаємодія у патосистемі вірус—рослина: клітинний рівень.** Основною мішенню для вірусів вважається хлоропласт, який зазнає значних структурно-функціональних пошкоджень внаслідок вірусної інфекції, що істотно впливає на процес фотосинтезу [9, 11]. Хлоропласт також бере участь у антипатогенній базовій і системній захисній відповіді рослин. Між ядром і хлоропластом існує тісна мережа сигналізації, яка координується через двосторонній зв'язок і відіграє вирішальну роль у захисті та розвитку інфекції [11]. Для проникнення нуклеїнових кислот вірусів і протеїнів у хлоропласт різні віруси не мають однієї стратегії [9]. Вважається, що пошкодження хлоропласта є одним із ключових моментів успішного вірусного зараження. Відомо, що реплікація генома вірусів відбувається на мембранній структурі та/або внутрішньому середовищі хлоропласта для уникнення противірусних механізмів мовчання (сайленсингу).

Комплекс реплікації вірусів, збірка вірусних білків і геномної РНК вірусу з основними факторами хазяїна переважно накопичується в мембранних структурах органел, таких як ендоплазматичний ретикулум і хлоропласт, істотно впливаючи на метаболізм ліпідів [9]. У передачі вірусів може брати участь важливий для формування строму актиновий цитоскелет. Вірусне інфікування завдяки впливу на метаболізм ліпідів (спричинює зміни складу жирних кислот, галактоліпідів, зниження рівнів моногалактозилдіацилгліцерину і дигалактозилдіацилгліцерину) викликає зміни структури ліпідної мембрани та впливає на опосередковане ліпідами зв'язування й транспортування молекул, таких як Рубіско та пластохінон [9]. Віруси рослин також маніпулюють сортуванням білка клітини-хазяїна шляхом молекулярної мімікрії. За наявності високого навантаження при фотосинтезі, вірусні білки можуть використовувати унікальний механізм транслокації та безпосередньо або опосередковано впливати на транспортування білків хазяїна в органели, що також залежить від інтенсивності світла [9].

Багато білків хлоропласта, які сприяють розмноженню вірусу, локалізовані в хлоропласті або функціонально пов'язані з фотосинтетичним механізмом [115]. З огляду на локалізацію білка хазяїна, ці взаємодії можуть мати місце в матриксі тилакоїду, мембрані тилакоїду, стромі, мембрані хлоропласта або в цитозолі. Всередині клітини хазяїна вірус регулює різноманітні процеси, такі як відтік цукрів, розподіл вуглецю або флоемний транспорт метаболітів, збільшуючи потребу у фотосинтезі [9]. Пошкодження ультраструктури та/або функції хлоропласта — природний наслідок інгібування хлоропластної транслокації білків хазяїна та транспорту електронів або структурного розвитку. Зокрема, симптоми мозаїки пов'язані зі зміною кількості та структури хлоропластів [9]. Вірусна інфекція може порушити рівновагу між біосинтезом і деградацією хлорофілу, що призводить до формування симптомів хлорозу. Гемінівірусна  $\beta$ -сателітна інфекція спричинює зменшення кількості хлорофілу та зміни кіль-

кості білків хлоропласта. Таким чином, гальмування фотосинтезу може виникнути через знижений рівень хлорофілу та/або блокування в будь-якій ланці фотосинтетичного енергетичного каскаду, спричиненого інгібуванням ферментів [118].

Бета-сателіт — субвірусна кільцева одноланцюгова молекула ДНК розміром 1,3 тпн (ДНК-подібний компонент, сателіт ДНК), що часто асоціюється з низкою одночастинкових вірусних геномів (найчастіше з бегомовірусами), кодує білок 13,5 кД, названий  $\beta$ С1, супресор «мовчання» генів, який взаємодіє з S-аденозилгомоцистеїнгідролазою для інгібування опосередкованого метилуванням «мовчання» транскрипційного гена. Білок  $\beta$ С1 пригнічує шлях біосинтезу терпенів хазяїна взаємодією з фактором транскрипції MYC 2 [118]. Виявлено, що хлоропласти клітин, інфікованих комплексами вірусів з  $\beta$ -сателітами, мають звивисту структуру з порушеною організацією грани, а порівняльний профіль протеома вказує на те, що  $\beta$ -сателіти індують пригнічення білків, які беруть участь у нормальному розвитку хлоропласта, рівні транскрипції хлоропластних ClpP1 і молекулярних шаперонів CSS1 типу DnaK, рівень транскрипту яких був знижений (у 4 та 10 разів відповідно) [118].

#### **Фітоімунітет і фізіолого-біохімічні ефекти вірусного ураження.**

Комплекс реплікації вірусу (VRC) — сукупність вірусних білків і геномної РНК вірусу з основними факторами хазяїна, переважно накопичується в мембранних структурах органел, таких як ендоплазматичний ретикулум (ER) і хлоропласт [9]. Секвенують різні вірусні білки, локалізовані в хлоропластах, у цитозолі, що пошкоджує органели структурно та функціонально [9]. Варто відзначити, що внаслідок вірусної інфекції інгібується опосередкована хлоропластами передача іонів  $Ca^{2+}$ , спричинена зменшенням його рівня у цитозолі, що викликає морфологічні зміни — утворюються великі хлоропласти аномальної форми [9].

В присутності р50 (домену гелікази реплікази ВТМ, 50 кД), розпізнавання патогена відбувається через локалізований у хлоропласті N-рецепторвзаємодіючий білок (NRIP1), який вивільнюється з органели в цитоплазму. Будучи сигнальною молекулою ретроградної передачі сигналів від хлоропласта до ядра, NRIP1 перепрограмує транскрипційний план захисту рослини-хазяїна [9]. Ефекторна відповідь, яка формується внаслідок інфікування вірусами в рослинних органелах, спричинює синтез фітогормонів СК, ЖАК та АБК, що тісно регулюються хлоропластами [9]. ЕІ спричинює РН, а надалі — ЗКЗ у рослин. РН, викликана вірусною інфекцією, призводить до швидкої загибелі рослинних клітин і утворення некротичних уражень [9, 60].

Як фактор авірулентності ToMV MP розпізнається білками томатів (*Solanum lycopersicum*), кодованими генами резистентності, а саме Tm-2 і Tm-2<sup>2</sup>. Tm-2<sup>2</sup> забезпечує резистентність як до TMV, так і до ToMV у рослин томатів і тютюну (*N. tabacum*), тоді як RbCS відіграє важливу роль у резистентності [9]. Ядернокодовані білки хлоропластів, такі як  $\gamma$ -субодиниця АТФ-синтази (AtpC) і активаза Рубіско (RCA), взаємодіючи з репліказою вірусу тютюнової мозаїки (ВТМ), відіграють активну роль у захисті рослин від поширення ВТМ

та вірусу поsvітління жилок турнепсу (ВПЖТ) [9]. TGB1L88 (білок TGB1 із сильною супресорною активністю) AltMV вибірково взаємодіє з  $\beta$ -АТФазою хлоропласта та викликає захисну реакцію [119]. Субодиниця PsbO комплексу ФС II, що виділяє кисень, збільшує накопичення ВТМ, але не вірусу мозаїки люцерни, а мала субодиниця Рубіско (RbcS) взаємодіє з білком руху вірусу томатної мозаїки і бере участь як у його переміщенні, так і в резистентності до вірусу тютюнової мозаїки [119].

Вірусне інфікування істотно змінює метаболізм хлоропластів, спричинюючи надмірне накопичення АФК. Внаслідок реакції РН і зниження фотосинтетичного транспорту електронів зменшується пов'язана з тилакоїдами кількість білка DS9, зростає біосинтез ізопреноїдів, які позитивно впливають на ріст, захист рослин, метаболізм і фотосинтез. Слід зауважити, що захисна відповідь, опосередкована хлоропластами, регулюється світлом, оскільки від світла залежить експресія малої субодиниці Рубіско (RbcS), яка відіграє важливу роль у захисних реакціях. Для ініціації захисних реакцій RbcS може взаємодіяти разом з компонентами фотосинтетичної системи, а саме оксигеназним комплексом (ОК) ФС II (марганцево-кальцієвий кластер у білковому комплексі на внутрішній поверхні тилакоїдної мембрани, що каталізує окиснення води до  $O_2$  в процесі фотосинтезу, вивільняючи електрони для відновлення НАДФН) [9, 118]. Показано, що ОК 33 кД (або PsbO) зв'язується з геліказним доменом реплікази вірусу TMV. Аналіз транскриптів двох основних білків ОК, а саме PsbO (33 кД) і PsbP (23 кД), і ферредоксин-НАДФ<sup>+</sup>-редуктази показав 20-, 7- і 3-разове зниження рівня накопичення вірусних транскриптів відповідно в листках при  $\beta$ -сателітній інфекції [118]. Виявлено, що інші білки, які реагують на стрес і захист, включно N-ацетилтрансферазу, малий білок теплового шоку та білок, що реагує на дегідратацію, посилено регулюються в заражених RaLCB-вірусом листках. Активність ферменту піруватдегідрогенази, яка, як відомо, підвищується в умовах помірної посухи, також посилюється у відповідь на  $\beta$ -сателітну інфекцію. Альтернативний шлях передачі сигналу, залежний від оксидаз, опосередковує локалізацію вірусу та обмежує некроз тканин хазяїна [118].

Важливо відзначити, що для інфікованих вірусом рослин характерне пригнічення біосинтезу СК в тканинах [11]. У праці [11] на трансгенних рослинах *Arabidopsis*, які експресують С4-білок, локалізований у хлоропласті, показано, що рослини, які експресують С4 G2A, демонструють імунні дефекти на різних рівнях, включно знижений викид кальцію в цитоплазмі, нижче відкладення калози, дефектне перепрограмування транскрипції та підвищену чутливість до *P. syringae* pv. *tomato* DC3000. Показано, що пригнічення функції тилакоїдного трансмембранного білка позитивно впливає на розмноження вірусу TYLCV [11].

Відомими захисними механізмами рослин є сайленсинг РНК, розвиток тканин, вільних від хвороб [115]. Однак в процесі еволюції віруси виробили протизахисні механізми, зокрема кодування білків-супресорів сайленсинга РНК [120]. Водночас в рослинному організмі зазвичай існує баланс між захисними реакціями рослин і протизахи-

сними — від вірусів, що часто дає змогу вірусу певний час зберігатися, не завдаючи великої шкоди своєму хазяїну. Такий баланс або толерантність поширена в диких екосистемах і має певні переваги для рослин (зокрема захист рослин від суперінфекції вірулентними вірусами) [116]. Різниця толерантної взаємодії від стійкої полягає у тому, що за стійкої взаємодії вірус—рослина стійкість зберігається внаслідок запобігання накопиченню або системному розповсюдженню патогена, а за толерантної — вірулентність вірусу знижується шляхом запобігання надмірному накопиченню вірусних РНК чи мінімізації концентрації або активності вірусних білків, які відіграють роль у вірулентності, що у свою чергу зменшує шкодочинність вірусної інфекції [116].

Стійкість рослин-хазяїв до вірусів може бути якісною (гени резистентності, які спричинюють гіперчутливість або стійкість до поширення вірусу) або кількісною (резистентність до вірусного розмноження й поширення, польова стійкість та толерантність до захворювань) [115].

#### ***Особливості молекулярно-генетичних противірусних механізмів.***

Базовою захисною антивірусною реакцією рослин на молекулярно-генетичному рівні є так званий сайленсинг РНК — транскрипційне (ТГГ) метилування і репресія транскрипції цільових ДНК та пост-транскрипційний сайленсинг генів (ПТГГ) — полягає у розрізанні цільових ДНК або супресії їх трансляції. У цьому механізмі задіяні специфічні рослинні мікроРНК (міРНК), які регулюють експресію генів, що кодують ферменти сайленсингу РНК або інші захисні білки [116]. Важливим компонентом антивірусного сайленсингу РНК є РНК-залежна РНК-полімераза1 (RDR1) експресія, якої посилюється екзогенним застосуванням фітогормонів [9].

Вроджений імунітет рослин заснований на розпізнаванні певного домену або мотиву, присутнього в патогенних ефекторних молекулах, за допомогою нуклеотидзв'язувального повтору (NB-LRR) родини імунних рецепторів. Захисна реакція, опосередкована хлоропластами через розпізнавання патогенів, як у випадку ETI, створює сценарій двоскладних проблем, оскільки, по-перше, потребує локалізації рецепторного або еліситорного білкового компонента органели, а по-друге, їй потрібно надіслати ретроградний сигнал до ядра для виклику наступної відповіді захисту. Відомо про локалізацію у хлоропластах близько 22 рецепторів розпізнавання збудників, а також існування нехлоропластних рецепторів, опосередкованих хлоропластними білками [9]. При розпізнаванні патогена структура хлоропласта зазнає загальних змін, NRIP1 вивільняється в цитоплазму і пере-програмує транскрипційний план захисту хазяїна [9].

Отже, для розробки нових стратегій захисту польових культур від вірусів перспективним напрямом є дослідження механізмів толерантності рослин до вірусів, що поширена в диких екосистемах, як моделі, з наступним застосуванням її переваг у агроекосистемах (зокрема захист рослин від суперінфекції вірулентними вірусами).

**Висновок.** Рослини та їх асиміляти є джерелом живлення для фітопатогенних мікроорганізмів і останні залежать від змін рослинного метаболізму для свого існування та відтворення. Загальною

стратегією дії фітопатогенів є перепрограмування метаболізму рослини на свою користь з метою живлення і співіснування у такій патосистемі (біотрофний чи частково гемібіотрофний спосіб паразитування), або повного використання рослини, що призводить до її швидкої загибелі (частково гемібіотрофний або сапротрофний спосіб паразитування). У відповідь на складні захисні механізми конституційного та індукованого імунітету рослин, збудники розвинули механізми інгібування імунітету, зокрема шляхом молекулярної мімікрії.

Цілком зрозуміло, що фактори вірулентності фітопатогенних збудників різних таксономічних груп істотно різняться. Однак різні фітопатогени мають загальні ключові напрями впливу. Так, знайдено докази, що хлоропласт є важливою мішенню для різних фітопатогенів (бактерій, вірусів та ін.). Припускається, що існуючий в рослинах шлях, який зв'язує плазматичну мембрану з хлоропластами і бере участь в активації механізмів захисту, був кооптований патогенами з різних царств під час спільної еволюції патосистеми хазяїн—патоген та використовується ними для сприяння вірулентності через придушення СК-залежного захисту. Водночас не дослідженим залишається питання чи є хлоропласти мішенями для ефекторів фітоплазм, або вони пошкоджуються внаслідок перепрограмування рослинного метаболізму внаслідок транслокації ефекторних протеїнів у ядро.

Такі дослідження є вкрай актуальними для розробки новітніх технологій захисту культурних рослин від хвороб на противагу хімічним. Зокрема, перспективним є відкриття сполук, які модулюють експресію системи секреції III (T3SS) в основних рослинних бактеріальних патогенів і є її інгібіторами. З огляду на це можливе використання такої системи секреції як мішені для інгібування бактеріального патогенезу. Проте крім спроможності контролювати захворювання, слід контролювати та оцінювати вплив інгібіторів T3SS на рослину-хазяїна та мікробіоми сільськогосподарських рослин. Важливо оцінити стабільність і ефективність інгібіторів T3SS та їх здатність обмежувати патогенез збудників у польових умовах. Також, за оцінки впливу моделей захисту рослин, слід зважати на наслідки глобальних змін клімату, що ще раз підкреслює важливість проведення пролонгованих багаторічних досліджень на культурних рослинах різних видів у польових умовах.

#### REFERENCES

1. Hvozdiak, R.I., Pasichnyk, L.A., Yakovleva, L.M., Moroz, S.M., Lytvynchuk, O.A., Zhytkevych, N.V., Khodos, S.F., Butsenko, L.M., Dankevych, L.A., Hrynyk, I.V. & Palyka, V.P. (2011). *Fitopatohenni bakterii. Bakterialni khvoroby roslyn: monohrafiia*. T. 1. Palyka, V.P. (Ed.). Kyiv: TOV NVP Interservis [in Ukrainian].
2. Carezzano, M.E., Paletti Rovey, M.F., Cappellari, Ld.R., Gallarato, L.A., Bogino, P., Oliva, Mdl.M. & Giordano, W. (2023). Biofilm-forming ability of phytopathogenic bacteria: a review of its involvement in plant stress. *Plants*. 12 (11), 2207. <https://doi.org/10.3390/plants12112207>
3. Zhang, Y., Zhang, A., Li, X. & Lu, C. (2020). The role of chloroplast gene expression in plant responses to environmental stress. *Int. J. Mol. Sci.*, 21(17), 6082. <https://doi.org/10.3390/ijms21176082>
4. Singh, K., Wegulo, S.N., Skoracka, A. & Kundu, J.K. (2018). Wheat streak mosaic virus: a century old virus with rising importance worldwide. *Mol. Plant Pathol.*, 19 (9), pp. 2193-2206. <https://doi.org/10.1111/mpp.12683>



5. Namba, S. (2019). Molecular and biological properties of phytoplasmas. *Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci.*, 95 (7), pp. 401-418. <https://doi.org/10.2183/pjab.95.028>
6. Meena, K.K., Sorty, A.M., Bitla, U.M., Choudhary, K., Gupta, P., Pareek, A., Singh, D.P., Prabha, R., Sahu, P.K., Gupta, V.K., Singh, H.B. & Krishanani, K.K. (2017). Abiotic stress responses and microbe-mediated mitigation in plants: the omics strategies. *Front. Plant Sci.*, 8, 172. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00172>
7. Park, E., Nedo, A., Caplan, J.L. & Dinesh-Kumar, S.P. (2018). Plant-microbe interactions: organelles and the cytoskeleton in action. *New Phytol.*, 217, pp. 1012-1028. <https://doi.org/10.1111/nph.14959>
8. Janik, K., Mittelberger, C. & Moser, M. (2020). Lights out: the chloroplast under attack during Phytoplasma infection? In: *Ann. Plant Rev. Roberts, J. (Ed.)*. pp. 399-426. <https://doi.org/10.1002/9781119312994.apr0747>
9. Bhattacharyya, D. & Chakraborty, S. (2018). Chloroplast: the Trojan horse in plant-virus interaction. *Mol. Plant Pathol.*, 19 (2), pp.504-518. <https://doi.org/10.1111/mpp.12533>
10. Lu, Y. & Yao, J. (2018). Chloroplasts at the crossroad of photosynthesis, pathogen infection and plant defense. *Int. J. Mol. Sci.*, 19 (12), 3900. <https://doi.org/10.3390/ijms19123900>
11. Medina-Puche, L., Tan, H., Dogra, V., Wu, M., Rosas-Diaz, T., Wang, L., Ding, X., Zhang, D., Fu, X., Kim, C. & Lozano-Duran, R.A. (2020). Defense pathway linking plasma membrane and chloroplasts and Co-opted by pathogens. *Cell*, 182 (5), pp. 1109-1124. e25. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.07.020>
12. Littlejohn, G.R., Breen, S., Smirnov, N. & Grant, M. (2020). Chloroplast immunity illuminated. *New Phytol.*, 229 (6), pp. 3088-3107. <https://doi.org/10.1111/nph.17076>
13. Xu, Q., Tang, C., Wang, X., Sun, S., Zhao, J., Kang, Z. & Wang, X. (2019). An effector protein of the wheat stripe rust fungus targets chloroplasts and suppresses chloroplast function. *Nat. Commun.*, 10, 5571. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-13487-6>
14. Rosas-Diaz, T., Zhang, D., Fan, P., Wang, L., Ding, X., Jiang, Y., Jimenez-Gongora, T., Medina-Puche, L., Zhao, X., Feng, Z., Zhang, G., Liu, X., Bejarano, E.R., Tan, L., Zhang, H., Zhu, J.-K., Xing, W., Faulkner, C., Nagawa, S. & Lozano-Duran, R. (2018). A virus-targeted plant receptor-like kinase promotes cell-to-cell spread of RNAi. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 115, pp. 1388-1393. <https://doi.org/10.1073/pnas.1715556115>
15. Gao, C., Xu, H., Huang, J., Sun, B., Zhang, F., Savage, Z., Duggan, C., Yan, T., Wu, C.H., Wang, Y., Vleeshouwers, V.G.A.A., Kamoun, S., Bozkurt, T.O. & Dong, S. (2020). Pathogen manipulation of chloroplast function triggers a light-dependent immune recognition. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 117. <https://doi.org/10.1073/pnas.2002759117>
16. Lee, D.W., Lee, S., Oh, Y.J. & Hwang, I. (2009). Multiple sequence motifs in the rubisco small subunit transit peptide independently contribute to Toc 159-dependent import of proteins into chloroplasts. *Plant Physiol.*, 151 (1), pp. 129-141. <https://doi.org/10.1104/pp.109.140673>
17. Nellaepalli, S., Lau, A.S. & Jarvis, R.P. (2023). Chloroplast protein translocation pathways and ubiquitin-dependent regulation at a glance. *J. Cell Sci.* 136, jcs241125. <https://doi.org/10.1242/jcs.241125>
18. Chen, K., Khatabi, B. & Fondong, V.N. (2019). The AC4 protein of a cassava geminivirus is required for virus infection. *Mol. Plant Microb. Int.* 32 (7), pp. 865-875. <https://doi.org/10.1094/MPMI-12-18-0354-R>
19. Fondong, V.N., Reddy, R.V., Lu, C., Hankoua, B., Felton, C., Czymmek, K. & Achenjang, F. (2007). The consensus N-myristoylation motif of a geminivirus AC4 protein is required for membrane binding and pathogenicity. *Mol. Plant Microb. Int.* 20 (4), pp. 380-391. <https://doi.org/10.1094/MPMI-20-4-0380>
20. Traverso, J.A., Meinel, T. & Giglione, C. (2008). Expanded impact of protein N-myristoylation in plants. *Plant Signal Behav.* 3 (7), pp. 501-502. <https://doi.org/10.4161/psb.3.7.6039>
21. Adriotis, V.M.E. & Rathjen, J.P. (2006). The Pto kinase of tomato, which regulates plant immunity, is repressed by its myristoylated N terminus. *J. Biol. Chem.* 281, pp. 26578-26586. <https://doi.org/10.1074/jbc.M603197200>
22. Gohre, V. (2015). Photosynthetic defence. *Nature Plants*, 1, 15079. <https://doi.org/10.1038/nplants.2015.79>

23. Kangasjärvi, S., Neukermans, J., Li, S., Aro, E.M. & Noctor, G. (2012). Photosynthesis, photorespiration, and light signalling in defence responses. *J. Exp. Bot.* 63 (4), pp. 1619-1636. <https://doi.org/10.1093/jxb/err402>
24. Li, P., Lu, Y.J., Chen, H. & Day, B. (2020). The lifecycle of the plant immune system. *CRC Crit. Rev. Plant Sci.*, 39, pp. 72-100. <https://doi.org/10.1080/07352689.2020.1757829>
25. Henry, E., Toruño, T.Y., Jauneau, A., Deslandes, L. & Coaker, G. (2017). Direct and indirect visualization of bacterial effector delivery into diverse plant cell types during infection. *The Plant Cell*, 29 (7), pp. 1555-1570. <https://doi.org/10.1105/tpc.17.00027>
26. Xin, X.F. & He, S.Y. (2013). *Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000: A model pathogen for probing disease susceptibility and hormone signaling in plants. *Annu. Rev. Phytop.*, 51, pp. 473-498. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102321>
27. Toruño, T.Y., Stergiopoulos, I. & Coaker, G. (2016). Plant-pathogen effectors: Cellular probes interfering with plant defenses in spatial and temporal manners. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 54, pp. 419-441. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-100204>
28. Galan, J.E. & Wolf-Watz, H. (2006). Protein delivery into eukaryotic cells by type III secretion machines. *Nature*, 444, pp. 567-573. <https://doi.org/10.1038/nature05272>
29. Wagner, S., Grin, I., Malmshemer, S., Singh, N., Torres-Vargas, C.E. & Westerhausen, S. (2018). Bacterial type III secretion systems: a complex device for the delivery of bacterial effector proteins into eukaryotic host cells, *FEMS Microbiol. Lett.*, 365 (19), fny201. <https://doi.org/10.1093/femsle/fny201>
30. Xiaochen, Y., Yu, M. & Yang, C.-H. (2020). Innovation and application of the type III secretion system inhibitors in plant pathogenic bacteria. *Microorgan.*, 8 (12), 1956. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8121956>
31. Green, E.R. & Meccas, J. (2016). Bacterial secretion systems: an overview. *Microbiol. Spectr.*, 4, pp. 213-239. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0012-2015>
32. Durbin, R.D. (1991). Bacterial phytotoxins: mechanisms of action. *Experientia*, 47, pp. 776-783. <https://doi.org/10.1007/BF01922457>
33. Strange, R.N. (2007). Phytotoxins produced by microbial plant pathogens. *Nat. Prod. Rep.*, 24, pp. 127-144. <https://doi.org/10.1039/B513232K>
34. Duke, S.O. & Dayan, F.E. (2011). Modes of action of microbially-produced phytotoxins. *Toxins (Basel)*, 3 (8), pp. 1038-1064. <https://doi.org/10.3390/toxins3081038>
35. Uppalapati, S.R., Ayoubi, P., Weng, H., Palmer, D.A., Mitchell, R.E., Jones, W. & Bender, C.L. (2005). The phytotoxin coronatine and methyl jasmonate impact multiple phytohormone pathways in tomato. *Plant J.*, 42, pp. 201-217. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2005.02366>
36. Kang, Y., Jelenska, J., Cecchini, N.M., Li, Y., Lee, M.W., Kovar, D.R. & Greenberg, J.T. (2014). HopWI from *Pseudomonas syringae* disrupts the actin cytoskeleton to promote virulence in *Arabidopsis*. *PLoS Pathog.*, 10, e1004232. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004232>
37. Shimono, M., Lu, Y.J., Porter, K., Kvitko, B.H., Henty-Ridilla, J., Creason, A., He, S.Y., Chang, J.H., Staiger, C.J. & Day, B. (2016). The *Pseudomonas syringae* type III effector HopG1 induces actin remodeling to promote symptom development and susceptibility during infection. *Plant Physiol.*, 171 (3), pp. 2239-2255. <https://doi.org/10.1104/pp.16.01593>
38. Katsir, L., Schilmiller, A.L., Staswick, P.E., He, S.Y. & Howe, G.A. (2008). COI1 is a critical component of a receptor for jasmonate and the bacterial virulence factor coronatine. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 105, pp. 7100-7105. <https://doi.org/10.1073/pnas.0802332105>
39. Geng, X., Jin, L., Shimada, M., Kim, M.G. & Mackey, D. (2014). The phytotoxin coronatine is a multifunctional component of the virulence armament of *Pseudomonas syringae*. *Planta*, 240, pp. 1149-1165. <https://doi.org/10.1007/s00425-014-2151-x>
40. de Torres Zabala, M., Littlejohn, G., Jayaraman, S., Studholme, D., Bailey, T., Lawson, T., Tillich, M., Licht, D., Bolter, B., Delfino, L., Truman, W., Mansfield, J., Smirnov, N. & Grant, M. (2015). Chloroplasts play a central role in plant defence and are targeted by pathogen effectors. *Nature Plants*, 1, 15074. <https://doi.org/10.1038/nplants.2015.74>
41. Li, G., Froehlich, J.E., Elowsky, C., Msanne, J., Ostosh, A.C., Zhang, C., Awada, T. & Alfano, J.R. (2014). Distinct *Pseudomonas* type-III effectors use a cleavable transit

- peptide to target chloroplasts. *Plant J.*, 77, pp. 310-321. <https://doi.org/10.1111/tpj.12396>
42. Petre, B., Lorrain, C., Saunders, D.G.O., Win, J., Sklenar, J., Duplessis, S. & Kamoun, S. (2016). Rust fungal effectors mimic host transit peptides to translocate into chloroplasts. *Cell. Microbiol.*, 18, pp. 453-465. <https://doi.org/10.1111/cmi.12530>
  43. Sohn, K.H., Zhang, Y. & Jones, J.D. (2009). The *Pseudomonas syringae* effector protein, AvrRPS4, requires in planta processing and the KRVY domain to function. *Plant J.*, 57, pp. 1079-1091. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2008.03751.x>
  44. Soto, S.M. (2013). Role of efflux pumps in the antibiotic resistance of bacteria embedded in a biofilm. *Virulence.*, 4, pp. 223-229. <https://doi.org/10.4161/viru.23724>
  45. Singh, S., Singh, S.K., Chowdhury, I. & Singh, R. (2017). Understanding the mechanism of bacterial biofilms resistance to antimicrobial agents. *Open Microbiol. J.*, 11, pp. 53-62. <https://doi.org/10.2174/1874285801711010053>
  46. Hardham, A.R., Jones, D.A. & Takemoto, D. (2007). Cytoskeleton and cell wall function in penetration resistance. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 10, pp. 342-348. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2007.05.001>
  47. Boevink, P.C., Birch, P.R., Turnbull, D. & Whisson, S.C. (2020). Devastating intimacy: the cell biology of plant-Phytophthora interactions. *New Phytologist.*, 228, pp. 445-458. <https://doi.org/10.1111/nph.16650>
  48. Rojas, C.M., Senthil-Kumar, M., Tzin, V. & Mysore, K.S. (2014). Regulation of primary plant metabolism during plant-pathogen interactions and its contribution to plant defense. *Front. Plant Sci.*, 5, 17. <https://doi.org/10.3389/fpls.2014.00017>
  49. Gohre, V., Jones, A.M., Sklenar, J., Robatzek, S. & Weber, A.P. (2012). Molecular crosstalk between PAMP-triggered immunity and photosynthesis. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 25, pp. 1083-1092. <https://doi.org/10.1094/MPMI-11-11-0301>
  50. Jones, J.D. & Dangl, J.L. (2006). The plant immune system. *Nature.*, 444, pp. 323-329. <https://doi.org/10.1038/nature05286>
  51. van der Burgh, A.M. & Joosten, M. (2019). Plant immunity: thinking outside and inside the box. *Trends Plant Sci.*, 24, pp. 587-601. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2019.04.009>
  52. Havaux, M. (2014). Carotenoid oxidation products as stress signals in plants. *Plant J.*, 79, pp. 597-606. <https://doi.org/10.1111/tpj.12386>
  53. Zoeller, M., Stingl, N., Krischke, M., Fekete, A., Waller, F., Berger, S. & Mueller, M.J. (2012). Lipid profiling of the Arabidopsis hypersensitive response reveals specific lipid peroxidation and fragmentation processes: biogenesis of pimelic and azelaic acid. *Plant Physiol.*, 160, pp. 365-378. <https://doi.org/10.1104/pp.112.20284>
  54. Durrant, W.E. & Dong, X. (2004). Systemic acquired resistance. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 42, pp. 185-209. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.42.040803.140421>
  55. Zehra, A., Raytekar, N.A., Meena, M. & Swapnil, P. (2021). Efficiency of microbial bio-agents as elicitors in plant defense mechanism under biotic stress: A review. *Curr. Res. Microb. Sci.*, 2, 100054. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100054>
  56. Moustafa-Farag, M., Almoneafy, A., Mahmoud, A., Elkelish, A., Arnao, M.B., Li, L. & Ai, S. (2020). Melatonin and its protective role against biotic stress impacts on plants. *Biomol.*, 10, 54. <https://doi.org/10.3390/biom10010054>
  57. Orozco-Mosqueda, M.C., Fadji, A.E., Babalola, O.O. & Santoyo, G. (2023). Bacterial elicitors of the plant immune system: an overview and the way forward. *Plant Stress*, 7, 100138. <https://doi.org/10.1016/j.stress.2023.100138>
  58. Chiang, Yi-H. & Coaker, G. (2015). Effector triggered immunity: NLR immune perception and downstream defense responses. *Arabidopsis Book*, 13. <https://doi.org/10.1199/tab.0183>
  59. Coll, N.S., Epple, P. & Dangl, J.L. (2011). Programmed cell death in the plant immune system. *Cell. Death Differ.*, 18, pp. 1247-1256. <https://doi.org/10.1038/cdd.2011.37>
  60. Van Loon, L.C., Rep, M. & Pieterse, C.M. (2006). Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 44, pp. 135-162. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.44.070505.143425>
  61. Lim, C.W., Baek, W., Jung, J., Kim, J.-H. & Lee, S.C. (2015). Function of ABA in stomatal defense against biotic and drought stresses. *Int. J. Mol. Sci.*, 16, pp. 15251-15270. <https://doi.org/10.3390/ijms160715251>

62. Hsu, P.K., Dubeaux, G., Takahashi, Y. & Schroeder, J.I. (2021). Signaling mechanisms in abscisic acid-mediated stomatal closure. *Plant J.*, 105 (2), pp. 307-321. <https://doi.org/10.1111/tpj.15067>
63. Webb, A.A., Larman, M.G., Montgomery, L.T., Taylor, J.E. & Hetherington, A.M. (2001). The role of calcium in ABA-induced gene expression and stomatal movements. *Plant J.*, 26, pp. 351-362. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2001.01032.x>
64. de Torres Zabala, M., Bennett, M.H., Truman, W.H. & Grant, M.R. (2009). Antagonism between salicylic and abscisic acid reflects early host-pathogen conflict and moulds plant defence responses. *Plant J.*, 59, pp. 375-386. <https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2009.03875.x>
65. de Torres-Zabala, M., Truman, W., Bennett, M.H., Lafforgue, G., Mansfield, J.W., Rodriguez Egea, P., Bogre, L. & Grant, M. (2007). *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* hijacks the Arabidopsis abscisic acid signalling pathway to cause disease. *EMBO J.*, 26, pp. 1434-1443. <https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7601575>
66. Adie, B.A.T., Pérez-Pérez, J., Pérez-Pérez, M.M., Godoy, M., Sánchez-Serrano, J.-J., Schmelz, E.A. & Solano, R. (2007). ABA is an essential signal for plant resistance to pathogens affecting JA biosynthesis and the activation of defenses in Arabidopsis. *Plant Cell*, 19, pp. 1665-1681. <https://doi.org/10.1105/tpc.106.048041>
67. Wang, K.L.-C., Li, H. & Ecker, J.R. (2002). Ethylene biosynthesis and signaling networks. *Plant Cell*, 14, 1311. <https://doi.org/10.1105/tpc.001768>
68. Ceusters, J. & Van de Poel, B. (2018). Ethylene exerts species-specific and age-dependent control of photosynthesis. *Plant Physiol.*, 176 (4), pp. 2601-2612. <https://doi.org/10.1104/pp.17.01706>
69. Zielińska, M. & Michniewicz, M. (2001). The effect of calcium on the production of ethylene and abscisic acid by fungus *Fusarium culmorum* and by wheat seedlings infected with that pathogen. *Acta Physiol. Plant.*, 23, pp. 79-85. <https://doi.org/10.1007/s11738-001-0026-9>
70. Cao, F.Y., Yoshioka, K. & Desveaux, D. (2011). The roles of ABA in plant-pathogen interactions. *J. Plant Res.*, 124, pp. 489-499. <https://doi.org/10.1007/s10265-011-0409-y>
71. Melotto, M., Underwood, W. & He, S.Y. (2008). Role of stomata in plant innate immunity and foliar bacterial diseases. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 46, pp. 101-122. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.121107.104959>
72. Goritschnig, S., Weihmann, T., Zhang, Y., Fobert, P., McCourt, P. & Li, X. (2008). A novel role for protein farnesylation in plant innate immunity. *Plant Physiol.*, 148, pp. 348-357. <https://doi.org/10.1104/pp.108.117663>
73. Hoffman, T., Schmidt, J.S., Zheng, X. & Bent, A.F. (1999). Isolation of ethylene-insensitive soybean mutants that are altered in pathogen susceptibility and gene-for-gene disease resistance. *Plant Physiol.*, 119, pp. 935-950. <https://doi.org/10.1104/pp.119.3.935>
74. Wasternack, C. & Hause, B. (2013). Jasmonates: biosynthesis, perception, signal transduction and action in plant stress response, growth and development. An update to the 2007 review in *Annals of Botany*. *Ann. Bot.*, 111, pp. 1021-1058. <https://doi.org/10.1093/aob/mct067>
75. Andersson, M.X., Hamberg, M., Kourtchenko, O., Brunnstrom, A., McPhail, K.L., Gerwick, W.H., Gobel, C., Feussner, I. & Ellerstrom, M. (2006). Oxylipin profiling of the hypersensitive response in Arabidopsis thaliana: Formation of a novel oxo-phytodienoic acid-containing galactolipid, arabidopsid. *J. Biol. Chem.*, 281, pp. 31528-31537. <https://doi.org/10.1074/jbc.M604820200>
76. Truman, W., Bennett, M.H., Kubigsteltig, I., Turnbull, C. & Grant, M. (2007). Arabidopsis systemic immunity uses conserved defense signaling pathways and is mediated by jasmonates. *Proceed. Nat. Acad. Sci. USA.*, 104, pp. 1075-1080. <https://doi.org/10.1073/pnas.0605423104>
77. Matsuura, H., Takeishi, S., Kiatoka, N., Sato, C., Sueda, K., Masuta, C. & Nabeta, K. (2012). Transportation of de novo synthesized jasmonoyl isoleucine in tomato. *Phytochem.*, 83, pp. 25-33. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2012.06.009>
78. Zoeller, M., Stingl, N., Krischke, M., Fekete, A., Waller, F., Berger, S. & Mueller M.J. (2012). Lipid profiling of the Arabidopsis hypersensitive response reveals specific lipid peroxidation and fragmentation processes: biogenesis of pimelic and azelaic acid. *Plant Physiol.*, 2, 160, pp. 365-378. <https://doi.org/10.1104/pp.112.202846>

79. Ding, Y., Sun, T., Ao, K., Peng, Y., Zhang, Y., Li, X. & Zhang, Y. (2018). Opposite roles of salicylic acid receptors NPR1 and NPR3/NPR4 in transcriptional regulation of plant immunity. *Cell*, 173, pp. 1454-1467. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.03.044>
80. Zhang, Z.S., Xu, Y.Y., Xie, Z.W., Li, X.Y., He, Z.H. & Peng, X.X. (2016). Association-dissociation of glycolate oxidase with catalase in rice: a potential switch to modulate intracellular H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> levels. *Mol. Plant*, 9, pp. 737-748. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2016.02.002>
81. Petroustos, D., Busch, A., Janssen, I., Trompelt, K., Bergner, S.V., Weinl, S., Holtkamp, M., Karst, U., Kudla, J. & Hippler, M. (2011). The chloroplast calcium sensor CAS is required for photoacclimation in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant Cell*, 23, pp. 2950-2963. <https://doi.org/10.1105/tpc.111.087973>
82. Nomura, H., Komori, T., Uemura, S., Kanda, Y., Shimotani, K., Nakai, K., Furuichi, T., Takebayashi, K., Sugimoto, T., Sano, S., Suwastika, I.N., Fukusaki, E., Yoshioka, H., Nakahira, Y. & Shiina, T. (2012). Chloroplast-mediated activation of plant immune signalling in *Arabidopsis*. *Nat. Comm.*, 3, 926. <https://doi.org/10.1038/ncomms1926>
83. Shapiguzov, A., Vainonen, J.P., Wrzaczek, M. & Kangasjärvi, J. (2012). ROS-talk-how the apoplast, the chloroplast, and the nucleus get the message through. *Front. Plant Sci.*, 3, 292. <https://doi.org/10.3389/fpls.2012.00292>
84. Delledonne, M., Xia, Y., Dixon, R.A. & Lamb, C. (1998). Nitric oxide functions as a signal in plant disease resistance. *Nature*, 394, pp. 585-588. <https://doi.org/10.1038/29087>
85. Yang, J., Liao, Y.J., Ning, J., Wang, J.Z., Wang, H. & Ren, Z.G. (2020). Identification of a phytoplasma associated with *Syringa reticulata* witches' broom disease in China. *Forest Pathol.*, 50, e12592. <https://doi.org/10.1111/efp.12592>
86. Xiao-Yan, W., Rong-Yue, Z., Jie, L., Yin-Hu, L., Hong-Li, S., Wen-Feng, L. & Ying-Kun, H. (2022). The diversity, distribution and status of phytoplasma diseases in China. *Front. Sust. Food Syst.*, 6. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2022.943080>
87. Wang, N., Li, Y., Chen, W., Yang, H.Z., Zhang, P.H. & Wu, Y.F. (2018). Identification of wheat blue dwarf phytoplasma effectors targeting plant proliferation and defence responses. *Plant Pathol.*, 67, 3. <https://doi.org/10.1111/ppa.12786>
88. Jurga, M. & Zwolińska, A. (2020). Phytoplasmas in Poaceae species: a threat to the most important cereal crops in Europe. *J. Plant Pathol.*, 102 (2), pp. 287-297. <https://www.jstor.org/stable/48741408>
89. Hogenhout, S.A., Oshima, K., Ammar, El-D., Kakizawa, S., Kingdom, H.N. & Namba, S. (2008). Phytoplasmas: bacteria that manipulate plants and insects. *Mol. Plant Pathol.*, 9, pp. 403-423. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2008.00472.x>
90. Perilla-Henao, L.M. & Casteel, C.L. (2016). Vector-borne bacterial plant pathogens: interactions with hemipteran insects and plants. *Front. Plant Sci.*, 7, 1163. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01163>
91. Kube, M., Mitrovic, J., Duduk, B., Rabus, R. & Seemuller, E. (2012). Current view on phytoplasma genomes and encoded metabolism. *Sci. World J.*, 185942. <https://doi.org/10.1100/2012/185942>
92. Bai, X., Zhang, J., Ewing, A., Miller, S.A., Jancso Radek, A., Shevchenko, D.V., Tsukerman, K., Walunas, T., Lapidus, A., Campbell, J.W. & Hogenhout, S.A. (2006). Living with genome instability: the adaptation of phytoplasmas to diverse environments of their insect and plant hosts. *J. Bacteriol.*, 188, pp. 3682-3696. <https://doi.org/10.1128/JB.188.10.3682-3696.2006>
93. Minato, N., Himeno, M., Hoshi, A., Maejima, K., Komatsu, K., Takebayashi, Y., Kasahara, H., Yusa, A., Yamaji, Y., Oshima, K., Kamiya, Y. & Namba, S. (2014). The phytoplasma virulence factor TENGU causes plant sterility by downregulating of the jasmonic acid and auxin pathways. *Sci. Rep.*, 4, 7399. <https://doi.org/10.1038/srep07399>
94. Kakizawa, S., Oshima, K., Ishii, Y., Hoshi, A., Maejima, K., Jung, H.-Y., Yamaji, Y. & Namba, S. (2009). Cloning of immunodominant membrane protein genes of phytoplasmas and their in planta expression. *FEMS Microbiol. Lett.*, 293, pp. 92-101. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2009.01509.x>
95. Bertaccini, A. (2022). Plants and phytoplasmas: when bacteria modify plants. *Plants.*, 11 (11), 1425. <https://doi.org/10.3390/plants11111425>
96. Dermastia, M., Tomaz, S., Strah, R., Lukan, T., Coll, A., Dusak, B., Anzic, B., Cepin, T., Wienkoop, S., Kladnik, A., Zagorscak, M., Riedle-Bauer, M., Schonhuber, C.,

- Weckwerth, W., Gruden, K., Roitsch, T., Pompe Novak, M. & Brader, G. (2023). Candidate pathogenicity factor/effector proteins of 'Candidatus *Phytoplasma solani*' modulate plant carbohydrate metabolism, accelerate the ascorbate-glutathione cycle, and induce autophagosomes. *Front. Plant Sci.*, 14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1232367>
97. Huang, W., MacLean, A.M., Sugio, A., Maqbool, A., Busscher, M., Cho, S.T., Kamoun, S., Kuo, C.H., Immink, R.G.H. & Hogenhout, S.A. (2021). Parasitic modulation of host development by ubiquitin-independent protein degradation. *Cell.*, 184 (20), pp. 5201-5214. e12. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2021.08.029>
98. Kenro, O., Kensaku, M. & Shigetou, N. (2013). Genomic and evolutionary aspects of phytoplasmas. *Front. Microbiol.*, 4. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00230>
99. Buoso, S., Pagliari, L., Musetti, R., Martini, M., Marroni, F., Schmidt, W. & Santi, S. (2019). 'Candidatus *phytoplasma solani*' interferes with the distribution and uptake of iron in tomato. *BMC Genom.*, 20, 703. <https://doi.org/10.1186/s12864-019-6062-x>
100. Xue, C., Liu, Z., Dai, L., Bu, J., Liu, M., Zhao, Z., Jiang, Z., Gao, W. & Zhao, J. (2018). Changing host photosynthetic, carbohydrate, and energy metabolisms play important roles in phytoplasma infection. *Phytopathology*, 108. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-02-18-0058-R>
101. Dermastia, M., Kube, M. & Seruga Music, M. (2019). Transcriptomic and proteomic studies of phytoplasma-infected plants. In: *Phytoplasmas: Plant Pathogenic Bacteria — III: Genomics, Host Pathogen Interactions and Diagnosis*. Bertaccini, A., Oshima, K., Kube, M. & Rao, G.-P. (Eds.). Singapore: Springer Nature. [https://doi.org/10.1007/978-981-13-9632-8\\_3](https://doi.org/10.1007/978-981-13-9632-8_3)
102. Zhao, Y., Liu, Q.Z. & Davis, R.E. (2004). Transgene expression in strawberries driven by a heterologous phloem-specific promoter. *Plant Cell Rep.*, 23, pp. 224-230. <https://doi.org/10.1007/s00299-004-0812-0>
103. Lemoine, R., La Camera, S., Atanassova, R., Dédaldéchamp, F., Allario, T., Pourtau, N., Bonnemain, J.L., Laloi, M., Coutos-Thévenot, P., Maurousset, L., Faucher, M., Girousse, C., Lemonnier, P., Parrilla, J. & Durand, M. (2013). Source-to-sink transport of sugar and regulation by environmental factors. *Front. Plant Sci.*, 4, 272. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00272>
104. Reveles-Torres, L.R., Velásquez-Valle, R., Salas-Muñoz, S., Mauricio-Castillo, J.A., Esqueda-Dávila, K.C.J. & Herrera, M.D. (2018). Candidatus *Phytoplasma trifolii* (16SrVI) infection modifies the polyphenols concentration in pepper (*Capsicum annuum*) plant tissues. *J. Phytopathol.*, 166(7/8), pp. 555-564. Retrieved from: <https://onlinelibrary.wiley.com/journal/14390434>
105. Velásquez-Valle, R., Villa-Ruanob, N., Hidalgo-Martínez, D., Zepeda-Vallejod, L.G., Pérez-Hernández, N., Reyes-López, C.A., Reyes-Cervantes, E., Medina-Melchor, D.L. & Becerra-Martínez, E. (2020). Revealing the <sup>1</sup>H NMR metabolome of mirasol chili peppers (*Capsicum annuum*) infected by Candidatus *Phytoplasma trifolii*. *Food Res. Int.*, 131108863. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108863>
106. Ding, Y., Wu, W., Wei, W., Davis, R. E., Lee, I. M., Hammond, R. W., Sheng, J. P., Shen, L., Jiang, Y. & Zhao, Y. (2013). Potato purple top phytoplasma-induced disruption of gibberellin homeostasis in tomato plants. *Ann. Appl. Biol.*, 162 (1), pp. 131-139. <https://doi.org/10.1111/aab.12008>
107. Ding, Y., Wei, W., Wu, W., Davis, R.E., Jiang, Y., Lee, I.M., Hammond, R.W., Shen, L., Sheng, J.P. & Zhao, Y. (2013). Role of gibberellic acid in tomato defence against potato purple top phytoplasma infection. *Ann. Appl. Biol.*, 162 (2), pp. 191-199. <https://doi.org/10.1111/aab.12011>
108. Wei, W., Inaba, J., Zhao, Y., Mowery, J.D. & Hammond, R. (2022). Phytoplasma infection blocks starch breakdown and triggers chloroplast degradation, leading to premature leaf senescence, sucrose reallocation, and spatiotemporal redistribution of phytohormones. *Int. J. Mol. Sci.*, 23 (3), 1810. <https://doi.org/10.3390/ijms23031810>
109. Wang, Q., Guo, Y., Wang, N., Li, Y., Chen, W., Chen, W. & Wu, Y. (2014). Identification of a conserved core genome with group-specific genes from comparative genomics of ten different Candidatus *Phytoplasma* strains. *J. Phytopathol.*, 162, pp. 650-659. <https://doi.org/10.1111/jph.12239>
110. Bai, X., Correa, V.R., Toruno, T.Y., Ammar, El-D., Kamoun, S. & Hogenhout, S.A. (2009). AY-WB phytoplasma secretes a protein that targets plant cell nuclei. *Mol. Plant Microb. Interact.*, 22, pp. 18-30. <https://doi.org/10.1104/pp.111.181586>

111. Mittelberger, C., Stellmach, H., Hause, B., Kerschbamer, C., Schlink, K., Letschka, T. & Janik, K. (2019). A novel effector protein of apple proliferation phytoplasma disrupts cell integrity of *Nicotiana* spp. protoplasts. *Int. J. Mol. Sci.*, 18, 20 (18), 4613. <https://doi.org/10.3390/ijms20184613>
112. Wang, R., Bai, B., Li, D., Wang, J., Huang, W., Wu, Y. & Zhao, L. (2024). Phytoplasma: a plant pathogen that cannot be ignored in agricultural production — research progress and outlook. *Mol. Plant Pathol.*, 25 (2), e13437. <https://doi.org/10.1111/mpp.13437>
113. Strohmayer, A., Moser, M., Si-Ammour, A., Krczal, G. & Boonrod, K. (2019). 'Candidatus Phytoplasma mali' genome encodes a protein that functions as a E3 Ubiquitin Ligase and could inhibit plant basal defense. *Mol. Plant-Microbe Interac.*, 32, pp. 1487-1495. <https://doi.org/10.1094/MPMI-04-19-0107-R>
114. Bai, B., Zhang, G., Li, Y., Wang, Y., Sujata, S., Zhang, X., Wang, L., Zhao, L. & Wu, Y. (2022). The 'Candidatus Phytoplasma tritici' effector SWP12 degrades the transcription factor TaWRKY74 to suppress wheat resistance. *Plant J.*, 112 (6), pp. 1473-1488. <https://doi.org/10.1111/tpj.16029>
115. Yadav, S. & Chhibbar, A.K. (2018). Plant-virus interactions. In: Singh, A., Singh, I. (Eds.). *Mol. Aspect. Plant-Pathogen Int.* Springer, Singapore. [https://doi.org/10.1007/978-981-10-7371-7\\_3](https://doi.org/10.1007/978-981-10-7371-7_3)
116. Paudel, D.B. & Sanfazon, H. (2018). Exploring the diversity of mechanisms associated with plant tolerance to virus infection. *Front. Plant Sci.*, 9, 1575. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01575>
117. Gnanasekaran, P., Ponnusamy, K. & Chakraborty, S. (2019). A geminivirus betasatellite encoded  $\beta$ C1 protein interacts with PsbP and subverts PsbP-mediated antiviral defence in plants. *Mol. Plant Pathol.* 20, pp. 943-960. <https://doi.org/10.1111/mpp.12804>
118. Bhattacharyya, D., Gnanasekaran, P., Kumar, R.K., Kushwaha, N.K., Sharma, V.K., Yusuf, M.A. & Chakraborty, S.A. (2015). Geminivirus betasatellite damages the structural and functional integrity of chloroplasts leading to symptom formation and inhibition of photosynthesis. *J. Exp. Bot.*, 66 (19), pp. 5881-5895. <https://doi.org/10.1093/jxb/erv299>
119. Seo, E.Y., Nam, J., Kim, H.S., Park, Y.H., Hong, S.M., Lakshman, D., Bae, H., Hammond, J. & Lim, H.S. (2014) Selective interaction between chloroplast  $\beta$ -ATPase and TGBIL88 retards Server symptoms caused by *Alternanthera* mosaic virus infection. *Plant Pathol. J.*, 30, pp. 58-67. <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.09.2013.0097>
120. Karjee, S., Islam, M.N. & Mukherjee, S.K. (2008). Screening and identification of virus-encoded RNA silencing suppressors. *Method. Mol. Biol.*, 442, pp. 187-203. [https://doi.org/10.1007/978-1-59745-191-8\\_14](https://doi.org/10.1007/978-1-59745-191-8_14)

Received 16.05.2024

CELLULAR, PHYSIOLOGICAL-BIOCHEMICAL AND MOLECULAR-GENETIC MECHANISMS OF THE INTERACTION OF PLANTS AND DISEASES AGENTS OF VARIOUS TAXONOMIC GROUPS

*H.B. Huliaieva*

Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine  
154 Akademika Zabolotnoho St., Kyiv, 03143, Ukraine  
e-mail: ab\_k@ukr.net

The review highlights the current state and prospects of research on the interaction in the pathosystem between plants and pathogens of various taxonomic groups (bacteria, phytoplasmas, and viruses) at the cellular, physiological-biochemical, and molecular-genetic levels. Attention is paid to the features and mechanisms of action of the most common virulence factors of these pathogens, namely: secretion systems and effector proteins secreted by them (in phytopathogenic bacteria and phytoplasmas), phytotoxins (in phytopathogenic bac-

teria). It is shown that unlike bacteria and phytoplasmas, different viruses do not have the same strategy for transporting nucleic acids and effector proteins into the chloroplast. In general, targeting and damaging the chloroplast is believed to be one of the key steps in successful both bacterial and viral infection. This is evidenced by the effector proteins found in bacteria, viruses, and other pathogens with N-terminal chloroplast localization domains, thanks to which these proteins are transported into the middle of the organelle, causing structural and functional changes. An unsolved question in this direction remains: whether the chloroplast is a target for effector proteins of phytoplasma or they are damaged due to plant metabolism reprogramming through the translocation of their effectors to the nucleus. Disturbances of plant metabolism at different levels of the organization due to the infectious effect of these pathogens are considered. The peculiarities of the plant defense mechanisms of the induced immune response, which are activated in the case of pathogen penetration, are briefly considered. In this regard, the regulatory function of phytohormones and other signaling molecules ( $H_2O_2$ , NO,  $Ca^{2+}$  ions) in the initiation of protective mechanisms is briefly considered. Attention is paid to the strategies of pathogens to interfere with the metabolism of the host plant and inhibit immunity, one of which is molecular mimicry (for example, functional analogs of signaling molecules). These and further studies in this direction are relevant for the development of new approaches to plant protection against a wide range of phytopathogens, in particular with the aim of creating strategies to protect chloroplasts from penetration and subsequent inhibition of the immune response by effector proteins. In this regard, the study of the regulatory mechanisms of the secretion system III (T3SS), the most widespread in bacteria, and the discovery of a group of compounds of different nature that are inhibitors of this system are described. A model is considered that involves the use of the T3SS system as a target for inhibiting bacterial pathogenesis. An in-depth study of regulatory systems, localization, transport mechanisms and molecular targets of virulence factors of phytopathogens of different taxonomic groups is also important in this sense. However, the creation of a new generation of protective models based on the results of these studies is an open question, since their verification and approval in field conditions is necessary to evaluate their effectiveness. Such studies are becoming increasingly relevant due to the lack of effective means to combat phytopathogens of various taxonomic groups, and in contrast to chemical protection means, which can cause mutational variability of phytopathogenic microorganisms.

*Key words:* bacteria, phytoplasmas, viruses, host plant, chloroplast, phytoimmunity, phytohormones, secretion systems, virulence.

#### ORCID

Г.Б. ГУЛЯЄВА — H.B. Huliaieva <https://orcid.org/0000-0002-3302-5832>