

ОБЗОРНЫЕ
И ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ СТАТЬИ

УДК 574.24:577.29

ГЕНЕТИКА ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПАТОГЕН–ХОЗЯИН
НА ПРИМЕРЕ ФИТОФТОРОЗА КАРТОФЕЛЯ

© 2020 г. В. В. Мартынов^{1, 2, *}, В. К. Чижик^{1, 2}

¹Всероссийский научно-исследовательский институт
сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, 127550 Россия

²Московский государственный областной университет, Москва, 105005 Россия

*e-mail: martynov.vik@gmail.com

Поступила в редакцию 22.02.2019 г.

После доработки 26.03.2019 г.

Принята к публикации 28.03.2019 г.

В систематизированном виде изложены современные представления о взаимодействии патогена и растения-хозяина на молекулярном уровне. В частности, рассматриваются вопросы иммунитета растений и те механизмы, при помощи которых патогены преодолевают этот иммунитет. Особое внимание уделено информации о взаимодействии возбудителя фитофтороза оомицета *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary со своим хозяином. Фитофтороз является самой большой с экономической точки зрения проблемой для современного картофелеводства. Несмотря на то что возбудитель фитофтороза уже давно известен науке, остается много нерешенных вопросов, связанных с биологией этого патогена. Поэтому создание новых сортов картофеля с высокой устойчивостью к фитофторозу невозможно без новых знаний о взаимодействии полигенной системы защиты растения с детерминантами патогенности *P. infestans*.

Ключевые слова: молекулярная генетика, растительный иммунитет, эффекторные белки, гены вирулентности, фитопатогены, *Phytophthora infestans*.

DOI: 10.31857/S0016675820030108

Фитофтороз, возбудителем которого является оомицет *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, представляет собой одно из наиболее экономически важных заболеваний картофеля (*Solanum tuberosum* L.), которое наносит ущерб, измеряемый миллиардами долларов в год [1, 2]. *P. infestans* встречается практически во всех регионах России, занимающихся производством картофеля. Не существует полностью устойчивых сортов картофеля к этому патогену. *P. infestans* поражает клубни, стебли и листья картофеля, томатов (*S. lycopersicum*), а также некоторых других видов семейства Solanaceae. Несмотря на то что были предприняты значительные меры для борьбы с фитофторозом, этот патоген все еще представляет собой огромную проблему для современного картофелеводства [3]. Борьба с фитофторозом не может сводиться только к использованию химических методов защиты картофеля, так как химические методы борьбы требуют многократных дорогостоящих обработок и быстро теряют свою эффективность в результате накопления в популяциях патогена резистентных штаммов. При создании новых сортов картофеля с высокой устойчивостью к фитофторозу необходимо получение новых знаний о взаимодействии полигенной си-

стемы защиты растения с детерминантами патогенности *P. infestans*, к которым относятся гены вирулентности. Большое значение приобретает получение информации о генетических механизмах изменчивости этих генов в популяциях *P. infestans* и влиянии этих изменений на их функцию.

Современные представления о взаимодействии растительного организма и патогена описаны с помощью зигзаг модели, которая отражает постоянный процесс совершенствования стратегий нападения патогена и механизмов иммунного ответа растения [4]. В отличие от животных, обладающих приобретенной (адаптивной) иммунной системой, растения, чтобы распознавать патогены, “полагаются” на врожденный иммунитет, условно подразделяемый на специфический и неспецифический.

ИММУНИТЕТ РАСТЕНИЙ

Неспецифический иммунитет основан на рецепторных белках (Pattern Recognition Receptors, PRRs), расположенных в плазматической мембране и в цитоплазме, которые распознают и связываются с PAMPs/MAMPs (Pathogen-Associated Molecular Patterns/Microbial-Associated Molecular

Patterns), индуцируя развитие первичной, или базальной, защитной реакции, обозначаемой как PTI/MTI (PAMPs-triggered immunity/MAMPs-triggered immunity) [5]. В качестве PAMPs могут выступать компоненты клеточной стенки патогенов, липополисахариды и другие соединения. Существуют два типа PRRs: рецептор-подобные белки (Receptor Like Proteins, RLPs) и рецептор-подобные киназы (Receptor Like Kinases, RLKs). RLKs состоят из внеклеточного богатого лейцином домена (Leucine Rich, LRR), трансмембранного домена и внутриклеточного киназного домена, который может связываться с PAMPs и инициировать сигнальный каскад, активизирующий PTI. LRR-домен является наиболее варибельной частью PRRs и отвечает за распознавание PAMPs. У RLPs отсутствует киназный домен, что делает их неспособными самим инициировать передачу сигналов и активацию PTI и, следовательно, требует связывания с корцептором [6, 7].

Специфический иммунитет связан с распознаванием растением цитоплазматических эффекторов — белков, которые продуцируются патогеном для того, чтобы избежать распознавания системой неспецифического иммунитета. Эффекторный белки являются продуктами генов вирулентности (*Avr*) патогена, и распознаются они нуклеотид-связывающими белками растения, содержащими богатые лейцином повторы (nucleotide-binding leucine rich repeat intracellular receptors, NB-LRR). Эти белки кодируются генами устойчивости, или *R*-генами. Таким образом, узнавание осуществляется за счет прямого или косвенного взаимодействия *R*-белка и соответствующего эффекторного белка. Ранее считалось, что *R*-гены взаимодействуют с *Avr*-генами согласно модели Флора ген-на-ген, однако было показано, что во многих *Avr*–*R* парах прямое взаимодействие отсутствует. Эта модель также предполагает, что эффективность белка устойчивости сильно зависит от стабильности и изменчивости соответствующего эффекторного белка. Распознавание *Avr*-белка *R*-белком приводит к развитию иммунитета, индуцируемого эффекторами (effector-triggered immunity, ETI) и приводящего к сверхчувствительному ответу (hypersensitive response, HR). Этот ответ заключается в запуске MAPK каскада и активации факторов транскрипции WRKY, что приводит к локальному апоптозу клеток [8] и физически предотвращает дальнейшее распространение патогена. При этом важную роль играют убиквитин-зависимая система протеолиза и E3-лигазы, широко представленные в геномах растений. Размер очага некротизации при HR зависит от генотипа растения и патогена и может варьировать от 1–2 до 29 клеток. Взаимоотношения патогена и растения-хозяина описывают как совместимые, если растение восприимчиво к поражению, и как несовместимые, если растение сохраняет устойчи-

вость [9]. На восприимчивых растениях *Avr*-белки являются факторами вирулентности. В связи с опасностью распознавания эффекторный гены часто подвергаются быстрым эволюционным изменениям в популяциях патогенов [10]. Это приводит к возникновению мутантных форм эффекторов, которые сохраняют свои функции, но при этом не распознаются генами устойчивости. В коэволюции растение–патоген следующим шагом является эволюция генов устойчивости, которые будут распознавать новые формы эффекторов. Кроме того, взаимоотношения растения и биотрофного патогена в настоящее время рассматривают как компромисс (trade-off), позволяющий колонизируемому растению и патогену выжить и оставить максимальное число потомков. Выдвигаются предположения, что такой механизм реализуется и при взаимодействии *P. infestans* с картофелем.

Эффекторы — это молекулы, продуцируемые и секретируемые патогенами для подавления защитных реакций растения [10, 11]. Они вмешиваются в физиологические процессы в организме хозяина, способствуя колонизации. Эффекторы могут влиять на метаболизм клетки хозяина, приводить к некрозу или маскировать присутствие патогена. Эти функции могут осуществляться за счет ингибирования протеаз (ингибирование папаин-подобных цистеиновых протеаз) [12], маскирования присутствия (связывание хитиназ) [13], взаимодействия с фитогормонами или структурного сходства с ними (компоненты биосинтеза и восприятия SA и JA являются мишенью для эффекторов различных патогенов) [14], манипулирования везикулярным транспортом и экспрессией генов путем действия на факторы транскрипции [15] (эффектор Pi03192 *P. infestans* взаимодействует с транскрипционными факторами NAC хозяина, предотвращая их локализацию в ядре, влияя тем самым на их функцию) и подавления механизма сайленсинга (PSR — Phytophthora suppressor of RNA silencing влияет на биогенез малых РНК) [16]. Анализ функций эффекторных белков, особенно так называемых “основных/коровых эффекторов”, имеет решающее значение для понимания механизмов патогенности/симбиоза и стратегий защиты растений, помогает разработать стратегии селекции устойчивых к патогенам сортов, а также повысить урожайность и качество, а также устойчивость к абиотическим стрессам [17].

МОЛЕКУЛЯРНАЯ СТРУКТУРА, ФУНКЦИИ И РАЗНООБРАЗИЕ ЭФФЕКТОРНЫХ БЕЛКОВ ПАТОГЕНА

Для эффекторных белков разных патогенов характерны небольшие размеры (около 300 аминокислотных остатков) и обилие остатков цистеина, что придает компактную структуру белку



Рис. 1. Идентификация RXLR и dEER мотивов в последовательностях генов вирулентности *P. infestans* (<http://memesuite.org/>).

[10]. Эффекторы имеют модульное строение [18]. Многие эффекторные белки обладают консервативными мотивами (такими как мотивы RXLR, CRN, LysM, RGD, DELD, EAR, RYWT, Y/F/WXC или CFEM), локализованными в их N- или C-концевых областях. Эффекторы либо транслоцируются в клетки растения-хозяина через специальные структуры и функционируют в цитоплазме или ядре хозяина, либо находятся в апопласте клеток растения и действуют в межклеточном пространстве [17, 19–22]. Согласно их локализации эффекторы делят на две широкие категории: апопластические, которые накапливаются в межклеточном пространстве растения, и цитоплазматические, которые доставляются в растительную клетку через специальную инфекционную структуру, называемую гаусторией. Апопластические эффекторы включают секретируемые гидролитические ферменты, такие как протеазы, липазы и гликозилазы, разрушающие растительную ткань; ингибиторы ферментов и некротизирующие токсины, такие как NLP (Nep1-like) и SCR (PcF-like small cysteine-rich) белки [11, 21]. Цитоплазматические эффекторы способны перемещаться в ближайшие клетки, возможно через плазмодесмы. К ним относят семейство эффекторов, содержащих RXLR-мотив, и семейство эффекторов CRN (CRinkling and Necrosis-inducing) [23]. Наиболее изученным и многочисленным классом у оомицетов являются RXLR-эффекторы. Этот мотив играет роль в связывании белка на поверхности клетки хозяина с фосфатидилинозит-3-фосфатом (PI3P), после чего эффектор внедряется с помощью везикулярного эндоцитоза [20, 22, 24]. У CRN-белков также присутствует консервативный N-концевой мотив, который предположительно служит для транслокации в цитоплазму клетки-хозяина. У некоторых грибов роль эффекторов могут выполнять sRNA (Small RNA) [17, 25].

Наиболее изученной и многочисленной группой цитоплазматических эффекторов *P. infestans*, по предварительным оценкам насчитывающей до 563 представителей [11, 21], является семейство генов, содержащее RXLR-мотив. Все эффектор-

ные белки RXLR (где R – аргинин, X – любой аминокислотный остаток, L – лейцин) характеризуются единым планом строения и имеют сигнальный пептид, необходимый для секреции за пределы гаустория, и RXLR-мотив, за которым на расстоянии 5–25 аминокислотных остатков следует dEER-мотив (где d – аспарагиновая кислота, E – глутаминовая кислота, R – аргинин). Эти два мотива обеспечивают мощный биоинформационный инструмент для идентификации эффекторного состава патогенных оомицетов [1] (рис. 1). Все эти структуры расположены на N-конце эффекторных белков. Консервативный RXLR-мотив необходим для перемещения эффекторных молекул внутри клетки растения-хозяина [26]. C-концевая часть содержит полиморфные домены и отвечает за эффекторную активность белка и модулирование защитной реакции организма внутри клетки-хозяина [24]. Было показано, что C-концевые W и Y мотивы участвуют в подавлении запрограммированной клеточной смерти [27]. Согласно анализу протеома, экспрессия RXLR-эффекторов строго ограничена, что объясняется избеганием распознавания растением-хозяином. Увеличение числа RXLR генов, по-видимому, обусловлено неаллельной гомологичной рекомбинацией и тандемной дупликацией [8, 21].

Первоначально цитоплазматические эффекторы CRN (CRinkling and Necrosis-inducing) были идентифицированы из транскриптов *P. infestans*, кодирующих предполагаемые секретируемые пептиды, которые вызывают скручивание и некроз, характерный для врожденного иммунитета растений [28]. Как и RXLR-эффекторы, они широко распространены у оомицетов [29]. До сих пор мало что известно об этих эффекторах. Они повсеместно встречаются в растительных патогенных оомицетах и симбиотических грибах, но их количество в разных микробах сильно различается. Анализ последовательности генома *P. infestans* обнаружил 196 CRN-генов, в то время как для *P. sojae* и *P. ramorum* их число составляет 100 и 19 соответственно. Подобно RXLR CRN представляют собой модульные белки. CRN-белок содержит высококонсервативную N-терминальную

часть с LxLFLAK-мотивом, за которым следуют DWL и HVLVVVP мотивы. Считается, что эта последовательность является горячей точкой рекомбинации, С-конец — вариабелен [2]. Большинство генов обладают сигнальным пептидом. Как и RXLR гены, CRN обычно встречаются в повторяющихся областях генов. Источник их разнообразия — рекомбинация. В основном они локализируются в ядре клетки. Было показано, что белок CRN8 обладает киназной активностью и локализуется в ядрах растений; это указывает на то, что он вмешивается в сигнальные пути хозяина во время инфекции. Делеция этого мотива снижает стабильность белка и уменьшает его способность вызывать гибель клеток [30]. Эффекторы CRN грибов и оомицетов, по-видимому, действуют как регуляторы гибели клеток и подавления иммунитета хозяина. В этом контексте эффекторы должны рассматриваться не только как гены вирулентности, но и как молекулы, позволяющие возбудителям осваивать новые экологические ниши путем устранения потенциальных конкурентов [2].

Набор эффекторов у патогенов постоянно видоизменяется в результате эволюции и коэволюции с растением-хозяином [19], иными словами растение-хозяин является важным фактором естественного отбора и эволюции для патогена [11, 31]. Размер генома *P. infestans* составляет около 240 млн пн, что значительно превышает геномы *P. sojae* (95 млн пн) и *P. ramorum* (65 млн пн) — возбудителей фитофторозной корневой гнили сои и внезапной гибели дуба соответственно. Это связывают с большим количеством повторов ДНК, на которые приходится около 74% генома *P. infestans* [21]. Кроме того, более трети генома составляют мобильные генетические элементы, наиболее распространены *gypsy* Pi-1 и LTR (*new gypsy long terminal repeat*). Геном *P. infestans* содержит гораздо больше мобильных генетических элементов, чем геномы *P. sojae* и *P. ramorum* [32]. Увеличение размера генома, не характерное для паразитов, вероятно представляет собой пример эволюционного компромисса, поскольку затраты на поддержание дополнительной ДНК уравновешиваются функциональными преимуществами, которые она предоставляет [11].

P. infestans, *P. sojae* и *P. ramorum* — три основные филогенетические клады рода *Phytophthora*. Их протеом обогащен генами, участвующими в клеточных процессах, таких как репликация ДНК, транскрипция и трансляция белка, в то время как гены, играющие роль в клеточных защитных механизмах, недопредставлены. Различия обнаруживаются в количестве и репертуаре генов вирулентности, специфичных для каждого хозяина. Сравнение трех геномов рода *Phytophthora* выявило их необычную организацию, они содержат богатые генами домашнего хозяйства (*house-keeping*)

области, в которых плотность генов относительно высока, а повторы отсутствуют, и участки с низкой плотностью генов с большим числом повторов и мобильных элементов. При этом такие участки не отличаются по содержанию GC от остальной части генома, что согласуется с данными о распространении ретротранспозонов в геноме *Phytophthora*, предшествующем расхождению нескольких видов [11]. Гены вирулентности, как правило, находятся в таких участках. Таким образом, была сформулирована концепция двухскоростной эволюции генома, согласно которой геном *P. infestans* состоит из двух частей. Одна часть богата генами, кодирующими RXLR-эффекторы, и эволюционирует быстро. Эта повышенная скорость эволюции достигается за счет того, что мобильные элементы создают высокодинамичные геномные области, обеспечивающие формирование разнообразия, а также за счет создания вставок/делеций или дупликаций [10, 11]. Другая часть содержит гены домашнего хозяйства и эволюционирует медленно, что обеспечивает стабильность основного генома [8, 33]. Схожей организацией генома обладают аскомицет *Leptosphaeria maculans* [34] и *Verticillium dahliae* [35].

Вопрос происхождения быстро эволюционирующей части генома мицелиальных фитопатогенов, содержащей специфичные гены вирулентности, рассмотрен в научной литературе [11]. Так как растительные патогены постоянно вовлечены в “гонку вооружений” со своими хозяевами, то они используют модифицированные или расширенные наборы эффекторов, чтобы оптимизировать свою вирулентность [11].

Некоторые эффекторы предотвращают активацию путей передачи сигнала после первичного распознавания белков патогена на внешней поверхности клетки-хозяина. Так, RXLR-эффектор Avr3a *P. infestans* взаимодействует и стабилизирует E3-убиквитинлигазу CMPG1, деградация которой положительно регулирует активируемый другими эффекторами апоптоз [36]. RXLR-эффектор Pi02860 *P. infestans* взаимодействует с фактором восприимчивости растений NLR1 (ассоциированная с куллином E3-убиквитинлигаза) и подавляет гибель клетки-хозяина только тогда, когда является активированным фактором некроза оомицетов INF1 [37]. Эффекторы могут изменять иммунный ответ путем непосредственного воздействия на факторы транскрипции хозяина, например RXLR-эффектор Pi03192 при связывании с факторами транскрипции NAC в эндоплазматической сети блокирует их перемещение в ядро клетки-хозяина [38]. Эффекторный белок IPIO содержит мотив RGD, способный связываться с интегринами, классом трансмембранных рецепторов. Белки, содержащие такой мотив, нарушают адгезию между плазматическими мембранами и стенками растительной клетки [20]. Белок Avr1 обнаружен

Таблица 1. Известные мишени и механизм действия *Avr*-генов *P. infestans* в организме растения-хозяина

Эффекторный белок	Механизм действия	Белок-мишень
Avr1	При локализации в цитоплазме подавляет CRN2 индуцированную гибель клеток	Sec5
Avr2	Взаимодействует с BR (брасиностероидом) и способствует антагонизму между ростом и иммунным ответом	BSL1 фосфатаза, участвующая в сигналинге гормона роста BR
Avr2-like		Bsu-like фосфатаза
Avr3a	Связывает и стабилизирует убиквитинлигазу CMPG1; Avr3a ^{K1} и Rex147-3 способны подавлять апоптоз, индуцированный элиситином INF1	CMPG1
ipiO (Avr-blb1)	Связывает интегрины, вызывая распад ткани, белок ipiO4 блокирует ETI, вызванный секрецией I и II класса генов <i>ipiO</i>	LecRK-1.9
Avr-blb2	Препятствует секреции папаин-подобной цистеиновой протеазы C14 в пространство рядом с гаусторией	Папаин-подобная цистеиновая протеаза C14

в небольших количествах в цитоплазме клетки, где он способен подавлять CRN2 индуцированную клеточную смерть [39] (табл. 1).

В свою очередь эволюция защитной системы растений связана с появлением белков-рецепторов, участвующих в специфическом распознавании эффекторных белков патогенов и индуцирующих развитие “вторичного” ответа. Такие рецепторы являются продуктами генов устойчивости (*R*-генов) и называются *R*-белками. Большая часть *R*-белков структурно относится к семейству белков, содержащих нуклеотид-связывающий домен и богатый лейциновыми повторами домен (NB-LRR) [40]. В отличие от PRRs, распознающих PAMPs, *R*-белки взаимодействуют со специфичными для определенных патогенов эффекторными белками. При этом реализуется взаимодействие по типу “ген-на-ген”, это означает, что каждому рецептору растения соответствует распознаваемый им фактор авирулентности патогена (эффекторный белок) [41]. Активация *R*-белков в большинстве случаев приводит к развитию программируемой смерти клеток в локальном участке растения, что физически изолирует инфекцию и предотвращает дальнейшее распространение патогена [42].

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ *P. infestans* С КАРТОФЕЛЕМ НА МОЛЕКУЛЯРНОМ УРОВНЕ

Такой механизм реализуется и при взаимодействии *P. infestans* с картофелем. У *P. infestans* были описаны гены, кодирующие эффекторные белки, относящиеся к классу цитоплазматических RXLR-эффекторов, в частности гены *Avr1* [39], *Avr2* [43], *Avr3a* [44], *Avr3b* [45], *Avr4* [46], *Avr8 = Avr-Smira2* [23], *Avr9a* [47], *Avr-blb1 = ipiO* [48, 49], *Avr-blb2* [38] и *Avr-vnt1* [50]. При этом у картофеля были

охарактеризованы гены, кодирующие *R*-белки, отвечающие за распознавание специфических эффекторных белков *P. infestans*. Большая часть этих генов была привнесена в геном картофеля путем интрогрессии генетического материала родственного картофелю дикорастущего мексиканского вида *Solanum demissum*, устойчивого к фитофторозу [51]. Другие дикорастущие виды также послужили источниками *R*-генов устойчивости к фитофторозу [52]. Гены расоспецифичной устойчивости к фитофторозу, перенесенные из дикорастущих сородичей картофеля, были охарактеризованы фитопатологическими методами и картированы по фенотипу на нескольких группах сцепления [51, 53], а затем некоторые *R*-гены были клонированы из дикорастущих сородичей и форм картофеля, содержащих их генетический материал [54, 55], и подробно охарактеризованы, благодаря чему удалось установить некоторые пары эффекторный белок–распознающий его *R*-белок.

Так, эффекторный белок Avr2 распознается соответствующим *R2*-белком картофеля при посредстве фосфатазы растения BSU-LIKE PROTEIN1 (BSL1) [56]. Авирулентная форма белка Avr3a распознается продуктом гена *R3a* [44]. Эффекторный белок Avr3b распознается соответствующей рецепторной киназой R3b [20, 45]. Авирулентный белок IPIO1 взаимодействует с СС-доменом RB киназы и обеспечивает димеризацию двух молекул киназы, необходимую для ее активации [57]. В то же время механизм распознавания белка Avr1 остается неизвестным, отсутствуют доказательства прямого взаимодействия R1 и Avr1, хотя и было показано, что для развития сверхчувствительного ответа необходимо присутствие обоих белков в ядре клетки [39]. Аналогичным образом не известен механизм распознавания эффекторного белка Avr4, так как не

Таблица 2. Гены вирулентности *P. infestans*, их номера в Генбанке NCBI и соответствующие им гены устойчивости картофеля

Ген <i>Avr</i>	PITG	№ в Генбанке NCBI	Ген <i>R</i>
<i>Avr1</i>	PITG_16663, PITG_06432	XM_002896847 XM_002998511	<i>R1</i>
<i>Avr2/Avr-blb3</i>	PITG_22870	XM_002902940	<i>R2/Rpi-blb3</i>
<i>Avr3a</i>	PITG_14371	XM_002898796	<i>R3a</i>
<i>Avr3b</i>	PITG_18215	XM_0029978	<i>R3b</i>
<i>Avr4</i>	PITG_07387	XM_002904373	
<i>Avr8 (Avr-Sm2)</i>	PITG_07558	XM_002904498	<i>R8 (Rpi-Sm2)</i>
<i>Avr9a (Avr-Sm1)</i>	PITG_07750	XM_002904490	<i>R9a (Rpi-Sm1)</i>
<i>IpiO (Avr-blb1)</i>	PITG_21388	XM_002895005	<i>RB/Rpi-blb1/Rpi-sto1</i>
<i>Avr-blb2</i>	PITG_20300/PexRD40 PITG_04090/PexRD39 PITG_18683 PITG_04085 PITG_04086 PITG_20303 PITG_20301	XM_002895872 XM_002905755 XM_002997266 XM_002905749 XM_002905750 XM_002895876 XM_002895873	<i>Rpi-blb2</i>
<i>Avr-vnt1</i>	PITG_16294	XM_002897316	<i>Rpi-vnt1.1</i>

известна первичная структура соответствующего гена *R4* и кодируемого им рецептора (табл. 2).

Существуют несколько гипотез, объясняющих непрямое распознавание эффектора. Согласно “сторожевой” гипотезе (guard hypothesis) R-белки ассоциированы с белками-мишенями *Avr*-генов. Взаимодействие эффекторного белка с белком-мишенью приводит к изменению структуры последнего, что распознается R-белком и приводит к запуску иммунного ответа. Такой механизм взаимодействия был показан для *Avr2* и *R2*. “Обманная модель” (decoy model) предполагает, что белок-посредник не является мишенью эффектора, а является его структурным аналогом, который конкурирует за связывание с эффектором. Согласно “модели приманки” (bait-and-switch model) белки устойчивости могут связывать эффекторы только после того, как они образуют комплекс с белком-посредником. При этом может резко возрастать сродство комплекса растительный белок-посредник/эффектор к R-белку [58].

Распознавание эффекторных белков приводит к узнаванию патогена, в результате он не способен заразить растение. Поэтому в ходе эволюции в геноме *P. infestans* появились мутантные формы генов вирулентности, продукты которых избегают распознавания защитной системой хозяина. Например, вирулентный гомолог эффектора *Avr2* — *Avr2-like* также взаимодействует с BSL1, однако ассоциации комплекса *Avr2-like* BSL1 с *R2*-киназой не происходит, что приводит к развитию за-

болевания [56, 59]. Вирулентная форма белка *Avr3a* — *Avr3a-EM* не распознается продуктом гена *R3a* и отличается от авирулентной формы *Avr3a-KI* аминокислотными заменами в эффекторном домене [44]. Для гена *Avr4* характерен сдвиг рамки считывания, приводящий к образованию укороченных белков, которые не распознаются продуктом соответствующего гена устойчивости, но при этом остаются вирулентными. Штаммы *P. infestans*, содержащие полноразмерный белок *Avr4*, всегда являются авирулентными на растениях, содержащих *R4* [60, 61]. В случае генов *ipiO* расы *P. infestans*, экспрессирующие эффектор IPI-O4, преодолевают устойчивость растений, несущих ген *RB/Rpi-blb1*, так как IPI-O4 блокирует димеризацию молекул киназы RB и тем самым препятствует узнаванию патогена [57].

Таким образом, выявление молекулярно-генетических основ взаимодействия патогена и хозяина привело к лучшему пониманию механизмов микроэволюционных процессов, протекающих в популяциях *P. infestans*. В практическом отношении эти исследования оказались очень важны потому, что от набора генов вирулентности зависит степень поражения растений в посадках картофеля и, соответственно, размер потерь урожая. Изучение механизмов изменчивости у *P. infestans* на молекулярном уровне в дальнейшем может способствовать разработке мер борьбы с фитофторозом картофеля.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-016-00144 А.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием в качестве объекта животных.

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием в качестве объекта людей.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Yin J., Gu B., Huang G. et al. Conserved RXLR effector genes of *Phytophthora infestans* expressed at the early stage of potato infection are suppressive to host defense // *Frontiers in Plant Sci.* 2017. V. 8. P. 2155. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02155>
2. Gaulin E. Effector-mediated communication of filamentous plant pathogens with their hosts // *Adv. Botan. Res.* 2017. V. 82. P. 161–185. <https://doi.org/10.1016/bs.abr.2016.09.003>
3. Fry W.E., Birch P.R.J., Judelson H.S. et al. Five reasons to consider *Phytophthora infestans* a reemerging pathogen // *Phytopathology.* 2015. V. 105. № 7. P. 966–981. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-01-15-0005-FI>
4. Jones J.D.G., Dangl J.L. The plant immune system // *Nature.* 2006. V. 444. № 7117. P. 323–329.
5. Bent A.F., Mackey D. Elicitors, effectors, and R genes: the new paradigm and a lifetime supply of questions // *Annu. Rev. Phytopathol.* 2007. V. 45. P. 399–436. <https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.45.062806.094427>
6. Вахрушева О.А., Недоспасов С.А. Система врожденного иммунитета у растений // *Мол. биология.* 2011. Т. 45. № 1. С. 20–29.
7. Chatziavgerinos F. Studying the *Phytophthora infestans* Effector Recognition in Potato. Wageningen Univ., 2015. 44 p.
8. Möller M., Stukenbrock E.H. Evolution and genome architecture in fungal plant pathogens // *Nat. Rev. Microbiol.* 2017. V. 15. № 12. P. 756. <https://doi.org/10.1101/051151>
9. Розозина Е.В. Молекулярно-генетические взаимодействия в системе “патоген–хозяин” при фитофторозе картофеля и современные стратегии селекции (обзор) // *С.-х. биология.* 2011. № 5. С. 17–30.
10. Fouché S., Plissonneau C., Croll D. The birth and death of effectors in rapidly evolving filamentous pathogen genomes // *Curr. Opinion Microbiol.* 2018. V. 46. P. 34–42. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2018.01.020>
11. Raffaele S., Kamoun S. Genome evolution in filamentous plant pathogens: why bigger can be better // *Nat. Rev. Microbiol.* 2012. V. 10. № 6. P. 417. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2790>
12. Hörger A.C., Van der Hoorn R.A.L. The structural basis of specific protease–inhibitor interactions at the plant–pathogen interface // *Curr. Opinion Struct. Biol.* 2013. V. 23. № 6. P. 842–850. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2013.07.013>
13. Toruño T.Y., Stergiopoulos I., Coaker G. Plant-pathogen effectors: cellular probes interfering with plant defenses in spatial and temporal manners // *Annual Rev. Phytopathol.* 2016. V. 54. P. 419–441. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-100204>
14. Boevink P.C., Wang X., McLellan H. et al. A *Phytophthora infestans* RXLR effector targets plant PP1c isoforms that promote late blight disease // *Nat. Commun.* 2016. V. 7. P. 10311. <https://doi.org/10.1038/ncomms10311>
15. McLellan H., Boevink P.C., Armstrong M.R. et al. An RxLR effector from *Phytophthora infestans* prevents relocalisation of two plant NAC transcription factors from the endoplasmic reticulum to the nucleus // *PLoS Pathog.* 2013. V. 9. P. e1003670. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003670>
16. Qiao Y., Shi J., Zhai Y. et al. *Phytophthora* effector targets a novel component of small RNA pathway in plants to promote infection // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2015. V. 112. P. 5850–5855. <https://doi.org/10.1073/pnas.1421475112>
17. Liu L., Xu L., Jia Q. et al. Arms race: diverse effector proteins with conserved motifs // *Plant Signaling & Behavior.* 2019. C. 1–18. <https://doi.org/10.1080/15592324.2018.1557008>
18. de Carvalho M.C.C.G., Nascimento L.C., Darben L.M. et al. Prediction of the *in planta* *Phakopsora pachyrhizi* secretome and potential effector families // *Mol. Plant Pathol.* 2017. V. 18. № 3. P. 363–377. <https://doi.org/10.1111/mpp.12405>
19. Lo Presti L., Lanver L., Schweizer G. et al. Fungal effectors and plant susceptibility // *Annual Rev. Plant Biol.* 2015. V. 66. P. 513–545. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-043014-114623>
20. Anderson R.G., Deb D., Fedkenheuer K. et al. Recent progress in RXLR effector research // *Mol. Plant-Microbe Interactions.* 2015. V. 28. № 10. P. 1063–1072. <https://doi.org/10.1094/MPMI-01-15-0022-CR>
21. Haas B.J., Kamoun S., Zody M.C. et al. Genome sequence and analysis of the Irish potato famine pathogen *Phytophthora infestans* // *Nature.* 2009. V. 461. № 7262. P. 393. <https://doi.org/10.1038/nature08358>
22. Jiang R.H.Y., Tripathy S., Govers F. et al. RxLR effector reservoir in two *Phytophthora* species is dominated by a single rapidly evolving superfamily with more than 700 members // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* 2008. V. 105. № 12. P. 4874–4879. <https://doi.org/10.1073/pnas.0709303105>
23. Rietman H., Bijsterbosch G., Cano L.M. et al. Qualitative and quantitative late blight resistance in the potato cultivar Sarpo Mira is determined by the perception of five distinct RxLR effectors // *Mol. Plant-Microbe Interactions.* 2012. V. 25. № 7. P. 910–919. <https://doi.org/10.1094/MPMI-01-12-0010-R>
24. Win J., Kamoun S. Adaptive evolution has targeted the C-terminal domain of the RXLR effectors of plant pathogenic oomycetes // *Plant Signaling & Behavior.* 2008. V. 3. № 4. P. 251–253. <https://doi.org/10.4161/psb.3.4.5182>
25. Weiberg A., Wang M., Lin F.M. et al. Fungal small RNAs suppress plant immunity by hijacking host RNA interference pathways // *Science.* 2013. V. 342. № 6154.

- P. 118–123.
<https://doi.org/10.1126/science.1239705>
26. Dou D., Kale S.D., Wang X. et al. RXLR-mediated entry of *Phytophthora sojae* effector *Avr1b* into soybean cells does not require pathogen-encoded machinery // *The Plant Cell*. 2008. V. 20. № 7. P. 1930–1947.
<https://doi.org/10.1105/tpc.107.056093>
 27. Seman Z.A. A Functional Study of the *Phytophthora infestans* *Avr3a* Alleles and Paralogs. Univ. Dundee, 2013. 149 p.
 28. Torto T.A., Li S., Styer A. et al. EST mining and functional expression assays identify extracellular effector proteins from the plant pathogen *Phytophthora* // *Genome Res*. 2003. V. 13. № 7. P. 1675–1685.
 29. Amaro T.M.M.M., Thilliez G.J., Motion G.B. et al. A perspective on CRN proteins in the genomics age: evolution, classification, delivery and function revisited // *Front. Plant Sci*. 2017. V. 8. P. 99.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00099>
 30. Van Damme M., Bozkurt T.O., Cakir C. et al. The Irish potato famine pathogen *Phytophthora infestans* translocates the CRN8 kinase into host plant cells // *PLoS Pathogens*. 2012. V. 8. № 8. P. e1002875.
<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002875>
 31. Gladieux P., Ropars J., Badouin H. et al. Fungal evolutionary genomics provides insight into the mechanisms of adaptive divergence in eukaryotes // *Mol. Ecol*. 2014. V. 23. № 4. P. 753–773.
<https://doi.org/10.1111/mec.12631>
 32. Tyler B.M., Tripathy S., Zhang X. et al. *Phytophthora* genome sequences uncover evolutionary origins and mechanisms of pathogenesis // *Science*. 2006. V. 313. № 5791. P. 1261–1266.
<https://doi.org/10.1126/science.1128796>
 33. Dong S., Stam R., Cano L.M. et al. Effector specialization in a lineage of the Irish potato famine pathogen // *Science*. 2014. V. 343. № 6170. P. 552–555.
<https://doi.org/10.1126/science.1246300>
 34. Rouxel T., Grandaubert J., Hane J.K. et al. Effector diversification within compartments of the *Leptosphaeria maculans* genome affected by Repeat-Induced Point mutations // *Nat. Communicat*. 2011. V. 2. P. 202.
<https://doi.org/10.1038/ncomms1189>
 35. de Jonge R., Bolton M.D., Kombrink A. et al. Extensive chromosomal reshuffling drives evolution of virulence in an asexual pathogen // *Genome Res*. 2013. V. 23. P. 1271–1282.
<https://doi.org/10.1101/gr.152660.112>
 36. Bos J.I.B., Kanneganti T.D., Young C. et al. The C-terminal half of *Phytophthora infestans* RXLR effector AVR3a is sufficient to trigger R3a-mediated hypersensitivity and suppress INF1-induced cell death in *Nicotiana benthamiana* // *The Plant J*. 2006. V. 48. № 2. P. 165–176.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2006.02866.x>
 37. Yang L., McLellan H., Naqvi S. et al. Potato NPH3/RPT2-like protein StNRL1, targeted by a *Phytophthora infestans* RXLR effector, is a susceptibility factor // *Plant Physiol*. 2016. P. 00178.
<https://doi.org/10.1104/pp.16.00178>
 38. Oh S.K., Young C., Lee M. et al. In planta expression screens of *Phytophthora infestans* RXLR effectors reveal diverse phenotypes, including activation of the *Solanum tuberosum* disease resistance protein Rpi-blb2 // *The Plant Cell*. 2009. V. 21. № 9. P. 2928–2947.
<https://doi.org/10.1105/tpc.109.068247>
 39. Du Y., Berg J., Govers F. et al. Immune activation mediated by the late blight resistance protein R1 requires nuclear localization of R1 and the effector AVR1 // *New Phytologist*. 2015. V. 207. № 3. P. 735–747.
<https://doi.org/10.1111/nph.13355>
 40. Tameling W.I.L., Takken F.L.W. Resistance proteins: scouts of the plant innate immune system // *Eur. J. Plant Pathol*. 2008. V. 121. P. 243–255.
<https://doi.org/10.2478/s11658-010-0024-2>
 41. Karasov T.L., Horton M.W., Bergelson J. Genomic variability as a driver of plant–pathogen coevolution? // *Curr. Opin. Plant Biol*. 2014. V. 18. P. 24–30.
<https://doi.org/10.1016/j.pbi.2013.12.003>
 42. Heath M.C. Hypersensitive response-related death // *Programmed Cell Death in Higher Plants* / Eds Lam E., Fukuda H., Greenberg J. Springer, Dordrecht, 2000. P. 77–90.
 43. Lokossou A.A., Park T.H., van Arkel G. et al. Exploiting knowledge of *R/Avr* genes to rapidly clone a new LZ-NBS-LRR family of late blight resistance genes from potato linkage group IV // *Mol. Plant-Microbe Interactions*. 2009. V. 22. № 6. P. 630–641.
<https://doi.org/10.1094/MPMI-22-6-0630>
 44. Armstrong M.R., Whisson S.C., Pritchard L. et al. An ancestral oomycete locus contains late blight avirulence gene *Avr3a*, encoding a protein that is recognized in the host cytoplasm // *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2005. V. 102. № 21. P. 7766–7771.
<https://doi.org/10.1073/pnas.0500113102>
 45. Wang H., Ren Y., Zhou J. et al. The cell death triggered by the nuclear localized RxLR effector PITG_22798 from *Phytophthora infestans* is suppressed by the effector AVR3b // *Intern. J. Mol. Sci*. 2017. V. 18. № 2. P. 409.
<https://doi.org/10.3390/ijms18020409>
 46. van Poppel P.M.J.A., Guo J., van de Vondervoort P.J. et al. The *Phytophthora infestans* avirulence gene *Avr4* encodes an RXLR-dEER effector // *Mol. Plant-Microbe Interactions*. 2008. V. 21. № 11. P. 1460–1470.
<https://doi.org/10.1094/MPMI-21-11-1460>
 47. Champouret N. Functional Genomics of *Phytophthora infestans* Effectors and *Solanum* Resistance Genes. Wageningen Univ., 2010. 162 p.
 48. Vleeshouwers V.G.A.A., Rietman H., Krenek P. et al. Effector genomics accelerates discovery and functional profiling of potato disease resistance and *Phytophthora infestans* avirulence genes // *PLoS One*. 2008. V. 3. № 8. P. e2875.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002875>
 49. Jo K.R. Unveiling and Deploying Durability of Late Blight Resistance in Potato: from Natural Stacking to Cisgenic Stacking. Wageningen Univ., 2013. 168 p.
 50. Pel M.A. Mapping, Isolation and Characterization of Genes Responsible for Late Blight Resistance in Potato. Wageningen Univ., 2010. 210 p.
 51. Bradshaw J.E. Review and analysis of limitations in ways to improve conventional potato breeding // *Potato Res*. 2017. V. 60. № 2. P. 171–193.
<https://doi.org/10.1270/jsbbs.65.53>

52. Rodewald J., Trognitz B. *Solanum* resistance genes against *Phytophthora infestans* and their corresponding avirulence genes // Mol. Plant Pathol. 2013. V. 14. № 7. P. 740–757.
https://doi.org/10.1111/mpp.12036
53. Gebhardt C. The historical role of species from the Solanaceae plant family in genetic research // Theoret. Applied Genet. 2016. V. 129. № 12. P. 2281–2294.
https://doi.org/10.1007/s00122-016-2804-1
54. Jo K.R., Zhu S., Bai Y. et al. Problematic Crops: 1. Potatoes: Towards Sustainable Potato Late Blight Resistance by Cisgenic R Gene Pyramiding. N.Y.: Wiley, 2016. P. 171–191.
https://doi.org/10.1007/s00122-016-2740-0
55. Witek K., Jupe F., Witek A.I. et al. Accelerated cloning of a potato late blight–resistance gene using RenSeq and SMRT sequencing // Nat. Biotechnol. 2016. V. 34. № 6. P. 656.
https://doi.org/10.1038/nbt.3540
56. Saunders D.G.O., Breen S., Win J. et al. Host protein BSL1 associates with *Phytophthora infestans* RXLR effector AVR2 and the *Solanum demissum* immune receptor R2 to mediate disease resistance // The Plant Cell. 2012. V. 24. № 8. P. 3420–3434.
https://doi.org/10.1105/tpc.112.099861
57. Chen Y., Liu Z., Halterman D.A. Molecular determinants of resistance activation and suppression by *Phytophthora infestans* effector IPI-O // PLoS Pathogens. 2012. V. 8. № 3. P. e1002595.
https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1002595
58. Шафикова Т.Н., Омеличкина Ю.В. Молекулярно-генетические аспекты иммунитета растений к фитопатогенным бактериям и грибам // Физиол. растений. 2015. V. 62. № 5. P. 611.
https://doi.org/10.7868/S0015330315050140
59. Gilroy E.M., Breen S., Whisson S.C. et al. Presence/absence, differential expression and sequence polymorphisms between *PiAVR2* and *PiAVR2*-like in *Phytophthora infestans* determine virulence on R2 plants // New Phytologist. 2011. V. 191. № 3. P. 763–776.
https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2011.03736.x
60. van Poppel P.M.J.A., Jiang R.H., Śliwka J. et al. Recognition of *Phytophthora infestans* Avr4 by potato R4 is triggered by C-terminal domains comprising W motifs // Mol. Plant Pathology. 2009. V. 10. № 5. P. 611–620.
https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2009.00556.x
61. Vleeshouwers V.G.A.A., Raffaele S., Vossen J.H. et al. Understanding and exploiting late blight resistance in the age of effectors // Annual Rev. Phytopathol. 2011. V. 49. P. 507–531.
https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-072910-095326

Genetics of Pathogen-Host Interaction by the Example of Potato Late Blight Disease

V. V. Martynov^{a, b, *} and V. K. Chizhik^{a, b}

^aAll-Russia Research Institute of Agricultural Biotechnology, Moscow, 127550 Russia

^bMoscow Regional State University, Moscow, 105005 Russia

*e-mail: martynov.vik@gmail.com

This article is a review of modern conceptions concerning the interaction between a pathogen and a host plant at the molecular level. In particular, the basic principles of plant immunity and the mechanisms by which pathogens overcome this immunity are described. In this respect, special attention is paid to information about the interaction of the causative agent of late blight disease oomycete *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary with its host potato. This is due to the fact that late blight is the largest economically significant problem for modern potato farming. Despite the fact that the causative agent of late blight is known to science for a long time, there are many unresolved issues related to the biology of this pathogen. Therefore, to create new potato varieties with high resistance to late blight, it is necessary to obtain new knowledge about the interaction of the polygenic plant resistance system with the determinants of pathogenicity of *P. infestans*.

Keywords: molecular genetics, plant immunity, effector proteins, virulence genes, phytopathogens, *Phytophthora infestans*.