

**MARTA BRYLIŃSKA****JADWIGA ŚLIWKA**

Pracownia Badania Odporności na Grzyby i Bakterie

Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin — Państwowy Instytut Badawczy, Młochów

## Efektory — kluczowe białka w interakcji ziemniak — *Phytophthora infestans* \*

### Effectors — key proteins in the interaction potato — *Phytophthora infestans*

Ziemniak (*Solanum tuberosum* L.) jest jedną z ważniejszych roślin uprawnych na świecie. Roczna produkcja wynosi około 340 mln ton, co umieszcza go na czwartym miejscu wśród roślin użytkowych. Produkcję ziemniaków znacznie obniża choroba - zaraza ziemniaka, wywołwana przez grzybopodobny patogen *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary należący do Oomycetes. Patogen ten odnosi sukces dzięki białkom - efektorom wydzielanym w czasie interakcji z gospodarzem. Identyfikacja i poznanie funkcji białek efektorowych jest ważne dla zrozumienia oddziaływań patogenów z roślinami i może znaleźć praktyczne zastosowanie w hodowli odpornościowej. Roślina broni się przed infekcją produkując białka odporności R. W niniejszej pracy podsumowano dotychczasową wiedzę na temat oddziaływań efektor — białko odporności R na przykładzie patosystemu ziemniak — *P. infestans*. Przedstawiono dwie klasy efektorów, omówiono model roślinnego systemu odpornościowego i zaprezentowano kilka przykładów działania najlepiej zbadanych efektorów.

**Słowa kluczowe:** odporność, *Solanum tuberosum*, zaraza ziemniaka

Potato is one of the most appreciated crops in the world, with total production near 340 million tons making it the fourth most important crop plant. Potato production is severely reduced by late blight caused by *Phytophthora infestans*. This pathogen is so successful thanks to proteins secreted during interaction with the host — effectors. The identification and knowledge of functions of a wide variety of effector proteins are very important for understanding the interactions of plants with pathogens and may find practical use in resistance breeding. The plant is defended by resistance (R) proteins. In this review the knowledge about interactions between effectors and R proteins was summarized with potato — *P. infestans* pathosystem as an example. Two different classes of effectors were presented. The plant immune system model was discussed as well as the host responses to infection. We presented examples

---

\* Badania finansowane ze środków funduszy norweskich, w ramach programu Polsko-Norweska Współpraca Badawcza realizowanego przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju, projekt POTPAT (Pol-Nor/202448/28/2013)

Redaktor prowadzący: Barbara Zagdańska

of the most studied effectors which employ different mechanisms for evading recognition by the resistance proteins.

**Key words:** late blight, resistance, *Solanum tuberosum*

#### WSTĘP

Najważniejszą gospodarczo chorobą ziemniaka uprawnego (*Solanum tuberosum* L.) jest zaraza ziemniaka (ang. late blight), powodowana przez patogen należący do Oomycetes — *Phytophthora infestans*. Zaraza ziemniaka jest przyczyną obniżenia o około 16% całkowitej światowej rocznej produkcji ziemniaka (Vleeshouwers i in., 2011). Koszty stosowania fungicydów przeciwko tej chorobie są bardzo wysokie. Wraz z pojawieniem się nowych, niewrażliwych szczepów patogena środki ochrony są bardzo często nieskuteczne. Ponadto, stosowanie fungicydów ma niekorzystny wpływ na środowisko naturalne (Kamoun, 2003). Alternatywą dla chemicznych środków ochrony roślin w produkcji ziemniaka jest wykorzystywanie odmian odpornych. W ziemniaku zidentyfikowano wiele genów, które kodują białka obronne przeciwko patogenom (Champouret, 2010), między innymi geny odporności typu *R* (Jones i Dangl, 2006). Szczególnie cenne dla postępu hodowlanego i naukowego były geny *R1* – *R11* oznaczone przez Blacka i Mastenbroeka (1953). Odnotowany początkowy sukces nie trwał długo, ponieważ pojawiły się nowe szczepy *P. infestans* i szybko ewoluujące populacje, które były w stanie infekować rośliny posiadające geny *R* (Vleeshouwers i in., 2011). Do tej pory zidentyfikowano kilkadziesiąt genów *R*, odporności na zarazę, z różnych dzikich gatunków *Solanum* (van Poppel, 2009). Różnorodność genów *R* wynika z mutacji i umożliwia roślinie rozpoznanie również bardzo zróżnicowanych białek patogena — efektorów (Rodewald i Trognitz, 2013).

Efektory są to z definicji „białka, które manipulują strukturą i funkcją komórek gospodarza, ułatwiając w ten sposób infekcję i/ lub wywołanie reakcji obronnej” (Kamoun, 2006). Zmiana struktury i/ lub funkcji komórki gospodarza może opierać się na modyfikacji nie tylko jednego białka w roślinie. Jeden effektor może manipulować kilkoma białkami, które są odpowiedzialne za różne procesy w gospodarzu. Fakt ten utrudnia precyzyjne określenie celu danego efektora (Win i in., 2013). Termin efektor niedawno zastąpił nazwy takie jak: czynniki awirulencji, elicytory, czynniki wirulencji, toksyny, z których część miała negatywny, a część — pozytywny wpływ na wynik przebiegu infekcji (Win i in., 2013). Produkowane przez *P. infestans* efektor odgrywają istotną rolę w procesie adhezji w początkowej fazie infekcji, ale również w penetracji do wnętrza tkanek, jak i w niszczeniu komórek gospodarza. Efektory oddziałują ze ścianą komórkową, błoną komórkową oraz cytoplazmą ziemniaka (Bouwmeester i in., 2009).

Oddziaływanie białek *R* ziemniaka i efektora *P. infestans* jest swoistym przykładem „wyścigu zbrojeń” (Bouwmeester i in., 2009). Nietrwałość odporności warunkowanej przez większość genów *R* wynika z niestabilności genomu *P. infestans*. Jest to patogen, który może rozmnażać się płciowo, co również prowadzi do zwiększonego zróżnicowania populacji i ułatwia przetrwanie patogenowi w zmiennych warunkach, w większości miejsc na świecie. Obserwuje się dużą zmienność i różnorodność populacji *P. infestans*

i wydzielanych przez nie efektorów. Nowe efekторы powstają przez mutacje, transpozony, mitotyczną i mejozytyczną rekombinację. Co więcej, struktura genomu *P. infestans* może zwiększać tempo mutacji. W budowie genomu obserwuje się nietypowy rozkład gęstości genów. Efekторы zlokalizowane są w regionach bogatych w transpozony i sekwencje powtórzone, ale o niewielkiej zawartości genów. W pozostałych kluczowych, konserwowanych rejonach genomu gęstość genów jest wysoka, a liczba elementów powtórzonych niewielka. Takie usytuowanie genów efektorowych wpływa na ich zmienność i plastyczność (Kamoun, 2003; van Damme i in., 2011; Vleeshouwers i in., 2011).

Poznanie mechanizmów i czynników powodujących, że *P. infestans* jest tak skutecznym patogenem dostarczy kluczowych informacji wspierających racjonalną hodowlę roślin. Uprawa odmian odpornych na zarazę ziemniaka przyczyniłaby się do obniżenia kosztów jego produkcji (Bouwmeester i in., 2009). Wiele efektorów cytoplazmatycznych zostało dokładnie poznanych i scharakteryzowanych ze względu na ich przydatność w poszukiwaniu nowych genów odporności *R*. W niniejszym artykule zostanie przedstawiony podział, budowa, miejsce działania i cele wybranych efektorów *P. infestans*. Ponadto zostanie pokazane w jaki sposób efekторы unikają rozpoznania przez geny *R*: i) przez mutacje: *Avr3a*, *Avr4* ii) przez duplikacje i dywersyfikację: *ipiO* iii) przez zmiany ekspresji: *Avrvnt1*, *Avr2* (tab. 1). Celem tego artykułu jest zebranie i usystematyzowanie szerokiej wiedzy o dużej liczbie białek efektorowych patogena wywołującego zarazę ziemniaka, które manipulują strukturą i funkcją komórek gospodarza. Białka odporności ważne dla hodowli ziemniaka oddziałują z efektorami cytoplazmatycznymi o charakterystycznych motywach RxLR-dEER i im poświęćmy najwięcej uwagi.

#### TYPY EFEKTORÓW

Efekторы wydzielane przez *P. infestans* można podzielić ze względu na miejsce działania na dwie główne klasy: i) apoplastyczne, które są wydzielane do przestrzeni zewnątrzkomórkowej i i) cytoplazmatyczne, które są wydzielane do wnętrza komórek gospodarza (Champouret, 2010). Wspólną cechą obu klas jest występowanie peptydu sygnałowego w konserwatywnej N — terminalnej domenie, który pośredniczy w wydzielaniu efektorów na zewnątrz komórek patogena. Apoplastyczne efekторы mają na celu ochronienie patogena przed mechanizmami obronnymi gospodarza i wspomagają kolonizację poprzez oddziaływanie z zewnątrzkomórkowymi białkami (Champouret, 2010, Rodewald i Trognitz, 2013). Apoplastyczne efekторы *P. infestans* to między innymi inhibitory proteaz np. EPI1, EPIC1 i glukanaz gospodarza (Rodewald i Trognitz, 2013). Innym przykładem są niewielkie białka bogate w cysteinę (SCR — small cysteine — rich proteins) np. INF1, PcF — like SCR74 oraz białka indukujące śmierć komórki NLPs (Nep1 — like proteins) np. PiNPP1, które pośredniczą w indukcji nekrozy (Wawra i in., 2012).

Cytoplazmatyczne efekторы *P. infestans* posiadają konserwatywną N — terminalną domenę, biorącą udział w przemieszczaniu efektorów do wnętrza komórek gospodarza, oraz zróżnicowaną, szybko ewoluującą C — terminalną domenę, która odpowiada za aktywność efektorów i oddziaływanie z białkami gospodarza. Efekторы cytoplazmatyczne wydzielane przez *P. infestans* można podzielić na dwie grupy: RxLR i CRN. N —

terminalna domena efektorów RxLR jest charakterystyczna dla Oomycetes i zawiera aminokwasowy motyw: arginina (R), dowolny aminokwas (x), leucyna (L), arginina (R). Uważa się, że główną funkcją domeny RxLR jest przenoszenie białka do komórek gospodarza. Istnieje kilka hipotez w jaki sposób ten proces przebiega. Pierwsza z hipotez opiera się na podobieństwie do innego rodzaju patogenów — grzybów i zakłada, że domena RxLR wiąże się z fosfolipidem (fosfatydyloinozytolo-3fosforanem — PI3P). PI3P jest składnikiem błony cytoplazmatycznej i bierze udział w transporcie wewnątrzkomórkowym — endocytozie (Kale i in., 2010; Kale, 2012). Druga teoria powstała w oparciu o motyw sygnałowy RxLx(E/Q) zarodźca malarycznego (*Plasmodium*). Wydzielane przez zarodźca białka posiadające motyw sygnałowy rozpoznawane są przez translokon i za jego pomocą transportowane do cytozolu erytrocytów (Przyborski i Lanzer, 2004). Motyw RxLR *P. infestans* przypomina motyw RxLx(E/Q) zarodźca malarycznego i być może transport efektorów do wnętrza komórek gospodarza również odbywa się podobnie (Birch i in., 2006). Według innej teorii do transportu przez translokon efektorów z domeną RxLR wymagają białek wiążących i chaperonowych. Chaperony mają pomagać w utrzymaniu odpowiedniego pofałdowania białka efektorowego podczas transportu przez błonę (Morgan i Kamoun, 2007). Być może mechanizm działania i funkcja domeny RxLR nie jest jeszcze prawidłowo wyjaśniona.

W obrębie N-terminalnego końca efektorów RxLR obserwuje się również występowanie dodatkowego motywu: kwas asparaginowy (d), kwas glutaminowy (E), kwas glutaminowy (E), arginina (R). Ponadto w ponad połowie znanych efektorów RxLR zaobserwowano występowanie motywów tryptofan (W), tyrozyna (Y), leucyna (L) w części C — końcowej białka (van Poppel i in., 2009). Najlepiej poznanymi obecnie z ogromnej liczby efektorów RxLR są *Avr1*, *Avr2*, *Avr3a*, *Avr4*, *ipiO*, *Avrvnt1* (tab. 1). W grupie efektorów RxLR najwyższą ekspresję obserwuje się w biotroficznej fazie infekcji, 2 do 3 dni po inokulacji, a spadek ekspresji w fazie nekrotycznej, 4–5 dni po inokulacji (Champouret, 2010; van Damme i in., 2011; Vleeshouwers i in., 2011; Wawra i in., 2012).

Od fenotypu pomarszczonych liści i wywoływanych nekroz pochodzi nazwa cytoplazmatycznych efektorów CRN (crinkling, necrosis). Posiadają one konserwatywny motyw aminokwasowy w N — terminalnej domenie: LxLFLAK. Na początku C — terminalnej domeny znajduje się silnie zróżnicowany trójpeptydowy motyw DWL oraz na jej końcu konserwatywny motyw: HVLVxxP. W wyniku rekombinacji i występowania wielu wariantów motywu DWL obserwuje się dużą różnorodność wśród efektorów CRN *P. infestans*. Efektory te zakłócają procesy komórkowe gospodarza np. niektóre domeny DWL (D2, DBF) wykazują podobieństwo do kinaz białkowych gospodarza i przyczyniają się do zmiany procesów sygnalizacyjnych. Białka CRN mogą też odgrywać inne role w różnych fazach infekcji. W roślinach z ulegającymi ekspresji odpowiadającymi białkami odporności cytoplazmatyczne efektorów CRN indukują śmierć komórki. Niektóre efektorów CRN *P. infestans* posiadają sygnałowy motyw przemieszczania do jądra gospodarza (NLS — nuclear localisation signal) (Haas i in., 2009; Champouret, 2010; van Damme i in., 2011; Wawra i in., 2012).

Rośliny naczyniowe wykształciły system odpornościowy, aby wykryć infekujące je patogeny oraz, aby nie dopuścić do rozwoju choroby. Działanie roślinnego systemu odporności opisuje model Zig – Zag, który składa się z czterech etapów. Początkowo błonowe receptory (PRR — pattern recognition receptors) rozpoznają konserwatywne elementy związane z patogenami (PAMP — pathogen — associated molecular patterns), co skutkuje aktywacją reakcji obronnej gospodarza (PAMP — triggered immunity — PTI). W odpowiedzi na PTI u patogenów wyewoluowały efekторы, które wyłączają PTI, powodując aktywację szlaku efektorowo wywołanej podatności (ETS — effector triggered susceptibility). Rośliny jednak bronią się specyficznie rozpoznając obecność efektora przez białko R i aktywację szlaku efektorowo wywołanej odporności (ETI — effector triggered immunity), która przejawia się reakcją nadwrażliwości (HR — hypersensitive response), czyli programowaną śmiercią komórki (Jones i Dangl, 2006; Champouret, 2010). Efekторы cytoplazmatyczne mogą być wykrywane bezpośrednio lub pośrednio przez odpowiadające im białka R. Bezpośrednie rozpoznanie polega na fizycznym połączeniu efektora z właściwym białkiem R. Pośredni sposób polega na detekcji zmiany spowodowanej przez efektor lub rozpoznanie kompleksu efektora z białkiem docelowym, lub innym, upodabniającym się do białka docelowego (Dodds i Rathjen, 2010). Efekторы w różny sposób unikają rozpoznania przez białka R (ETI) np. poprzez mutację, duplikację, tłumienie ekspresji, utratę genu, co prowadzi do powielania etapów modelu Zig – Zag (van Poppel, 2009).

#### AVR3A, AVR4 — WIRULENCJA PRZEZ MUTACJĘ PUNKTOWĄ

Białko Avr3a, wydzielane przez *P. infestans*, jest jednym z najlepiej poznanych cytoplazmatycznych efektorów RxLR. Funkcją Avr3a jest hamowanie indukowanej INF-1 śmierci komórki (ICD — INF-1 induced cell death). INF-1 jest apoplastycznym efektorom wydzielanym przez *P. infestans* wykazującym cechy PAMP. Avr3a poprzez stabilizację hamuje aktywność ligazy ubikwityny E3 CMPG1 gospodarza, która jest kluczowym czynnikiem w odpowiedzi rośliny na reakcję wywołaną INF-1. CMPG1 jest jedną z trzech ubikwityn gospodarza biorącą udział w reakcji obronnej przez aktywację 26S proteasomu i ubikwitynowanie substratów przeznaczonych do degradacji. Białko efektorowe Avr3a uruchamia reakcję nadwrażliwości (HR) w roślinach, w których obserwujemy ekspresję genu odporności *R3a* (Gilroy i in., 2011; Stassen i Van den Ackerveken, 2011; van Damme i in., 2011; Yaeno i in., 2011).

W wyniku mutacji punktowej efektor Avr3a unika rozpoznania przez białko R3a. Wyróżniamy przynajmniej dwa główne allele wydzielanego przez *P. infestans* efektora, które różnią się trzema resztami aminokwasowymi. Pierwsza zmiana jest położona w peptydzie sygnałowym w pozycji 19 – C lub S. Dwie pozostałe zmiany obserwowane są w dojrzałym białku i występują w efektorowej domenie C-końcowej, z czego zmiana w pozycji 103 zlokalizowana jest w obrębie motywu W. W pozycji 80 występuje lizyna — K lub kwas glutaminowy — E, w 103 izoleucyna — I lub metionina — M (Armstrong i in., 2005; Kamoun, 2006). Białko efektorowe Avr3a<sup>KI</sup> jest rozpoznawane przez roślinne białko R3a i uruchamia ETI. Natomiast forma białka Avr3a<sup>EM</sup> unika wykrycia przez białko

odporności R3a. Obydwa allele kodujące *Avr3a* są zdolne do hamowania śmierci komórki gospodarza indukowanej przez INF1, chociaż aktywność *Avr3a<sup>KI</sup>* jest silniejsza (Vleeshouwers i in., 2011).

Kolejnym przykładem cytoplazmatycznego efektoru RxLR jest wysoce polimorficzne białko Avr4 (van Poppel, 2009). Poza konserwatywną domeną C-końcową Avr4 posiada trzy motywy W (W1, W2, W3) i jeden motyw Y. Białko docelowe gospodarza dla tego efektoru nie zostało jeszcze zidentyfikowane. Podejrzewa się, że celem efektoru Avr4 może być białko biorące udział w tworzeniu kompleksu efektoru z białkiem odporności R4. W momencie gdy w roślinie ulega ekspresji gen *R4* i rozpoznaje efektor Avr4 uruchamiany jest szlak ETI.

Efektor Avr4 unika wykrycia przez roślinne białko odporności R4 za pomocą delekcji, która skutkuje wcześniejszym pojawieniem się kodonu stop, czyli pseudogenizacją. Zmiana ta sprawia, że powstające białko Avr4 jest skracane i przypuszczalnie jest нефunkcjonalne. Modyfikacja efektoru nie wpływa niekorzystnie na proces infekcji przez *P. infestans* (van Poppel, 2009; van Poppel i in., 2009; Vleeshouwers i in., 2011).

#### IPIO — WIRULENCJA PRZEZ DUPLIKACJĘ I DYWERSYFIKACJĘ

Rodzina ipiO należy do cytoplazmatycznych efektorów RxLR *P. infestans*. i została ona podzielona na trzy klasy. Przeważająca część przedstawicieli efektorów ipiO należy do klasy I, najbardziej rozpowszechnionej wśród większości izolatów *P. infestans* np. ipiO1, ipiO2. Efektory z rodziny ipiO poza motywem RxLR posiadają dodatkowy motyw składający się z trzech aminokwasów: arginina (R), glicyna (G), kwas asparaginowy (D). Wykazano, że motyw RGD oddziałuje z kinazą receptorową lektyny (LecRK79). Interakcja ta powoduje osłabienie adhezji ściany komórkowej do błony komórkowej. Rolą LecRK79 jest wzmocnienie przylegania ściany do błony podczas infekcji. Efektory ipiO zakłócają ten proces i ułatwiają infekcję (Bouwmeester i in., 2009; Wawra i in., 2012).

IpiO z klasy I i II indukują śmierć komórki (HR) w roślinach po rozpoznaniu przez białko R: Rpi-blb1. Efektory z klasy III np. ipio4 nie są rozpoznawane przez roślinne białko odporności oraz uniemożliwiają oddziaływanie ipiO1 z Rpi-blb1, przez co hamują reakcję nadwrażliwości (Champouret, 2010; Vleeshouwers i in., 2011; Chen i in., 2012).

W C — terminalnej domenie efektorów ipiO występuje motyw W, który odgrywa istotną rolę w oddziaływaniu z białkiem Rpi-blb1. W klasie III ipiO obserwuje się dużą różnorodność w obrębie motywu „W”. Na skutek duplikacji motywu „W” efektory te unikają rozpoznania przez wydzielane w roślinie białka R (Champouret, 2010).

#### AVRVNT1, AVR2 — WIRULENCJA PRZEZ ZMIANY EKSPRESJI

Avrvnt1 to cytoplazmatyczny efektor RxLR wydzielany przez *P. infestans*. Jego funkcja i białko docelowe są nieznanne. Zidentyfikowano niewielką ilość wariantów alleli *Avrvnt1*. Efektor Avrvnt1 indukuje reakcję nadwrażliwości w roślinach, które posiadają białko Rpi-vnt1. Avrvnt1 jest regulowany transkrypcyjnie podczas wczesnej biotroficznej fazy infekcji. Białko Avrvnt1 unika wykrycia przez roślinne białko odporności Rpi-vnt1

dzięki redukcji ekspresji. W wielu szczepach *P. infestans* identyfikowana była sekwencja genu *Avrvnt1*, ale obecności białka nie stwierdzano (Vleeshouwers i in., 2011).

Następnym przykładem scharakteryzowanego cytoplazmatycznego efektora RxLR *P. infestans*, należącego do licznej, silnie zróżnicowanej rodziny jest Avr2. Docelowym białkiem gospodarza dla tego efektoru jest fosfataza z rodziny BSL (BSU — LIKE PROTEIN1). Fosfataza alkaliczna BSL1 w komórkach roślinnych jest zaangażowana w przewodzenie sygnału związanego z hormonami brassinosteroidowymi. W roślinach, w których jednocześnie obserwuje się występowanie efektoru Avr2 i białka odporności R2, BSL1 pośredniczy w tworzeniu kompleksu tych dwóch białek. W momencie, gdy w ziemniaku gen *R2* ulega ekspresji i efektor Avr2 jest rozpoznany uruchamiana jest reakcja nadwrażliwości HR.

Avr2 uchyla się od rozpoznania przez R2 za pomocą zmiany ekspresji. W izolatach *P. infestans* zdolnych do infekcji rośliny zawierającej białko R2 ekspresji nie ulega *Avr2* lub ulega *Avr2-like*. Dojrzałe białka Avr2 i Avr2-like różnią się trzynastoma aminokwasami, osiem zmian występuje w C-terminalnej domenie efektorowej. Avr2-like w dalszym ciągu oddziałuje z BSL1, natomiast interakcja R2 z BSL1 jest wtedy niemożliwa, a co za tym idzie nie powstaje kompleks włączający HR (Gilroy i in., 2011; Vleeshouwers i in., 2011; Saunders i in., 2012).

Tabela 1

**Scharakteryzowane efekторы cytoplazmatyczne RxLR *P. infestans* o znanym mechanizmie wirulencji wobec ziemniaka posiadającego geny R**  
**Cytoplasmic RxLR effectors of *P. infestans* characterized regarding virulence mechanisms against potato with R genes**

Efektor Effector	Wirulencja Virulence	Białko docelowe gospodarza Host target protein	Gen <i>R</i> <i>R</i> gene
Avr3a	dwa allele: Avr3a <sup>EM</sup> – wirulencja Avr3a <sup>KI</sup> – awirulencja two alleles: Avr3a <sup>EM</sup> – virulence Avr3a <sup>KI</sup> - avirulence	ligaza ubikwityny E3 CMPG1 E3 ubiquitin ligase CMPG1	R3a
Avr4	pseudogen Avr4 pseudogene Avr4	nieznane unknown	R4
IpiO	ipiO4 nowa funkcja: blokowanie rozpoznania ipiO1, ipiO2 ipiO4 new function: block of ipiO1, ipiO2 recognition	kinaza receptorowa lektyny (LecRK79) lectin receptor kinase (LecRK79)	Rpi-blb1
Avrvnt1	redukcja ekspresji reduction of expression	nieznane unknown	Rpi-vnt1
Avr2	Avr2-like zahamowanie ekspresji Avr2 inhibition of Avr2 expression	fosfataza alkaliczna BSL1 alkaline phosphatase BSL1	R2

## PODSUMOWANIE

Poznanie i zrozumienie mechanizmów infekcji *P. infestans* przyczyni się w znaczny sposób do kontroli wywoływanej przez ten patogen choroby — zarazy ziemniaka. Dzięki metodom biologii molekularnej zostały odkryte efekторы, które stanowią o infekcyjnym

sukcesie *P. infestans*. Jest to bardzo rozległa, zróżnicowana grupa białek, które przez różnego rodzaju manipulacje komórek gospodarza umożliwiają *P. infestans* zakażenie ziemniaka. Jednak jeszcze bardzo niewiele wiadomo na temat mechanizmów działania wielu efektorów, ich transportu do wnętrza komórki roślinnej, w jaki sposób zmieniają białka docelowe gospodarza. Do tej pory dokładnie opisano tylko kilkanaście genów efektorowych. Na podstawie tych dobrze scharakteryzowanych i przedstawionych w niniejszej pracy Avr2, ipiO, a zwłaszcza Avr3a można zidentyfikować szlaki działania innych efektorów (Bouwmeester i in., 2009; Schornack i in., 2009; van Damme i in., 2009; Whisson i in., 2011).

Zdobyta wiedza na temat efektorów może być użyteczna dla hodowców ziemniaka posługujących się genami odporności *R*. Za pomocą sekwencjonowania nowej generacji oraz innych najnowszych technik biologii molekularnej będzie możliwe identyfikowanie efektorów w szybszy sposób, poznanie ich celów w gospodarzu i receptorów, z którymi oddziałują. Informacje te przyczynią się do zwiększenia liczby używanych w hodowli genów *R*, oraz ich modyfikacji, aby były w stanie rozpoznać różne warianty efektorów (Vleeshouwers i in., 2011; Whisson i in., 2011; Vleeshouwers i Oliver, 2014).

#### LITERATURA

- Armstrong M. R., Whisson S. C., Pritchard L., Bos J. I. B., Venter E., Avrova A. O., Rehmany A. P., Böhme U., Brooks K., Cherevach I., Hamlin N., White B., Fraser A., Lord A., Quail M. A., Churcher A., Hall N., Berriman M., Huang S., Kamoun S., Beynon J. L., Birch P. R. J. 2005. An ancestral oomycete locus contains late blight avirulence gene Avr3a, encoding a protein that is recognized in the host cytoplasm. *PNAS*. 102: 7766 — 7771.
- Birch P. R. J., Rehmany A. P., Pritchard L., Kamoun S., Beynon J. L. 2006. Trafficking arms: oomycete effectors enter host plant cells. *TRENDS in Microbiology*. 14 (1): 8 — 11.
- Black W., Mastenbroek C., Mills W. R., Peterson L. C. 1953. A proposal for an international nomenclature of races of *Phytophthora infestans* and of genes controlling immunity in *Solanum demissum* derivatives. *Euphytica* 2 (3): 173 — 240.
- Bouwmeester K., van Poppel P. M. J. A., Govers F. 2009. Genome biology cracks enigmas of *Oomycete* plant pathogens. *Annual Plant Reviews*. 34: 102 — 133.
- Champouret N. 2010. Functional Genomics of *Phytophthora infestans* Effectors and *Solanum* Resistance Genes. Phd thesis. ISBN 978\_90\_8585\_658\_0.
- Chen Y., Liu Z., Halterman D. A. 2012. Molecular Determinants of Resistance Activation and Suppression by *Phytophthora infestans* Effector IPI – O. *PLoS Pathogens*. 8(3): e1002595. doi: 10.1371/journal.ppat.1002595.
- Dodds P. N., Rathjen J. P. 2010. Plant immunity: towards an integrated view of plant — pathogen interactions. *Nature Reviews Genetics*. 11: 539 — 548.
- Gilroy E. M., Breen S., Whisson S. C., Squires J., Hein I., Kaczmarek M., Turnbull D., Boevink P. C., Lokossou A., Cano L. M., Morales J., Avrova A. O., Pritchard L., Randall E., Lees A., Govers F., van West P., Kamoun S., Vleeshouwers V. G. A. A., Cooke D. E. L., Birch P. R. J. 2011. Presence/ absence, differential expression and sequence polymorphisms between PiAVR2 and PiAVR2-like in *Phytophthora infestans* determine virulence on R2 plants. *New Phytologist*. 191: 763 — 776.
- Gilroy E. M., Taylor R. M., Hein I., Boevink P., Sadanandom A., Birch P. R. J. 2011. CMPG1 — dependent cell death follows perception of diverse pathogen elicitors at the host plasma membrane and is suppressed by *Phytophthora infestans* RXLR effector AVR3a. *New Phytologist*. 190: 653 — 666.
- Haas B. J., Kamoun S., Zody M. C., Jiang R. H. Y., Handsaker R. E., Cano L. M., Grabherr M., Kodira C. D., Raffaele S., Torto-Alalibo T., Bozkurt T. O., Ah-Fong A. M. V., Alvarado L., Anderson V. L., Armstrong



- M. R., Avrova A., Baxter L., Beynon J., Boevink P. C., Bollmann S. R., Bos J. I. B., Bulone V., Cai G., Cakir C., Carrington J. C., Chawner M., Conti L., Costanzo S., Ewan R., Fahlgren N., Fischbach M. A., Fugelstad J., Gilroy E. M., Gnerre S., Green P. J., Grenville-Briggs L. J., Griffith J., Grünwald N. J., Horn K., Horner N. R., Hu C., Huitema E., Jeong D., Jones A. M. E., Jones J. D. G., Jones R. W., Karlsson E. K., Kunjeti S. G., Lamour K., Liu Z., Ma L. J., MacLean D., Chibucos M. C., McDonald H., McWalters J., Meijer H. J. G., Morgan W., Morris P. F., Munro C. A., O'Neill K., Ospina-Giraldo M., Pinzo'n A., Pritchard L., Ramsahoye B., Ren Q., Restrepo S., Roy S., Sadanandom A., Savidor A., Schornack S., Schwartz D. C., Schumann U. D., Schwessinger B., Seyer L., Sharpe T., Silvar C., Song J., Studholme D. J., Sykes S., Thines M., van de Vondervoort P. J. I., Phuntumart V., Wawra S., Weide R., Win J., Young C., Zhou S., Fry W., Meyers B. C., van West P., Ristaino J., Govers F., Birch P. R. J., Whisson S. C., Judelson & Chad Nusbaum H. S. 2009. Genome sequence and analysis of the Irish potato famine pathogen *Phytophthora infestans*. *Nature*. 461: doi:10.1038/nature08358.
- Jones J. D. G., Dangl J. L. 2006. The plant immune system. *Nature*. 444: doi:10.1038/nature05286.
- Kale S. D., Gu B., Capelluto D. G. S., Dou D., Feldman E., Rumore A., Arredondo F. D., Hanlon R., Fudal I., Rouxel T., Lawrence C. B., Shan W., Tyler B. M. 2010. External lipid PI3P mediates entry of eukaryotic pathogen effectors into plant and animal host cells. *Cell*. 142: 284 — 295.
- Kale S. D. 2012. Oomycete and fungal effector entry, a microbial Trojan horse. *New Phytologist*. 193: 874 — 881.
- Kamoun S. 2003. Molecular Genetics of Pathogenic Oomycetes. *Eukaryotic Cell*. 2: 191 — 199.
- Kamoun S. 2006. A Catalogue of the effector secretome of plant pathogenic oomycetes. *Annu. Rev. Phytopathol.* 44: 41 — 60.
- Morgan W., Kamoun S. 2007. RXLR effectors of plant pathogenic oomycetes. *Current Opinion in Microbiology*. 10: 332 — 338.
- Przyborski J., Lanzer M. 2004. The Malarial Secretome. *SCIENCE*. Doi: 10.1126/science.1107072.
- Rodewald J., Trognitz B. 2013. *Solanum* resistance genes against *Phytophthora infestans* and their corresponding avirulence genes. *Molecular Plant Pathology*. 14 (7): 740 — 757.
- Saunders D. G. O., Breen S., Win J., Schornack S., Hein I., Bozkurt T. O., Champouret N., Vleeshouwers V. G. A. A., Birch P. R. J., Gilroy E. M., Kamoun S. 2012. Host protein BSL1 associates with *Phytophthora infestans* RXLR effector AVR2 and the *Solanum demissum* immune receptor R2 to mediate disease resistance. *The Plant Cell*. 24 (8): 3420 — 3434.
- Schornack S., Huitema E., Cano L. M., Bozkurt T. O., Oliva R., van Damme M., Schwizer S., Raffaele S., Chaparro-Garcia A., Farrer R., Segretin M. E., Bos J., Haas B. J., Zody M. C., Nusbaum C., Win J., Thines M., Kamoun S. 2009. Ten things to know about oomycete effectors. *Molecular Plant Pathology*. 10 (6): 795 — 803.
- Stassen J. H. M., Van den Ackerveken G. 2011. How do oomycete effectors interfere with plant life? *Current Opinion in Plant Biology*. 14: 407 — 414.
- van Damme M., Schornack S., Cano L. M., Huitema E., Kamoun S. 2009. Interactions between *Phytophthora infestans* and *Solanum*. In: K. Lamour and S. Kamoun (ed.), *Oomycete Genetics and Genomics. Diversity, Interactions, and Research Tools*. Hoboken, New Jersey: Wiley — Blackwell.: 287 — 302.
- van Damme M., Cano L. M., Oliva R., Schornack S., Segretin M. E., Kamoun S., Raffaele S. 2011. Evolutionary and functional dynamics of oomycete effector genes. In: F. Martin i S. Kamoun (ed.), *Effectors in plant — microbe interactions*. Wiley — Blackwell.
- van Poppel P. M. J. A. 2009. The *Phytophthora infestans* avirulence gene *PiAvr4* and its potato counterpart *R4*. Phd thesis. ISBN 978-90-85858-306-0.
- van Poppel P. M. J. A., Jiang R. H. Y., Śliwka J., Govers F. 2009. Recognition of *Phytophthora infestans* Avr4 by potato R4 is triggered by C-terminal domains comprising W motifs. *Molecular Plant Pathology*. 10 (5): 611 — 620.
- Vleeshouwers V. G. A. A., Raffaele S., Vossen J., Champouret N., Oliva R., Segretin M. E., Rietman H., Cano L. M., Lokossou A., Kessel G., Pel M. A., Kamoun S. 2011. Understanding and exploiting late blight resistance in the age of effectors. *Annu. Rev. Phytopathol.* 49: 507 — 531

- Vleeshouwers V. G. A. A., Oliver R. P. 2014. Effectors as tools in disease resistance breeding against biotrophic, hemibiotrophic, and necrotrophic plant pathogens. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 27(3): 196 — 206.
- Wawra S., Belmonte R., Löbach L., Saraiva M., Willems A., van West P. 2012. Secretion, delivery and function of oomycete effector proteins. *Current Opinion in Microbiology*. 15: 685 — 691.
- Whisson S. C., Avrova A. O., Boevink P. C., Armstrong M. R., Seman Z. A., Hein I., Birch P. R. J. 2011. Exploiting knowledge of pathogen effectors to enhance late blight resistance Potato. *Potato Research*. 54: 325 — 340.
- Win J., Chaparro-Garcia A., Belhaj K., Saunders D. G. O., Yoshida K., Dong S., Schornack S., Zipfel C., Robatzek S., Hogenhout S. A., Kamoun S. 2013. Effector biology of plant — associated organisms: concepts and perspectives. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Doi: 10.1101/sqb.2012.77.015933.
- Yaeno T., Li H., Chaparro-Garcia A., Schornack S., Koshiba S., Watanabe S., Kigawa T., Kamoun S., Shirasu K. 2011. Phosphatidylinositol monophosphate — binding interface in the oomycete RXLR effector AVR3a is required for its stability in host cells to modulate plant immunity. *PNAS*. Doi: 10.1073/pnas.1106002108.