

Сумський державний педагогічний університет імені А. С. Макаренка

Природничо-географічний факультет

Кафедра загальної біології та методики навчання біології

Москаленко М.П.

## **ФІТОІМУНІТЕТ: МЕХАНІЗМИ ТА ЗАСОБИ**

Навчальний посібник

Суми - 2025

УДК: 632.938:581.2

Друкується згідно з рішенням вченої ради Сумського державного педагогічного університету імені А.С. Макаренка

(протокол № 11 від 26.05.2025 р.)

***Укладач:***

**М. П. Москаленко**, кандидат біологічних наук, доцент кафедри біології та методики навчання біології Сумського державного педагогічного університету імені А.С. Макаренка

***Рецензенти:***

**О.М. Ковальчук**, доктор біологічних наук, старший дослідник, провідний науковий співробітник відділу палеонтології Національного науково-природничого музею Національної академії наук України

**В.Г. Скляр**, доктор біологічних наук, професор, завідувач кафедри ботаніки та екології Сумського національного аграрного університету

**Москаленко М. П.**

Фітоімуітет: механізми та засоби. Навчальний посібник розрахований для студентів закладів вищої освіти спеціальності А4 Середня освіта (Біологія та здоров'я людини) і 091 Біологія та біохімія / укладач М. П. Москаленко. – Суми: ФОП Цьома С.П., 2025. – 106 с.

Навчальний посібник складено у відповідності з програмою курсу «Фітоімунологія» за спеціальністю А4 Середня освіта (Біологія та здоров'я людини) і 091 Біологія та біохімія.

© Москаленко М.П., 2025

© ФОП Цьома С.П., 2025

© СумДПУ імені А.С. Макаренка, 2025

## ЗМІСТ

ПЕРЕДМОВА.....	4
РОЗДІЛ 1. РОЗВИТОК УЯВЛЕНЬ ПРО ПРИРОДУ СТІЙКОСТІ (ІМУНІТЕТ) РОСЛИН.....	5
РОЗДІЛ 2. КОНЦЕПЦІЇ «ГЕН-НА-ГЕН» ТА ДВОХ РІВНІВ ІМУНІТЕТУ РОСЛИН .....	14
РОЗДІЛ 3. ПОПЕРЕДНІ СТРУКТУРНІ МЕХАНІЗМИ ЗАХИСТУ .....	22
РОЗДІЛ 4. МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ РОЗПІЗНАВАННЯ ПАТОГЕНІВ .....	36
РОЗДІЛ 5. ІНФІКУВАННЯ РОСЛИН РІЗНИМИ ПАТОГЕНАМИ .....	51
5.1 Фітопатогенні віруси .....	60
5.2 Технологія CRISPR-CAS .....	67
5.3 Бактеріальні патогени .....	69
5.4 Гриби як збудники хвороб рослин .....	76
5.5 Нематоди та тлі .....	82
РОЗДІЛ 6. ІМУННІ ВІДПОВІДІ, СПРОВОКОВАНІ ПАТОГЕНАМИ .....	85
6.1 Індуковане гістологічне захисне реагування .....	89
6.2 Індукований клітинний захист .....	91
6.3 Індуковані біохімічні зміни .....	93
6.4 Хімія імунних відповідей рослин .....	99
6.5 Ефекторно-опосередкований імунітет (ETI) .....	100
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ .....	104

## ПЕРЕДМОВА

Навчальний посібник «Фітоімунітет: механізми та засоби» пропонується студентам спеціальностей А4 Середня освіта (Біологія та здоров'я людини) та 091 Біологія і біохімія.

Мета цього посібника – сформувати у здобувачів вищої освіти знання про одну з важливих властивостей рослинного організму - фітоімунітет, тобто його здатність підтримувати антиген-структурний гомеостаз протягом життя. Посібник розкриває фактори, механізми та умови, необхідні для реалізації цієї здатності, задля орієнтації студентів у складній системі біологічних досліджень і практичного застосування отриманих знань у майбутній професійній діяльності. Матеріал посібника охоплює ключові розділи програми навчальної дисципліни «Фітоімунологія» та має логічну й послідовну структуру. Розглянуто місце фітоімунології в системі сучасних напрямів біологічних досліджень.

Структура та зміст посібника спрямовані на формування знань про природу стійкості рослин; молекулярні механізми взаємодії рослин із мікроорганізмами різних систематичних груп; процеси формування хвороб рослин; адаптивні реакції, які забезпечують рослинам базові природні імунні захисні механізми проти мікробних патогенів.

Опанувавши програму курсу «Фітоімунологія» за допомогою цього посібника, здобувачі вищої освіти повинні вміти визначати анатомо-морфологічні, фізіологічні та біохімічні особливості й механізми базального та індукованого фітоімунітету. Посібник повинен допомогти здобувачам освіти засвоїти загальні принципи реалізації фітоімунітету; навчити самостійно інтерпретувати закономірності та результати фітоімунологічних досліджень; сформувати знання про фактори та механізми, що зумовлюють стійкість рослин до хвороб; навчити узагальнювати експериментальні дані у сфері імунітету рослин; використовувати здобуті знання під час виконання лабораторних робіт.

## РОЗДІЛ 1

### РОЗВИТОК УЯВЛЕНЬ ПРО ПРИРОДУ СТІЙКОСТІ (ІМУНІТЕТ) РОСЛИН

**Імунітет рослин** – система захисних реакцій рослин, спрямованих на протистояння інфекційним хворобам та підтримання структурної і функціональної цілісності організму. **Фітоімунологія** – це наука про стійкість рослин до інфекційних хвороб та шкідників. Актуальність наукових досліджень в даній галузі зпвжди є актуальними через те, що фітопатогени становлять серйозну глобальну загрозу для сільськогосподарського виробництва. Для забезпечення населення продовольством застосовують два взаємопов'язані підходи: підвищення врожайності рослин за допомогою селекції, мутагенезу, генетичної інженерії та використання добрив, зокрема біологічних; а також зменшення втрат врожаю, спричинених шкідниками й захворюваннями рослин. Тривале використання хімічних пестицидів призводить до порушення екосистемного балансу, змінюють видовий склад мікробіоти та знищують запилювачів рослин. Коли через токсичний вплив пестицидів звільняється екологічна ніша корисних мікроорганізмів, її часто займають фітопатогенні мікроорганізми. Після тривалого використання пестицидів патогени адаптуються, набувають резистентності до них. Інфікування рослин супроводжується різноманітними симптомами, які згодом призводять до старіння, загнивання й загибелі рослин. Щоб вижити у взаємодії з шкідливими організмами, рослини повинні долати патогенетичні механізми, які призводять до розвитку хвороби. Рослини еволюціонували, виробивши різні механізми захисту від мікробних інфекцій. Ці механізми захисту або імунітет називають базальною стійкістю, що охоплює два різні аспекти взаємодії рослин із патогенами: конститутивний (фізичні бар'єри для патогенів) та індукований (неспецифічні захисні реакції, спричинені патогенами).

Як і кожний напрям наукових досліджень, історія про стійкість рослин до інфікування та патогенів (рослинний імунітет) пройшла складний і довгий шлях. Різну стійкість злаків щодо іржі відмічали ще Теофаст і Пліній.

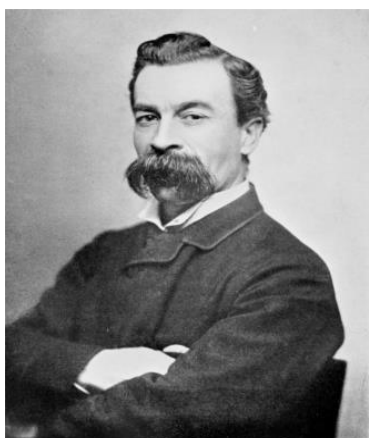


Натан Кобб (США). Теорія **структурного (або механічного) імунітету** (1892 рік), запропонована вченим на ім'я Натан Кооб, пояснювала стійкість рослин до патогенів особливістю їхньої анатомічної будови та фізичних бар'єрів. Вона підкреслювала, що імунітет рослин обумовлений в першу чергу їх структурними особливостями, що ускладнюють проникнення збудників у тканини, а не лише біохімічними реакціями. Якщо рослина має добре розвинені механічні бар'єри (товсту кутикулу, восковий наліт, щільно розташовані клітини епідермісу, особливості міжклітинного простору, лігніфікацію механічних тканин) це значно ускладнює інфікування, навіть якщо патоген здатний проникати в інші менш захищені види.

Ораціо Комес – італійський ботанік та фітопатолог у 1903 році запропонував **кислотну теорію стійкості рослин**, згідно з якою кислотність клітинного соку впливає на сприйнятливість або стійкість рослин до патогенних мікроорганізмів. Комес припустив, що рівень рН у клітині впливає на здатність рослин протистояти патогенам. Висока кислотність (низький рН) могла пригнічувати розвиток патогенних грибів і бактерій. Низька кислотність (високий рН) робила рослини більш вразливими до інфекцій. Він спостерігав, що у стійких рослин клітинний сік часто мав більш кисле середовище, тоді як у чутливих рослин – більш нейтральне або лужне. Це пов'язувалося з тим, що багато патогенних мікроорганізмів краще розвиваються у нейтральному або слабколужному середовищі. Комес виявив, що у рослин, які піддаються інфекції, кислотність клітинного соку може змінюватися. У деяких випадках рослина підвищувала рівень кислотності як відповідь на вторгнення патогенів, що допомагало їй боротися з інфекцією.

Теорія Комеса привернула увагу до біохімічних механізмів захисту рослин, зокрема ролі органічних кислот. Подальші дослідження показали, що кислотність дійсно може впливати на патогенез, але це лише один із багатьох факторів, що визначають стійкість рослин. Вчені з'ясували, що разом із кислотністю важливу роль відіграють інші речовини, такі як феноли, дубильні речовини, фітоалексини. Також було доведено, що деякі патогени можуть адаптуватися до кислих умов або навіть змінювати рН середовища навколо себе. Хоча кислотна теорія Комеса була частково спростована, її основні ідеї залишилися актуальними:

- у багатьох рослин дійсно зміна рН є частиною захисної реакції;
  - дослідження органічних кислот у фітопатології тривають, оскільки вони можуть впливати на синтез ферментів патогенів, проникність клітинних оболонок та мобілізацію імунних реакцій;
  - сучасні методи біотехнології використовують знання про кислотність середовища для розробки біопрепаратів та хімічного захисту рослин.
- Кислотна теорія стійкості рослин Ораціо Комеса стала однією з перших спроб пояснити імунітет рослин через біохімічні механізми. Сьогодні вважається, що кислотність дійсно відіграє роль у захисті рослин, але у поєднанні з іншими факторами.



Гаррі Маршал Уорд. Британський ботанік і міколог, Гаррі Маршал Уорд у 1905 році висунув **теорію токсинів-антитоксинів**, яка пояснювала механізми імунітету рослин до патогенів. Основні положення теорії:

1. Взаємодія патогенів і рослин відбувається через токсини. Під час зараження рослини патоген (гриб або бактерія) виділяє спеціальні токсини, які спричиняють ушкодження клітин рослини та сприяють поширенню інфекції.

2. Захист рослин через антитоксини. У відповідь на вторгнення патогену рослина виробляє антитоксини – особливі речовини, здатні нейтралізувати або знижувати токсичний вплив патогенів.

3. Стійкість рослини до інфекції визначається рівновагою між токсинами патогену та антитоксинами рослини. Якщо антитоксини ефективно нейтралізують токсини патогену, рослина залишається здоровою або менш сприйнятливою до хвороби.



Теорія Уорда стала важливим етапом у розвитку фітопатології та досліджень імунітету рослин. Проте згодом її піддали критиці, оскільки не всі рослини виявляли механізм вироблення антитоксинів у прямому значенні. Надалі дослідження показали, що імунітет рослин є складнішим і включає біохімічні, структурні та генетичні механізми захисту. Теорія токсинів-антитоксинів стала основою для подальшого вивчення взаємодії рослин і патогенів. Її елементи використовувалися в розробці сучасних концепцій імунітету рослин, таких як індукований імунітет, фітоалексини та захисні білки.



Джордж Массі. Англійський дослідник Джордж Массі обґрунтував **хемотропічну теорію** (1905 рік). Згідно з цією теорією, імунітетом володіють ті рослини, у яких відсутні речовини, необхідні для приваблення рослинних паразитів. Хемотропічна теорія зазнала серйозної критики. Заперечення проти цієї теорії:

- клітинний сік, що міститься у вакуолях, не може впливати на гіфи грибів на відстані, а крім

того, не можна ототожнювати всі речовини, що містяться у витяжках із рослин, зі складом клітинного соку;

- спора гриба проростає й патоген проникає в тканину, і лише після цього в рослині відбуваються захисні реакції, які призводять до призупинення подальшого розвитку патогена. Отже, хемотропічний вплив не визначає процесу захисту рослин від патогена.

Надалі Даніель Трембл Мак Дугол та Уільям Каннон сформулювали так звану «**осмотичну теорію**» (1910 рік). Суть її полягає в тому, що стійкість рослин визначається концентрацією клітинного соку. Наприклад омела, стійка до патогенів, має осмотичний клітинний тиск у 30-35 атм, а тополя, що регулярно потерпає від мікроорганізмів має даний показник на рівні 14-15 атм.

Дугол і Каннон розглядали осмотичний тиск як фактор стійкості. Висока концентрація розчинених речовин у клітинному соку може сприяти підвищенню осмотичного тиску, що допомагає рослинам утримувати воду та протистояти патогенам.

При вторгненні патогену в рослину змінюється хімічний склад клітинного соку, що може впливати на розмноження патогену та активувати захисні реакції. Вони вважали, що рослини, здатні підтримувати високу концентрацію клітинного соку, можуть бути більш стійкими до хвороб і несприятливих умов. На думку дослідників, зі збільшенням концентрації клітинного соку збільшується стійкість винограду до переноспорозу.

Ноель Бернар – французький ботанік, який працював у галузі мікології та фізіології рослин. У 1909 році він запропонував **фагоцитарну теорію імунітету рослин**, яка пояснювала механізми захисту рослин від патогенів на основі аналогії з фагоцитозом у тварин. Бернар припустив, що клітини рослин можуть виконувати фагоцитоз – активне поглинання патогенів або їхніх токсичних речовин, подібно до того, як білі кров'яні клітини у тварин поглинають мікроорганізми. Вчений вважав, що певні клітини рослини здатні поглинати та перетравлювати патогенні мікроорганізми або їхні спори,

запобігаючи поширенню інфекції. Згідно з його гіпотезою, після проникнення патогену у тканини рослин активується локальна відповідь, і клітини починають "оточувати" збудника, намагаючись його ізолювати або знищити шляхом поглинання. Бернар будував власну теорію на основі фагоцитозу у тварин, припускаючи, що аналогічний процес може відбуватися і у рослин. Згодом було доведено, що класичний фагоцитоз, як у тварин, у рослинах не відбувається, оскільки рослинні клітини оточені жорсткими клітинними стінками, які унеможливають активне поглинання частинок. Проте виявилось, що рослини дійсно можуть ізолювати патогени шляхом локалізованого відмирання клітин (гіперчутлива реакція), відкладання захисних речовин (наприклад, лігніну) та синтезу токсичних для патогену сполук. Теорія Бернара стала важливим етапом у розвитку фітопатології, оскільки висунула ідею активного захисту рослин на клітинному рівні.

Хоча теорія фагоцитозу в рослин була спростована, вона сприяла формуванню сучасних уявлень про захисні механізми рослин, зокрема:

- гіперчутливу реакцію **HR** (Hypersensitive Response) – коли рослини локально "вбивають" власні клітини, щоб зупинити поширення інфекції;
- індукований імунітет або системну індуковану резистентність **SIR** (*Systemic Induced Resistance*) - активного синтезу захисних речовин у відповідь на інфекцію;
- ролі клітинних сигнальних шляхів у формуванні імунітету рослин.

У наведених гіпотезах автори опирались лише на один з відомих їм факторів стійкості та не враховували багатогранність стосунків рослин з патогенами.

М.І. Вавілов у 1919 р. проаналізував та узагальнив роботи усіх попередників і запровадив нову науку – **фітоімунологію**. Ключовою подією стала публікація його монографії «Імунітет рослин до інфекційних захворювань». Він перший висловив думку про зв'язок імунітету рослин з їх генетичною природою, що дозволило показати залежність результату зараження від генетичного положення рослини-господаря. Закономірності

прояву імунітету, які визначаються результатом взаємодії рослини тазбудника, М.І.Вавілов відносив до галузі фізіологічного імунітету.

Б.П. Токін (1928 рік) увів у науку поняття "фітонциди" та розробив **теорію фітонцидів**. Основні положення теорії Токіна:

- фітонциди виконують роль захисту рослин у боротьбі з патогенами;
- вони пригнічують розвиток бактерій, грибів та інших мікроорганізм.

Токін встановив, що багато видів рослин виділяють леткі речовини, які мають потужну бактерицидну та фунгіцидну дію навіть у дуже малих концентраціях. Різні рослини мають різний набір фітонцидів, що можуть діяти проти конкретних патогенів (часник, цибуля, хвойні дерева, евкаліпт тощо). Фітонциди бувають леткими (ефірні олії) та нелеткими (водорозчинні). Вони захищають рослини від захворювань і шкідників, впливають на мікрофлору ґрунту, пригнічують патогени та стимулюють корисні мікроорганізми. Леткі фітонциди можуть створювати середовище, яке захищає від шкідливих бактерій і в повітрі.

Токін вперше описав явище пригнічення росту бактерій під впливом речовин, виділених рослинами. Він експериментально довів, що подрібнені тканини рослин вивільняють речовини, які вбивають бактерії. Токін також досліджував різні рослини (цибулю, часник, хвойні дерева, евкаліпт) і вперше виявив, що вони мають сильну антимікробну дію.

**Теорія фітоалексинів**, сформульована К. Мюллером та Х. Бергером у 1941 році, є одним із ключових концептів у фітопатології та імунології рослин. Основна ідея теорії полягає в тому, що при ураженні патогенами (грибами, бактеріями, вірусами) рослини виробляють спеціальні хімічні сполуки - фітоалексини. Ці речовини мають захисну функцію, оскільки вони пригнічують ріст і розвиток патогенів, допомагаючи рослинам протистояти інфекціям.

Ключове положення теорії: фітоалексини не є постійно присутніми в рослинах, а синтезуються у відповідь на інфекцію чи ушкодження (індукція захисних сполук). Фітоалексини діють на патогени та, залежно від їхньої

природи, можуть бути антибактеріальними, антигрибковими чи антивірусними. Фітоалексини представлені широким спектром вторинних метаболітів, включаючи фенольні сполуки, терпеноїди, алкалоїди тощо. Їх асортимент варіюється залежно від виду рослини.

Теорія **вертикальної та горизонтальної стійкості** рослин до патогенів була розроблена Ван дер Планком у 1966 році. Ця концепція пояснює два різні механізми стійкості рослин до хвороб і дає змогу зрозуміти їхні особливості, а також переваги й недоліки.

Вертикальна стійкість - це специфічна форма стійкості, яка залежить від взаємодії окремих генів стійкості рослини **R-гени** (*Resistance gene*) та відповідних генів авірулентності патогену **Avr-гени** (*Avirulence gene*).

Характеристика вертикальної стійкості рослин:

- вертикальна стійкість високоспецифічна, спрямована на конкретні раси патогену;
- часто проявляється у вигляді імунітету - рослина може повністю захиститися від інфекції.

Однак патогени мають здатність до мутацій, через що вертикальна стійкість може бути легко подолана новими расами патогену.

Прикладом може бути резистентність пшениці до певних рас іржастих грибів або імунітет льону до грибкових хвороб.

**Горизонтальна стійкість** - це неспецифічна форма стійкості, яка не залежить від конкретної раси патогену, а забезпечує загальний рівень захисту. Характеристика горизонтальної стійкості рослин:

- горизонтальна стійкість зазвичай контролюється багатьма генами (полігенна стійкість);
- це стійкість менш повна, але більш стійка до еволюції патогенів;
- забезпечує частковий, але тривалий захист, що знижує рівень ураження рослини.

Прикладом може бути стійкість до несправжньої борошнистої роси картоплі або до фітофтори.

Порівняльна характеристика двох варіантів стійкості наведена також в таблиці 1.

**Таблиця 1.**

**Порівняння вертикальної та горизонтальної стійкості**

Параметр	Вертикальна стійкість	Горизонтальна стійкість
Специфічність	Висока	Низька
Генетична основа	Окремі R- гени	Полігенна
Тривалість дії	Короткочасова	Довготривала
Чутливість до мутацій	Висока	Низька

Практичне значення теорії вертикальної та горизонтальної стійкості рослин полягає в розумінні селекціонерами того факту, що вертикальна стійкість корисна для швидкого подолання епідемій, але потребує регулярного оновлення сортів через появу нових рас патогенів. Горизонтальна стійкість більш надійна для довготривалої боротьби з хворобами, особливо в регіонах із великою кількістю патогенів.

Оптимальний підхід у сільському господарстві - це комбінування обох видів стійкості для досягнення максимального захисту культур.

Сучасний етап у дослідженні імунітету рослин пов'язаний із вивченням біохімічних процесів, що супроводжують вторгнення патогену в організм рослин. У підсумку цих досліджень можна сформулювати загальну тезу: окремі сполуки та цілі їх групи (ферменти, продукти азотистого і вуглеводного обміну, а також фенольно-дубильні сполуки та низка інших) справді часто зумовлюють стійкість рослин до збудників хвороб. Ці речовини токсично діють на збудників, впливають на їхній розвиток і часто призводять до загибелі патогенів. Причому одні з цих речовин властиві рослинам від початку онтогенезу, а інші утворюються в клітинах у відповідь на контакт із паразитом, тобто є реакцією на проникнення патогену (фітоалексини та інші сполуки). Дослідження ролі хімічних сполук, що

мають фунгіцидну й бактерицидну дію на збудників *in vivo* та *in vitro*, сприяло з'ясуванню природи генетичного механізму контролю їхнього утворення.

Імунологічні реакції рослин на інфікування патогенами є досить різноманітними. Вони залежать не лише від природи самої рослини та її імунітету, а й від природи збудника. Реакція рослин на вторгнення патогену може проявлятися у вигляді новоутворень і навіть розвитку цілих тканин, що обмежують поширення патогена або повністю ізолюють його в тканинах рослин. Бар'єри можуть формуватися шляхом здерев'яніння тканин навколо паразита, внаслідок чого в місці вторгнення грибного апресорію потовщується клітинна оболонка.

## РОЗДІЛ 2

### КОНЦЕПЦІЇ «ГЕН-НА-ГЕН» ТА ДВОХ РІВНІВ ІМУНІТЕТУ РОСЛИН

Ієрархія рівнів захисту рослин від патогенів:

#### І. ВРОДЖЕНИЙ (НЕСПЕЦИФІЧНИЙ) ІМУНІТЕТ

**Перший рівень захисту – РТІ (*Pattern-Triggered Immunity, імунітет, активований патернами*)**

**Рецептори:** білки **PRRs** (*Pattern Recognition Receptors*) – рецептороподібні кінази **RLKs** (*Receptor-Like Kinases*) та рецептороподібні білки **RLPs** (*Receptor-Like Proteins*).

**Сигнальні молекули:** патоген-асоційовані молекулярні патерни – **PAMPs** (*Pathogen-Associated Molecular Patterns*) та молекулярні патерни, асоційовані з пошкодженням – **DAMPs** (*Damage-Associated Molecular Patterns*).

**Імунна відповідь:** активація мітоген-активованих протеїнкіназ – **МАРК-каскадів** (*Mitogen-Activated Protein Kinase Cascade*), які передають

сигнали від рецепторів **PRRs** до ядра клітини; посилення синтезу фітоалексинів; зміцнення клітинної стінки.

### **Другий рівень захисту – фізичні бар'єр**

Воскова кутикула, клітинна стінка, секреція антимікробних речовин (феноли, фітоалексини).

---

## **II. СПЕЦИФІЧНИЙ (АДАПТИВНИЙ) ІМУНІТЕТ**

### **Третій рівень захисту – ETI (*Effector-Triggered Immunity, імунітет, активований ефекторами патогенів*)**

**Рецептори:** молекулярні сенсори патогенів – **NLR-білки** (*Nucleotide-binding Leucine-rich Repeat proteins*).

**Сигнальні молекули:** ефекторні білки патогенів.

**Імунна відповідь:** активація гіперчутливої реакції (руйнування власних клітин для зупинки поширення інфекції) – **HR**, продукція реактивних форм кисню – **ROS** (*Reactive Oxygen Species*), запуск системної стійкості.

### **Четвертий рівень захисту – SAR (*Systemic Acquired Resistance, системна набута стійкість*)**

**Гормони:** саліцилова кислота – **SA** (*Salicylic Acid*), жасмонова кислота – **JA** (*Jasmonic Acid*), етилен – **ET** (*Ethylene*).

**Сигнальні молекули:** **PR-білки** (*Pathogenesis-Related Proteins*), леткі органічні сполуки – **VOCs** (*Volatile Organic Compounds*).

**Імунна відповідь:** посилення захисту в інших частинах рослини.

### **П'ятий рівень захисту – ISR (*Induced Systemic Resistance, індукована системна стійкість*)**

**Індуктори:** корисні мікроорганізми (ризобактерії, мікоризні гриби).

**Головний сигнальний шлях:** жасмонова кислота + етилен.

**Імунна відповідь:** підвищення стійкості без активації гіперчутливої реакції **HR**.

**Структура взаємозв'язків у фітоімунітеті:**

**PRRs (RLKs, RLPs)** → РТІ (загальна перша відповідь на патерни);

**NLR-білки** → ЕТІ (специфічна відповідь на ефектори);

**РТІ та ЕТІ** → активація гормональних каскадів (**SA, JA, ET**) → **SAR** або **ISR**.

Графічний варіант вираження взаємозв'язків у фітоімунітеті схематично представлено на рисунку 2.1.

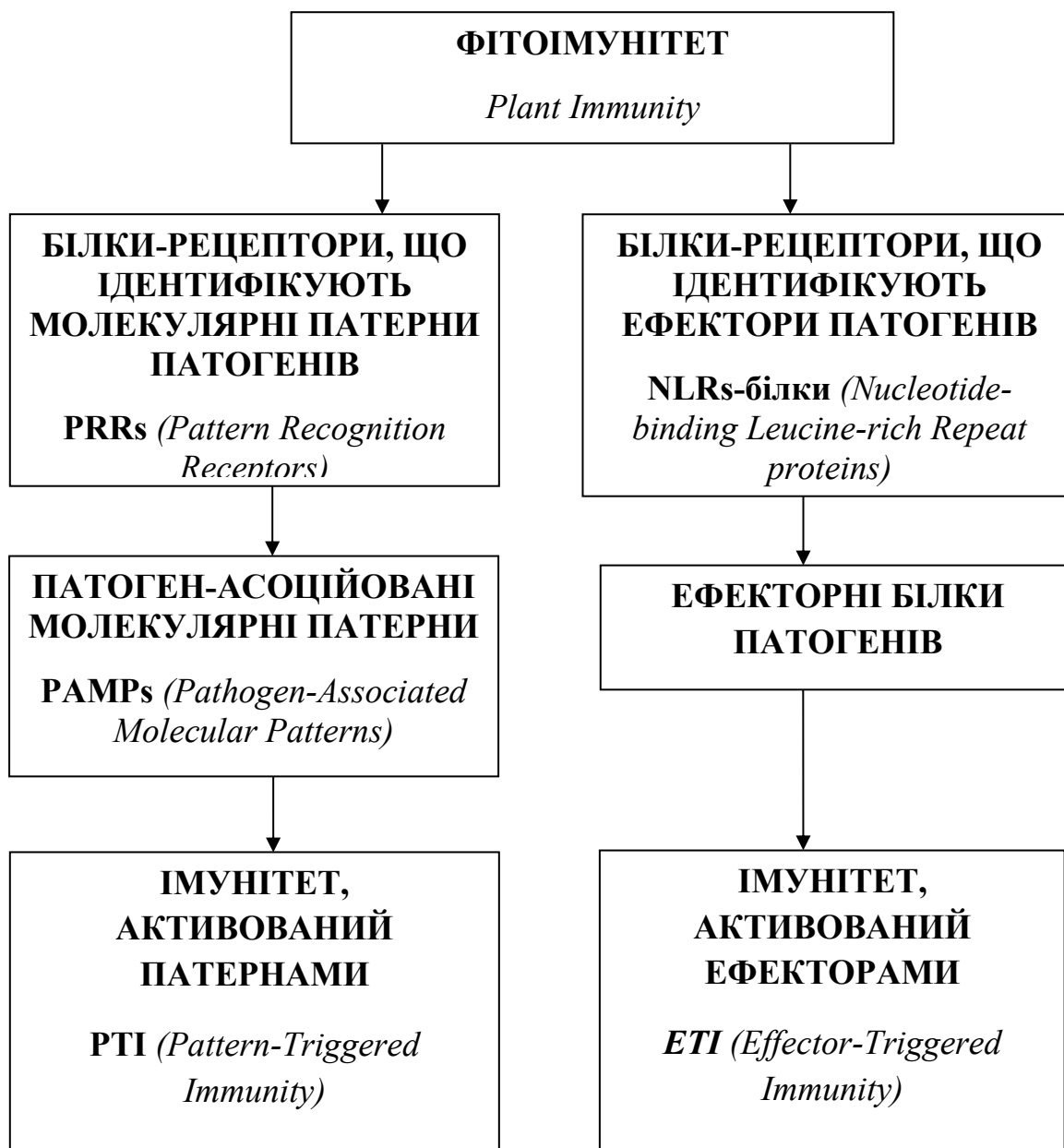


Рис. 2.1 Структура взаємозв'язків у фітоімунітеті

Встановленню представленої ієрархії та характеру взаємозв'язків передувало остаточне формування концепцій «ген-на-ген» та двох рівнів фітоімунітету.

У 1955 році американський генетик Гарольд Флор запропонував концепцію взаємодії «ген-на-ген». Цей механізм пояснює специфічну взаємодію між рослинами та їхніми патогенами.

Суть механізму та етапи взаємодії «ген-на-ген»:

1. У рослини є специфічний ген стійкості - **R-ген**, який кодує білок, здатний розпізнавати патоген.
2. У патогену є відповідний ген авірулентності - **Avr-ген**, продукт якого (ефекторний білок) взаємодіє з білком, закодованим **R-геном**.
3. Взаємодія **R–Avr**. Якщо продукт **R-гена** рослини розпізнає продукт **Avr-гена** патогену, активується імунна відповідь, яка перешкоджає інфекції. Якщо ж відповідності між **R-геном** і **Avr-геном** немає, патоген успішно інфікує рослину.

Продукт **Avr-гена** патогену зазвичай є ефекторним білком, який транспортується в клітину рослини для придушення імунітету або сприяння інфекційному процесу.

**R-гени** рослини кодують **R-білки** (*Resistance proteins*) - спеціалізовані білки імунної системи, що розпізнають патогени та ініціюють захисні реакції.

**R-білки:**

- захищають рослини від бактерій, грибів, вірусів і нематод;
- використовуються у селекції для створення стійких сортів;
- є об'єктами досліджень у генній інженерії.

Зокрема, одним із сучасних підходів є використання методики **CRISPR-Cas9** (*Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats - CRISPR-associated protein 9*).

Завдяки цій технології можливо вводити нові **R-гени** в геном рослин з метою підвищення стійкості до хвороб.

**CRISPR** - це короткі паліндромні повтори в ДНК, розташовані на рівній відстані одне від одного.

**Cas9** - білок, що асоціюється з CRISPR, і забезпечує «розрізання» ДНК у заданому місці.

Ця система є природним захисним механізмом бактерій від вірусів, але сьогодні активно використовується як точний інструмент редагування ДНК у біотехнології.

Взаємодія патоген - рослина є ілюстрацією того факту, що патогени постійно еволюціонують, щоб уникати розпізнавання рослиною, тоді як рослини розвивають нові **R-гени** для боротьби з патогенами. Це призводить до "перегонів озброєнь" між патогенами та рослинами.

Детальніше про **R-білки** та пов'язану з їх діяльністю імунну відповідь:

- розпізнають ефекторні білки патогенів, які намагаються придушити імунну відповідь рослини;
- активують імунну відповідь, зокрема **ETI**, імунітет, спричинений ефекторами патогену;
- запускають гіперчутливу реакцію **HR** – локальну загибель клітин для зупинки поширення інфекції;
- можуть активувати системний набутий імунітет **SAR**, що підвищує стійкість усього організму.

**SAR** – це захисна реакція рослин, яка активується після зараження та забезпечує довготривалу стійкість до широкого спектра патогенів у всіх частинах рослини.

Запуск і реалізація **SAR** відбувається в наступні етапи:

- рослина розпізнає патоген у місці інфекції;
- запускається локальна імунна відповідь – гіперчутлива реакція (**HR**), яка знищує інфіковані клітини;

Сигнали **SAR** передаються по всій рослині через специфічні молекули:

- саліцилова кислота **SA** - ключова сполука, що активує захист;
- **PR-білки** - антимікробні білки, що пригнічують патогени;
- метилсаліцилат - транспортується в інші частини рослини та перетворюється на **SA**.

Імунний захист активується по всій рослині - навіть у незаражених тканинах.

Порівняння **SAR** (системно набутого імунітету) та **ISR** (індукованого імунітету рослин):

- **SAR** активується патогенами та залежить від саліцилової кислоти;

- **ISR** – активується корисними мікроорганізмами (ризобактеріями), залежить від жасмонової кислоти та етилену;

**SAR** забезпечує довготривалий імунітет - захищає рослину навіть після зникнення патогену.

Основні типи **R-білків** (продукти експресії **R-генів** рослин):

- **NLR-білки** - найбільший клас R-білків, що містять **NBS** (*Nucleotide-Binding Site*) і **LRR** (*Leucine-Rich Repeat*) домени. Вони працюють як молекулярні сенсори патогенів;

- **RLK** та **RLP** - мембранні рецептори, що беруть участь у розпізнаванні патогенів на поверхні клітини;

- **PRR** - рослинні рецептори, які на поверхні клітин розпізнають загальні молекулярні патерни патогенів **PAMPs** та ініціюють імунітет, спричинений молекулярними патернами патогенів - **PTI**.

Основні положення **концепції двох рівнів імунітету** виглядають наступним чином:

1. **PTI**: захист від широкого спектра патогенів за допомогою рецепторів, які розпізнають загальні сигнали патогенів (**PAMPs**) (неспецифічна стійкість).

2. **ETI**: специфічна стійкість, пов'язана з **R-генами**, які розпізнають ефектори патогенів.

**PTI** - це перша лінія захисту рослин, яка активується при розпізнаванні загальних структур патогенів (патернів).

Приклади консервативних молекулярних структур (патернів) патогенів (**PAMPs**):

- бактеріальний флагелін (основний білок джгутиків).

- фунгічний хітин (компонент клітинної стінки грибів).

- ліпополісахариди бактерій.

Після розпізнавання рецепторами рослини (**PRR**) молекулярних структур патогенів (**PAMPs**) наступним кроком в межах **PTI** відбувається активація сигнальних шляхів, а саме:

- вироблення реактивних форм кисню **ROS**;
- посилення експресії генів імунітету;
- відкладення калозних (*callose*) (целюлозних) структур для зміцнення клітинних стінок.

Останній етап **PTI** - зупинка розповсюдження патогену та активація загального імунітету.

**ROS** (реактивні форми кисню) - це хімічно активні молекули, що містять кисень і беруть участь в імунній відповіді рослин. Серед них в першу чергу потрібно назвати:

- супероксид-аніон ( $O_2^-$ );
- перекис водню ( $H_2O_2$ );
- гідроксильний радикал ( $\bullet OH$ ).

**ROS** беруть участь у формуванні **PTI** (імунітет, спричинений молекулярними патернами патогенів) та **ETI** (імунітет, спричинений ефекторами патогену), допомагаючи знищувати патогени. Висока концентрація **ROS** спричиняє локальну загибель клітин для обмеження поширення інфекції (гіперчутлива реакція **HR**). **ROS** виконують функції сигнальних молекул – передають сигнали про стресові умови (інфекції, посуха, механічні ушкодження). **ROS** сприяють модифікації та зміцненню клітинної стінки, що ускладнює проникнення патогенів.

Оскільки надлишок **ROS** може викликати оксидативний стрес і пошкодження клітин, рослини мають антиоксидантні системи - це супероксиддисмутаза **SOD** (*Superoxide Dismutase*), яка перетворює супероксид-аніон на перекис водню. Білки-ферменти каталаза **CAT** (*Catalase*) та пероксидаза - **POD** (*Peroxidase*) - розщеплюють  $H_2O_2$  на воду та кисень.

**ROS** – це ключовий компонент захисту рослин від патогенів. Важливі також у стійкості до абіотичних стресів (посуха, холод, сольовий стрес). Використовуються у відповідних профільних дослідженнях і генній інженерії для посилення імунітету рослин.

**ETI** (імунітет, спричинений ефекторами) – це друга лінія захисту рослин, яка активується при розпізнаванні ефекторних білків патогенів спеціалізованими імунними білками рослини (**R-білками**, зокрема **NLR-білками**).

Після потрапляння в рослину патоген виділяє ефектори – молекули, які пригнічують первинний імунітет - **PTI**.

**NLR-білки** рослини розпізнають ефектори патогену або зміни у клітинних білках, спричинені ефекторами. Запускається імунна відповідь, зокрема вказані вище механізми та ряд інших: гіперчутлива реакція, локальна загибель клітин навколо інфекції для обмеження поширення патогену, вироблення реактивних форм кисню та антимікробних сполук, посилення експресії захисних генів та зміцнення клітинних стінок; активізація системно набутого імунітету (**SAR**) – захист поширюється на всю рослину.

Імунна відповідь рослин, як реакція на ефектори патогенів (**ETI**) та імунна відповідь, спричинена загальними молекулярними структурами патогенів (**PTI**) мають багато спільного. Та все ж реакція **ETI** є більш специфічною і потужною.

Порівняння основних рис **PTI** та **ETI**:

- **PTI** - загальний імунітет, активується **PAMPs**;
- **ETI** - більш специфічний імунітет, активується ефекторами патогенів через **NLR-білки**.

**ETI** імунітет забезпечує стійкість до патогенів (бактерій, грибів, вірусів), важливий для генетичної селекції та створення стійких сортів культур, використовується у біотехнологіях, зокрема у редагуванні геному (наприклад, за допомогою **CRISPR-Cas9**).

**РТІ** є основним механізмом імунного захисту в більшості рослин, запобігає початковому проникненню патогенів та використовується в селекції та біотехнологіях для підвищення стійкості культур.

Концепція "ген-на-ген" підкреслює, що стійкість рослин є дуже специфічною: лише ті R-гени, які відповідають Avr-генам патогенів, можуть викликати імунну відповідь.

Теорія "ген-на-ген" стала основою для вивчення молекулярних механізмів захисту рослин від патогенів. Генетики використовують знання про R-гени для розробки сортів сільськогосподарських культур, стійких до певних патогенів.

### РОЗДІЛ 3

#### ПОПЕРЕДНІ СТРУКТУРНІ МЕХАНІЗМИ ЗАХИСТУ

Попри відсутність у рослин імунної системи, подібної до тварин, вони розвинули вроджену імунну відповідь, яка включає кілька структурних і хімічних, спрямованих на виявлення і припинення вторгнення організмів (мікробів, шкідників і травоядних). У таблиці 3.1 представлено порівняння механізмів імунної відповіді тварин і рослин.

**Таблиця 3.1**

#### Механізми імунної відповіді рослин і тварин

Тварини	Рослини
Вроджений імунітет	Базальна стійкість (пасивний імунітет)
Набутий імунітет	Набута (індукована) стійкість (набутий імунітет)
Специфічний імунітет	Специфічна стійкість

Ці механізми можна поділити на попередні (ті, що існують до інфікування) та наступні після інфікування. Попередні (природжені, пасивні

або преінвазійні) механізми захисту - це вроджена базальна імунна лінія оборони, що є у рослини ще до колонізації патогеном (базальна стійкість, пасивний імунітет). Базальні структурні механізми захисту часто зустрічаються на поверхні рослини та є фізичними бар'єрами для проникнення патогенів.

### *Фізичні бар'єри на шляху проникнення патогенів.*

**1. Восковий шар та кутикула.** Віск - це суміш довгохвильових аліфатичних сполук, що заважають накопиченню води на поверхні рослини, що є необхідною для проростання спор. Оскільки епідермальні клітини наземних частин рослини часто покриті восковою кутикулою, що складається з жирних кислот, поверхня листя завжди має негативний заряд. Цей заряд часто відштовхує повітряні спори або пропагули різних мікробів, заважаючи їх осіданню. Таким чином, жирна кислотна плівка не лише запобігає втраті води з рослини, але й обмежує прямий контакт мікробних патогенів з епідермальними клітинами, зменшуючи інфекцію (рис. 3.1).

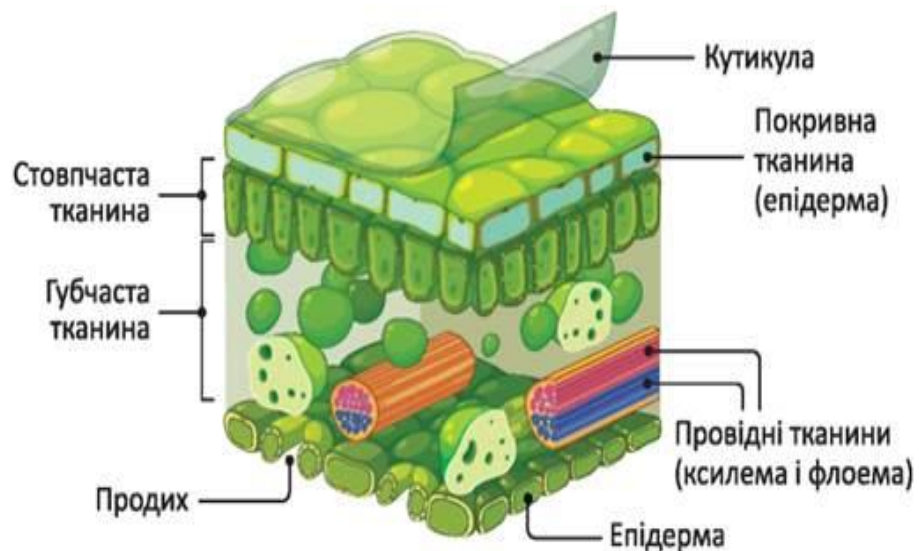


Рис. 3.1 Внутрішня будова листка

У водяних рослин кутикула є відносно тонкою, натомість у ксерофітів (наприклад, кактусів) вона дуже товста. Гідрофобні властивості кутикули також запобігають збору води на поверхні листя, що є важливим захистом від багатьох грибкових патогенів, які потребують стоячої води на поверхні листя для проростання спор. Кутикула складається з пектинової плівки, кутинового

та воскового шару. Кутин складається з жирних кислот. Лише деякі патогени здатні розщеплювати кутин за допомогою відповідних ферментів. Наприклад, *Fusarium solani* виробляє кутинази, що руйнують кутикулу та дозволяють грибку проникати через епідерміс.

**2. Епідермальний шар.** Епідерміс - це перший шар живих клітин рослини, який контактує з агресивними мікробами (рис. 3.1). Він є першою лінією оборони проти вторгнення патогенів і складається як із спеціалізованих, так і з неспеціалізованих клітин. Міцність епідермісу забезпечується завдяки полімерам целюлози, геміцелюлози, лігніну, мінеральним речовинам, полімеризованим органічним сполукам, суберину тощо.

Картопляні бульби, що стійкі до *Pythium debaryanum*, містять вищий рівень клітковини.

Накопичення силікону в епідермальних стінках забезпечує стійкість до грибкових атак.

Суберизація епідермісу надає захист від бактеріального патогену *Xanthomonas axonopodis* pv. *Citri* завдяки широким кутикульним ліпідам, які покривають стомати.

Спостерігається функціональний механізм захисту у деяких сортів (наприклад, сорт Норе) помідорів, які відкривають свої листя пізно вдень, коли волога на поверхні листя висихає, і, таким чином, спори патогену стають нефункціональними.

Епідерміс утворює зовнішню захисну тканину листя, квіткових частин, плодів, насіння, стебел і коренів рослин, що забезпечує бар'єр від агресивних факторів навколишнього середовища.

**3. Перидерміс і вторинний ріст.** У деревних рослинах перидерміс (зовнішня кора) замінює епідерміс на стеблах і коренях який розривається внаслідок поперечного потовщення кореня та стовбура у багаторічних деревних рослин, а його товщина часто збільшується через велику кількість суберину, водостійкої речовини. Перидерміс складається з камбію кори та

коркової тканини. Це є чудовим прикладом структурного бар'єра, який перешкоджає проникненню багатьох патогенів та комах до живих клітин рослини.

**4. Цитоскелет.** Цитоскелет актину є фундаментальним структурним компонентом еукаріотичних клітин. Він відіграє важливу роль у формуванні фізіологічного бар'єра на місці інфекції, оскільки бере участь у везикулярному транспорті, що відповідає за перенесення компонентів, які зміцнюють клітинну стінку, калозу та антимікробні сполуки на місце інфекції. Цитоскелет рослини є важливим бар'єром, з яким стикаються патогени. Наприклад, порушення актинового цитоскелету у ячменю (*Hordeum vulgare L.*), пшениці, огірків (*Cucumis sativus L.*) та тютюну (*Nicotiana tabacum L.*) призводить до проникнення грибів, що не є хазяїнами, у клітини рослини, а також до покращення захисту від патогенних бактерій.

**5. Гідатоци.** Гідатоци або водовиводні пори - це природні отвори на краях листя, які слугують для видалення надлишкової води з рослини (рис. 3.2).



Рис. 3.2 Виділення надлишкової води через гідатоци

Вони є легкими точками входу для бактеріальних патогенів, таких як *Xanthomonas campestris pv. campestris* (чорна гниль капусти). Рослини також мають *нектарходи*, схожі на гідатоци, але вони виділяють солодкий нектар, що служить бар'єром для мікробів, які не переносять цукри. Крім цих отворів, листя покрите волосками, які також служать перешкодами для проникнення патогенів. Наприклад, висока частота волосків на листках і

стручках нуту забезпечує стійкість до інфекції *Ascochyta rabei*. У деяких сортів арахісу, що стійкі до плям листя, спостерігаються товсті епідермальні та кутикульні шари, компактні палісадні клітини, менші та менш численні стомати та висока частота трихом на нижньому боці листків.

**6. Лентицели.** Лентицели - це отвори в зовнішніх стінках, що відповідають за газообмін. Вони є слабо захищеними точками проникнення патогенів, якщо лише клітини кори всередині них не суберинизовані. Після суберинизації та формування перидермісу лентицели стають більш стійкими до вторгнення патогенів.

**7. Клітинна стінка.** Клітинна стінка є основним бар'єром проти грибкових і бактеріальних патогенів, надаючи міцний структурний захист. Вона містить широкий спектр хімічних захисних засобів, які можуть бути швидко активовані, коли клітина виявляє присутність потенційних патогенів. Усі рослинні клітини мають первинну і вторинну клітинні стінки.

Первинна стінка надає структурну підтримку і є важливою для тиску всередині клітини, а вторинна розвивається всередині первинної стінки після припинення активного росту клітини.

Основним компонентом первинної клітинної стінки є целюлоза, складний полісахарид, що складається з тисяч глюкозних мономерів, зв'язаних разом, утворюючи довгі полімерні ланцюги. Ці ланцюги згруповані в мікрофібрили, що надають стінці міцність і жорсткість. Також в стінці можуть бути присутні два види розгалужених полісахаридів: глікани, що зшивають клітинні стінки, і пектин, який утворює зволожені гелі, що допомагають з'єднувати сусідні клітини та регулювати вміст води в стінці. Патогени, які викликають м'яку гниль, часто спрямовані на пектин за допомогою спеціалізованих ферментів, що призводить до руйнування клітин і появи коричневого або «м'якого» вигляду на плодах чи овочах.

**8. Лігнін.** Лігнін - це гетерогенний полімер, що складається з фенольних сполук і надає клітинам жорсткості. Лігнін є основним компонентом деревини, а клітини, що стають лігніфікованими, стають

непроникними для патогенів і важкими для малих комах для споживання. Кутин, суберин та воски - це жирні сполуки, які можуть депонуватися як у первинних, так і у вторинних клітинних стінках або в зовнішніх захисних тканинах рослини, таких як кора.

**9. Клітини-охоронці.** Клітини-охоронці регулюють газообмін через невеликі отвори, звані стоматами. Через ці отвори вуглекислий газ потрапляє в листя для використання при фотосинтезі, одночасно обмежуючи надмірну втрату води з рослини. Розмір отвору у стомати строго регулюється рослиною, і клітини-охоронці можуть брати участь у захисті, закриваючи їх у відповідь на наявність **MAMPs** (мікробних молекул, що сприймаються рослиною).

### *Морфологічні бар'єри.*

**1. Тріхоми** (або "лисові волоски") - це спеціалізовані епідермальні клітини, що переважно знаходяться на повітряних частинах рослин. Вони забезпечують як фізичний, так і хімічний захист від комах-паразитів. «Вельветова» поверхня у жовтозілля - цинерарії гібридної (*Cineraria senecio*) викликана тисячею дрібних тріхом, які покривають поверхню рослини. Тріхоми на поверхні сої (*Glycine max*) запобігають потраплянню яєць комах на епідерміс. Гачкоподібні тріхоми фасолі (*Phaseolus vulgaris*) протикають гусениць, які пересуваються по поверхні листя, а залозисті тріхоми на картоплі та помідорах виділяють олії, що відштовхують тлю.

**2. Шипи** є модифікованими гілками, які захищають рослини від поїдання хребетними тваринами. Прикладом є шершаве дерево (*Gleditsia triacanthos*). Багато кактусів утворюють шипоподібні структури, які насправді є модифікованими листками або частинами листків (наприклад, стипулями), які виконують подібну роль, як, наприклад, в барильному кактусі (*Ferocactus spp.*). У деяких рослин, таких як роза (*Rosa spp.*), так звані "шипи" на стеблах насправді не є справжніми шипами чи колючками, а є виростами епідермісу, які називаються шипами, проте вони виконують ту ж роль, що й справжні шипи.

**3. Ідіобласти.** Ідіобласти або "божевільні клітини" - це дуже спеціалізовані імунні клітини рослин. Вони допомагають захищати рослини від поїдання, оскільки містять токсичні хімічні сполуки або різкі кристали, головним чином оксалат кальцію, які рвуть частини ротового апарату комах і ссавців, коли вони поїдають рослину. Існує багато класів ідіобластів, зокрема пігментовані клітини, склереїди, кристалоносні клітини та нові силікатні клітини.

**4. Пігментовані клітини** часто містять гіркі дубильні речовини, які роблять органи рослин неїстівними для тварин, наприклад, молоде червоне вино часто містить високу кількість дубильних речовин, що дають вину різкий, гіркий смак.

**5. Склереїди** - це неправильної форми клітини з товстими вторинними стінками, які важко пережовувати: груба текстура плодів груші (*Pyrus spp.*) викликана тисячею склереїдних клітин.

**6. Жалючі клітини** у крапиви (*Urtica dioica*) мають форму гіподермічних голок, які ламаються при дотику і вводять токсини, що сильно подразнюють тканини травоядних тварин.

**7. Кристалоносні клітини** містять кристали оксалату кальцію, які можуть рвати частини ротового апарату травоядних при пережовуванні і бути токсичними при вживанні. Рослини родів *Philodendron* і *Dieffenbachia* є поширеними тропічними кімнатними рослинами, що містять великі кількості цих клітин.

### ***Хімічні бар'єри.***

Рослини виділяють різні хімічні речовини, що впливають на активність патогенів і процес захворювання, тим самим запобігаючи або зменшуючи інфекцію. Ці хімічні сполуки можуть діяти як безпосередньо через токсичні або лізуючі ефекти на збудника, так і опосередковано, стимулюючи антагоністичну мікрофлору поверхні рослин. Ці сполуки або згубно діють на патоген, або нейтралізують фітотоксичні метаболіти патогену. Ці сполуки

можуть бути як природними антибіотиками, що вже існують у рослинах, так і тими, що утворюються внаслідок поранень (так звані антибіотики ран).

**Антимікробні сполуки.** Під час росту і розвитку рослини виділяють гази та органічні речовини з листя та коренів (ексудати), що містять цукри, амінокислоти, органічні кислоти, ферменти, глікозиди тощо. Ці матеріали істотно впливають на навколишнє середовище, зокрема на філосферу (мікрофлора на листі) та ризосферу (мікрофлора та фауна біля коренів). Хоча ці речовини є ідеальними поживними речовинами для мікробів і сприяють проростанню та росту численних сапрофітів і паразитів, вони також містять ряд інгібіторних сполук. Ці інгібітори безпосередньо впливають на мікроорганізми або сприяють домінуванню певних груп, що виконують функцію антагоністів для патогенів.

**Терпенові сполуки.** Терпени (монотерпеноїди та секвітерпеноїди) є основними компонентами ефірних олій і є дуже летючими сполуками, що надають рослинам характерний запах. Ефірні олії часто виконують роль токсинів для комах і захищають рослини від грибкових або бактеріальних атак. Наприклад, м'ятні рослини (*Mentha spp.*) виробляють великі кількості монотерпеноїдів, таких як *ментол* і *ментон*, які зберігаються в залозистих трихомах на епідермісі (рис. 3.3).

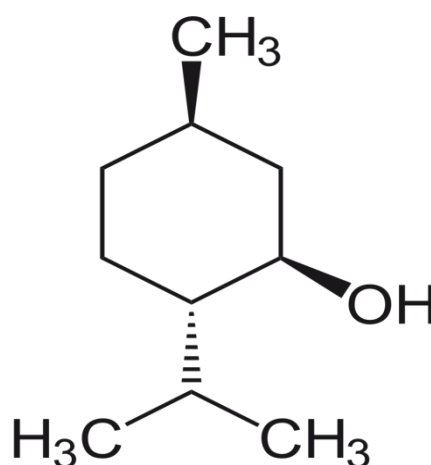


Рис. 3.3 Ментол

Деякі інші приклади таких терпенів і їх джерел включають м'яту та спірм'яту (*Mentha spp.*), базилік (*Ocimum spp.*), орегано (*Origanum spp.*),

розмарин (*Rosmarinus spp.*), шалфей (*Salvia spp.*), тим'ян (*Thymus spp.*), чорний перець (*Piper spp.*), кориці (*Cinnamomum spp.*) і лавровий лист (*Laurus spp.*).

**Піретрини.** Піретрини - це ефірні естери монтерпеноїдів, що виробляються рослинами хризантем, які є нейротоксинами для комах. Найсильніший з них – піретрин I, який швидко всмоктується в організм комах та пошкоджує їх нервову систему (рис. 3.4). Багато комерційно доступних інсектицидів є синтетичними аналогами піретринів, званими піретроїдами, такими як перметрин і ципреметрин. Смола сосни містить велику кількість монотерпеноїдів, таких як альфа і бета-пінен, які є сильними відлякувачами комах. Ці сполуки надають органічному розчиннику терпентину його характерний різкий запах.

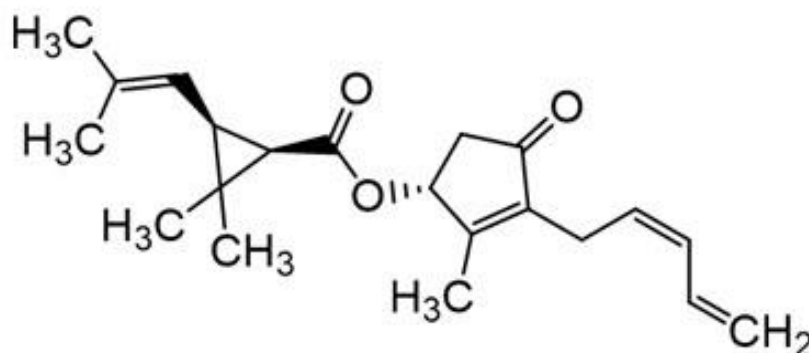


Рис. 3.4 Піретрин I

**Дитерпенові сполуки.** Дитерпени, такі як госсіпол (барвник жовтого або коричневого кольору), виробляються бавовною (*Gossypium hirsutum*) і мають сильні антикандидозні та антибактеріальні властивості (рис. 3.5).

Захисна сполука проти патогенів і комах. пригнічує ріст бактерій і грибів. може викликати репродуктивні порушення у людини та тварин, тому використання госсиполу в харчових продуктах обмежене. Локалізується у смоляних або госсіполових залозках на поверхні листків.

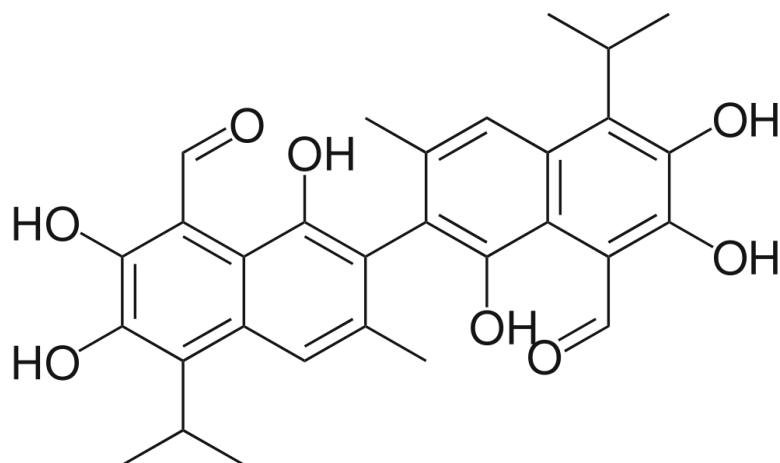


Рис. 3.5 Госсіпол

Фітогормони, такі як фітоекдистерони, є тритерпенами та є імітаціями гормонів линьки комах. На сьогодні відомо близько 60 представників цього класу сполук з повністю або частково встановленою будовою. До найбільш поширених належать екдистерон (рис. 3.6).

Коли екдистерони виробляються рослинами, такими як шпинат (*Spinacia oleracea*), вони порушують розвиток личинок і збільшують смертність комах.

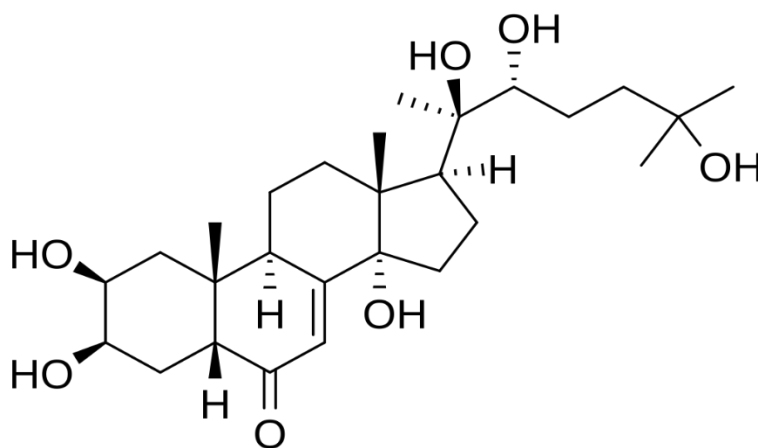


Рис. 3.6 Екдикстерон

Лимоїдні тритерпени, відповідальні за свіжий запах лимонних і апельсинових кірок, такі як азадірахтін з немогового дерева (*Azadirachta indica*) і цитронела з лимонної трави (*Cymbopogon citratus*), мають антибактеріальну та інсектицидну активність навіть в низьких концентраціях (кілька частин на мільйон).

**Сапоніни.** Сапоніни - це глікозильовані тритерпени (тритерпени з прикріпленими цукровими групами), що присутні в клітинних мембранах багатьох рослинних видів. Найпоширеніші у рослинах пентациклічні тритерпеноїди: олеанолова та гліцеритинова кислоти (рис. 3. 7). Вони мають властивості миючих засобів (подібні до мила) і діють, порушуючи клітинні мембрани грибкових патогенів. Наприклад, збудник хвороби пшениці *Gaeumannomyces graminis* не може інфікувати овес, який містить авенадини - клас тритерпеноїдних сапонінів.

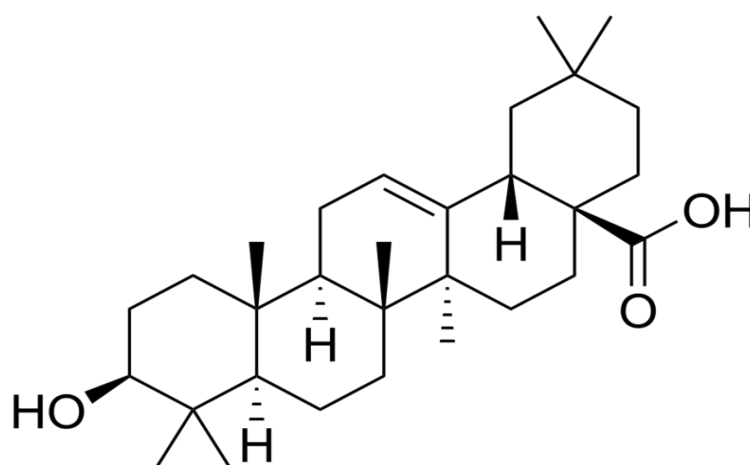


Рис. 3.7 Олеанолова кислота

**Алкалоїди.** Алкалоїди - це велика група азотовмісних сполук з гірким смаком, які зустрічаються в багатьох судинних рослинах і включають кофеїн, кокаїн, морфін і нікотин (рис. 3.8).

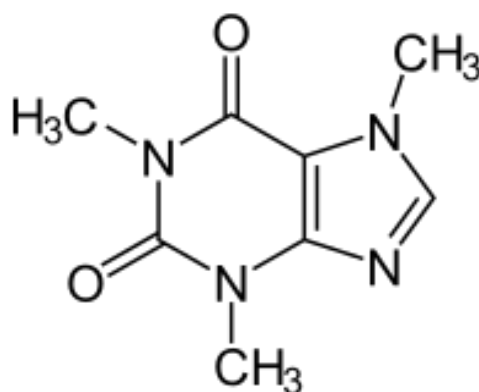


Рис. 3.8 Кофеїн

Вони походять від амінокислот лізину, аспарагінової кислоти, тирозину та триптофану, і багато з цих речовин мають потужний вплив на фізіологію тварин. Кофеїн та теобромін - це алкалоїди, що зустрічаються в рослинах,

таких як кава (*Coffea arabica*), чай (*Camellia sinensis*) і какао (*Theobroma cacao*). Вони токсичні для комах і грибів. Високий рівень кофеїну, який виробляється розсадою кави, може навіть пригнічувати проростання іншого насіння поблизу рослин, які ростуть, що є феноменом, який називається алелопатією. Алелопатія дозволяє одному виду рослин "захищатися" від інших рослин, які можуть конкурувати за простір для росту та ресурси. Члени родини пасльонових (*Solanaceae*) виробляють багато важливих алкалоїдних сполук. Нікотин - це алкалоїд, який виробляється в коренях тютюнових рослин (*Nicotiana tabacum*) і транспортується до листя, де зберігається у вакуолях. Він вивільняється, коли траводні поїдають листя і руйнують вакуолі.

**Ціаногенні глікозиди.** Ціаногенні глікозиди - це особливо токсична група азотовмісних сполук, які розкладаються, утворюючи ціанід водню (HCN), летальну хімічну речовину, що зупиняє клітинне дихання в аеробних організмах.

Рослини, які виробляють ціаногенні глікозиди, також виробляють ферменти, що перетворюють ці сполуки в ціанід водню, зокрема глікозидази та гідроксинітрильні ліази, але вони зберігаються в окремих відділах або тканинах рослини; коли траводні поїдають ці тканини, ферменти та субстрати змішуються та утворюють летальний ціанід водню. В результаті їх природної деградації утворюється синільна кислота; вони досить широко представлені в природі (насіння гіркої мигдалю, маніок, сорго, кісточка персиків, абрикосів та ін.).

Глюкозинолати, також відомі як глікозиди гірчиці, - це сірковмісні сполуки, синтезовані представниками родини капустяних (*Brassicaceae*), які виробляють газоподібний ціанід при їх розкладі за допомогою ферментів, званих тіоглюкозидазами. Глікозид синігрин міститься в чорній та салатній пшениці, ріпаку, надає їм гіркий смак і специфічний запах (рис. 3 9).

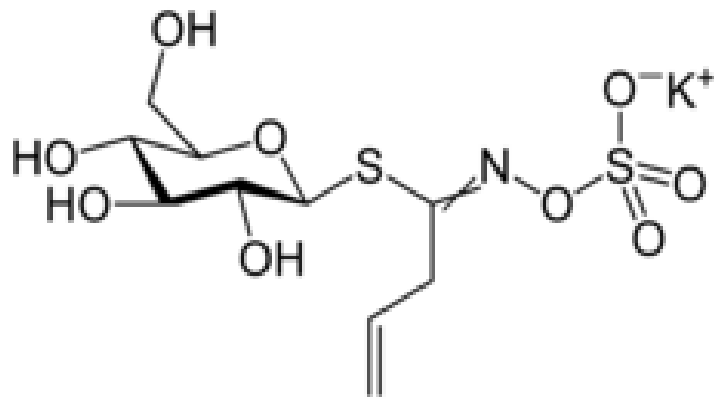


Рис. 3.9 Синігрин

**Токсичні інгібітори.** У багатьох взаємодіях між хазяїном та паразитом, наявні токсичні речовини в клітинах формують основу стійкості. У стійких варіантах ці речовини є в надлишку, тоді як у вразливих варіантах вони можуть бути меншими або відсутні зовсім. Декілька фенольних сполук, таніни та деякі жирні кислоти, такі як дієни, що вже існують у високих концентраціях у клітинах, були пов'язані зі стійкістю або молодими тканинами до паразитичних грибів, таких як *Botrytis*. Багато таких сполук є потужними інгібіторами багатьох гідролітичних ферментів. Інші типи попередньо сформованих сполук, такі як сапоніни (глікозильовані стероїдні або тритерпеноїдні сполуки), авенацин у вівсі, мають антигрибкову мембранолітичну активність. Грибкові патогени, які не мають ферментів (сапоніназ), що руйнують сапоніни, не можуть інфікувати господаря. Декілька попередньо сформованих рослинних білків були повідомлені як інгібітори патогенних протеїназ або гідролітичних ферментів. Подібно до цього, лектіни (білки, які зв'язуються з певними цукрами) викликають лізис і пригнічення росту багатьох грибів. Клітини поверхні рослин також містять змінну кількість гідролітичних ферментів, таких як глюканази та хітинази, які можуть спричинити розкладання компонентів клітинної стінки патогенів.

**Атропін.** Атропін - це нейротоксин і кардіостимулятор, що виробляється отруйною рослиною пасльонових (*Atropa belladonna*) (рис. 3.10).

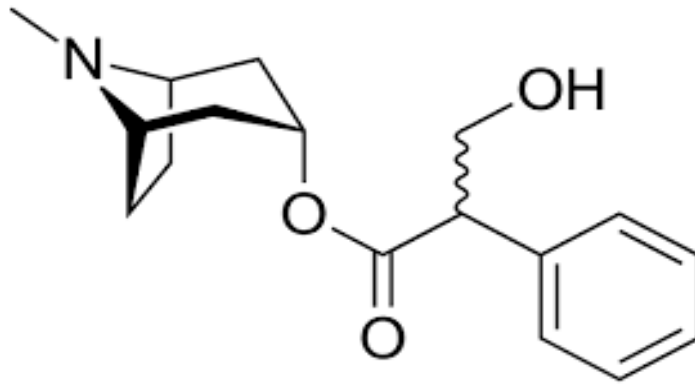


Рис. 3.10 Атропін

Хоча він токсичний у великих кількостях, він використовувався в медичних цілях людиною в малих дозах як засіб для розширення зіниць і антидот для деяких отруєнь нервовими газами. Капсаїцин та споріднені капсаїкоїди, що виробляються рослинами роду *Capsicum*, є активними компонентами чилі перців і викликають характерне паління в гарячих, гострих стравах.

**Фітоантиципіни.** Фітоантиципіни - це сполуки, що виробляються під час нормального росту рослин, які можуть бути екскретовані в ризосферу або філлоплан, накопичуватися в мертвих клітинах або бути ізольованими в вакуолях у неактивній формі, що інгібують розвиток патогенів.

Прикладом є сапоніни та авенацин у вівсі (*Avena sativa L.*), які забезпечують стійкість до клітин господаря. Мертві клітини коричневого лушпиння цибулі містять хінони, катехол і протокатехуїнову кислоту, які інгібують проростання спор патогену плям. Стероїди, глікалоїди та глюкозинолати, останні з яких зберігаються під час нормального росту і перетворюються міроцинозами на активні оборонні сполуки, є іншими прикладами фітоантиципінів.

**Фітогормони.** Синтез фітогормонів, таких як ауксини (індол-3-оцтова кислота - **ІАА**) та цитокініни, є важливими факторами вірулентності для бактерій, що утворюють здуття, таких як *Pantoea agglomerans pv. gypsophila*, що спричиняє хворобу коронок і корневих здуттів на гіпсофілі (*Gypsophila*

*paniculata*), а також *nvs. savastanoi* та *nerii* бактерії *Pseudomonas savastanoi*, що спричиняють хвороби вузлів оливи та олеандра.

Фітогормони також відіграють дуже важливу роль у системному сигналі, що сприяє стійкості до фітопатогенів. Наприклад, баланс між саліциловою кислотою, локальним та системним сигналом для стійкості до багатьох біотрофів, комбінацією янтарної кислоти та накопичення етилену підтримують сигнали, які сприяють імунним реакціям проти некротрофів. Додаткові рослинні гормони, ймовірно, змінюють баланс сигналізації саліцилової кислоти–янтарної кислоти/етилену.

Гібберелін, що виробляється грибковим патогеном *Gibberella fujikuroi*, викликає синдром "дурних сходів", а цитокініни, синтезовані багатьма патогенами, можуть сприяти успіху патогену через уповільнення старіння інфікованої листової тканини.

## РОЗДІЛ 4

### МОЛЕКУЛЯРНІ МЕХАНІЗМИ РОЗПІЗНАВАННЯ ПАТОГЕНІВ

Для ефективної боротьби з патогенами рослини повинні виявляти їх як чужорідні компоненти. Для цього вони розвинули дуже ефективні механізми сигналізації, що дозволяють їм виявляти мікробні патогени. Розпізнавання патогенів зазвичай ініціюється після сприйняття мікробів або їхніх продуктів за допомогою молекул, що асоціюються з патогенами (**MAMPs** або **PAMPs**).

**MAMPs** (*Microbe-Associated Molecular Patterns*) – мікроб-асоційовані молекулярні патерни, **PAMPs** – патоген-асоційовані молекулярні патерни (див. розділ 2). **MAMPs** – ширше поняття, охоплює молекулярні патерни як патогенних, так і непатогенних мікроорганізмів. **PAMPs** – підгрупа **MAMPs**, що належить саме патогенам. **MAMPs** – загальні молекули, властиві мікроорганізмам (наприклад, бактеріям у ґрунті або корисним грибам). **PAMPs** – ті ж молекули, але саме від патогенів, які загрожують рослині.

Реакція рослин на **MAMPs/PAMPs** полягає в активації **PTI**, синтезі **PR-білків**, **ROS**, зміцненні клітинної стінки, блокуванні проникненні патогенів. Розпізнавання **MAMPs/PAMP** здійснюється рослинними рецепторами, що знаходяться на плазматичній мембрані та здатні виявляти мікробні еліситори, і називаються рецепторами розпізнавання патернів (**PRRs**) (див. розділ 5). У присутності **MAMPs** ці **PRRs** активуються, що веде до вироблення активних захисних відповідей проти цих патогенів. Це забезпечує зупинку патогенів до того, як вони зможуть викликати серйозну інфекцію в рослині. Розпізнавання патогенів є неспецифічним процесом і тому більш точно називається імунітетом, спричиненим **PAMP (PTI)**. Таке розпізнавання рослинами запускається за допомогою еліситорів (*Elicitors*), неспецифічних та специфічних.

Еліситори та патерни (**MAMPs/PAMPs**) – це схожі, але не тотожні поняття.

Патерни (**MAMPs/PAMPs**) – це специфічні молекули мікроорганізмів (бактерій, грибів, вірусів), які завжди присутні у них та можуть розпізнаватися рослиною.

Еліситори – ширше поняття, яке включає не тільки **PAMPs/MAMPs**, а й інші молекули, що здатні індукувати імунну відповідь рослини. Вони є основою як природного, так і індукованого імунітету рослин.

Еліситори можуть походити від патогенів, комах-шкідників або самої рослини й активують імунітет рослин шляхом запуску **PTI** або **ETI**.

До них відносять:

- 1. PAMPs** – патоген-асоційовані молекулярні патерни. Це консервативні молекули, властиві широким групам патогенів, наприклад флагелін (компонент джгутиків бактерій), хітин (основний компонент клітинної стінки грибів), ліпополісахариди (компоненти мембран бактерій). Вони запускають **PTI** – перший рівень імунітету рослин.

- 2. DAMPs** – молекулярні патерни ушкодження. Це ендогенні молекули, що вивільняються при пошкодженні клітин рослини, наприклад,

олігогалактуроніди (фрагменти пектину з клітинної стінки), АТФ, що вивільняється при розриві клітин, системін – пептидний сигнал ушкодження.

Вони активують імунну відповідь навіть без патогену (наприклад, при механічних пошкодженнях або ураженні комахами).

**3. Ефекторні еліситори** – білки та молекули патогенів, що викликають ЕТІ. Це молекули, які патогени використовують для придушення імунітету рослин, але деякі з них можуть розпізнаватися **NLR-білками** рослин, наприклад аверізін (від грибів *Verticillium*), **AvrPto** (від бактерій *Pseudomonas syringae*).

**4. Патогенні токсини.** Вони запускають ЕТІ – другий рівень імунітету рослин, який часто супроводжується гіперчутливою реакцією (**HR**).

**Неспецифічні еліситори.** Це абіотичні еліситори, такі як важкі метали, ультрафіолетове світло та деякі метаболічні інгібітори, які викликають фізіологічні стресові реакції, деякі з яких сприяють стійкості. Їхній ефект зазвичай тимчасовий і неспецифічний.

**Специфічні еліситори.** Це в основному біотичні еліситори, дія яких може бути націленою або специфічною, і вони включають вторинні метаболіти, які мають набагато більш фатальні ефекти. Різні категорії специфічних еліситорів включають наступні компоненти.

Багато рослинних патогенів, таких як *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea* сої, продукують лізуючі ферменти (наприклад, полігалактуранозу, що вивільняється при гнитті фруктів грибами та бактеріями), фрагменти клітинних стінок (гептабета-глюкан), моногліцериди кутину та пептиди, які перешкоджають, руйнують або розчиняють структурні бар'єри, такі як середня ламела тканин рослини. Ці продукти функціонують як ендогенні еліситори (**DAMPs**) і характерно з'являються в апопласті під час інфікування патогеном, служачи сигналами тривоги для активації вродженого імунітету рослини.

**Еліцітини.** Це група пептидів вагою 10 кДа, що походять від *Phytophthora* spp. та ряду споріднених ооміцетів. Поліненасичені жирні

кислоти, такі як арахідонова та ейкозапентаєнова кислоти, з клітинних мембран *Phytophthora infestans* викликають захисні відповіді в картоплі.

**Ген-специфічні еліситори.** Це еліситори, які індуюються авірулентними генами патогену. Деякі специфічні гени стійкості (R-гени) допомагають у розпізнаванні патогенів.

**Еліситори, пов'язані з комахами.** Ці еліситори зустрічаються в слині комах, що дозволяє рослинам розрізняти загальні пошкодження та від живлення комахами.

**Леткі органічні сполуки VOCs.** Це органічні вторинні метаболіти, такі як монтерпеноїди, секвістеріпеноїди та гомотерпеноїди, що вивільняються рослинами у відповідь на вторгнення патогенів. Ці хімічні сполуки можуть відлякувати шкідливих комах або приваблювати корисних хижаків, які поїдають руйнівних шкідників. Наприклад, проростки пшениці, заражені тлею, можуть виробляти VOCs, які відлякують інших тлей. Боби ліма та яблуневі дерева вивільняють хімікати, які приваблюють хижих кліщів, коли їх пошкоджують павутинні кліщі, а рослини бавовнику виробляють леткі сполуки, які приваблюють хижих ос, коли їх пошкоджують личинки молі.

Після розпізнавання екзогенних/ендогенних патернів або ефекторів патогену, активовані рецепторні комплекси **PRRs** ініціюють імунну відповідь, що включає наступні події:

- вхід в клітину рослини іонів кальцію;
- синтез активних форм кисню;
- синтез саліцилової кислоти та інші події ;
- індукцію експресії захисних генів;
- активацію каскадів **MAP-кіназ** (мітоген-активованих протеїнкіназ).

Останні - це ферменти, які беруть участь у сигнальних шляхах клітини, передаючи сигнали від рецепторів на мембрані до ядра. Суть діяльності кіназ полягає у каталізі перенесення фосфатної групи (фосфорилування) на інші білки або молекули і, як наслідок, їх активування або деактивування. Таку

послідовність змін активності ряду білків за допомогою **MAP-кіназ** називають **МАРК-каскадом**:



Таким чином **МАРК-каскад** – це «система передачі повідомлень» у клітині, яка реагує на сигнали небезпеки та активує захисні механізми

Для кращого розуміння рецепції патогенів та формування імунної відповіді потрібно уточнити функції **PRRs** та **NLR-білків** у фітоімунитеті.

**PRRs** та **NLR-білки** - це дві ключові групи рецепторів, що беруть участь у різних рівнях імунної відповіді рослин.

**PRRs** (рецептори розпізнавання патернів) – працюють на першій лінії захисту (**PTI**), розпізнаючи **PAMPs/MAMPs**.

**NLR-білки** - активують другу лінію захисту (**ETI**), реагуючи на ефектори патогенів.

Після інфікування рослини використовують обидва види рецепторів та, відповідно, два напрямки можливої імунної відповіді. **PRRs** першими виявляють патоген і запускають базову імунну відповідь - **PTI**. В цьому випадку патоген починає виділяти ефектори, що блокують **PTI**. **NLR-білки** розпізнають ці ефектори й активують потужнішу захисну відповідь - **ETI**. **NLR-білки** – це рецептори, які розташовані на поверхні клітин або всередині рослинних клітин і є продуктами **R-генів**.

**NLR-білки** складаються з трьох основних доменів. Домен білка – це структурно та функціонально відокремлена частина білка, яка може мати специфічну роль (наприклад, зв'язування з іншими молекулами, каталіз хімічних реакцій або передача сигналів).

Домен **NBS** домен (*Nucleotide-Binding Site domain*) (домен, що зв'язує нуклеотиди) - відповідає за активацію білка після розпізнавання патогену, який здатний зв'язувати або гідролізувати нуклеотиди (такі як АТФ) і забезпечувати енергію для активації захисних механізмів рослин. Домен **NBS** використовується для передачі сигналу після розпізнавання патогену.

Домен **LRR** (*Leucine-Rich Repeat domain*) (домен з лейцин-насиченими повторами) - містить багаті на лейцин повтори, які розпізнають ефекторні білки патогенів. **LRR**-домен відповідає за розпізнавання специфічних молекул патогенів (ефекторів або **Avr-продуктів**). Завдяки своїй варіабельності цей домен може забезпечувати високу специфічність взаємодії з патогенами. Домен **LRR** розташований на кінці білка-рецептора та відповідає за специфічне розпізнавання ефекторів патогену.

**NTD** домен (*N-terminal domain*) – це структурний або функціональний домен, розташований на кінці білка – бере участь у розпізнанні білків, регулює активність ферментів, сприяє взаємодії з мембранами, визначає тип активації та сигналізації у відповідь на патогени.

**NBS** та **LRR** - це структурні домени, які часто зустрічаються у білках, закодованих **R-генами** стійкості рослин.

**NLR-білки** розпізнають специфічні молекули патогена, зокрема: авірулентні фактори (**Avr-продукти**) патогенів та молекулярні "сигнали тривоги", які патоген виділяє під час інфекції.

**Avr-продукт, Avr-білок** (*Avirulence protein*) – це білок або невелика молекула, що виробляється патогенами (бактеріями, грибами, вірусами) та взаємодіє з імунною системою рослини.

**Функції Avr-білків:**

- допомагають патогену колонізувати рослину, придушуючи її імунну відповідь або змінюючи клітинні процеси;

- взаємодіють із рецепторами рослини (зокрема, **NLR-білками**), що може призвести до активації імунної відповіді;

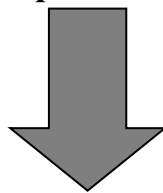
- можуть бути розпізнані рослинними **R-білками**, що запускає захисну реакцію – гіперчутливу відповідь (**HR**) та імунну відповідь, викликану ефекторами **ETI** - імунітету, який активується при розпізнаванні специфічних білків патогенів (ефекторів) за допомогою **NLR-білків**.

Якщо рослина має специфічний **R-білок**, який розпізнає **Avr-продукт**, патоген не зможе її уразити – рослина виявляє стійкість. Якщо **R-білок** відсутній або не розпізнає **Avr-продукт**, патоген може успішно інфікувати рослину. Ця теза вкладається в модель «ген-за-ген»: **R-білок** у рослині ↔ **Avr-продукт** у патогені. **Avr-продукти** – це ефекторні молекули патогенів, які можуть як допомагати інфікуванню, так і провокувати захисну реакцію рослин.

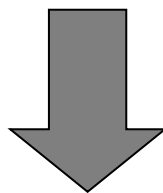
Можлива послідовність подій з використанням доменів **NBS-LRR** під час інфікування патогеном виглядає наступним чином:

**Розпізнавання патогена: LRR-домен розпізнає специфічний**

**ефектор патогена**



**Активация імунної відповіді: NBS-домен зв'язує АТФ або ГТФ, що призводить до активації захисного сигналу**



**Запуск захисту: активация білка NBS-LRR ініціює захисні реакції рослини, наприклад, загибель клітин навколо місця інфекції (гіперчутлива реакція - HR)**

Білки **NBS-LRR** є ключовими компонентами імунної системи рослин, які забезпечують розпізнавання патогенів і запуск захисних реакцій. Вони знайдені у багатьох видів рослин і забезпечують захист від широкого спектра патогенів, включаючи гриби, бактерії та віруси. **R-гени**, в яких заковані білки **NBS-LRR** використовуються в селекції для створення сортів із підвищеною стійкістю до хвороб. Ці білки є прикладом складного молекулярного механізму, за допомогою якого рослини захищаються від інфекцій.

Ефекторні білки патогенів, транспортуються в клітину господаря через секреторну систему III типу **T3SS** (*Type three secretion system*) (рис. 4.1). Це один із кількох типів бактеріальних систем секреції, він є білковим комплексом з 30 різних білків, гомологічних бактеріальним джгутиковим білками (іноді розглядається як органела).

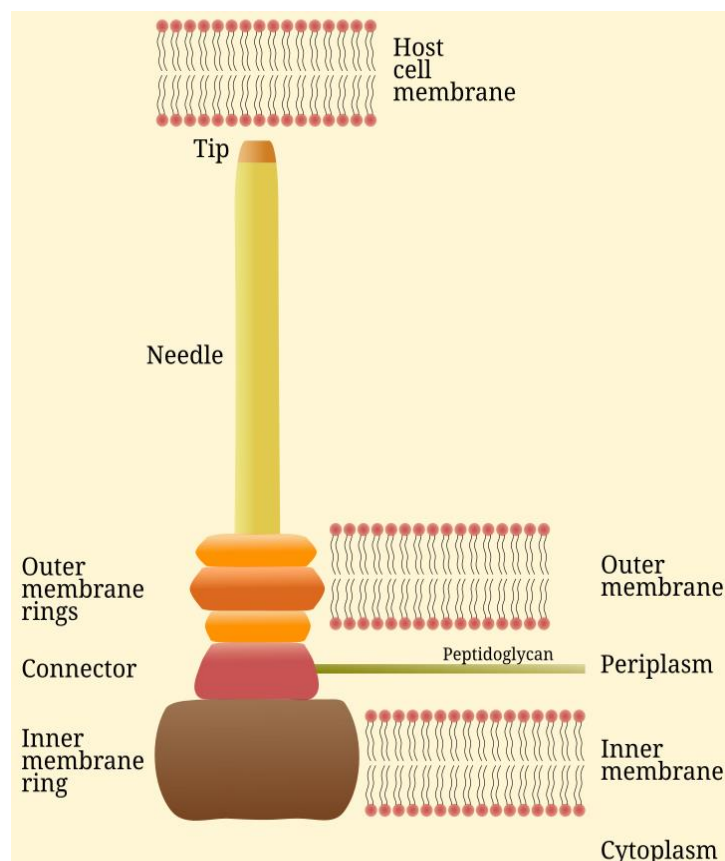


Рис. 4.1 Інжектосома (молекулярний шприц) – засіб секреції III типу (**T3SS**) у патогенних бактерій

Ця система патогену вводить ефекторні білки безпосередньо в клітини рослини під час інфікування.

Дефекти в **T3SS** можуть зробити бактерії непатогенними.

Існує думка, що деякі неінвазивні штами грамнегативних бактерій втратили **T3SS**, якщо така дорога, енергетично не вигідна білкова система не використовувалась з певних причин.

Попри різницю у швидкості та потужності **PTI** й **ETI**, обидва механізми активують схожі сигнальні шляхи. Обидва варіанти включають біохімічні або клітинні захисти, а також захист на тканинному рівні, який може бути специфічним і неспецифічним.

Рецепторні білки стратегічно розташовані в клітинних мембранах для виявлення патогенів або факторів, що транспортуються патогенами. Здатність рослини активувати захисну відповідь контролюється геном.

На рисунку 4.2 представлена загальна схема активування двох рівнів захисту рослин, залежно від типу сприйнятих сигналів (*Shamrai, 2022*).

Перший рівень, базальний імунітет - **PTI**, активується завдяки консервативним екзогенним молекулярним патернам патогенів або ендогенним молекулярним патернам, що з'являються після нападу патогену. Фітопатогенні організми, адаптовані до конкретних рослин, можуть пригнічувати **PTI** шляхом введення відповідних білкових ефекторів, що робить рослину менш стійкою.

У відповідь на це рослини розвивають другу лінію захисту - **ETI**, здатність виявляти ефектори патогенів. Натомість патогени можуть виробляти нові або змінені ефектори, які більше не розпізнаються білками стійкості рослини, що робить її знову вразливою до патогену.

У відповідь рослини адаптуються, формуючи нові білки стійкості, які здатні розпізнавати нові ефектори та активувати імунну відповідь, що спричиняє постійні своєрідні «перегони озброєнь» між рослиною та патогеном.

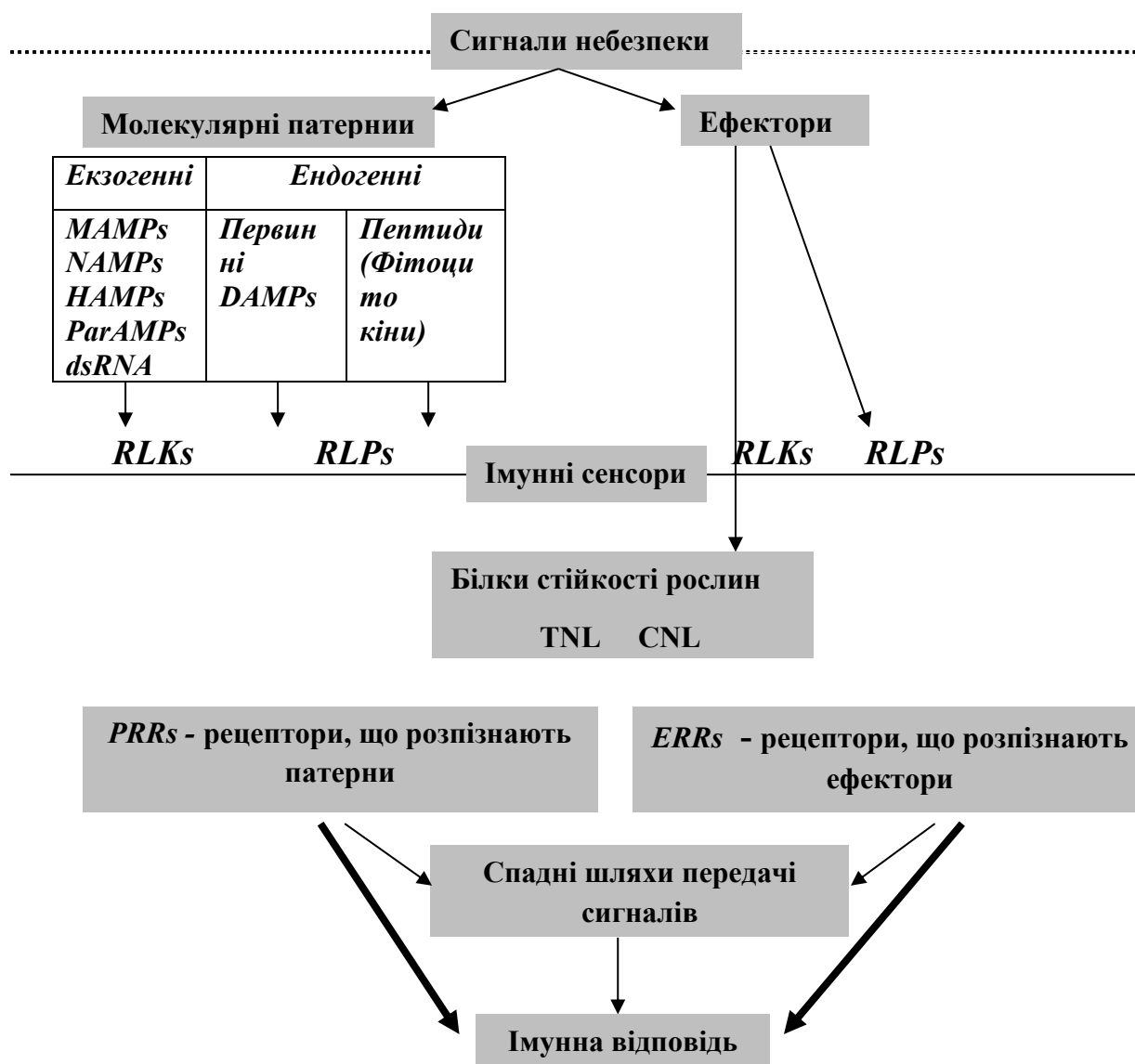


Рис. 4.2 Старт реакцій імунітету рослини після інфікування патогенами різної біологічної природи

Позначення до рис. 4.2: **DAMPs** – молекулярні патерни асоційовані з пошкодженням; **dsRNA** – дволанцюгова РНК; **MAMPs** – асоційовані з мікроорганізмами молекулярні патерни; **NAMPs** – молекулярні патерни асоційовані з нематодами; **ParAMPs** – асоційовані з паразитичними рослинами молекулярні патерни. Імунні сенсори: **ERRs** – рецептори, що розпізнають ефектори патогенів; **PRRs** – рецептори, що розпізнають патерни; **RLKs** – рецептороподібні кінази; **RLPs** – рецептороподібні білки; **TNL** і **CNL** – білки стійкості рослин.

У 2000-х роках була запропонована модель взаємодії рослин і фітопатогенів у вигляді «зигзага» (рис. 4.3). Зазвичай, хоча й не завжди,

реакції **PTI** менш інтенсивні порівняно з **ETI**, що ілюструється на схемі стрілкою та штрихами (*Shamrai, 2022*).

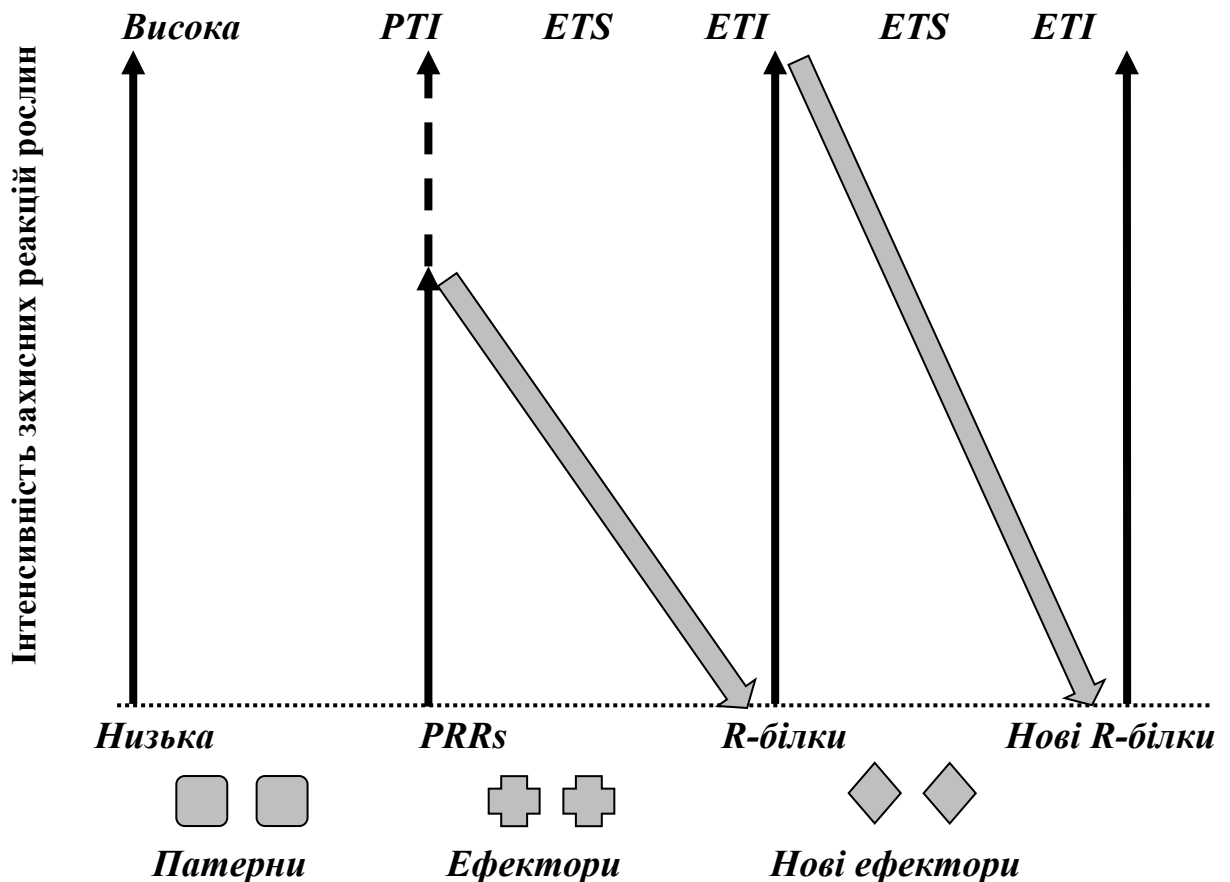


Рис. 4.3 Модель «zigzag» взаємодії рослин і фітопатогенних організмів

Позначення до рис. 4.3: **PRRs** – рецептори, що розпізнають патерни; **PTI** – імунітет, що викликається патернами; **ETS** – індукована ефекторами сприйнятливність; **ETI** – імунітет, що викликається ефекторами; R-білки – білки стійкості рослин.

Основні відмінності між **PTI** та **ETI** полягають не лише в типах сприйнятих сигналів, а й у типах імунних сенсорів, що розпізнають сигнали небезпеки.

Більшість рецепторів, що відповідають за розпізнавання ефекторів патогенів, є **ERRs** (*effector recognition receptors*), що є внутрішньоклітинними та складаються з мультидоменних білків з нуклеотидним зв'язуючим сайтом.

На відміну від ефекторів, які можуть змінюватися та навіть припиняти своє експресування, патерни, що розпізнаються, як екзогенні, так і ендогенні, є значно більш стабільними та завжди присутні у патогенів.

Як було зазначено вище, молекулярні патерни, що розпізнаються **PRRs**, можуть бути екзогенними та ендogenousними. Екзогенні потенційно небезпечні агенти розпізнаються за появою молекул або частин молекул, які відсутні у рослин і свідчать про появу «не свого». Такі патерни асоційовані з усіма групами патогенів і шкідників, що мешкають на рослинах:

- з мікроорганізмами - **MAMPs**;
- з фітопатогенними нематодами - **NAMPs**;
- з комахами-шкідниками - **HAMPs**;
- з паразитичними рослинами - **ParAMP**;
- з вірусами – **VAMPs**.

Шкідники, які харчуються рослинами використовують гідролітичні ферменти для руйнування клітин господаря. В результаті утворюються фрагменти поліцукрів клітинної стінки в апопласті рослин, та позаклітинні АТФ, НАД<sup>+</sup>, ДНК і летючі органічні сполуки (первинні ендogenousні патерни **DAMPs**).

Вторинні ендogenousні патерни - це пептиди рослин, що регулюють імунну відповідь. Зазвичай ці білки синтезуються в результаті пошкодження, впливу інших патернів або атаки патогенів.

Рецептори базального імунітету **PRRs** ділять на рецепторні кінази **RLKs** і рецептороподібні білки **RLPs**. Кінази каталізують перенесення фосфатних груп з АТФ на білки та активують ферменти. Після зв'язування з патерном формуються динамічні комплекси з регуляторними рецепторними кіназами в плазматичній мембрані для ініціювання передачі імунних сигналів.

**RLKs** - рецепторні кінази рослин, які складаються з позаклітинного домену - розпізнає сигнальні молекули (ефектори патогенів, гормони, пептиди); трансмембранного домену - закріплює білок у мембрані клітини та внутрішньоклітинного (кіназного) домену - передає сигнал через фосфорилування білків.

**RLPs** - (рецептороподібні білки) - це мембранні білки у рослинах, які також беруть участь у розпізнаванні патогенів, міжклітинній комунікації та імунних реакціях. На відміну від **RLKs**, **RLPs** не мають третього кіназного домену, тобто вони не можуть самостійно передавати сигнали через фосфорилування. Замість нього мають цитоплазматичний домен, не здатний передавати сигнал самостійно, тому він працює в комплексі з іншими білками.

Для розуміння розпізнавання присутності ефекторів патогенів потрібно чітко розрізняти наступні поняття - **R-білки**, або «білки стійкості» та **NLR-білки**. Це поняття споріднені, але не тотожні.

**R-білки**, або «білки стійкості» - це загальний термін для білків, що забезпечують імунітет та стійкість до патогенів. **NLR-білки** - одна з специфічних підгруп **R-білків**, які розпізнають ефектори патогенів та ініціюють **ETI** (таблиця 4.2).

Таблиця 4.2

#### Порівняння R-білків та NLR-білків

Категорія	R-білки (загальна група)	NLR-білки (специфічна підгрупа R-білків)
Що це?	Будь-які білки, що забезпечують стійкість до патогенів	Конкретний тип R-білків, що розпізнають ефектори патогенів
Що розпізнає?	PAMPs, DAMPs, ефектори, токсини	Ефектори патогенів
Тип імунітету	Може брати участь у PTI або ETI	Виключно ETI
Локалізація	Мембрана, цитоплазма, ядро	Переважно цитоплазма
Функціональний механізм	Активация захисних реакцій (PTI, ETI, HR)	Запуск HR та потужної ETI-відповіді

Іншим прикладом специфічних підгруп **R-білків** є група білків **PRRs**, які виявляють **PAMPs/MAMPs** і запускають **PTI**.

Всі **R-білки** в генотипі рослин кодуються «генами стійкості» - (**R-гени**).

Білки стійкості рослин взаємодіють з багатьма іншими білками клітини, які беруть участь у контролі їх накопичення, згортання та активації білків.

Частина білків стійкості утворює стабільний комплекс з шаперонами - спеціальними білками, які допомагають іншим білкам правильно згортатися, попереджаючи їх агрегацію або неправильне складання. Шаперони не входять до складу зрілих білків, а лише тимчасово зв'язуються з ними під час їх згортання або у стресових умовах, таких як інфекція патогенами чи тепловий стрес. Вони також допомагають у розгортанні й повторному згортанні білків, що втратили свою структуру через стрес, та сприяють транспортуванню білків через мембрани клітинних органел.

Під час виконання своєї рецепторної функції білки **NLR** застосовують різні стратегії (рис. 4.4). У деяких випадках було доведено безпосередню взаємодію між білками стійкості та ефекторами, проте в більшості випадків така фізична взаємодія не спостерігається (Shamrai, 2022).

Це призвело до формулювання гіпотези «охоронця», згідно з якою білки стійкості функціонують як «охоронці» для рослинних білків-мішеней, що є об'єктами ефекторів патогенів. Коли ефектор змінює стан цих білків-мішеней, білок стійкості виявляє дані зміни та активує механізми захисту. Активація **NLR-білків** після розпізнавання ефекторів відбувається через зміну конформації білка, що веде до зняття автоінгібування і заміни в домені АДФ на АТФ.

Значне перекриття в спектрі генів, які активуються в **PTI** та **ETI**, свідчить про те, що шляхи передачі сигналів можуть сходитися в певних точках. Початково ці сигнали ініціюються різними рецепторами з різною локалізацією, але вони зрештою можуть взаємодіяти.

Реакції базового імунітету (**PTI**) зазвичай менш інтенсивні порівняно з тими, що викликаються ефекторами (**ETI**).

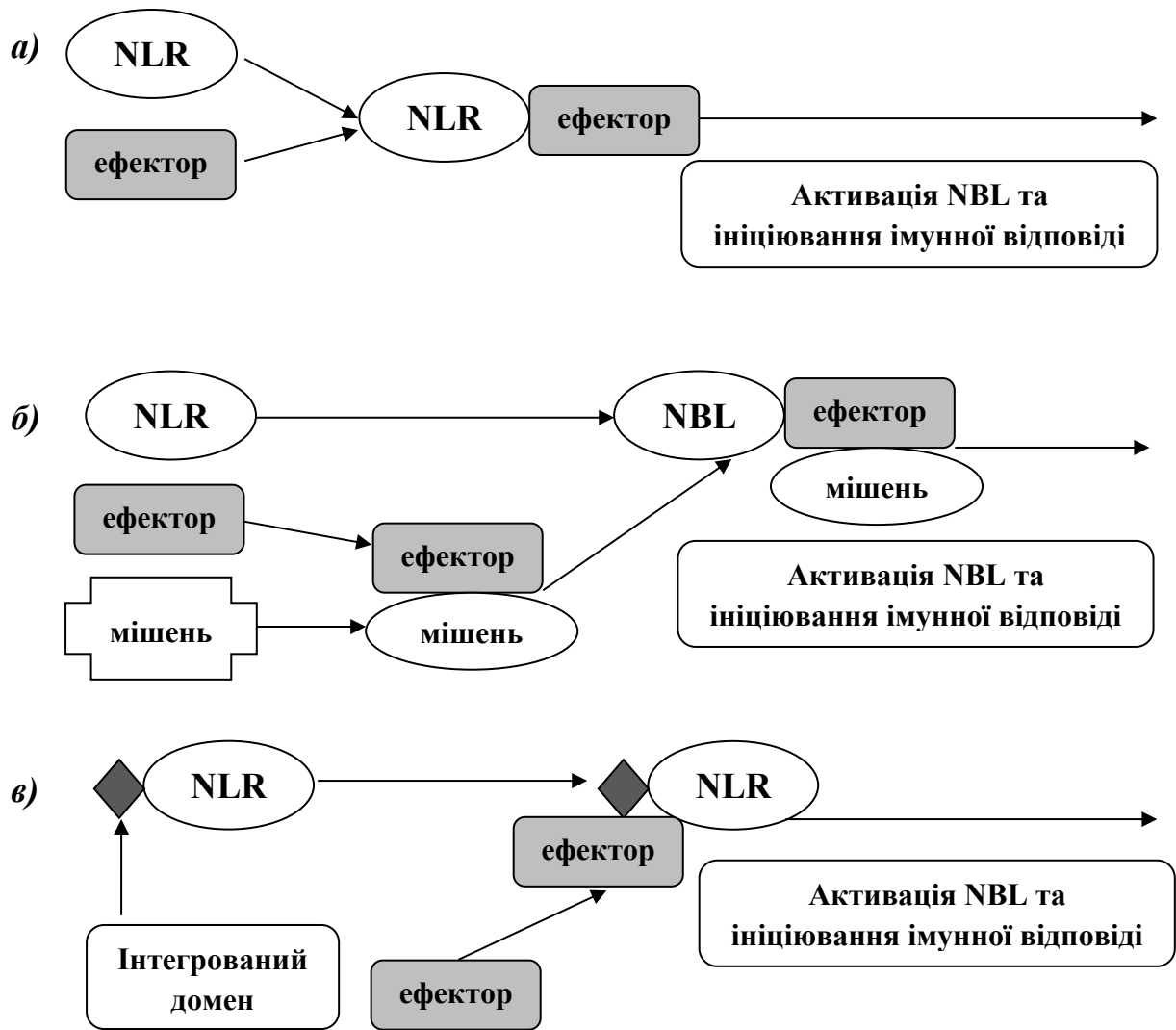


Рис. 4.4 Розпізнавання присутності ефекторів патогенів білками **NLR** рослин. (а) Безпосереднє розпізнавання ефектора доменом **LRR**. (б) Опосередковане розпізнавання присутності ефектора через зміни білка рослини мішені ефектора або принади. (в) Принадою для ефектора служить інтегрований домен білка **NLR**

Імунна відповідь, що викликається білками стійкості **NLR**, часто призводить до локалізованої запрограмованої загибелі клітин **HR** (надчутлива відповідь). Водночас у **PTI** надчутлива відповідь спостерігається значно рідше. На сьогодні невідомо, як рослини відрізняють **MAMPs** патогенів від **MAMPs** безпечних або корисних мікроорганізмів.

## РОЗДІЛ 5

### ІНФІКУВАННЯ РОСЛИН РІЗНИМИ ПАТОГЕНАМИ

Рослини є чудовою екосистемою для мікроорганізмів. Між рослинами та мікробами існують як взаємовигідні (мутуалістичні), так і патогенні взаємодії. Взаємодія рослин із мікроорганізмами відбувається зовнішньо через формування ризосфери та поглинання поживних речовин. Ризосфера - це частинки ґрунту та мікроорганізми, які прилягають до коренів, вона формується завдяки механізмам, що включають рухливість мікробів, їх прикріплення та ефективне постачання поживних речовин кореневою системою рослини.

Корені виділяють високомолекулярні сполуки, такі як цукри, амінокислоти, органічні кислоти, фенольні сполуки, жирні кислоти та ферменти, у ризосферу. Органічні кислоти та цукри служать джерелом карбону, тоді як амінокислоти є джерелом нітрогену. Виділення коренями біоактивних речовин змінює як фізичні, так і хімічні характеристики ґрунту, що, сприяє створенню сприятливого середовища для розвитку мікробної спільноти.

**Фітопатогени та умови розвитку хвороб у рослин.** Фітопатогени поділяються на три основні групи залежно від способу інфікування рослин: некротрофи, біотрофи та гемібіотрофи.

**Некротрофи** - це мікроорганізми, які атакують і вбивають своїх господарів, живлячись їхніми поживними речовинами. До некротрофів належать, наприклад, гриб *Botrytis cinerea* (збудник сірої гнилі) та бактерія *Erwinia carotovora* (збудник бактеріальної м'якої гнилі).

**Біотрофи** – це патогени, які підтримують життєдіяльність свого господаря, оскільки продовжують харчуватися його поживними речовинами протягом усього життєвого циклу. До біотрофів належать гриб *Blumeria*

*graminis* (збудник борошнистої роси), *Cladosporium fulvum* та бактерія *Xanthomonas oryzae* (збудник бактеріального опіку рису).

**Гемібіотрофи** це патогени, які спочатку потребують живого господаря, але на пізніх стадіях інфекції вбивають його. Наприклад, *Magnaporthe grisea*, збудник хвороби рису (рисової п'ятнистості), спочатку поводить себе як біотроф, а пізніше переходить у некротрофну фазу. Загалом, бактерії та гриби зазвичай мають біотрофний або некротрофний спосіб інфікування, тоді як віруси є типовими біотрофами, хоча їхня інфекція може зрештою призводити до загибелі клітин господаря.

**Умови, за яких патоген спричиняє хворобу в рослинах.** Розвиток хвороби у рослинах залежить від трьох основних чинників: господаря, патогену та навколишнього середовища.

Хвороба виникає, коли сприйнятлива рослина (сумісний господар) заражається патогеном за сприятливих для інфекції умов середовища. Іншими словами, для успішного розвитку хвороби має відбутися взаємодія між трьома компонентами: патогеном, господарем і середовищем. Ці три фактори утворюють трикутник хвороби або, у розширеному вигляді, піраміду хвороби.

Попередні (вроджені) механізми захисту рослин не завжди достатні для запобігання проникненню патогенів. Діапазон видів рослин, які можуть бути уражені певним патогеном, називається спектром господарів. Патоген спричиняє хворобу, якщо йому вдається уникнути або пригнітити активну захисну реакцію рослини, зокрема шляхом виділення токсинів. Крім того, успішне зараження залежить від сприятливих умов середовища для патогену та несприятливих для рослини-господаря. Якщо умови несприятливі для патогену, навіть сприйнятлива рослина, зазнавши масованої атаки, може не захворіти.

Здатність фітопатогену спричинити хворобу також залежить від наявності або відсутності факторів розпізнавання, рецепторів у рослині, а також необхідних поживних речовин і факторів росту.

**Сумісність і несумісність між мікроорганізмом і рослиною.** Патоген може викликати хворобу лише за сумісної взаємодії з рослиною. Це відбувається, коли патоген інфікує сприйнятливий організм і викликає симптоми захворювання. Несумісна взаємодія можлива, коли патоген зустрічає несприйнятливую рослину або несприйнятливий сорт (наприклад, стійкі культури або несумісні види рослин).

**Фактори розпізнавання.** Перший етап зараження передбачає клітинно-клітинну комунікацію між патогеном і рослиною. Якщо клітини поверхні рослини не містять певних факторів розпізнавання, патоген може не розпізнати її як господаря, не прикріпитися до неї або не виробляти необхідні для інфекції структури (апресорії, гаусторії) та ферменти. Такі молекули розпізнавання можуть бути представлені олігосахаридами, полісахаридами та глікопротеїнами.

**Рецептори рослини та місця дії токсинів.** Патоген виділяє господарсько-специфічні токсини, що викликають патологічні прояви хвороби. Ці токсини зв'язуються з певними чутливими рецепторами в клітинах рослини-господаря. Тільки ті рослини, що мають відповідні рецептори, можуть бути уражені та захворіти.

**Необхідні поживні речовини та фактори росту.** Багато факультативних сапрофітів і більшість облигатних паразитів є високоспецифічними до свого господаря. Деякі патогени настільки спеціалізовані, що можуть рости та розмножуватися лише на певних видах рослин. Це пояснюється тим, що тільки ці рослини містять необхідні для патогену поживні речовини та фактори росту. Відсутність таких речовин в інших рослин робить їх несприйнятливими до зараження.

Для того, щоб патоген міг успішно інфікувати рослину, він має пройти чотири основні етапи:

1. Знайти господаря та відповідне місце проникнення.
2. Розвинути спеціалізовані інфекційні структури (наприклад, апресорії, гаусторії).

3. Подолати попередні та індуковані захисні механізми рослини.

4. Отримати поживні речовини, рости та колонізувати тканини господаря.

Крім того, морфологічні зміни патогену відіграють важливу роль у проникненні та адаптації до тканин рослини. Доступ до тканин може відбуватися безпосередньо через епідерміс, через механічні пошкодження або через природні отвори (наприклад, продихи). Після успішного проникнення відбувається колонізація тканин рослини, яка має різні механізми у бактерій, грибів та вірусів.

***Потрапляння патогенів у рослину та їхня проліферація.***

Опинившись у рослині, патогени розмножуються в апопласті, звідки вони отримують поживні речовини господаря. У цьому середовищі патогенні бактерії вводять у клітини рослини білки-ефектори III типу **T3SEs** (*Type III Secretion Effectors*). **T3SEs** - це ефекторні білки, які продукуються патогенними бактеріями та транспортуються в клітини господаря через систему **T3SS** під час інфікування рослини.

На рисунку 5.1 представлений конкретний випадок інфікування одним з таких білків, так званим **XopD** (*Xanthomonas outer protein D*), що продукується патогенними бактеріями роду *Xanthomonas*, які спричиняють плямистість листя рослин кісточкових та пасльонових. Цей випадок добре вивчений, гарно ілюструє загальні закономірності інфікування рослин патогенними ефекторними білками, тому зупинимось на ньому більш детально.

**T3SEs** є білками, що можуть впливати на різні клітинні шляхи, через модифікацію хроматину, деякі можуть діяти як ферменти (наприклад, протеази або фосфатази), що змінюють активність специфічних молекул господаря. **T3SEs** пригнічують експресію генів захисту шляхом модулювання хроматинової конфігурації в ядрах клітин господаря.

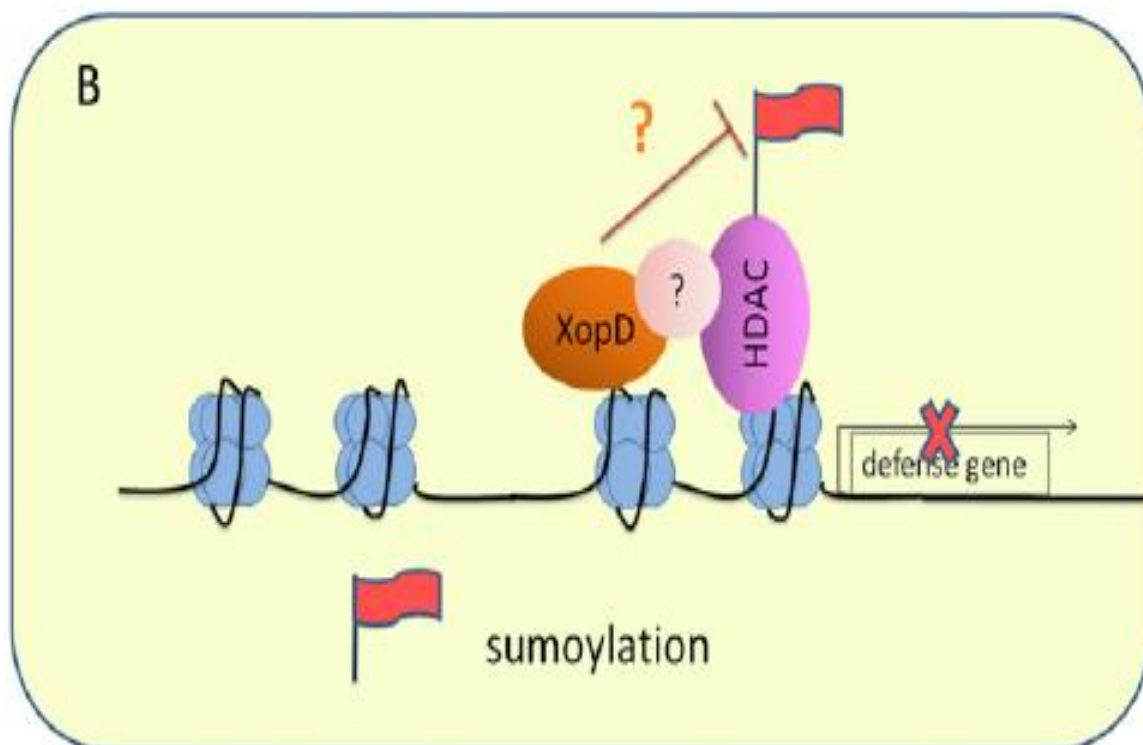


Рис. 5.1 Схеми дії білків **T3SEs** патогенних бактерій після їх секреції в клітини рослини-господаря.

Позначення до рис. 5.1: **HDAC** (*Histone Deacetylase*) - гістондеацетилаза, фермент, що бере участь у регуляції експресії генів; **XopD** – білок з класу ефektorних білків бактерій роду *Xanthomonas*; блакитні кульки **H** – **білки** (білки-гістони).

Синтезовані ефektorні білки надходять з бактеріальної клітини в клітину господаря, де вони спричиняють низку ефектів, що допомагають збуднику вижити та уникнути імунної відповіді.

Білок **XopD** діє як супресор імунної відповіді рослин. Це означає, що він блокує або пригнічує захисні механізми рослин, сприяючи успішній колонізації патогеном. Відомо, що **XopD** має деубіквітинуючу активність (здатність видаляти убіквітин із білків рослини). Ця здатність є ключовою в процесі інфікування через те, що убіквітин є міткою для деградації білків, і, знімаючи ці мітки, **XopD** може стабілізувати ключові білки рослини, які вигідні для патогену.

Убіквітин - це невеликий (76 амінокислот) регуляторний білок, який присутній у клітинах усіх еукаріотичних організмів. Він відіграє ключову роль у системі регуляції білків, контролюючи деградацію або модифікацію білків, тим самим забезпечує підтримку клітинного гомеостазу.

Функції убіквітину:

- мітка для деградації білків. Убіквітин ковалентно приєднується до білків, які потрібно знищити, позначаючи їх для деградації у спеціальних клітинних органелах - протеасомах (цей процес називається убіквітин-протеасомна система);

- регуляція активності білків: убіквітин може змінювати функцію або локалізацію білків у клітині;

- контроль якості білків: видаляє білки, які пошкоджені, неправильно згорнуті або більше не потрібні клітині;

- роль у сигнальних шляхах: убіквітинування бере участь у регуляції багатьох клітинних процесів, таких як передача сигналів, репарація ДНК і внутрішньоклітинний транспорт.

Після активізації убіквітину з використанням АТФ він ковалентно приєднується до білка-мішені через зв'язок із залишком лізину.

Поліубіквітиновані білки-мішені розпізнаються протеасомою, яка розщеплює їх на амінокислоти. Убіквітин в цей момент звільняється і може бути використаний повторно.

Таким чином, убіквітинування контролює знищення ключових регуляторів клітинного циклу і забезпечує правильний поділ клітин; здійснюється у відповідь на пошкодження ДНК, тепловий шок або інші стреси. Убіквітин бере участь у регуляції імунних сигналів, наприклад, у розпізнаванні чужорідних білків і є регулятором, без якого нормальне функціонування клітини було б неможливим. Порушення функціонування убіквітин-протеасомної системи приводе до захворювань не лише рослин, а й людей: хвороби Паркінсона, Альцгеймера (накопичення неправильно

згорнутих білків), рак (порушення деградації онкопротеїнів), інфекційні хвороби.

Маніпуляція убіквітинуванням білків хазяїна поширена серед патогенних вірусів і бактерій для уникнення імунної відповіді.

Повертаємось до модельного випадку з **XopD**, який яскраво ілюструє процес інфікування рослини. Білок **XopD** модулює роботу генів рослини, які контролюють захисні реакції, стресові відповіді та процеси старіння. **XopD** затримує або модулює процес старіння рослинних тканин (сенесценцію), оскільки регульоване старіння може бути частиною природного імунного захисту рослини.

У біології термін «сенесценція» описує стан, коли клітина або тканина припиняє ріст і функціональну активність, але залишається живою. Сенесценція у рослин є запрограмованим процесом, який відбувається на останніх стадіях розвитку вегетативних та генеративних органів. На клітинному рівні сенесценція - це стан, коли клітина припиняє поділ через пошкодження ДНК, скорочення теломер або інші фактори. Накопичення сенесцентних клітин може призводити до старіння тканин.

У цей період ресурси рослини перерозподіляються на користь репродуктивних органів (насіння, плоди), що сприяє її виживанню. Деякі рослини самостійно ініціюють сенесценцію як реакцію на несприятливі умови (посуха, брак поживних речовин).

Основні ознаки сенесценції:

- зниження фотосинтетичної активності (жовтіння листя);
- руйнування хлорофілу та інших пігментів;
- деградація білків і ДНК;
- активізація генів, пов'язаних зі старінням і програмованою загибеллю клітин.

За допомогою білків **XopD** бактерія продовжує життєвий цикл інфікованих тканин рослини, що забезпечує їй ресурсами на тривалий час.

**XopD** містить кілька функціональних доменів, важливих для їх функціонування;

- домен, відповідальний за деубіквітинуючу активність (використовується у випадку, коли убіквітин ковалентно приєднується до **XopD**, позначаючи його для деградації);

- домен, який взаємодіє з молекулами рослинної клітини;

- ядерну локалізаційну послідовність **NLS** (*Nuclear Localization Signal*).

**NLS** - коротка послідовність амінокислот у білку, яка забезпечує його транспортування через ядерну мембрану до ядра клітини. **NLS** розпізнається спеціальними транспортними білками, які забезпечують переміщення білка через ядерні пори, що дозволяє **XopD** транспортуватися до ядра клітини рослини.

**XopD** є ефектором, що може асоціюватися з та модифікувати ензими, наприклад **HDAC** (*Histone Deacetylase*), які модифікують гістони або інші хроматинові ремоделюючі білки (рис. 5.2).

Ці білки важливі для бактеріальної патогенності, оскільки вони допомагають бактеріям обходити захисні механізми господаря та створюють умови для розвитку інфекції.

Основні характеристики **XopD**:

1. **XopD** має активність **SUMO-протеази** (*Small Ubiquitin-like Modifier*)

- він може відщеплювати молекули **SUMO** від білків-господарів. **SUMO** - це малий білок, що складається з 90 амінокислот, який виконує функцію модифікації інших білків у клітині. Основна функція **SUMO** полягає у зміщенні його на інші білки через ковалентні зв'язки, що змінює їхню функцію, локалізацію або стабільність. Це змінює функціонування даних білків-господарів зокрема, може впливати на їхню стабільність, активність, взаємодії з іншими молекулами або їх локалізацію в клітині. Важливою функцією **SUMO** є регуляція процесів, пов'язаних із відповідями клітин на стрес, регуляцією транскрипції, пошкодження ДНК. Його відщеплення від білка господаря порушує регуляцію клітинних процесів.

2. **XopD** діє як транскрипційний репресор. Він може інгібувати транскрипцію певних генів рослин (захисних), що допомагає бактеріям у процесі інфекції, оскільки це знижує захисні реакції рослини.

3. Взаємодія з іншими білками: **XopD** може асоціюватися з білками, що модифікують хроматин або з іншими ремоделюючими білками, зокрема **HDAC**, впливаючи на їхню активність і структуру хроматину.

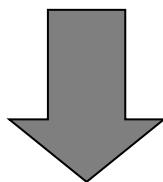
Для повноти розуміння процесу інфікування важливо розуміти функції **HDAC**. **HDAC** - це фермент, що каталізує процес деацетилювання гістону (видалення ацетильних груп (-COCH<sub>3</sub>) з амінокислоти лізину в гістоні). Це призводить до зміни просторової конформації гістону та ущільнення хроматину. В цьому випадку транскрипційні білки та інші молекули, які необхідні для активації генів, не можуть ефективно взаємодіяти з таким хроматином, що знижує транскрипцію генів. Деацетилювання гістону, здійснене **HDAC**, змінює доступність ДНК для транскрипційних механізмів.

**HDAC**и можуть взаємодіяти з різними регуляторними білками та трансформувати хроматинову структуру, що впливає на багато клітинних процесів, включаючи розвиток, диференціацію, відповідь на стрес і контроль клітинного циклу. Все це пов'язано з різними патологіями у рослин.

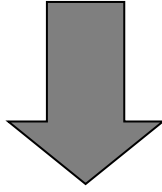
Ми приділили велику увагу **XopD**, як модельному об'єкту інфікування та патогенезу рослин, ефектору, що забезпечує бактеріям *Xanthomonas* можливість успішно інфікувати рослини, порушуючи нормальні клітинні процеси господаря через модифікацію **SUMO** та інші механізми хроматинових змін.

Етапи інфікування рослини патогенною бактерією:

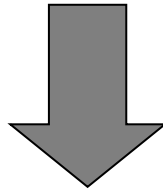
### I. Потрапляння патогенів у апопласт рослинних тканин



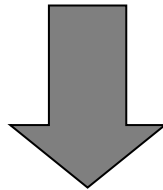
**II. Ведення патогенними організмами у клітини рослин ефекторів III типу (T3SEs), наприклад XopD, за допомогою системи секреції III типу (T3SS)**



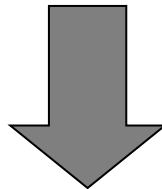
**III. XopD асоціюється з ензимами, наприклад, HDAC, які відповідають за нормальне функціонування гістонів хроматину**



**IV. Ущільнення хроматину (структури, яка складається з ДНК та білків гістонів)**



**V. Зменшення доступності ДНК для транскрипції та, відповідно, зниження рівня експресії захисних генів через ущільнення хроматину**



**VI. Розвиток патологічних змін в рослинних клітинах (деструкція)**

### **5.1 Фітопатогенні віруси**

Фітопатогенні віруси – це віруси, які інфікують рослини та викликають захворювання, що можуть знижувати врожайність і якість культур. На відміну від бактерій і грибів, віруси не мають власного метаболізму і не здатні до автономного розмноження. Вони використовують клітинний апарат рослини-господаря для реплікації своїх геномів і збирання вірусних частинок.

Віруси, що вражають рослини, можуть мати різну морфологію: паличкоподібну **TMV** (*Tobacco mosaic virus*), ікосаедричну **TBSV** (*Tomato bushy stunt virus*), філаментозну **PVY** (ниткоподібну) (*Potato virus Y*).

Генетичний матеріал вірусів може бути представлений молекулами РНК (переважна більшість) - **CMV** (*Cucumber mosaic virus*), **TRV** (*Tobacco rattle virus*), ДНК (рідше) - **TYLCV** (*Tomato yellow leaf curl virus*).

**Шляхи проникнення вірусів у рослину.** Оскільки рослини мають товсті клітинні стінки, віруси не можуть проникати пасивно. Проникнення вірусів можливе тільки через фізичні пошкодження, що виникають внаслідок екологічних факторів або векторів. Після потрапляння в клітину вірус поширюється локально і системно через плазмодесми (міжклітинні канали), що може відбуватися як у формі віріонів, так і без них.

**Переміщення вірусів** в рослинах забезпечують сисні членистоногі, які можуть доставляти вірусні частинки безпосередньо до судинної системи, що швидко поширює вірус по всій рослині.

Основні шляхи зараження:

1. Передача через комах-векторів: попелиці **PLRV** (*Potato leafroll virus*), трипси **TSWV** (*Tomato spotted wilt virus*), цикадки **MSV** (*Maize streak virus*).
2. Механічне пошкодження: при обрізанні, терті листків, градобої. Вірус тютюнової мозаїки легко передається через контакт.
3. Насіннєва та пилоква передача: **PSbMV** (*Pea seed-borne mosaic virus*).
4. Грунтові гриби та нематоди: **TRV** (*Tobacco rattle virus*) переноситься нематодами *Trichodorus*.
5. Вегетативне розмноження: вірусні інфекції передаються через щеплення, живці, бульби **PVX** (*Potato virus X*).

**Взаємодія вірусів із рослиною.**

Після потрапляння в клітину віруси проходять такі етапи свого існування:

- роздягання (*uncoating*) – вивільнення вірусного геному;
- реплікація генетичного матеріалу;
- синтез вірусних білків;
- збірка нових вірусних частинок;
- переміщення між клітинами через плазмодесми;
- системне поширення через флоему.

**Захист від вірусних інфекцій.** Під час вірусної інфекції, подібно до невірусних інфекцій, ініціюється відповідь **HR** (гіперчутливе реагування), що зумовлена взаємодією білків **Avr/R**. Ці взаємодії призводять до метаболічних змін у рівнях захисних гормонів, таких як саліцилова кислота (**SA**), жасмонова кислота (**JA**) і оксид азоту (**NO**), а також накопичення реактивних кисневих видів (**ROS**), таких як супероксид ( $O_2^-$ ) та водневий перекис, як в інфікованих, так і в неінфікованих тканинах. На клітинному рівні відповідь **HR** впливає на гомеостаз іонів кальцію ( $Ca^{2+}$ ) і змінює мембранний потенціал та проникність мембрани. На молекулярному та біохімічному рівнях активуються кілька генетичних сигнальних каскадів, що індукують численні білки, включаючи білки **MAP**-кінази **MAPKs**, які передають сигнали від рецепторів на поверхні клітини до ядра.

Нижче цих первинних сигнальних каскадів відбувається активація експресії ряду захисних білків, таких як глюканази, хітинази та дефенсини, які належать до родини білків, пов'язаних з патогенезом. На останньому етапі передачі сигналів про інфікування **MAPKs** фосфорилює транскрипційні фактори, ферменти або інші білки, які забезпечують імунну відповідь. Вражаючим є той факт, що генетичні компоненти, які опосередковують **HR** проти різноманітних вірусних та невірусних патогенів, зберігаються у різних родах рослин. На молекулярному та біохімічному рівнях активуються кілька генетичних сигнальних каскадів, що індукують численні білки, включаючи **MAP**-кінази. Ці каскади призводять до підвищення рівня експресії захисних білків, таких як глюканази, хітинази та дефенсини.

**Убіквітин-протеасомна система та її роль в антивірусному захисті.** Убіквітин-протеасомна система **UPS** (*Ubiquitin-Proteasome System*) є важливим елементом у взаємодії вірус-господар на кожному етапі антивірусного захисту. Як рослини, так і віруси використовують цілу низку стратегій для модуляції процесів **UPS**. **UPS** регулює клітинні активності, включаючи клітинний цикл, транскрипцію та трансдукцію сигналів. Основні компоненти **UPS** рослин включають активуючий фермент убіквітин (**E1**), фермент убіквітин-кон'югат (**E2**) та убіквітин-лігазу (**E3**). Ці три білки утворюють комплекс **E3**-лігази, який специфічно поліубіквітинує клітинні білки, які потім піддаються деградації за допомогою протеасоми **26S**.

**РНК-силінг як механізм захисту.** Крім гіперчутливої відповіді, рослини можуть захищатися від вірусів за допомогою різноманітних механізмів, одним з яких є складна генетична система захисту під назвою РНК-силінг. Багато вірусів продукують дволанцюгову РНК або ДНК під час реплікації в клітині-господарі. Рослини можуть розпізнавати ці чужорідні молекули та реагувати на них, розщеплюючи генетичні ланцюги на марні фрагменти, що зупиняє інфекцію. Рослини, інфіковані вірусами, часто показують хлороз та мармуровість, але симптоми захворювання можуть зникнути, якщо РНК-силінг виявиться успішним, і цей процес називають відновленням (*recovery*). Крім того, рослина може зберігати шаблон розщепленої генетичної нитки, що може бути використано для швидкої відповіді на майбутню атаку схожими вірусами, що є аналогом пам'яті в імунних системах хребетних.

За допомогою даного механізму відбувається деградація вірусної РНК, власне знищення або нейтралізація вірусу, тому зупинимось на ньому детально. На рівні рослинної клітини **RNAi** (*RNA interference*, РНК-інтерференція) – це молекулярний механізм регуляції генів, який дозволяє клітинам інгибувати експресію певних генів за допомогою малих РНК, які спрямовують розщеплення або блокування мРНК. У загальному значенні термін «інтерференція» означає втручання або перешкоду в певному процесі.

У випадку **RNAi**, інтерференція означає втручання в генетичну програму клітини для зниження активності певних генів. Цей механізм відіграє ключову роль у захисті від вірусів (у рослин, комах, тварин), регуляції експресії генів у клітині, контролі мобільних елементів ДНК (наприклад, транспозонів).

Рослини можуть використовувати механізм **RNAi** для руйнування вірусної РНК за допомогою **dicer-ферментів**, які розрізають вірусну РНК. **Dicer** – це фермент, який належить до родини РНКаз III і відіграє ключову роль у процесах РНК-інтерференції (**RNAi**) та біогенезу мікроРНК - **miRNA** (*microRNA*). **Dicer** походить від англ. "to dice" – "нарізати кубиками", що відображає його функцію розщеплення довгих дволанцюгових РНК - **dsRNA** (*double-stranded RNA*) або попередників мікроРНК - **pre-miRNA** (*precursor microRNA*) на короткі дволанцюгові фрагменти довжиною ~ 21–25 нуклеотидів. Він розщеплює **dsRNA** на короткі інтерферуючі РНК - **siRNA** (*small interfering RNA*) або мікроРНК (**miRNA**) і запускає механізм заглушення генів (**RNAi**), що регулює експресію генів або захищає клітину від вірусів. **Dicer** присутній у багатьох еукаріотичних організмах і є важливим компонентом посттранскрипційної регуляції генів.

Другий учасник механізму **RNAi** – **siRNA**, малі інтерферуючі РНК, що направляють руйнування вірусних транскриптів. Це короткі дволанцюгові молекули РНК (звичайно 20–25 нуклеотидів), які беруть участь у механізмі РНК-інтерференції - **RNAi**. Вони викликають специфічне розщеплення матричної РНК, що призводить до пригнічення експресії певного гена. Дані короткі дволанцюгові РНК специфічно зв'язуються з мРНК мішені та використовуються в наукових дослідженнях для "вимкнення" певних генів.

### **Основні компоненти RNAi:**

**I. Подвійна, дволанцюгова РНК dsRNA** – основний тригер механізму, стартова молекула, що запускає імунну відповідь рослини на інфікування вірусом. Ця РНК може належати вірусу, але не завжди.

Вірусна інфекція може призводити до утворення подвійної дволанцюгової РНК (**dsRNA**) кількома способами:

1) Реплікація РНК-вірусів. Багато вірусів мають генوم із РНК і використовують РНК-залежну РНК-полімеразу **RdRp** (*RNA-dependent RNA polymerase*) для копіювання свого генетичного матеріалу. Під час цього процесу може утворюватися дволанцюгова РНК - **dsRNA** (*double-stranded ribonucleic acid*). Деякі віруси (наприклад, реовіруси) мають **dsRNA-геном**. У вірусів з одноланцюговою РНК під час реплікації утворюються проміжні дволанцюгові РНК.

2) Вірусні транскрипти та комплементарні РНК. Деякі віруси утворюють комплементарні РНК, які можуть гібридизуватися та формувати **dsRNA**. Це може статися, якщо вірус використовує обоє ланцюги свого геному для транскрипції.

3) Антивірусна відповідь клітини. У відповідь на вірусну інфекцію клітина може синтезувати антисмислові РНК, які зв'язуються з вірусними мРНК, утворюючи дволанцюгові РНК - **dsRNA**.

Оскільки дволанцюгова РНК нехарактерна для нормальних клітин еукаріот, вона стає потужним сигналом для активації механізмів захисту, таких як **RNAi** та інтерференова відповідь, що допомагають боротися з вірусною інфекцією.

Рослина розпізнає **dsRNA** як сигнал вірусної інфекції. Фермент **Dicer** розрізає **dsRNA** на **siRNA** → запускається механізм **RNAi** для знищення вірусної РНК. Таким чином **dsRNA** не завжди є частиною вірусу, але якщо вона з'являється в клітині незвично, то сприймається як сигнал вірусної атаки.

**II. Фермент Dicer.** Даний компонент **RNAi** розрізає **dsRNA** на короткі інтерферуючі РНК (**siRNA**).

**III. Комплекс RISC** (*RNA-induced silencing complex*, РНК-індукований комплекс заглушення) – це багатобілковий комплекс, який забезпечує

розщеплення або пригнічення трансляції мРНК-мішені за допомогою малих РНК (**siRNA** або **miRNA**).

Основні компоненти **RISC**:

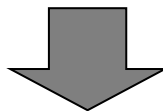
- аргонавт **AGO** (*Argonaute protein*) – головний білок, що взаємодіє з малою РНК і виконує розщеплення мРНК (у випадку **siRNA**);
- додаткові білки – допомагають у зв'язуванні мРНК та регуляції її долі.

**RISC** – це ключовий механізм генетичного заглушення, який використовується як у природних процесах, так і в біотехнології.

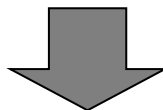
**IV. Малі РНК (siRNA або miRNA)** – направляють **RISC** до мРНК-мішені.

Орієнтовна послідовність здійснення **RNAi** під час інфікування рослини вірусом:

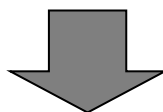
**Ініціація: вірусна інфекція, транспозони або експресія специфічних генів призводять до утворення дволанцюгової РНК (dsRNA).**



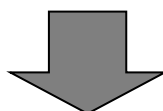
**Фермент Dicer (ендонуклеаза III типу) розрізає dsRNA на короткі siRNA (small interfering RNA, 21–24 нуклеотида)**



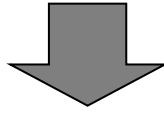
**Формування RISC-комплексу (RNA-induced silencing complex, РНК-індукований комплекс заглушення) під час якого siRNA зв'язуються з білком AGO (Argonaute), що є частиною RISC**



**Один із ланцюгів siRNA (пасивний ланцюг) деградує, а активний ланцюг залишається в комплексі**



**Ефекторна фаза (пригнічення мРНК). Комплекс RISC, використовуючи siRNA як матрицю, знаходить комплементарну мРНК**



**Деградація мРНК (якщо відповідність повна) або блокування трансляції (якщо відповідність часткова), припинення синтезу білка з цієї мРНК.**

Цілком очевидним є факт, що фітопатогенні віруси – одні з найнебезпечніших загроз для сільського господарства, тому їхнє вивчення та розробка методів боротьби завжди є актуальними напрямками науки. Боротьба з вірусами у сільському господарстві відбувається за допомогою селекції стійких сортів, знищення інфікованих рослин, контролю переносників (комах-векторів), термічної обробки насіння і посадкового матеріалу, використання вірусних інгібіторів (**CRISPR, RNAi**).

## **5.2 Технологія CRISPR-CAS**

Знання про рецептори рослин дозволило створити нові стратегії біотехнологічного захисту від хвороб, включаючи редагування геному, зокрема **CRISPR-Cas**.

У 2020 році Еммануель Шарпантьє та Дженніфер Дудна отримали Нобелівську премію з хімії за розробку технології **CRISPR-Cas**, яка дозволяє точно редагувати **ДНК**. Її відкриття стало справжньою революцією в молекулярній біології, генетиці та біотехнології. Ця система була спершу знайдена як частина природного імунного захисту бактерій від вірусів (бактеріофагів).

**CRISPR** - це повторювані послідовності **ДНК**, які вбудовані в геном бактерій і слугують "архівом" фрагментів **ДНК** вірусів, з якими бактерія стикалася в минулому («імунна пам'ять»).

**Cas** - це ферменти, що працюють як молекулярні ножиці, здатні розрізати **ДНК** в конкретних місцях, визначених системою **CRISPR**.

В природі, коли вірус інфікує бактерію, вона захоплює фрагменти **ДНК** вірусу та вбудовує їх у свої **CRISPR-повтори**. Це дозволяє бактерії "запам'ятати" вірус. Якщо вірус знову атакує, бактерія використовує **РНК-копії** цих фрагментів, щоб розпізнати вірусну **ДНК**. Потім фермент **Cas** розрізає **ДНК** вірусу, запобігаючи інфекції.

Дослідники адаптували цю систему для редагування геному інших організмів, включаючи рослини, тварин і людей.

Для редагування **ДНК** додається направляюча **РНК** - **gRNA** (*guide RNA*), яка визначає точне місце в **ДНК** для редагування. Фермент (найчастіше **Cas9**) розрізає **ДНК** у цьому місці. У місце розрізу можна вставити новий ген або видалити/змінити той, що існує.

Технологію **CRISPR-Cas** використовують для:

1. Розробки нових сортів рослин (створення стійких до хвороб або несприятливих умов сортів, збільшення врожайності або поліпшення харчових якостей культур).
2. Боротьби зі шкідниками (генетична модифікація комах, щоб зменшити їхню здатність переносити хвороби (наприклад, малярійні комарі)).
3. Фундаментальних досліджень (вивчення функції генів і процесів у клітинах).

Переваги технології **CRISPR-Cas** полягають у:

- точності методу (можна вибірково редагувати потрібний ген), універсальності;
- універсальності (працює в більшості організмів);
- доступності (порівняно дешевша та простіша технологія, ніж попередні методи).

Недоліками технології **CRISPR-Cas** є:

- випадкові неточності (*off-target effects*), коли фермент **Cas9** може розрізати **ДНК** у небажаних місцях, що може призвести до небажаних мутацій.

- етичні питання (редагування людських ембріонів, потенційне використання в біологічній зброї, використання для створення "дизайнерських дітей").

- не завжди зрозуміло, як редагування **ДНК** впливатиме на організм у довгостроковій перспективі.

Відомі ферменти **CRISPR-Cas**:

- **Cas9** - найпопулярніший фермент для редагування **ДНК**;

- **Cas13** - специфічний для **РНК**, використовується для розрізання або модифікації **РНК**.

**CRISPR-Cas** - це один із найпотужніших інструментів, який змінює підходи до покращення геному рослин, лікування генетичних хвороб, відновлення геному видів, які знаходяться на межі вимирання. Це відкриття стало базою для сучасної молекулярної фітопатології та заклало основи для інновацій у сільському господарстві, а в еволюційній біології розуміння того, як рослини коеволюціонують із патогенами, адаптуючи свої захисні механізми.

### 5.3 Бактеріальні патогени

**Фактори вірулентності бактерій.** Тяжкість симптомів захворювання, спричиненого бактеріями в рослинах, визначається виробництвом низки факторів вірулентності, включаючи фітотоксини, ферменти, що розкладають клітинну стінку рослин, екстрацелюлярні полісахариди та фітогормони. Загалом, фітопатогенні бактеріальні штами, які мутували в будь-якому факторі вірулентності, зменшують свою вірулентність, але їх патогенність залишається незмінною.

**Фітотоксини.** Фітопатогенні бактерії виробляють широкий спектр нефітоспецифічних фітотоксинів, тобто токсичних сполук, що викликають симптоми в багатьох рослинах. Наприклад, на основі симптомів, які вони спричиняють в рослинах, фітотоксини *Pseudomonas spp.* класифікуються на фітотоксини, що індукують некроз, і ті, що спричиняють хлороз.

Фітотоксини, що індукують некроз, такі як ліподепсипептиди, поділяються на дві групи залежно від довжини їх амінокислотного ланцюга: міцини (наприклад, сириноміцини) і пептини (наприклад, сиринопептини). Обидва типи фітотоксинів спричиняють некроз в тканинах рослин і формують пори в клітинних мембранах рослин, що сприяє трансмембранному потоку іонів та загибелі клітин.

Фітотоксини, що індукують хлороз, включають:

- коронатин, що виробляється *Pseudomonas syringae* (грамнегативна бактерія, що спричиняє плямистість листя, некрози, рак стебел та інші ушкодження);

- фазеолотоксин, вироблений *Pseudomonas savastanoi* (грамнегативна бактерія, що викликає утворення гал (наростів) на різних рослинах, зокрема на оливкових деревах, бузку та бобових культурах);

- табтотоксин, що виробляється *Pseudomonas syringae* (фітопатогенна бактерія, що є одним із патоварів *Pseudomonas syringae*, яка викликає бактеріальну плямистість тютюну).

Синтез коронатину суттєво сприяє розширенню уражень, розвитку хлорозу та бактеріальному розмноженню в інфікованих листках. Він також здатний пригнічувати закриття продихів, що є частиною вродженої імунної відповіді рослини, яка запобігає проникненню бактерій. Ця сполука запобігає закриттю продихів, знову відкриваючи їх і дозволяючи мікроорганізмам потрапляти в тканини рослини.

**Ферменти, що розкладають клітинну стінку рослин.**

Екстрацелюлярні ферменти, здатні розкласти клітинні стінки рослин, є важливими факторами вірулентності для некротрофних м'якотних гнильних бактерій, таких як ервінії, які тепер належать до роду *Pectobacterium*. Комбінація екстрацелюлярних ферментів: пектатліаз, пектинметилестераз, пектинліаз, полігалактуроназ, целюлаз та протеаз беруть участь у процесі деполімеризації клітинних стінок рослин, що провокуються цими бактеріями.

**Екстрацелюлярні полісахариди.** Екстрацелюлярні полісахариди **EPS** (*Exopolysaccharides*) можуть бути пов'язані з бактеріальною клітиною як капсула, вивільнятися у вигляді слизу або бути представлені в обох формах. EPS є важливими факторами патогенності або вірулентності, особливо для бактерій, що мають судинне середовище. Наприклад, EPS аміловорон та леван є факторами патогенності і вірулентності відповідно для *Erwinia amylovora*, збудника вогняної хвороби на деяких рослинах родини Рожеві. Аміловорон впливає на рослини, головним чином, закупорюючи судинну тканину, що спричиняє в'янення пагонів і вважається фактором патогенності. Ксантан, основний ексополісахарид, що секретується *Xanthomonas spp.*, пригнічує депонування каллози в клітинній стінці рослини, що є базовою формою стійкості до бактеріальної колонізації.

Бактерії можуть спричинити серйозні економічно значущі захворювання рослин та навіть їх загибель. Поширені симптоми бактеріозів- плямистість, рак, гниль, гормональний дисбаланс, що призводить до надмірного росту рослин або його затримки.

Найпоширеніші інфекційні захворювання рослин спричиняють: *Clavibacter michiganensis*, *Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas campestris*, *Erwinia amylovora*, *E. carotovora*, *Ralstonia solanacearum* і *Xylella fastidiosa*, *Pantoea stewartii*.

**Плямистість листя та плодів.** Наприклад, це плямистість яблуні, викликана ураженням *Phyllosticta solitaria* (рис. 5.3.1).

**Мозаїчні малюнки або пустули.** Чорна бактеріальна плямистість у томатів та перцю, яку викликає *Xanthomonas campestris*, супроводжується утворенням пустул на листка (рис. 5.3.2).



Рис. 5.3.1 Плямистість яблуни, викликана ураженням *Phyllosticta solitaria*.



Рис. 5.3.2 Чорна бактеріальна плямистість у томатів, викликана ураженням *Xanthomonas campestris*

**Гниль бульб із неприємним запахом.** Гниль бульб картоплі, спричинена бактерією *Erwinia spp.*, відома як ервінія або бактеріальна гниль картоплі (рис. 5.3.3).



Рис. 5.3.3 Бура гниль бульб картоплі, викликана ураженням *Erwinia spp.*

**Фасціація** (гормонально зумовлені деформації пагонів і листя). Це зростання кількох або розростання однієї точки росту у рослин, внаслідок чого пагони рослин зростаються між собою, стають плоскими. За біологічним змістом дане явище є фізіологічними та гормональними зрушеннями у клітинах, спричиненими діяльністю бактерій з групи мікоплазм (рис. 5.3.4).



Рис. 5.3.4 Фасціація пагонів криптомерії японської, викликані бактеріальним ураженням

**Корончатий гал** – розростання клітин у місцях контакту стебла із ґрунтом або на коренях. Це пухлинне захворювання рослин викликає ґрунтова бактерія *Agrobacterium tumefaciens*.

Бактеріальне зараження зазвичай є пасивним (випадковим), хоча в деяких випадках виявлено хемоатракцію бактерій до рослинних сполук.

**Шляхи проникнення бактерій у рослину.** Виділяють наступні можливі шляхи проникнення бактерій у рослину:

- природні отвори: продихи, гідатоди, лентицели;
- пошкодження: тріщини на листках, стеблах, коренях, механічні пошкодження;
- комахи-переносники;
- штучне зараження: поранення тканин, аерозольне зараження, вакуумна інфільтрація, зараження насіння шляхом занурення в бактеріальну суспензію.

**Колонізація бактеріями рослинних тканин.** Перший крок у внутрішньотканинному зараженні – колонізація поверхні рослини. Для цього бактерії використовують таксиси:

- аеротаксис – рух до рослинної атмосфери;
- хемотаксис – орієнтація на рослинні хімічні речовини (ізофлавоноїди, амінокислоти, цукри тощо);
- електротаксис – рух у бік слабких електричних полів, що утворюються біля коренів.

Щоб прикріпитися до рослинної поверхні, бактерії використовують: пілі (ворсинки), поверхневі білки клітини, полісахариди, ліпополісахариди зовнішньої мембрани.

**Вторгнення бактерій у тканини та поширення в рослині.** Після колонізації бактерії проникають у рослинні тканини через: трихоми, лентицели, продихи, нектароди, рани, кореневі бічні зони.

Опинившись у рослинному організмі, бактерії проліферують в апопласті, зокрема в міжклітинних просторах та судинах ксилеми. Це може спричиняти паренхіматозні, судинні або змішані захворювання. Проліферація - новоутворення клітин і внутрішньоклітинних структур (мітохондрій, ендоплазматичної мережі, рибосом та ін.). Це явище широко розповсюджене в нормі і патології. Воно лежить в основі росту і диференціювання тканин у процесі індивідуального розвитку, забезпечує безперервне відновлення клітин і внутрішньоклітинних структур.

Деякі штами *Pseudomonas syringae* синтезують коронатин – аналог жасмонової кислоти. Він пригнічує захисну реакцію рослини, що активується саліциловою кислотою, індукує відкриття продихів, полегшуючи проникнення бактерій у тканини.

**Епіфітне існування бактерій та їх здатність до виживання.** Окрім ендоефітного середовища, деякі види бактерій можуть виживати як епіфіти на поверхні рослин:

1. Філоплан (поверхня листя).

2. Ризоплан (поверхня коренів).

3. Карпоплан (поверхня плодів).

Це підвищує ймовірність швидкого інфікування рослини за сприятливих умов.

**Роль сидерофорів у виживанні бактерій.** Багато бактерій синтезують сидерофори – низькомолекулярні сполуки, що зв'язують і транспортують залізо, наприклад, піовердін (рис. 5.3.5). Залізо у формі  $\text{Fe}^{3+}$  необхідне для росту мікроорганізмів, його концентрація в ґрунті надзвичайно низька ( $\sim 10^{-18}\text{M}$  при рН 7.4), що є недостатнім для виживання бактерій, яким потрібно  $\sim 10^{-6}\text{M}$ . Сидерофори ефективно захоплюють іон  $\text{Fe}^{3+}$  із нерозчинних гідроксидів або з адсорбованих сполук ґрунту з утворенням розчинних  $\text{Fe}^{3+}$  комплексів, які можуть бути розглянуті як механізми активного транспорту речовин та переносять його в клітину бактерії.

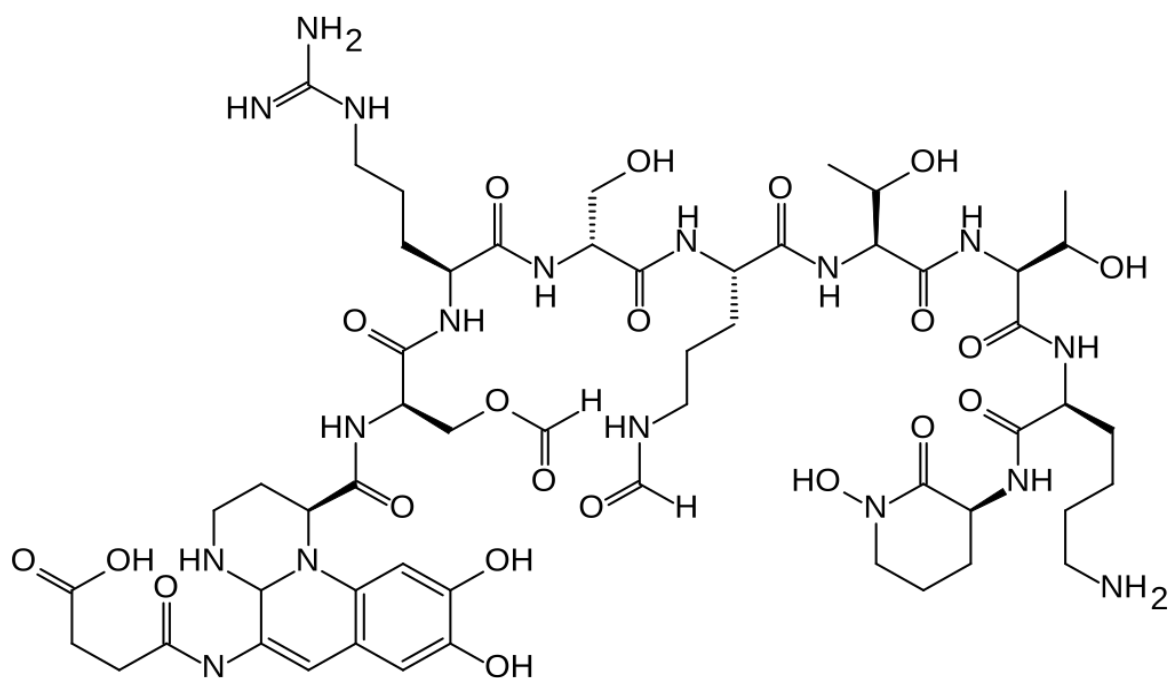


Рис. 5.3.5 Піовердін

Цей механізм допомагає патогенним бактеріям розмножуватися на поверхні рослини та сприяє їхньому успішному зараженню.

Окрім заліза з природних джерел, бактерії можуть вилучати залізо з залізовмісних комплексів, таких як ферицитрат, ферифосфат, Fe-трансферин,

феритин, або залізо, зв'язане з цукрами, глікозидами чи навіть з залізо-хелаторами, шляхом реакцій обміну залізо/ліганд. У порівнянні з бактеріальними сидерофорами, сидерофори грибів мають меншу афінність до заліза, тому їх роль у прив'язуванні грибів до поверхонь є незначною.

До факторів, які впливають на синтез сидерофорів у бактерій, відносяться: концентрація та форма заліза, ступінь аерації, належна кількість вуглецю, азоту та фосфору, рН середовища, світло, присутність слідових елементів, таких як магній, цинк і молібден.

***Фактори, що підвищують ймовірність бактеріальних інфекцій:***

- сприятливі умови для живлення (харчування рослини та наявність корисних речовин).
- вразливі частини рослин, такі як квіти або корені.
- перенесення інокулуму бактерій через дощі, або перенесення вітром.

#### **5.4 Гриби як збудники хвороб рослин**

Фітопатогенні гриби - велика, різнорідна група організмів, впливають на ріст і розвиток природних рослинних угруповань та функціонування агрофітоценозів.

***Основні групи фітопатогенних грибів:***

- патогени, які спричиняють багаторічні, системні інфекції та поступово знижують життєздатність своїх господарів;
- патогени, які швидко вбивають своїх хазяїв;
- патогени, що спричиняють локальні пошкодження, загальний вплив яких обмежений.

Під час еволюційної взаємодії між фітопатогенними організмами та їх господарями, гриби-патогени розвинули чисельні адаптації до співіснування з рослинами і набули здатності впливати на формування генетичної структури популяцій рослин та фітоценозів.

Фітопатогенні гриби поділяють на групи:

1. Облігатні паразити – ті, що здатні засвоювати поживні речовини лише з тканин живої рослини, а після загибелі переходять у стан спокою. Правильний термін для такого стану грибів-патогенів рослин - «персистенція» або «спокійний стан». У науковій літературі цей стан також можуть називати «спокійною стадією», «латентним періодом» або «переховуванням у рослинних рештках».

Залежно від виду гриба, його життєвого циклу та умов довкілля, він може зберігатися надалі у вигляді: спор (хламідоспори, ооспори, склероції, конідії), міцелію в рослинних рештках або ґрунті, структур для виживання (склероції, хламідоспори, пікніди тощо).

Приклади облігатних паразитичних грибів:

- *Puccinia graminis* – збудник іржі злакових (наприклад, пшениці);
- *Blumeria graminis* – збудник борошнистої роси злакових;
- *Albugo candida* – викликає білу іржу хрестоцвітих (капусти, ріпаку);
- *Ustilago maydis* – збудник пухирчастої сажки кукурудзи;
- *Melampsora lini* – викликає іржу льону;
- *Peronospora destructor* – збудник несправжньої борошнистої роси цибулі.

Всі ці гриби залежать від живого господаря і не можуть виживати самостійно у вигляді сапротрофів.

2. Факультативні сапротрофи – це паразитичні гриби, які можуть жити як на живих рослинах, так і продовжувати існування після їх загибелі, переходячи до сапротрофного способу життя.

Приклади факультативних сапротрофів – паразитичних грибів:

- *Botrytis cinerea* – збудник сірої гнилі винограду, томатів, суниці та інших культур;
- *Fusarium spp.* – викликає фузаріозне в'янення та кореневі гнилі багатьох рослин;
- *Rhizoctonia solani* – збудник кореневої гнилі у злакових, картоплі, овочевих культур;

- *Sclerotinia sclerotiorum* – збудник білої гнилі на соняшнику, сої, ріпаку, овочах;

- *Colletotrichum spp.* – збудники антракнозу на різних культурах, включаючи бобові та плодови.

Дана група грибів спочатку уражає живу рослину, а після її загибелі може продовжувати розвиток на мертвій органіці.

3. Факультативні паразити – це гриби, які зазвичай ведуть сапротрофний спосіб життя, але за певних умов можуть інфікувати живі рослини та ставати паразитами.

Приклади факультативних паразитів серед грибів:

- *Alternaria spp.* – викликає альтернаріоз на багатьох культурах (томати, картопля, яблуна);

- *Helminthosporium spp. (Bipolaris, Drechslera, Curvularia)* – спричиняє плямистості листя злакових культур;

- *Pythium spp.* – зазвичай сапротроф, але може викликати кореневі гнилі у вологих умовах;

- *Phoma spp.* – паразитує на ріпаку, овочах, але також виживає на рослинних рештках;

- *Macrophomina phaseolina* – збудник вугільної гнилі сої, соняшнику, кукурудзи.

Ці гриби переважно розвиваються на мертвій органіці, але за сприятливих умов можуть переходити до паразитизму, інфікуючи ослаблені або пошкоджені рослини.

Облігатні сапротрофи – це гриби, які можуть розвиватися лише на мертвій органіці і не здатні паразитувати на живих рослинах. Тому правильніше казати просто «облігатні сапротрофи», оскільки вони не є паразитами. Оскільки ці гриби не паразитують на живих організмах, термін «паразитичні гриби» для них не підходить.

У фітопатогенних грибів існує низка морфологічних, функціональних і метаболічних особливостей. До так званих раневих паразитів відносять

фітопатогенні гриби, які інфікують живі тканини рослин через місця поранення (пошкодження комахами, морозом, градом, механічні тощо) або ділянки відмерлих покривних тканин (наприклад у місцях опіків, ударів). Після попередньої колонізації на ушкоджених тканинах вони проникають у навколишні здорові тканини.

Гриби можуть безпосередньо проникати в епідермальні клітини рослин або розвивати гіфи, що поширюються на поверхню, між або через клітини рослин. Багато грибкових або ооміцетових патогенів, вступаючи в контакт з рослинною поверхнею, утворюють високоспеціалізовані інфекційні структури, такі як апресорії та гаусторії. Апресорії – це спеціалізовані клітинні структури, що мають міцну меланінову пігментацію, що грає важливу роль у процесі інфекції. Вони накопичують гліцерол, що виробляє гідростатичний тиск, який пробиває клітинні мембрани рослин, сприяючи процесу вторгнення.

***Контакт патогенного гриба з клітиною рослини.*** Інфікування відбувається за наступних умов:

1. Механічний розрив кутикули. Формування апресорію спричиняється сполуками, що виділяються з кутикули. Якщо з поверхні листка кутикула видалена, апресорій не утворюється. Всередині апресорію розвивається високий тургорний тиск через спеціально організовану клітинну стінку (клітинна стінка апресорію влаштована таким чином, що пропускає розчин всередину і не випускає назовні). Завдяки цьому відбувається розрив клітинної стінки рослинної клітини.

Наприклад, *Magnaporthe grisea*, гриб, що спричиняє бластер рису, утворює апресорії, які проривають поверхню листа рису, порушуючи кутикулу листя для проникнення в тканини та викликаючи хворобу (рис. 5.4.1).

2. Хімічне руйнування рослинних покривів. Фітопатогенні гриби, а також бактерії мають набір ферментів, які руйнують вуглеводні полімери, з яких побудовані клітинні стінки рослини. Паразит проникає в клітину і

живиться її вмістом. Клітинна стінка рослини повністю руйнується і клітина гине.



Рис. 5.4.1 Бластер рису, викликаний ураженням *Magnaporthe grisea*

Внаслідок руйнування середньої пластинки, що з'єднує клітини в тканини, паразит набуває можливості пересуватися в зараженій тканині. Цукрові полімери клітинної стінки розщеплюються до моноцукрів і виступають поживним середовищем для паразитів.

В ґрунті гриби конкурують з сапротрофами. Оселившись в рослинному організмі фітопатогенні гриби уникають цієї конкуренції. Тому результатом еволюції фітопаразитичних грибів став тривалий час перебування патогенів в рослині.

Найпростіший шлях подолання фітоімунітету – убити рослину-господаря. Але це означатиме повернення конкуренції з ґрунтовими мікрорганізмами. Тому один з основних моментів у еволюційному формуванні паразитизму – це встановлення біотрофного способу живлення. Це досягається різними способами:

- деякі фітопатогенні гриби розвиваються не всередині клітини, а в міжклітинному просторі, виділяючи ензими, які руйнують клітинні стінки рослин, і з клітини дифундують поживні речовини у міжклітинний простір;

- фітопатогенні гриби виділяють у заражені тканини рослини біологічно активні речовини, які активізують клітинний метаболізм і, отже, поліпшують умови існування паразита;

- деякі гриби лише частково руйнують цитоплазматичну мембрану клітини, а скрізь отвори, що з'явилися, в клітину потрапляють гаусторії (з їх допомогою відбувається поглинання речовин).

Гаусторії – це інфекційні структури, що утворюються в живих клітинах рослин іншими грибами та ооміцетами і відіграють основну роль у поглинанні метаболітів рослини. Вони служать для транспортування важливих поживних речовин, таких як амінокислоти, сприяючи поширенню інфекції.

Великі систематичні групи фітопатогенних грибів (іржасті, сажкові та інші) здатні продукувати та виділяти в рослину речовини з гормональною активністю (індолілоцтова кислота, гібереліни, цитокініни) та деякі інші, що інтенсифікують процес синтезу фітогормонів у клітинах рослини-хазяїна. Внаслідок дії фітогормонів посилюється приплив продуктів фотосинтезу в інфіковані ділянки рослини, у тканинах активізується ділення клітин, відбувається їх гіпертрофія, внаслідок чого заражені тканини розростаються з утворенням пухлин, наростів, галів, уражені органи деформуються. Створюються так звані аттрагуючі зони.

Внаслідок тривалої спільної еволюції стійкість рослин до збудників інфекційних захворювань зумовлена генетично та обумовлені складними механізмами, які складаються з багатьох сигнальних, регуляторних і метаболічних ланок. До них належать процеси рецепторного виявлення патогену та процеси, що індукуються його появою в рослинному організмі. Відповідь рослини на інфікування патогенним грибом складається з декількох метаболічних моментів, які регулюються генетичними чинниками:

- синтез фітоалексинів, низькомолекулярних антимікробних сполук, які накопичуються в місцях інфікування;

- системний синтез ферментів, здатних руйнувати складові клітинної стінки гриба (хітинази, глюконази, протеази);
- системний синтез ферментів, які каталізують утворення протимікробних сполук та захисних ферментів (пероксидази та фенолоксидази);
- синтез біополімерів, які обмежують поширення фітопатогенних мікроорганізмів (глікопротеїни, лігнін, калоза);
- синтез еліситорів і ферментів, які каталізують утворення еліситорів мікробного походження під час взаємодії з патогеном (детальна характеристика еліситорів надана в наступному розділі).

Генетична інформація, яка лежить в основі функціонування механізму стійкості до фітопатогенних грибів наявна у всіх рослин. Стійкість до фітопатогенних грибів визначається швидкістю та ступенем експресії цих генів та активності генних продуктів. Багато фітопатогенних грибів під час спільної еволюції з рослинами розвинули механізми, які дають можливість нейтралізувати дію наявних в рослині інгібіторів або обійти в різний спосіб бар'єри, що створює для них рослина. Також можливий варіант уникнення виявлення патогенів гриба рецепторною системою рослин.

Серед фітопатогенних грибів найбільшої економічної шкоди завдають *Fusarium spp.*, *Phytophthora capsici*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria alternata* та *Colletotrichum spp.*, *Rhizoctonia solani*, *Magnaporthe oryzae*, *Gaumannomyces graminis*, *Pythium spp.*

## 5.5 Нематоди та попелиці

Нематоди та попелиці живляться, вражаючи рослинні клітини за допомогою стилету, спеціалізованого органу, який безпосередньо вводиться в клітину рослини. Патогени виділяють маломолекулярні ефектори, які імітують рослинні гормони, таким чином сприяючи інфекційному процесу. Рослини використовують кілька механізмів захисту від інфікування

нематодами та попелицями. Ці механізми можна поділити на фізичні, хімічні та біологічні.

### **1. Фізичні механізми:**

- зміни в клітинних стінках: рослини можуть потовщувати клітинні стінки або відкладати калієві, кальцієві та інші сполуки для зміцнення тканин;

- виділення клейких речовин: деякі рослини виділяють речовини, що ускладнюють прикріплення нематод або попелиць;

- трихоми та восковий наліт: волосяні структури (трихоми) та восковий наліт можуть заважати комахам висмоктувати сік.

### **2. Хімічні механізми:**

- фітонциди та токсичні сполуки: деякі рослини виробляють фітонциди або токсини (наприклад, феноли, алкалоїди, глюкозинолати), які стримують розвиток шкідників;

- інгібітори травлення: сполуки, що гальмують ферменти шкідників, ускладнюють їх живлення;

- сигнальні молекули (фітоалексини, саліцилова кислота, жасмонова кислота) відповідають за активацію захисних реакцій у разі нападу.

Більш детально за функціями та напрямками впливу токсичних сполук для нематод:

- феноли (наприклад, таніни, кумарини) – пригнічують ріст нематод;

- алкалоїди (нікотин, соланін, резерпін) – діють як нервові отрути для паразитів;

- глюкозинолати (у капустяних рослин) – при розкладі утворюють ізотіоціанати, які отруюють нематод.

Більш детально за функціями та напрямками впливу сигнальних сполук:

- саліцилова кислота активує захисні механізми та змінює експресію генів, які допомагають стримувати нематод;

- жасмонова кислота бере участь у захисті кореневої системи, сприяє утворенню метаболітів проти шкідників.

Деякі рослини (нагідки, чорнобривці, гірчиця) виділяють у ґрунт речовини, які пригнічують розвиток нематод або навіть вбивають їх. Попелиця висмоктує соки з рослин і може переносити вірусні захворювання.

Рослини виділяють токсини для боротьби з нематодами та попелицями:

- алкалоїди (нікотин у тютюні, кофеїн у кавових рослин) – блокують нервову систему попелиць;
- сапоніни – руйнують клітинні мембрани шкідників, ускладнюючи їх живлення.
- флавоноїди – токсичні для попелиці та знижують її репродуктивну здатність;
- леткі органічні сполуки – сигнал хижим комахам (сонечкам, паразитичним осам) про наявність попелиць, що призводить до зменшення її чисельності;
- жасмонова кислота активує синтез речовин, які відлякують попелицю;
- виділення "антифідінгових" сполук, що змінюють смак або блокують травлення у тлі, змушуючи її залишити рослину.

Рослини використовують комплексний хімічний захист, що включає токсини, сигнальні молекули та леткі сполуки. Завдяки цьому вони можуть зменшувати шкоду від нематод і попелиць або приваблювати їх природних ворогів.

### 3. Біологічні механізми:

- симбіоз із корисними мікроорганізмами: деякі бактерії та гриби, що живуть у коренях, можуть допомагати рослинам захищатися від нематод;
- взаємодія з хижими комахами: рослини виділяють леткі органічні сполуки, що приваблюють природних ворогів попелиць, наприклад, сонечок або паразитичних ос.

У відповідь на атаку безхребетними рослина активує кілька цих механізмів одночасно, щоб мінімізувати шкоду.

## РОЗДІЛ 6

### ІМУННІ ВІДПОВІДІ, СПРОВОКОВАНІ ПАТОГЕНАМИ

Після розпізнавання ендогенних та екзогенних еліситорів (молекулярних патернів) різного патогенного походження (**PAMPs**, **MAMPs** та **DAMPs**) за допомогою рецепторів (наприклад, **PRR**) запускаються сигнальні шляхи, які ведуть до активації різних варіантів імунної відповіді:

- синтез **PR-білків** через експресію генів захисту (**PR-гени**), які розкладають клітинні стінки мікроорганізмів та контролюють всі вказані нижче процеси;

- зміцнення клітинних стінок (депозиція калози чи лігніну);

- посилення синтезу фітоалексинів та фітонцидів (антибактеріальних/антигрибкових сполук);

- продукція реактивних форм кисню **ROS**, які окиснюють патоген;

- здійснення **HR** (гіперчутливої реакції) – контрольована загибель клітин;

- активація варіантів системної стійкості (**SAR**, **ISR**) – довготривалий захист.

Коли рослини інфікуються патогенами, імунна система розпізнає патогенні молекулярні структури (молекулярні патерни), пов'язані з патогенами (**PAMPs**), через рецептори розпізнавання патернів (**PRRs**). Це індукує імунітет, спровокований **PAMP** (**PTI**). Деякі патогени мають ефектори, які пригнічують **PTI** у рослинах та викликають сприйнятливість, спровоковану такими ефекторами. У відповідь рослини еволюціонують і розвивають гени стійкості (**R-гени**), які кодують білки, здатні розпізнавати нові ефектори патогенів, що призводить до імунітету, спровокованого ефекторами (**ETI**). **ETI** часто завершується запрограмованою клітинною смертю, яка називається гіперчутливою реакцією (**HR**).

Патогени, натомість, можуть з часом синтезувати нові ефектори для подолання **ETI**, на що рослини відповідають розробкою нових **R-генів**, здатних розпізнавати нові ефектори патогену, забезпечуючи таким чином новий **ETI**.

Коли **PTI** та **ETI** активуються в локально інфікованих тканинах рослини, запускається сигнальний каскад, який викликає імунну відповідь у всій рослині. Ця "загальнорослинна" імунна відповідь називається системною набутою резистентністю – **SAR**. Системна набута резистентність або стійкість (**SAR**) - це реакція стійкості всього організму рослини, яка активується після локальної інфекції патогенами. **SAR** є аналогом вродженої імунної системи, що спостерігається у тварин. **SAR** характеризується накопиченням метаболітів рослини та генетичним перепрограмуванням як локально в місці інфікування, так і в решті неінфікованих (системних) тканинах.

Системна набута стійкість залежить від саліцилової кислоти (**SA**) та індукує **PR-білки**.

Саліцилова кислота забезпечує швидку і координовану відповідь рослини на інфекцію, посилюючи захисні механізми як у локальних, так і у віддалених тканинах, тобто запускає і регулює системну набуту резистентність (**SAR**) у рослин. **SAR** також можна індукувати шляхом екзогенного введення **SA**.

Саліцилова кислота під час формування **SAR** виконує наступні функції:

- виступає як центральний сигнал в ініціації **SAR**, у відповідь на локальну інфекцію рівень саліцилової кислоти значно підвищується як у місці інфекції, так і в сусідніх тканинах, що запускає каскад сигналів, які поширюються по всій рослині;

- **SA** активує експресію генів, які кодують білки, що беруть участь у захисних реакціях (наприклад, патогенез-залежні білки (**PR-білки**), які накопичуються як у локально заражених тканинах, так і у віддалених частинах рослини, надаючи їм стійкість до патогенів);

- у заражених тканинах може сприяти розвитку гіперчутливої реакції (**HR**), що обмежує поширення патогену шляхом локального програмованого клітинного апоптозу.

- сприяє накопиченню інших захисних метаболітів, таких як феноли та фітоалексини, які допомагають боротися з патогенами;

- взаємодіє з іншими гормонами, такими як жасмонова кислота (**JA**) та етилен (**ET**), що дозволяє рослині регулювати баланс між різними шляхами захисту залежно від типу патогену;

- після інфікування відіграє роль у передачі сигналів по всій рослині, забезпечуючи активацію **SAR** навіть у тих частинах, які не були безпосередньо заражені.

**Індукована системна резистентність ISR** - це форма захисної реакції рослин, яка активується у відповідь на взаємодію з корисними мікроорганізмами, зокрема ризобактеріями, мікоризними грибами або іншими симбіонтами (див. розділ 2). **ISR** не залежить від прямого контакту з патогенами, а викликається позитивною взаємодією рослини з мікробами, що колонізують кореневу систему. **ISR** залежить від жасмонової кислоти (**JA**) та етилену (**ET**);

Основні характеристики **ISR**:

- підвищує рівень захисту рослини проти широкого спектра патогенів, включаючи бактерії, гриби, віруси та шкідників (ця реакція неспецифічна, тобто не спрямована проти конкретного збудника);

- індукується мікоризними грибами та ризобактеріями;

- на відміну від ефектор-індукованого імунітету (**ETI**), **ISR** не супроводжується локальною програмованою загибеллю клітин (**HR**) (гіперчутливою реакцією);

- як і системна набута резистентність (**SAR**), проявляється на рівні всього організму, хоча **ISR** зазвичай активується в коренях;

- часто опосередковується сигнальними шляхами, пов'язаними з фітогормонами жасмоновою кислотою (**JA**) та етиленом (**ET**), які

забезпечують передачу сигналу після взаємодії рослини з корисними мікроорганізмами, такими як ризобактерії чи мікоризні гриби.

#### Роль жасмонової кислоти в **ISR**:

- індукує експресію генів, пов'язаних із синтезом захисних білків, наприклад, протеїназних інгібіторів та антимікробних сполук (активація захисних генів);
- забезпечує неспецифічну реакцію на широкий спектр патогенів, включаючи гриби, бактерії та комах регуляція неспецифічного імунітету);
- синтезується після взаємодії з корисними бактеріями, наприклад *Pseudomonas fluorescens* (запуск **ISR** в коренях, а сигнал передається до надземних частин рослини).

#### Роль етилену в **ISR**:

- діє синергічно з жасмоновою кислотою, підвищуючи ефективність захисної реакції. Ця взаємодія часто відбувається через посилення експресії генів, активованих **JA** (підсилення **JA**-залежного шляху);
- допомагає рослині реагувати на сигнали від корисних мікроорганізмів у кореневій зоні, підсилюючи локальний захист і сприяючи поширенню системної сигналізації (активація локального імунітету);
- відповідає за регуляцію деяких антимікробних білків і метаболітів, які необхідні для стримування патогенів (модуляція захисних реакцій);

**JA** головним чином відповідає за захист від комах і некротрофних патогенів. **ET** відіграє важливу роль у реакції на стреси, спричинені патогенами або змінами довкілля. Жасмонова кислота та етилен часто діють разом для активації **ISR**. Наприклад, експресія деяких генів захисних білків залежить від одночасної дії обох фітогормонів.

Обидва фітогормони контролюють каскади сигналізації, які забезпечують узгоджену активацію імунної системи рослини (регуляція сигнальних шляхів).

#### Послідовність подій під час формування **ISR**:

**1. Колонізація коренів:** Корисні мікроорганізми колонізують кореневу зону рослин.

**2. Вивільнення мікробних сигналів:** Мікроби виробляють певні молекули (наприклад, ліпополісахариди, сидерофори, або фітогормони), які рослина розпізнає.

**3. Активація сигнальних шляхів:** Розпізнавання мікробних сигналів тригерує сигнальні каскади, пов'язані з жасмоновою кислотою та етиленом.

**4. Системна активація:** Захисні механізми поширюються на інші органи рослини, підвищуючи її стійкість до патогенів і стресів.

Рослини, що активували **ISR**, можуть краще протистояти певним бактеріальним або грибовим патогенам, а також знижувати шкоду від ураження комахами.

**ISR** та **SAR** є двома різними захисними механізмами, але вони можуть діяти синергічно. **SAR** та **ISR** забезпечують довготривалий імунітет проти різних типів патогенів. **SAR**, як правило, активується патогенами і залежить від саліцилової кислоти, тоді як **ISR** залежить від жасмонової кислоти та етилену.

### **6.1 Індуковане гістологічне захисне реагування**

До природної хімічної оборони рослин слід віднести також індуковане гістологічне захисне реагування. Після встановлення інфекції в клітинах рослини захисна система господаря намагається створити бар'єри для подальшої колонізації тканин. Це може відбуватися на різних рівнях.

**Лігніфікація.** Лігніфіковані клітинні стінки забезпечують ефективний бар'єр для проникнення гіф. Лігнін - це високомолекулярний гетерогенний полімер, який головним чином знаходиться в вторинних клітинних стінках рослин, хоча первинні стінки також можуть ставати лігніфікованими. Він складається з сотень або тисяч фенольних мономерів і є основним компонентом деревини. Оскільки лігнін нерозчинний, жорсткий і практично неперетравлюваний, він забезпечує відмінний фізичний бар'єр проти атаки

патогенів. Лігнін діє як непроникний бар'єр для вільного руху поживних речовин, що спричиняє голодування патогену. Деякі приклади культур і грибів, що містять лігнін і пригнічені ним: *Peronospora parasitica*, *Alternaria japonica* (картопля: *Phytophthora infestans*), пшениця: *Septoria nodorum*, огірок: *Cladosporium cucumerium*, *Colletotrichum lagenarium*, морква: *Botrytis cinere*.

**Суберінація.** У кількох рослин інфіковані клітини оточені суберизованими клітинами, ізолюючи їх від здорових тканин. Формування коркової оболонки є частиною природної системи загоєння рослин, наприклад, поширена рана картоплі та гниття батату є хорошими прикладами.

**Шар відриву.** Це проміжок між шарами клітин господаря та пристосування для відкидання старих листя і дозрілих плодів. Рослина може використовувати це як механізм захисту, тобто для скидання інфікованих або захоплених частин рослин разом з патогеном. Отвори на листках плодкових дерев - це поширена ознака.

**Тилози.** Тилози формуються шляхом випинання клітинних стінок паренхіматозних клітин ксилеми через пори в судинні пучки ксилеми. Розмір і кількість тилоз фізично блокують судини. Тилози індуктивно формуються задовго до інфекції, таким чином блокуючи поширення патогенів. Це свідчить про біохімічні еліситори та рух тилоз, що індукують фактори **TIF** (*Triggering Immunity Failure*) – відмову запуску імунітету вгору по стеблу (наприклад, солодка картопля: *Fusarium oxysporum* f. sp. *Batatas*).

Відмова запуску імунітету (**TIF**) – ситуація, коли патоген успішно придушує або обходить імунну відповідь рослини, зокрема **PTI** або **ETI**

Причини **TIF**:

- секреція ефекторів патогенами, які блокують сигнальні шляхи імунітету;
- мутації в рецепторах **PRRs**, що зменшують здатність рослини розпізнавати **MAMPs/PAMPs**;

- маскуванню або модифікація **MAMPs/PAMPs** патогенами, щоб уникнути розпізнавання.

**TIF** є важливим механізмом, який патогени використовують для інфікування рослин і сприяє еволюційному змагання між рослинним імунітетом і стратегіями патогенів.

**Накопичення гуму.** Гуми та судинні гелі швидко накопичуються та заповнюють міжклітинні простори або простір навколо клітин, що утримують інфекційні нитки та гаусторії, що може призвести до голодування або загибелі патогену.

## 6.2 Індукований клітинний захист

**Клітинні захисні структури.** Існують різні типи клітинних захисних структур, такі як зміни в клітинних стінках, які відіграють обмежену роль у захисті. Ось перелік таких змін.

**Накопичення вуглеводів** (синтез вторинної стінки та утворення папіл).

**Депонування калози** (обгортка гіф навколо плазматичної мембрани біля гаусторії, що затримує контакт патогена *Phytophthora infestans* з клітинами господаря). Калоза є структурним полісахаридом клітинних стінок, що синтезується у відповідь на певні стресові фактори, в тому числі патогенне інфікування.

**Структурні білки, індукований цитоплазматичний захист**, що є останнім рівнем захисту господаря, який може бути ефективним проти повільно зростаючих патогенів, слабких паразитів або деяких симбіотичних відносин.

**Папіли.** Папіли - це депоновані калози, що складаються з полісахаридних полімерів, зміцнення, що складається з розгалуженого  $\beta$ -1,3-глюкану, калози разом з кремнієм, лігніном і білками, між клітинною стінкою господаря і плазматичною мембраною, безпосередньо під проникним шипом. Швидке депонування папіл є поширеною відповіддю зернових культур на спроби проникнення клітин епідермісу грибок

борошнистої роси (*Blumeria graminis*). Папіли в стійких сортах формуються швидше і через них важче пройти, ніж через ті, що формуються в уразливих сортах, тим самим запобігаючи розвитку гаусторії та гальмуючи клітинне проникнення в місці інфекції.

**Зміцнення клітинних стінок.** Для зміцнення клітинних стінок повинні відбутися наступні події:

1. Активація сигнальних шляхів через  $\text{Ca}^{2+}$ -залежні напрямки та мітоген-активовані протеїнкінази **МАРК** (*Mitogen-Activated Protein Kinase*). **МАРК-каскади** є ключовими сигнальними шляхами, що передають сигнали від рецепторів **PRRs** до ядра клітини, активуючи гени, пов'язані з імунною відповіддю. Вони активують **PTI** після розпізнавання патогенів, регулюють експресію захисних генів, які відповідають за синтез антимікробних сполук та зміцнення клітинної стінки та здійснюють контроль над продукцією реактивних форм кисню (**ROS**), що допомагають знешкоджувати патогени.

Нагадуємо, що кінази – це ферменти, які каталізують перенесення фосфатної групи (фосфорилування) з молекули **АТФ** на інші білки або молекули. Вони забезпечують активацію або деактивацію білків через фосфорилування, передачу сигналів усередині клітини (сигнальні каскади) та регулюють клітинний цикл, ріст та імунну відповідь.

2. Зміни концентрації  $\text{Ca}^{2+}$ . Підвищення рівня  $\text{Ca}^{2+}$  у цитозолі активує кальцій-залежні протеїнкінази, які сприяють утворенню полімерів для посилення клітинних стінок.

3. Калоза відкладається на внутрішній стороні клітинної стінки, створюючи механічний бар'єр. Це фізично обмежує поширення патогенів.

Калоза – це аморфний полісахаридний матеріал, подібний до целюлози, який відкладається у клітинних стінках і на мембранах у відповідь на пошкодження або патогенну атаку. Калоза формує бар'єр, який перешкоджає проникненню грибів, бактерій і вірусів, потовщує клітинну стінку, що ускладнює руйнування клітин патогенами, ізолює уражені ділянки, перешкоджаючи розповсюдженню хвороб.

4. Лігніфікація. Лігнін відкладається у клітинній стінці, роблячи її жорсткішою та менш доступною для ферментів патогенів.

5. Додаткове поперечне зшивання компонентів клітинної стінки. Пероксидази утворюють зв'язки між молекулами пектину, целюлози та геміцелюлози. Це знижує проникність клітинної стінки.

### 6.3 Індуковані біохімічні зміни

Індуковані біохімічні зміни в рослинах-господарях є останнім рівнем захисту господаря. Це може перетворити рослину або рослинну тканину зі стану вразливості на стійкість або імунний статус згідно з їх генетичним потенціалом. Роль біохімічних факторів у захисті господаря ґрунтується на чотирьох основних атрибутах, які включають:

- асоціація речовини з захистом від хвороби на місці, де цей захист відбувається;
- ізоляція речовини від господаря, що демонструє захист від хвороби;
- надання захисту ізольованою речовиною при введенні в відповідний уразливий господар;
- подібність природи індукованого захисту до природних агентів стійкої рослини.

Існує два основних шари біохімічно індукованого імунітету рослин, про які ми згадували раніше. Це імунітет, спричинений молекулярними патернами (PTI), асоційованими з патогенами (PAMPs), та імунітет, спричинений ефекторами (ETI).

PTI (імунітет, спричинений PAMPs) ініціюється сприйняттям збережених мікробних PAMPs, специфічними рецепторами розпізнавання патернів (PRRs) на клітинній поверхні рослин. PTI зазвичай активує деякі ранні відповіді на опір, включаючи закриття продихів, активацію каскадів мітоген-активованих кіназ, транскрипцію генів, пов'язаних з опором, виробництво активних форм кисню (ROS) та депонування калози.

**ЕТІ**, з іншого боку, вважається формою прискореної та посиленої відповіді **РТІ**. Його активує внутрішньоклітинний ген опору (**R**) рослини (через білки) після специфічного сприйняття патогенних ефекторів, він асоціюється з програмованою клітинною загибеллю, що є відповіддю, яку називають гіперчутливою відповіддю (**HR**).

Ефектори патогенів спричиняють **ЕТІ**, демонструючи антивірулентні (**Avr**) функції в рослинах з відповідними генами **R** з одного боку, але проявляють вірулентні активності в рослинах за відсутності відповідних генів **R** з іншого. Зазначимо, що вірулентні функції більшості ефекторів патогенів виконуються шляхом пригнічення **РТІ** та **ЕТІ** рослин. Це активується внутрішньоклітинними генами опору (**R**) рослини після специфічного сприйняття патогенних ефекторів і асоціюється з програмованою клітинною загибеллю **HR** (гіперчутливою відповіддю) та системною набутою стійкістю (**SAR**) у господаря.

Як правило, здатність до активації **ЕТІ** є патоген-специфічною, расо- або штамоспецифічною.

**Токсичні для патогенів речовини.** Швидке виробництво, відповідні модифікації та/або накопичення хімічних сполук, токсичних для патогену до ефективних концентрацій є важливою складовою загальної активної стратегії захисту рослин. Повільне виробництво або накопичення або низький рівень подібних хімічних речовин були зафіксовані у вразливих рослин-господарів.

**Фенольні сполуки.** Фенольні сполуки, такі як хлорогенова кислота, каваова кислота та окиснені продукти флоретину, гідрохінон, гідроксикуїнони та фітоалексини, є основними токсичними хімічними речовинами, що виробляються для інгібування патогенів або їх діяльності. Деякі з цих речовин виконують токсичну функцію, інші можуть бути синтезовані *de novo* або модифіковані до більш токсичних форм. Для цих хімічних шляхів характерні наявність відповідних ферментів у клітинах господаря (попередньо існуючих).

**Фітоалексини.** Зазвичай рослини відповідають на стреси, як біотичного (фітоалексини/комахи), так і абіотичного (пошкодження) походження, шляхом виробництва та накопичення субстратів, які можуть інгібувати ріст і діяльність біотичних факторів або сприяти процесу загоєння. Однією з таких відповідей є виробництво фітоалексинів - антибіотиків, що з'являються в процесі взаємодії рослин з патогенами або як результат реакції на травму чи інші психологічні подразники. Вони синтезуються або клітинами, що знаходяться поруч з інфікованою ділянкою, або самими інфікованими клітинами господаря чи патогеном, що здійснює інфікування. Вважається, що такі інфіковані клітини виробляють певні сигнали, які спонукають сусідні клітини до синтезу фітоалексинів, що упаковуються в ліпідні везикули та експортуються до інфікованої клітини. Внаслідок цього інфікована клітина стає токсичним мікросередовищем для вторгнутого патогена. Накопичення фітоалексинів часто асоціюється з гіперчутливою клітинною загибеллю. Прикладами є медикарпін (люцерна, *Medicago sativa*), ришитин (помідори та картопля, родина *Solanaceae*), та камалексин (*Arabidopsis thaliana*).

**Фітонциди.** Фітонциди - це природні леткі речовини, що пригнічують розвиток патогенів. Приклади фітонцидів: терпени (мирцен, камфен), феноли (евгенол у гвоздики), сірковмісні сполуки (аліцин у часнику).

Фітонциди мають антисептичні властивості та можуть індукувати системну стійкість (SAR) в інших частинах рослини.

**Білки та ферменти, що синтезуються.** Клітинні стінки рослин містять білки та ферменти, що активно працюють над зміною структури стінки під час росту клітин, а також зміцнюють клітинну стінку під час індукованого захисту. Зміни, що відбуваються в клітинах господаря після інфекції, включають виробництво та модифікацію великої кількості білків (структурних та ферментативних), які відіграють важливу роль у механізмі захисту. Ферменти потрібні для різних синтетичних шляхів (нормальних або модифікованих) для виробництва речовин, пов'язаних з опором. Крім того,

фенолоксидазні ферменти мають важливу роль. Вплив цих змін може бути обмежений місцем інфекції або сусідніми клітинами. Деякі рослини та насіння також містять білки та ферменти, що специфічно інгібують патогенні та шкідливі ферменти.

Рослини синтезують патогенез-індуковані білки **PR-білки** (*Pathogenesis-Related Proteins*), які мають антибактеріальні, антигрибкові або антивірусні властивості.

Основні класи **PR-білків** та їх функції:

- глюканази – руйнують клітинні стінки грибів;
- хітинази – деградують хітин у грибових клітинах;
- тіоніни – руйнують мембрани бактерій і грибів;
- протеїнази-інгібітори – пригнічують ферменти комах і патогенів;
- ліпідтрансферні білки – створюють захисний шар навколо клітин.

**PR-білки** експресуються під впливом саліцилової кислоти (**SA**), жасмонової кислоти (**JA**) та етилену (**ET**).

Проте, на відміну від фітокомплексів, таких як терпеноїди, феноли та алкалоїди, білки потребують значних ресурсів та енергії рослини для виробництва, тому багато захисних білків виробляються в значних кількостях тільки після того, як патоген або шкідник атакує рослину. Проте, після активації захисні білки та ферменти ефективно інгібують гриби, бактерії, нематоди та комах-шкідників. Деякі з таких білків і ферментів включають дефенсини, інгібітори амілази, лектині, рицин, інгібітори протеаз, гідролітичні ферменти, хітинази та глюканази, лізоцими та гідроксипролін-багаті глікопротеїни.

**Дефенсини** - це малі білки, багаті на цистеїн, що демонструють широкий антимікробний ефект і були вперше виділені з ендосперму ячменю (*Hordeum vulgare*) та пшениці (*Triticum aestivum*). Вони широко поширені і можуть бути присутні в більшості рослин. Дефенсини найкраще охарактеризовані у насінні, але їх можна знайти практично в усіх типах рослинних тканин, включаючи листя, стручки, бульби, плоди, корені, кору та

квіткові тканини. Вони мають широкий спектр біологічних активностей, що служать для інгібування росту багатьох грибів і бактерій. Деякі дефенсини також інгібують травні білки у травоїдних комах. Вони діють, інгібуючи іонні канали або утворюючи нові мембранні пори, що порушують клітинний іонний баланс, а також як інгібітори протеаз та полігалактуранази, інгібітори рибосом або лектині, тим самим заважаючи харчуванню патогенів, сповільнюючи їх розвиток, що сприяє опору рослини до хвороб.

**Лектини** - це неферментативні білки та глікопротеїни, які зв'язуються з вуглеводами і мають широкий спектр функцій, включаючи порушення процесу травлення у комах та аглютинацію еритроцитів у хребетних тварин.

**Рицин** - це надзвичайно токсична речовина, що виробляється в бобах рицини (*Ricinus communis*), з середньою летальною дозою лише 0,2 міліграма для людини. Він поєднує молекулу лектина з N-глікозидною гідролазою, що проникає в клітини тварин та інгібує синтез білків.

**Інгібітори протеаз** зазвичай виробляються у відповідь на напади травоїдних комах і інгібують травні ферменти, зокрема трипсин і хімотрипсин. Вони поширені в природі, але добре вивчені в бобових, пасльонових та злакових рослинах. Харчування травоїдними комахами часто спричиняє серію молекулярних сигнальних подій, що індукують системне виробництво цих сполук у віддалених тканинах, які сприяють захисту неушкоджених частин рослини від подальших атак широким спектром травоїдних шкідників.

**Гідролітичні ферменти** виробляються деякими рослинами у відповідь на інфікування та часто накопичуються в позаклітинних просторах, де вони розщеплюють клітинні стінки патогенних грибів.

**Хітинази** - це ферменти, що каталізують розщеплення хітину, полімера з основою, схожою на целюлозу, що присутній в клітинних стінках справжніх грибів.

**Глюканази** - це ферменти, які каталізують деградацію глікозидних зв'язків у глюканах, класі полімераз, подібних до целюлози, що присутні в

клітинних стінках багатьох оомицетів (водяних плісняв). Вивчення *in vitro* підтвердило протигрибкові властивості цих сполук, і трансгенні рослини, що експресують високі рівні цих ферментів, демонструють підвищену стійкість до широкого спектра як фоліарних, так і корневих патогенів.

**Лізоцими** - це гідролітичні ферменти, які здатні розщеплювати клітинні стінки бактерій.

**Гідроксипроліновмісні глікопротеїни** - це структурні білки клітинних стінок рослин, що беруть участь в організації утворення товстих вторинних клітинних стінок. Гени, які кодують біосинтез гідроксипроліновмісних глікопротеїнів, транскрибуються ще до вторгнення гіф, роблячи клітинні стінки міцнішими. Пероксид водню, що вивільняється під час окиснювального вибуху після атаки патогену, викликає інтенсивне зшивання між гідроксипроліновмісними глікопротеїнами та іншими компонентами клітинної стінки, що робить стінки ще більш стійкими до мікробного розщеплення.

Загалом, білки та ферменти діють, утворюючи комплекси, що блокують активні сайти або змінюють конформацію ферментів, в результаті чого їхня функція знижується.

**Інактивація ферментів і токсинів.** Роль токсинів та ферментів патогенів під час патогенезу добре відома. Некротрофи та гемігіотрофи використовують більше цих речовин для пошкодження тканин порівняно зі спеціалізованими облігатними паразитами. Захисна стратегія стійких рослин, через активність фенолів, танінів та інгібіторів ферментів, не обов'язково сприяє протигрибковій активності, але нейтралізує ферменти патогенів, роблячи їх неефективними. Наприклад, катехол-танін у незрілому винограді відомий тим, що інгібує ферменти, що продукуються *Botrytis cinerea*. Токсини залучені до патогенезу в різних ступенях (пато- та вівотоксини). Стійкість до токсинів у господаря може бути досягнута через детоксикацію або відсутність рецепторних сайтів для цих токсинів.

**Зміна біосинтетичних шляхів.** Ураження метаболізму тканин господаря змінюється (стрес-фізіологія), щоб впоратися з діяльністю патогену. Виробляються нові ферменти (білки) для синтезу речовин, пов'язаних із захистом. Більшість цих сполук утворюються через шлях шикимової кислоти та модифікований ацетатний шлях. Дихання в уражених тканинах зазвичай зростає, частина гліколізу замінюється на пентозофосфатний шлях, що приводить до утворення чотирьохвуглецевих сполук.

#### 6.4 Хімія імунних відповідей рослин

**Алкалінація середовища.** Рослини не мають визначених клітинно-опосередкованих і антитільно-опосередкованих імунних відповідей, як це характерно для тварин. Більшість захисних реакцій у рослин пов'язано з іонними змінами, виробництвом вторинних метаболітів та розвитком фізичних бар'єрів проти інфекцій. Початкова захисна реакція, що викликається рослинними клітинними культурами у відповідь на **MAMPs** (патерни, асоційовані з мікробами), це алкалінація середовища росту, що відбувається через негайні зміни в концентраціях іонів  $\text{H}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  та  $\text{Ca}^{2+}$  через плазматичну мембрану. Це відбувається одразу після інфікування. Підвищення рівня  $\text{Ca}^{2+}$  веде до їх накопичення в тилакоїдному лумені хлоропластів, після чого відбувається збільшення їхнього припливу в цитоплазму. Підвищення концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  у цитозолі відіграє ключову роль у медіації інших імунних процесів рослин, включаючи контроль над реактивними кисневими видами (**ROS**), виробництво саліцилової кислоти (**SA**) та закриття продихів. Високий рівень кальцію ( $\text{Ca}^{2+}$ ) індукує накопичення  $\text{H}_2\text{O}_2$  та  $\text{NO}$  в клітинах-охоронцях, що викликає трансієнтні зміни рівня  $\text{Ca}^{2+}$  і призводить до закриття продихів. Зниження фотосинтезу у відповідь на інфекцію є ще однією стратегією захисту рослин від патогенів.

**Нітрозативний вибух та окиснювальний вибух.** Нітрозативний вибух - це виробництво реактивних азотистих проміжних сполук **RNI** (*Reactive Nitrogen Intermediates*) (оксид азоту (NO), нітрит-аніон (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>), нітрат-аніон (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), пероксинітрит (ONOO<sup>-</sup>)). Окиснювальний вибух - це виробництво реактивних кисневих видів (**ROS**) на поверхні клітини.

Ці механізми є одними з перших виявлених подій, що сприяють захисту рослин. Шлях синтезу **ROS** добре вивчений і зрозумілий, але механізми утворення **RNI** залишаються значною мірою незрозумілими. Раніші дослідження показали, що існує ковалентне приєднання молекули оксиду азоту (NO) до групи цистеїну в білках. Цей процес проходить через каскад біохімічних шляхів, щоб утворити **RNI**, які здатні пошкоджувати клітини патогенів. **ROS** є потенційно токсичними аналогами відновлених форм кисню, такими як супероксидний аніон та перекис водню. Вони вважаються мікробіцидними через непрямі дії, зміцнюють клітинну стінку через окиснювальне зшивання глікопротеїнів, індукують внутрішньоклітинні сигнальні шляхи, такі як синтез саліцилової кислоти (**SA**) та активацію системного набутої стійкості (**SAR**), що пов'язано з системним поширенням окиснювального вибуху.

**RNI**, разом із **ROS**, відіграють ключову роль у гіперчутливій реакції (**HR**), що є частиною індукованої імунної відповіді рослин на патогени.

### 6.5 Ефекторно-опосередкований імунітет (ETI)

**ETI** є імунною відповіддю рослин, яка специфічно націлена на патогенні механізми і включає транскрипційні процеси в ядрі рослинного хазяїна (див. розділ 2). Успішні патогени сприяють розвитку патології, ін'єктуючи набір ефекторних білків через клітинну стінку рослини в цитоплазму і, надалі, в ядро. Ці введені ефекторні білки або білки **Avr**, які є авірулентними за своєю природою, сприяють патогенній вірулентності трьома способами:

- діють як фактори транскрипції, що безпосередньо активують транскрипцію в клітинах хазяїна;
- впливають на упаковку гістонів і конфігурацію хроматину;
- безпосередньо націлюються на активність транскрипційних факторів хазяїна і зрештою сприяють вивільненню поживних речовин, необхідних для виживання патогену.

Таким чином, рослинний **ETI** відповідає на такий тип інфекцій активацією транскрипційних факторів, що включають низку генів - **PR-гени**, пов'язаних із патогенезом у/та навколо інфікованої клітини, для біосинтезу хімічних речовин, які обмежують інфекцію.

Загалом **PR-гени** активуються у відповідь на:

- зараження грибами, бактеріями, вірусами;
- механічне пошкодження тканин;
- дію сигнальних молекул (саліцилова кислота, жасмонова кислота, етилен);
- окиснювальний стрес (**ROS, RNI**).

**PR-гени** кодують **PR-білки**, функції яких визначені вище. Хімічні речовини, що синтезуються для цієї мети, включають саліцилову кислоту (**SA**), жасмонову кислоту (**JA**), етилен (**ET**), виробництво різних антимікробних сполук в ендоплазматичному ретикулумі та їх секрецію в вакуолі, а також зміцнення клітинної стінки та лігніфікацію. Саліцилова кислота, що накопичується в інфікованих ділянках, зв'язується з рецептором **NPR3** **PR** генів, щоб сприяти деградації інфікованої клітини шляхом, схожим на програмовану загибель клітини (апоптоз), що спостерігається у тварин. Накопичення саліцилової кислоти супроводжується розвитком гіперчутливої реакції (**HR**).

Ознаки **HR**:

- програмована загибель клітин у зоні інфекції;
- накопичення **ROS** та іонів  $Ca^{2+}$ ;

- формування бар'єра з калози та лігніну.

**HR** відповідає за обмеження бактерій та блокування їхнього розмноження в рослині. **HR** та некротичні реакції забезпечують стійкість проти різних рослинних патогенних грибів, бактерій та вірусів і до певної міри використовують схожі механізми. Однак важко визначити, які саме захисні реакції відбуваються під час **HR**, оскільки це включає складну комбінацію реакцій, які можуть діяти адитивно або синергічно. Як тільки **HR** був активований, тканини рослини можуть стати дуже стійкими до широкого спектра патогенів на тривалий період. Це явище називається системною набутою стійкістю (**SAR**) і являє собою підвищений стан готовності, при якому ресурси рослини мобілізуються у разі подальших атак. **HR** своєю чергою призводить до форми програмованої загибелі клітини **PCD** (*Programmed Cell Death*), яка характеризується зменшенням цитоплазми, конденсацією хроматину, набряком мітохондрій, вакуолізацією та руйнуванням хлоропластів.

**Основні класи PCD:** автолітичний PCD та неавтолітичний PCD.

**Автолітичний PCD** включає швидке очищення цитоплазми після розриву тонопласта, що відбувається через вивільнення гідролаз з вакуолі, що розщеплюють цитоплазму і спричиняють локалізовану загибель клітини.

**Неавтолітичний PCD** відрізняється відсутністю швидкого очищення цитоплазми, навіть при підвищеній проникності тонопласта. Це збільшення проникності або навіть розрив тонопласту не призводить до значного вивільнення гідролаз, що миттєво очищають залишкову цитоплазму. У механізмі неавтолітичного **PCD** плазматична мембрана зливається з мембранами великої центральної вакуолі, що опосередковується субодиницею протеасоми, що призводить до вивільнення вакуольних антибактеріальних білків в апопласт. Звільнена позаклітинна рідина має як антибактеріальну, так і клітинно-убивчу активність, тим самим сприяючи локальному некрозу і, в кінцевому підсумку, блокуючи ріст патогенів.

**Накопичення активних форм кисню (ROS).** ROS токсичні для патогенів і активно продукуються під час інфікування рослин. Серед них: надпероксид ( $O_2^-$ ), перекис водню ( $H_2O_2$ ), гідроксильні радикали ( $OH\bullet$ ).

Збуджений синглетний атомарний кисень  $^1O_2$  зазвичай утворюється під час фотолізу води та має сильну здатність до окиснення. Через це він існує дуже короткий час і є надзвичайно нестабільним, але має великий вплив на фотосинтез.

( $OH\bullet$ ) є найбільш реакційно здатною активною формою кисню, що утворюється під час руйнування перекису водню.

ROS можуть окиснювати полісахариди клітинної стінки, що приводить до втрати їх жорсткості, а також здатні індукувати одноланцюговий розрив ДНК. Загалом всі варіанти активної форми кисню не тільки викликають незворотне пошкодження ДНК і клітин, а й функціонують як важливі сигнальні молекули, що регулюють ріст клітин та реакцію на патогени. Кисень ( $O_2$ ), як джерело всіх ROS, є стабільним і малоактивним у рослинах. Але його можна перетворити на високоенергетичні ROS за допомогою різних метаболічних процесів. За нормальних умов надмірні ROS можуть бути видалені різними механізмами антиоксидантного захисту. Рівновага між продукуванням і видаленням ROS може бути порушена абіотичними та біотичними стресами.

Функції ROS у захисті рослин:

- руйнують клітинні мембрани патогенів;
- окиснюють білки та ДНК мікроорганізмів;
- індукують загибель заражених клітин рослини (гіперчутлива реакція – HR);
- беруть участь у зміцненні клітинної стінки через полімеризацію лігніну та калози.

На першому етапі **HR** активація **R-генів** викликає рух із клітини гідроксид аніонів ( $\text{OH}^-$ ) та катіонів калію ( $\text{K}^+$ ). Одночасно відбувається вхід катіонів кальцію ( $\text{Ca}^{2+}$ ) і протонів ( $\text{H}^+$ ) в клітину.

Під час другої фази, в інфікованих клітинах відбувається так званий «кисневий вибух». В цей момент масово утворюються активні форми кисню **ROS** (супероксид-аніони, перекис водню, гідроксильні радикали), а також активні форми азоту (оксид азоту та інші). Ці викликають окиснення ліпідів, що веде до їх ушкодження. Всі ці процеси призводять до розпаду клітинних компонентів у присутності **ROS**, загибелі груп клітин та утворенню місцевих уражень. Крім того, активні форми кисню ініціюють відкладення лігніну і калози. Також **ROS** викликають зшивання раніше відкладених глікопротеїнів у тривимірну сітку в клітинній стінці. Ці заходи роблять стінки клітин, що оточують місце інфікування, більш жорсткими та заважають подальшому розповсюдженню інфекції.

В генерації **ROS** беруть участь чисельні ферменти: ксантиоксидаза, НАДФН-оксидаза, оксалатоксидаза, різноманітні пероксидази та флавін-місткі амінооксидази (каталізують окисне дезамінування поліамінів з вивільненням перекису водню та аміаку).

### СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Abdul Malik NA, Kumar IS, Nadarajah K. (2020) Elicitor and receptor molecules: orchestrators of plant defense and immunity. *International Journal of Molecular Sciences*. Vol. 21, Iss. 3. P. 963. doi: [10.3390/ijms21030963](https://doi.org/10.3390/ijms21030963)
2. Bernoux M, Ellis JG, Dodds PN. (2011) New insights in plant immunity signaling activation. *Curr Opin Plant Biol* Vol. 14, Iss. 5. P. 512–518. DOI: [10.1016/j.pbi.2011.05.005](https://doi.org/10.1016/j.pbi.2011.05.005)
3. Cesari S. (2018) Multiple strategies for pathogen perception by plant immune receptors. *New Phytol* Vol. 219, Iss. 1. P. 17–24. <https://doi.org/10.1111/nph.14877>

4. Choi HW, Klessig DF. (2016) DAMPs, MAMPs, and NAMPs in plant innate immunity BMC plant boil. Vol.16, P. 232. DOI:[10.1186/s12870-016-0921-2](https://doi.org/10.1186/s12870-016-0921-2)
5. Dewen Q, Yijie D, Yi Z et al. (2017) Plant immunity inducer development and application. Molec Plant-Microbe Interact. Vol. 30, P. 355–360. <https://doi.org/10.1094/MPMI-11-16-0231-CR>
6. Doughari J (2015). An Overview of Plant Immunity. Plant Pathol Microbiol, pp. 6-11 DOI: [10.4172/2157-7471.1000322](https://doi.org/10.4172/2157-7471.1000322)
7. Jones JD, Dangl JL. (2006). The plant immune system. Nature. Vol. 444. pp. 323–329. DOI:[10.1038/nature05286](https://doi.org/10.1038/nature05286)
8. Niehl A, Wyrsh I, Boller T et al. (2016) Double-stranded RNAs induce a pattern-triggered immune signaling pathway in plants. New Phytol. Vol. 211, pp. 1008–1019. DOI: [10.1111/nph.13944](https://doi.org/10.1111/nph.13944)
9. Noman A, Aqeel M, Lou Y. (2019) PRRs and NBLRRs: from signal perception to activation of plant innate immunity. Int J Mol Sci. Vol. 20, pp. 1882. doi: [10.3390/ijms20081882](https://doi.org/10.3390/ijms20081882)
10. Peng Y, van Wersch R, Zhang Y. (2018) Convergent and divergent signaling in PAMP-triggered immunity and effector-triggered immunity. Molec Plant-Microbe Interact Vol. 31, pp. 403–409. <https://doi.org/10.1094/MPMI-06-17-0145-CR>
11. Shamrai SN. (2014) Plant immune system: basal immunity. Cytol Genet Vol. 48, pp. 258–271. DOI:[10.3103/S0095452714040057](https://doi.org/10.3103/S0095452714040057)
12. Shamrai SN. (2022) Recognition of pathogen attacks by plant immune sensors and initiation of immune response. Cytol Genet Vol. 56. pp. 57-71. DOI:[10.3103/S0095452722010108](https://doi.org/10.3103/S0095452722010108)

### **Інформаційні ресурси**

1. Офіційний сайт Національної бібліотеки України імені В. І. Вернадського. URL: <http://nbuv.gov.ua>

2. Офіційний сайт студентської електронної бібліотеки «ЧИТАЛКА». URL: <http://chitalka.info>
3. Офіційний сайт онлайн-бібліотеки освітньої та наукової літератури. URL: <https://eduknigi.com>
4. Сайт електронної бібліотеки підручників. URL: <http://studentam.kiev.ua>
5. Сайт безкоштовних електронних підручників онлайн. URL: <https://pidru4niki.com>
6. Сайт наукової бібліотеки СумДПУ імені А. С. Макаренка. URL: <https://library.sspu.edu.ua/> (Рубрика: Організація наукового дослідження. URL: <https://library.sspu.edu.ua/organizatsiya-naukovogo-doslidzhennya/>)
7. Сайт Харківської державної наукової бібліотеки ім. Короленка. URL: <http://korolenko.kharkov.com>

**Навчальне видання**

**МОСКАЛЕНКО** Микола Павлович

**ФІТОІМУНОЛОГІЯ: МЕХАНІЗМИ ТА ЗАСОБИ**

*Навчальний посібник*

Комп'ютерний набір М.П.Москаленко

Комп'ютерна верстка С.П. Цьома

Підп. до друку 2025.

Формат . Гарнітура .

Папір офсетний. Друк офсетний. Ум. друк. арк. .

Ум. фарб.-відб. . Обл.-вид. арк. .

Тираж пр. Вид. №

Видавець і виготовлювач:

ФОП Цьома С.П. 40002, м. Суми, вул. Роменська, 100.

Тел.: 066-293-34-29.

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи:

серія ДК, № 5050 від 23.02.2016.