

## Обзоры, проблемы

УДК 632: 571.27

doi: 10.15389/agrobiology.2023.5.789rus

## МИКРОБНЫЕ БЕЛКИ — ЭЛИСИТОРЫ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ К ФИТОПАТОГЕНАМ И ИХ ПОТЕНЦИАЛ ДЛЯ ЭКОЛОГИЧЕСКИ ОРИЕНТИРОВАННОЙ ЗАЩИТЫ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУЛЬТУР\*

(обзор)

Л.А. ЩЕРБАКОВА<sup>1</sup> ✉, В.Г. ДЖАВАХИЯ<sup>1</sup>, Y. DUAN<sup>2</sup>, J. ZHANG<sup>2</sup>

Для борьбы с болезнями растений современное сельское хозяйство располагает значительным арсеналом пестицидов-ксенобиотиков, токсичных для микроорганизмов. Однако опасное воздействие таких пестицидов или продуктов их разложения на окружающую среду и здоровье человека требует поиска новых, безвредных и экологически безопасных средств борьбы с болезнями. В связи с этим внимание исследователей привлекает феномен естественной устойчивости растений, в том числе их активный иммунитет и те природные вещества, которые могут индуцировать его механизмы (J.D. Jones с соавт., 2006; M. Albert, 2013; L. Wiesel с соавт., 2014; E.J. Andersen с соавт., 2018; D.F. Klessig с соавт., 2018). Источниками таких веществ, в том числе белков и пептидов, могут служить фитопатогенные и непатогенные микроорганизмы. При их взаимодействии с растениями микробные белки играют роль элиситоров неспецифической устойчивости, распознаваемых как консервативные микробные паттерны (MAMPs или PAMPs), которые индуцируют первую линию активной обороны растений (базовую устойчивость, или PTI) (C. Zipfel, 2009; M.A. Newman, 2013; J. Guo с соавт., 2022). Другие микробные белки — эффекторы, участвующие в развитии болезни, в случае узнавания их растениями-хозяевами также могут активировать защитные ответы как элиситоры распецифической устойчивости (B.P. Thotma с соавт., 2011; W. Zhang с соавт., 2022; B.C. Remick с соавт., 2023). Восприятие микробных белковых элиситоров растительными рецепторами вызывает быстрые ответные реакции и может приводить к развитию длительной системной устойчивости растений (T. Boller, G. Felix, 2009; J. B. Joshi с соавт., 2022; S. Wang с соавт., 2023). Изучение свойств и механизмов действия микробных белков представляет собой кластер исследований, результаты которых становятся базой для развития одного из наиболее экологичных направлений в защите растений, способного привести к разработке новых эффективных средств биоконтроля для устойчивого сельского хозяйства. За несколько последних десятилетий у непатогенных и фитопатогенных грибов, оомицетов, бактерий и вирусов, в том числе поражающих сельскохозяйственные культуры, идентифицирован ряд белков-элиситоров, которые относятся к MAMP/PAMP-типу, а также эффекторов, индуцирующих специфический иммунитет (ETI). В представленном обзоре суммирована и проанализирована информация о наиболее важных достижениях в области идентификации и исследования элиситорных белков, которые продуцируют различные бактерии, грибы, оомицеты и вирусы. В тех случаях, когда это известно, кратко описаны особенности структуры элиситоров и механизмы их действия, а именно те защитные ответы растений, которые индуцируются соответствующими элиситорами (D. Qutob с соавт., 2003; M. Tarallo с соавт., 2022; Q. Xu с соавт., 2022). Показано многообразие видов микроорганизмов, которые способны продуцировать элиситорные белки, запускающие механизмы как специфической, так и неспецифической устойчивости. Как примеры элиситоров наиболее подробно рассмотрены флагеллин, харпины, фактор элонгации T<sub>u</sub>, белки холодового шока, эффекторы *Cladosporium fulvum*, элиситоры фитопатогенных и непатогенных фузариевых грибов из других оомицетов, а также недавно открытые MAMPs/PAMPs и ETI-индуцирующие белки. В обзор включена информация об элиситорах оомицетов, микробных ферментах, обладающих свойствами элиситоров, гликопротеинах и пептидогликанах, а также эффекторных белках фитовирусов (Y. Jin с соавт., 2021; L. Cai с соавт., 2023). Кроме того, в отдельном разделе на примере коммерческих препаратов, созданных на основе бактериальных и грибных белковых элиситоров, в том числе в России и Китае, которые доказали свою защитную эффективность в полевых условиях, показана перспективность практического применения микробных элиситорных белков (V.G. Dzhavakhiya с соавт., 2003; W.P. Liu с соавт., 2007; J. Mao с соавт., 2010; Q. Dewen с соавт., 2017).

Ключевые слова: биогенные элиситоры, микробные белки и пептиды, микробные паттерны, эффекторы, PTI, ETI, защитные ответы растений, экологически безопасные средства биоконтроля.

\* Исследования поддержаны Российским научным фондом (проект РНФ № 22-16-00154).

В условиях интенсивного растениеводства высокие урожаи сельскохозяйственных культур невозможно обеспечить без усилий, направленных на борьбу с болезнями растений. В настоящее время существуют разнообразные возможности защиты урожая (создание устойчивых сортов, обработка химическими пестицидами, биоконтроль фитопатогенов с помощью микробов-антагонистов, севооборот и другие агротехнические мероприятия), среди которых лидируют селекция на устойчивость и химический метод (1, 2). Вместе с тем загрязнение окружающей среды и проблемы с безопасностью пищевых продуктов из-за чрезмерного или ненадлежащего применения пестицидов (3, 4), а также снижение продуктивности сортов вследствие преодоления их устойчивости фитопатогенными микроорганизмами (5) вызывают озабоченность во всем мире и стимулируют поиск новых подходов, способных пополнить арсенал надежных и безопасных средств сохранения урожая. Одним из таких подходов может быть индуцированная устойчивость (ИУ), эффект которой основан на активации естественных защитных механизмов растений. При этом для практического применения наиболее перспективны неспецифическая системная устойчивость (СУ) и прайминг (6-8), когда локальная обработка неким индуктором способствует сопротивляемости всего растения к нескольким возбудителям и более активному развитию защитных реакций в ответ на внедрение патогена (9, 10).

Исследования молекулярных механизмов взаимодействия растений с микроорганизмами привели к идентификации целого ряда метаболитов, известных в настоящее время как биогенные элиситоры, которые, активируя сигнальные системы растений (11), запускают определенные защитные ответы, приводящие к формированию СУ (12).

Первоначально термин «элиситор» был введен Ноэлем Кином (Noel T. Keen) в 1975 году для обозначения молекул, способных индуцировать фитоалексины, но сейчас его принято использовать для биогенных и небиогенных соединений, которые стимулируют любой вид защитных реакций растений, участвующих в развитии их системной приобретенной (systemic acquired resistance, SAR) или индуцированной системной (induced systemic resistance, ISR) устойчивости к патогенам и вредителям (13). Биогенные элиситоры не имеют общей химической структуры и принадлежат к широкому кругу различных классов соединений, включая олигосахариды, пептиды, белки и липиды.

Взаимодействуя со множеством встречающихся в природе микроорганизмов, растения распознают консервативные паттерны, представленные общими для целых микробных таксонов молекулярными структурами и метаболитами, которые необходимы для существования непатогенных, в том числе полезных, микроорганизмов (microbe associated molecular patterns, MAMPs) и фитопатогенов (pathogen associated molecular patterns, PAMPs), а также некоторые собственные метаболиты, образующиеся при внедрении патогена и сигнализирующие об опасности повреждения (damage-associated molecular patterns или danger-associated molecular patterns, DAMPs) (7).

В сущности, PAMPs, объединяющие молекулы метаболитов фитопатогенных грибов, бактерий и оомицетов, представляют собой подгруппу MAMPs (14). MAMPs, PAMPs, а также соединения, которые, подобно этим биогенным паттернам, вызывают устойчивость, относятся к экзогенным элиситорам, а DAMPs — к эндогенным. После контакта таких микробных или эндогенных паттернов с распознающими их мембранными рецепторами (pattern recognition receptors, PRRs) (14-17) растения генерируют каскад сигналов (14, 18-22), активирующих различные защитные механизмы врожденного (plant innate immunity, base resistance) или запускаемого паттернами

(pathogen triggered immunity, РТИ) фитоиммунитета (23-25).

Защищаясь от патогенов, преодолевших РТИ, растения с помощью внутриклеточных R-рецепторов распознают их эффекторы — белки, продуцируемые фитопатогенами, с помощью которых они нарушают рецепцию РАМР и DAMP или подавляют индуцируемые ими защитные реакции, обеспечивая тем самым колонизацию растений-хозяев (7).

Эффекторы, распознанные R-белками, инициируют вторую ступень активного фитоиммунитета — иммунитет, запускаемый эффекторами (effector triggered immunity, ЕТИ) (26). В целом, РТИ и ЕТИ формируются сходными защитными ответами растений (27), в том числе реакцией сверхчувствительности (СВЧ) (28, 29), хотя в случае ЕТИ СВЧ развивается чаще и интенсивнее, приводя к быстрой локализации патогенов (30, 31).

У непатогенных для растений микроорганизмов, фитопатогенных грибов, оомицетов, бактерий и вирусов, поражающих сельскохозяйственные культуры, обнаружен целый ряд белков-элиситоров, которые относятся к МАМР/РАМР-типу (7, 31-33), а также эффекторов (в том числе распецифических), которые после распознавания растением могут выступать в роли специфических элиситоров (34). Для обозначения элиситоров первого типа также используют термин *general elicitors*, которому в отечественной научной литературе соответствует термин неспецифические элиситоры (35).

Изучение свойств и механизмов действия этих элиситоров представляет собой новый кластер исследований, результаты которых становятся базой для развития одного из наиболее экологичных направлений в защите растений.

В качестве наиболее перспективных рассматриваются биогенные элиситоры, способные вызывать СУ, биодegradация которых в природе проходит без образования токсичных продуктов, а также те, для которых имеются доступные источники и могут быть разработаны относительно дешевые технологии производства. Этими свойствами обладают многие элиситоры белковой природы, найденные у микроорганизмов. Кроме того, для белковых элиситоров, помимо использования посредством обработки семян или листы, существует возможность конститутивной или индуцибельной экспрессии их трансгенов в растениях. Наконец, отсутствие прямого биоцидного действия белковых элиситоров СУ на фитопатогены позволяет свести к минимуму вероятность развития у них резистентности к этим средствам защиты.

За последние несколько десятилетий достигнут значительный прогресс в идентификации микробных белков, которые участвуют во взаимодействии с культурными растениями как индукторы защитных ответов или факторы вирулентности, а также в понимании того, как происходит это взаимодействие на молекулярном уровне, какие сигнальные системы запускаются белковыми элиситорами МАМР-типа и каким образом распознавание белков-эффекторов патогенов включает ЕТИ.

Полученные данные свидетельствуют о перспективности применения индуцирующих устойчивость белков в качестве новых средств биоконтроля. В связи с этим в российских научных журналах все чаще появляются публикации, связанных с ИУ растений к болезням и абиотическим стрессам (36-38). При этом в качестве индукторов, на основе которых создаются защитные препараты, рассматриваются соединения небелковой природы, главным образом хитозан, синтетические аналоги и производные сигнальных молекул растений — салицилата (SA) и жасмоната (JA), а также соединения, воспроизводящие их действие. В ряде обзоров подробно рассмотрены защитные белки растений, их роль в иммунитете (39), а в неко-

торых публикациях отмечена защитная роль антимикробных пептидов рибосомального и нерибосомального синтеза из биоконтролирующих грибов и бактерий (40). Однако индуцирующие устойчивость к болезням микробные белки описаны недостаточно полно.

Настоящий обзор посвящен анализу информации, отражающей наиболее важные достижения в области идентификации и исследования свойств элиситорных белков микроорганизмов. В нем рассматриваются как консервативные бактериальные, грибные и вирусные белки и пептиды, которые распознаются растениями как MAMP/PAMP-элиситоры и обеспечивают неспецифическую устойчивость (PTI), инициируя общие защитные реакции у растений, так и специфические элиситоры — белки-эффекторы грибов и бактерий (41, 42). В тех случаях, когда это известно, кратко описаны особенности структуры элиситоров и механизмы их действия, то есть защитные ответы растений, которые индуцируются соответствующими элиситорами. Мы также старались показать многообразие видов микроорганизмов, которые способны продуцировать элиситорные белки. Отдельный раздел посвящен публикациям о разработанных на их основе препаратах (в том числе в России и Китае), которые уже доказали свою эффективность в полевых условиях и нашли практическое применение.

Эндогенные белковые элиситоры DAMP-типа, играющие важную роль в развитии ИУ, и медиаторные белки, участвующие в распознавании и трансдукции сигнала, останутся за рамками обзора, поскольку они не имеют микробного происхождения, а являются активными молекулами самих растений. Кроме того, в разделе о гликопротеинах и пептидогликанах упомянуты только те из них, у которых элиситорная активность связана с белковым фрагментом.

Элиситорные белки и пептиды бактерий. *Флагеллин*. Флагеллин патогенных и непатогенных бактерий — наиболее изученный белковый элиситор из разряда MAMP/PAMPs (43). Он представляет собой глобулярный кислый белок, образующий наружную спиральную нить жгутика бактерий. Для флагеллина характерны высокая консервативность N- и C-концевых последовательностей, очень низкое содержание тирозина и фенилаланина, отсутствие триптофана и цистеина, а следовательно, и двойных связей, и весьма высокое содержание аланина, глутаминовой и аспарагиновой аминокислот (44). Этот эволюционно консервативный и жизненно важный для мобильных бактерий белок может распознаваться растениями. Флагеллин-распознающие рецепторы растений (flagellin sensitive, FLS) относятся к богатым повторами лейцина рецептороподобным киназам XII семейства белков (LRR-RLK XII) (45-47).

В большинстве случаев в качестве элиситора, способного индуцировать как локальный, так и системный иммунный ответ растения распознают эпитоп flg22 — один из фрагментов N-концевой последовательности белка, состоящий из 22 аминокислот, основной мотив которого содержит 15 наиболее консервативных аминокислотных остатков. Большинство растений имеют рецептор FLS2 (чувствительная к флагеллину киназа), распознающий именно этот участок белка (45, 48). Интересно, что у молекул флагеллина, которыми сформированы протофиламенты нитей бактериального жгутика, олигопептид flg22 скрыт внутри белковой глобулы и не доступен для FLS2. Однако в мономерах флагеллина во время самосборки жгутиков или после их распада при отмирании он становится доступными для этого рецептора (34) и действует как мощный элиситор в субнаномолекулярных концентрациях (33).

Другие растения, в частности рис (*Oryza sativa* L.), способны распо-

завать состоящий примерно из 35 аминокислотных остатков фрагмент С-концевой области флагеллина (CD2-1) (49), а растения семейства пасленовых, томат (*Solanum lycopersicy* L.) и картофель (*S. tuberosum* L.), — отличный от flg22 участок N-терминальной области флагеллина, flgII-28, для которого имеется свой специальный рецептор FLS3 (50, 51).

После распознавания flg22 рецептор FLS2 взаимодействует с серинтреониновой киназой ВАК1 (рецептор brassиностероидов), что активирует внутриклеточные киназные домены этих рецепторов (50), инициирует передачу элиситорного сигнала и индуцирует системные защитные ответы растений, приводя к формированию РТИ (44, 51) ко всем бактериям, имеющим жгутики.

Однако в процессе эволюции некоторые из этих бактерий, например *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* или *Ralstonia solanacearum*, приобрели модифицированные последовательности flg22. Это позволяет им уклоняться от полноценного распознавания рецептором FLS2, когда бактерии с такой модификацией атакуют арабидопсис (*Arabidopsis thaliana* L.) Heynh или пасленовые культуры (33, 52). Исследования молекулярных механизмов устойчивости растений семейства *Solanaceae* к патогенам с модифицированным flg22 привело к идентификации упомянутого выше рецептора FLS3, который узнает последовательность flgII-28 (53). В частности, у картофеля под воздействием flgII-28 происходит активный выход в цитозоль ионов  $Ca^{2+}$ , сдвиг экстрацеллюлярного рН в щелочную область, генерация активных форм кислорода (АФК), фосфорилирование митоген-активируемой протеинкиназы и активация защитных генов растения (54). Интересно, что при этом все защитные реакции в случае flgII-28 выражены значительно сильнее, чем в случае flg22. Следует отметить, что способность бактерий модифицировать элиситорные пептиды флагеллина оказывается полезной при симбиотическом взаимодействии. Например, измененный flg22, на который не реагируют бобовые, обнаружен у азотфиксирующей клубеньковой бактерии *Rhizobium meliloti*, что помогает ей избегать запуска защитных реакций растения и обеспечивать взаимодействие, выгодное как для самой бактерии, так и для растения-хозяина (33).

Таким образом, разные виды растений узнают разные области флагеллина, а его пептиды flg22, CD2-1 и flgII-28 действуют как активные МАМР/РАМР-элиситоры РТИ. Флагеллин также распознается Toll-подобным рецептором TLR5 макрофагов и дендритных клеток и активирует врожденный иммунитет у высших животных. Однако TLR5 взаимодействует не с flg22, CD2-1 или flgII-28, а с другим доменом флагеллина, образованным N- и С-концевой частями пептидной цепи (42, 55).

**Фактор элонгации Tu.** Другой консервативный белок бактерий, идентифицированный как элиситор МАМР/РАМР-типа, — фактор элонгации Tu (EF-Tu). К его открытию привело изучение способности экстрактов из *R. solanacearum*, *Sinorhizobium meliloti* с модифицированным flg22, не доступным для распознавания FLS2, и из мутантного штамма *Escherichia coli* с дефектным геном флагеллина вызывать обратимое изменение ионного обмена в суспензионной культуре клеток арабидопсиса. Оказалось, что исследуемые экстракты, несмотря на отсутствие flg22 или его рецептора, вызывают этот типичный для флагеллина защитный ответ (56). В результате из экстракта *E. coli* был выделен EF-Tu, за элиситорную активность которого отвечает пептид elf18, состоящий из 18 аминокислотных остатков и локализованный в N-концевой последовательности белка. Более короткий N-терминальный фрагмент EF-Tu — elf12 не обладает индуцирующей активностью и действует как антагонист elf18.

Элиситорный фрагмент elf18 распознается рецептором EFR. Как и флагеллин-распознающие рецепторы FLS, EFR принадлежит к XII подгруппе семейства LRR-RLK (47). Гены, кодирующие EFR-подобные белки с высоким сходством последовательностей в киназных доменах, обнаружены у многих растений, в том числе у видов *Brassicaceae* и риса, причем восприимчивость к elf18 определяют разные эктодомены (33).

В дальнейшем с помощью метода аланинового сканирования удалось оценить вклад отдельных аминокислот в элиситорную активность elf18. Пептиды с замененными на аланин аминокислотными остатками в положениях 1, 3, 6, 9, 10, 11, 12 или 13 обладали той же активностью, что и elf18. Напротив, замены в положениях 2, 4, 5 и 7 приводили к снижению активности пептида в 10-400 раз. При одновременной замене остатков в положениях 2 и 5 активность снижалась в 50 000 раз (56).

N-концевые последовательности с высокой гомологией к elf18 были обнаружены у EF-Tu ряда фитопатогенных бактерий, например у *Erwinia amylovora*, *E. chrysanthemi*, *P. syringae*, *Xylella fastidiosa*, *S. meliloti* и *Agrobacterium tumefaciens*. Пептиды двух последних видов, состоящие из 18 аминокислотных остатков, были так же активны, как elf18, а аналогичные N-терминальные пептиды из *P. syringae* (патоген томата) и *X. fastidiosa* (патоген винограда, цитрусовых, оливы и других культур) даже при концентрациях, в 4 и 7,5 раза превышавших концентрацию elf18 из *E. coli*, оказались менее активны (56, 57).

Детальное изучение структуры elf18 и ее функциональной связи с элиситорной активностью позволили использовать этот пептид для углубленных исследований механизмов развития РТИ. В частности, несколько лет назад благодаря профилированию транслатома арабидопсиса, в листья которого инфильтрировали elf18, был выяснен молекулярный механизм глобального трансляционного перепрограммирования, происходящего в растениях при формировании РТИ (56).

**Харпины.** Защитные свойства бактериальных белков харпинов были впервые обнаружены в начале 1990-х годов Z.-M. Wei и группой сотрудников из лаборатории Стивена Бира (Steven V. Beer) в Корнельском университете (Cornell University, США). Они установили, что один из белков фитопатогенной бактерии *Erwinia amylovora*, вызывающей ожег плодовых семейства *Rosacea* (харпин), может индуцировать СВЧ реакцию и быструю гибель листовой пластинки у табака (*Nicotiana tabacum*), который не относится к растениям-хозяевам этой бактерии, а также вызывать обратимое повышение рН в суспензии его культивируемых клеток (58).

Практически в то же время (1993 год) группой исследователей под руководством S.Y. He (59) была показана способность внеклеточного белка из *P. syringae* pv. *syringae* вызывать реакцию СВЧ у растений, не являющихся хозяевами для этой бактерии. Белок harpinPss (продукт гена *hrp*) вызывал некрозы на листьях табака и других растений (59). Позже было установлено, что харпин Hra1 из *X. axonopodis* pv. *glycines* — возбудителя пустульной пятнистости сои индуцирует СВЧ гибель клеток табака (60).

Все известные сейчас харпины принадлежат к термостабильным цистеин-дефицитным кислым белкам с относительно высоким содержанием остатков глицина и серина (61, 62). Харпины вводятся в растения системой секреции III типа (type three secretion system, T3SS) граммотрицательных фитопатогенных бактерий при их взаимодействии с растением-хозяином и могут играть роль как эффекторов (T3 effector, T3E), необходимых для патогенности, которые нарушают целостность мембраны хозяина, так и элиситор-

ных микробных паттернов, индуцирующих защиту от патогенов. В последнем случае обработка растений харпинами повышает устойчивость к болезням, а также стимулирует рост культур, приводит к увеличению урожая и улучшению его качества. Более того, харпин HrpN индуцирует устойчивость арабидопсиса к засухе, активируя жасмонат-зависимый сигнальный путь (63).

Открытие в середине 1980-х годов харпинового кластера генов *hrp/hrc* и последующая демонстрация того, что эти гены кодируют семейство TTSS-белков у грамотрицательных бактерий, патогенных для растений и животных, а также для растительных симбионтов, стало важной вехой в молекулярной фитопатологии (64). В частности, было установлено, что у *E. amylovora* гены кластера *hrp*, ответственные за продукцию харпинов, контролируют также патогенность бактерии и ее способность вызывать СВЧ-гибель клеток растений (65). В геноме *X. oryzae* был обнаружен кластер *hrp*, который содержит консервативные гены *hrp* и *hrc*, чьи продукты могут распознаваться растениями и индуцировать устойчивость, и ассоциированные с патогенезом гены *hpa* (65, 66). Затем установили, что активация экспрессии генов, кодирующих харпины, и последующего синтеза этих белков происходит в процессе взаимодействия патогена с растением-хозяином (67, 68).

К настоящему времени гены *hrp* обнаружены у ряда фитопатогенных бактерий, включая представителей родов *Erwinia*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Xanthomonas* и *Ralstonia* (63), и идентифицированы несколько харпинов, которые на основании их структуры подразделяются на четыре основные группы: HrpN, HrpZ1, HrpW1 и Hrp1 (61, 66, 69-72). Некоторые авторы рассматривают харпины HrpG как отдельную группу (61, 69). Для каждой из этих групп известно несколько белков с небольшими структурными различиями, которые продуцируют патогены, поражающие различные растения — цитрусовые (73), соевые бобы (74), рис (75, 76), перец (77), хлопок (70). Например, многие виды *Xanthomonas* секретируют харпиновые эффекторы группы Hrp1. В частности, у возбудителя бактериального ожога риса *X. oryzae* pv. *oryzae* обнаружен харпин Hrp1Xoo (78). Харпин Hrp1Xag выделен из *X. axonopodis* pv. *glycines* (73). Штамм DC3000 *P. syringae* pv. *tomato* продуцирует два типа харпинов — HrpZ1 и HrpW1 (79). Харпины HrpNEa, HrpNEch, HrpZPss и HrpZPsp синтезируются соответственно *E. amylovora*, *E. chrysanthemi*, *P. syringae* pv. *syringae* и pv. *phaseolicola* (80, 81, 82). Ортологи группы HrpW найдены у *E. amylovora* (HrpW), *P. syringae* pv. *syringae* (HrpW1, HrpAK1) и *Ralstonia solanacearum* (HrpW, HrpA1), а HrpXm — у *X. citri* subsp. *malvacearum* (64). В то же время у бактерий, патогенных для маниоки, до сих пор не обнаружено харпин-подобных белков.

Установлено, что харпины не только способны запускать локальную реакцию СВЧ, но и действовать как элиситоры SAR (82). Так, харпин HrpZ1, вызывающий реакцию СВЧ у различных видов растений, может активировать несколько их сигнальных систем и запускать как ранние, так и более поздние защитные ответы (83). Оказалось, что харпины HrpZ1 имеют высокую аффинность к растительным мембранам и специфически связываются с ними. Это позволило предположить, что развитие защитных реакций в ответ на HrpZ1 происходит после его связывания с рецептором. Действительно, мембраны микросом, полученных из культуры клеток петрушки, содержат устойчивый к протеазам термостабильный сайт связывания С-концевого фрагмента HrpZ1 (84). Взаимодействие с растительными рецепторами было показано и для других харпинов. В частности, для харпина HrpN из *E. amylovora*, который *in vitro* связывается с небольшим (6,5 кДа) белком НРМ, ассоциированным с плазматической мембраной рекомбинантного дрожжевого клона, экспрессирующего этот белок яблоки.

Ортологи НІРМ были позже обнаружены в рисе (OsНІРМ) и арабидопсисе (AtНІРМ) (85).

Что касается защитных реакций, которые индуцируют харпины, то наряду с СВЧ они часто вызывают образование АФК. Так, харпины из *P. syringae* pv. *glycinea* и *X. oryzae* pv. *oryzae* способны вызывать генерацию АФК клетках табака, а один из харпинов *E. amylovora* стимулирует образование АФК не только в клетках табака, но и у *A. thaliana*. Обработка коммерческим харпин-содержащим препаратом Messenger («EDEN Bioscience Corp.», США) суспензионной культуры клеток винограда вызывает интенсивный окислительный взрыв и активацию гена стильбенсинтазы, ответственной за синтез фитоалексина резвератрола (86). S. Sang с соавт. (86) показали, что харпины активируют защитные реакции через передачу генерируемого в апопласте сигнала с участием НАДФН-оксидазной системы растений. У трансгенных растений арабидопсиса, экспрессирующих ген харпина Hra1Xoo, в цитоплазме и апопластах образуется и накапливается перекись водорода. Подавление апопластного образования H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> снижает как накопление АФК в цитоплазме, так и устойчивость растений к бактериальным патогенам. Эти данные позволяют предположить, что апопластный H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> подвергается цитоплазматической транслокации для участия в защите растения от патогенов. Как харпин, так и H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> индуцируют экспрессию генов растений, кодирующих участвующие в СУ ферменты, такие как фенилаланин-аммиак-лиаза (phenylalanine ammonia lyase, PAL), глутатион-S-трансфераза (glutathione S-transferases, GST) и антранилатсинтаза (anthranilate synthase 1, ASA1). У арабидопсиса H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> усиливает экспрессию PAL1 и GST, но не ASA1. Предполагается, что харпины активируют два различных сигнальных пути, один из которых приводит к увеличению образования АФК и экспрессии мРНК PAL1 и GST, другой — к усилению экспрессии GST и ASA1 независимо от H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (87).

Трансгенез генов, кодирующих бактериальные харпины, в растения приводит к повышению их устойчивости к различным патогенам. Так, у трансгенных растений хлопчатника, экспрессирующих ген *hpaXoo* (один из генов, кодирующих харпины), при заражении патогенным грибом *Verticillium dahliae* было отмечено усиленное образование АФК. Рекомбинантный белок HraG из *X. oryzae* pv. *oryzicola* эффективно индуцировал устойчивость риса (88), а у трансгенных растений табака и свеклы, экспрессирующих ген белка HrpZ из *P. syringae* pv. *phaseolicola*, повышалась устойчивость к ризомании (89).

Как было упомянуто выше, структура харпинов, выделенных из различных видов бактерий, варьирует, однако сохраняется общая для этих белков способность индуцировать устойчивость к различным патогенам у растений, которые не служат их хозяевами. В связи с этим были проведены исследования функций отдельных фрагментов в молекулах харпинов (69, 71, 89). Установлено, что определенные фрагменты Hra1-подобных харпинов *X. citri* subsp. *malvacearum* (фрагмент, включающий аминокислотные остатки 35-51) и *X. oryzae* pv. *oryzae* (фрагмент 36-52) могут индуцировать реакцию СВЧ (82). Кроме того, было показано, что к развитию этой реакции приводит инфильтрация в листья табака фрагмента из 24 аминокислот, который присутствует в С-концевой области харпина HrpZ, выделенного из *P. syringae* (71). Было также обнаружено, что С-терминальный фрагмент белка HrpZ1 из *P. syringae* pv. *phaseolicola* обладает свойствами элиситора типа PAMP и способен индуцировать ранние защитные ответы растений, в частности активировать две протеинкиназы (МРК3 и МРК6) из MAP-киназного сигнального каскада. Инсерционный мутагенез гена, ответствен-

ного за синтез HrpZ1, подтвердил важность последовательности на С-конце для элиситорной активности целого белка (86). Кроме того, при изучении функций отдельных доменов харпиновых белков было показано, что фрагмент (HraG10-42) харпина HraGХоос из *X. oryzae*, содержащий аминокислотные остатки с 10 по 42, служит более активным индуктором, чем полномерный белок HraGХоос, и в полевых условиях повышает устойчивость растений риса к бактериальной гнили (*X. oryzae* pv. *oryzae*), пирикулярриозу (*Magnaporthe oryzae*) и ризоктониозу (*Rhizoctonia solani*) (90). Этот же фрагмент HraG10-42 оказался способен запускать защитные реакции у экспрессирующих его растений пшеницы (91).

В целом, исследования элиситорных свойств харпинов свидетельствуют о том, что эти бактериальные белки обладают всеми важными признаками PAMPs: они широко распространены у различных видов бактерий, связываются с PRR-рецепторами и запускают первичные защитные ответы растений. Ключевыми детерминантами, ответственными за элиситорную активность, по крайней мере у некоторых харпинов, могут быть их пептидные фрагменты. Кроме того, взаимодействие харпинов с рецепторами растений может приводить не только к развитию СУ за счет активации генов, участвующих в реализации защитных реакций в растениях, но и к стимуляции их роста, улучшению физиологического состояния и повышению урожайности (72, 73).

*Сравнение элиситорных эффектов харпинов и флагеллина.* Флагеллин и харпины — это эволюционно удаленные бактериальные MAMPs/PAMPs. Сравнение ответов растительных клеток на воздействия flg22 и харпинов показывает, что механизм их элиситорного действия имеет ряд различий. Так, при обработке культуры клеток двух сортов винограда было обнаружено, что активирующий РТИ элиситор flg22, в отличие от харпинов, гораздо реже вызывает СВЧ-гибель клеток. Кроме того, обработка харпином приводит к более быстрому и интенсивному развитию окислительного взрыва по сравнению с flg22 (84). Недавно L.B. Sands с соавт. (91) показали, что харпин способен эффективно индуцировать устойчивость конопля к *P. aphanidermatum* и стимулировать рост зараженных растений. Обработка же flg22 не вызывала защитных реакций и не стимулировала рост проростков. В связи с этим авторы предположили, что защитные реакции, индуцированные flg22, недостаточно активны для эффективного подавления инфекции *P. aphanidermatum* на проростках растений этого вида.

X. Chang с соавт. (92) установили, что flg22 индуцирует накопление жасмоата у растений скального винограда (*Vitis rupestris* Scheele), а харпины не вызывают такого эффекта, хотя активация JA-зависимого сигналинга, как отмечалось выше, может происходить под их воздействием, повышая устойчивость к абиотическим стрессам (64). Более того, трансдукция сигнала, связанная с его JA-зависимой передачей с участием этилена (ethylene, ET), была отмечена после обработки проростков конопля как харпином, так и flg22. В то же время оба этих бактериальных элиситора способны стимулировать экспрессию аналогичных защитных генов и индуцировать сходные защитные ответы растений (93, 94). Кроме того, харпины, как и flg22, могут активировать салицилат-зависимый сигнальный путь, который приводит к SAR (95). Однако, в отличие от flg22, вызывающего типичный РТИ, в ответ на харпины более часто развиваются те защитные реакции, которые характерны для ЕТИ (96), но иногда тип защитного ответа зависит от способа обработки растений. Например, харпин из *E. amylovora* при инфильтрации в межклетники вызывает реакцию СВЧ, а при опрыскивании растений индуцирует SAR (58). Не исключено, что совместное использование

этих элиситоров может приводить к синергизму, обусловленному одновременной активацией РТИ и ЕТИ, и существенно усиливать защитный ответ растений (96).

*Белки холодового шока.* Белки холодового шока (cold shock proteins, CSP) широко распространены у про- и эукариот. Все они имеют в своем составе консервативные домены CSD (cold shock domain, домен холодового шока), обладают способностью связываться с нуклеиновыми кислотами и активируют или подавляют экспрессию большого числа генов, участвующих в клеточном делении, дифференцировке и кодирующих разнообразные защитные белки (97-99).

Бактериальные CSP объединяют семейство белков с молекулярной массой около 7 кДа, состоящих из единственной аминокислотной последовательности длиной около 70 аминокислотных остатков (98). Синтез CSP активируется при низких температурах и представляет собой один из механизмов адаптации организмов к неблагоприятным условиям окружающей среды. CSP, первоначально обнаруженные у бактерий, подвергнутых холодовому стрессу, как было показано позже, синтезируются конститутивно, а также в ответ на другие стрессы (99). Как и у бактерий, у растений CSP способствуют адаптации к холоду, а чужеродные CSP распознаются как компоненты MAMPs/PAMPs и индуцируют устойчивость к патогенам. Элиситорная активность бактериальных CSP семейства CspB впервые была показана в классических экспериментах, которые с помощью регистрации обратимого повышения экстрацеллюлярного pH суспензионной культуры клеток растений позволяли фиксировать один из наиболее ранних защитных ответов — обратимое изменение ионного обмена на плазмолемме растительной клетки (99, 100).

При этом было обнаружено, что за способность вызывать быстрый ответ культивируемых клеток томата, табака и картофеля отвечает один из поверхностных доменов CSP, включающий РНК-связывающий домен, известный как RNP-1 (или NPCS). Дальнейшие исследования показали, что многие виды семейства *Solanaceae* распознают как MAMP/PAMP высококонсервативный мотив домена RNP-1, представленный пептидом из 22 ароматических и основных аминокислотных остатков и получивший название csp22. Его рецепторами служат обнаруженная у культурного вида томата *Solanum lycopersicum* L. LRR-RL-киназа CORE и рецептороподобный белок NbCSPR из *Nicotiana benthamiana* Domin (101). Гомологи NbCSPR обнаружены лишь у некоторых видов *Solanaceae* и отсутствуют у *S. lycopersicum*, в то время как LRR-RLK, гомологичные CORE, встречаются у ряда пасленовых, включая виды *Solanum* и *Nicotiana*. Экспрессирующие CORE трансгенные растения арабидопсиса приобретают чувствительность к csp22, что делает их более устойчивыми к патогенному штамму *P. syringae* pv. *tomato*. Минимальная аминокислотная последовательность csp22, которая активирует защитные ответы в растительных клетках, насчитывает 15 аминокислотных остатков. Этот высококонсервативный эпитоп csp15 вызывает защитные реакции растений. В частности, в концентрации около 0,1 нМ он индуцирует окислительный взрыв в клетках табака и картофеля, но не распознается как элиситор клетками риса и огурца (*Cucumis sativus* L.) (100).

CspD — другой белок холодового шока, выделенный из *Bacillus thuringiensis*, он известен также как микробный фактор 2 (MF2). Ген *B. thuringiensis*, кодирующий этот термостабильный низкомолекулярный белок с молекулярной массой 7,2 кДа, был клонирован и секвенирован (AY272058, GenBank, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>). Оказалось, что его нуклеотидная последовательность и аминокислотная последовательность

CspD имеют высокую гомологию с другими бактериальными CSP. Как и csp22 или csp15, CspD вызывает обратимое изменение ионного обмена у культивируемых клеток табака, но, в отличие от этих элиситоров, способен активировать защитный ответ у клеток томата и риса и индуцировать неспецифическую системную устойчивость различных однолетних (рис, пшеница) и двудольных (томат, табак, картофель) растений к патогенным грибам, оомицетам и вирусам (101). Так, после нанесения CspD на листья пшеницы или опрыскивания проростков картофеля и риса растворами этого элиситора отмечалось повышение устойчивости соответственно к возбудителям септориоза (*Parastagonospora nodorum*), фитофтороза (*Phytophthora infestans*) и пирикуляриоза (*M. oryzae*) (102).

Воздействие CspD на растения табака снижало его пораженность вирусом табачной мозаики (VTM) и X-вирусом картофеля. Пептид csp15 белка CspD (VKWFNAEKGFGFITP) также обладал элиситорной активностью. Его внесение в суспензию культивируемых клеток табака активировало H<sup>+</sup>-помпу и вызывало обратимое изменение внеклеточного pH. Этот пептид, как и сам CspD, проявлял индуцирующую активность в модельных системах растение—патоген. Обработка половинок табачного листа csp15 в концентрации от 1 до 10 мМ за 1 сут до инокуляции VTM приводила к резкому уменьшению числа некрозов на обработанных половинках по сравнению с контрольными половинками или необработанными листьями того же растения (102). Нанесение csp15 на поверхность дисков, вырезанных из клубней картофеля, усиливало СВЧ ответ клеток к *P. infestans* и вызывало накопление салициловой кислоты в тканях клубней, обработанных этим пептидом (103). Трансгенные линии табака некрозообразующего сорта Xanthi NN и восприимчивого к VTM сорта Samsun nn проявляли повышенную устойчивость к *Alternaria longipes* и VTM, причем экспрессия CspD положительно коррелировала с устойчивостью растений к обоим патогенам (103).

Элиситорные белки и пептиды мицелиальных грибов. Как и бактерии, грибы-микромикеты синтезируют целый ряд белков и пептидов с функциями неспецифических или специфических элиситоров.

*Индущирующие устойчивость эффекторы Cladosporium fulvum.* Специфические белковые элиситоры фитопатогенного гриба *C. fulvum* (цистеинсодержащие пептиды Avr2, Avr4, Avr4E, Avr9 Ecp1, Ecp2, Ecp4 и Ecp5) были открыты и детально изучены группой исследователей из университета в Вагенингене (Wageningen University, Нидерланды) во главе с P.J. de Wit (104, 105). Эти эффекторы функционируют как факторы вирулентности. Связывая хитин, они препятствуют его детекции паттерн-распознающими рецепторами при заражении томата совместимыми расами гриба и предотвращают деградацию хитина растительными хитиназами (106). Однако у томата (растение-хозяин для *C. fulvum*) есть эффективная система распознавания этих эффекторов, после которого индуцируются защитные ответы растений, в том числе СВЧ (107).

Элиситор Avr4 состоит из 101 аминокислоты, включая 6 цистеиновых остатков, а Avr9 представляет собой пептид из 28 аминокислот. Последовательности Avr4 и Avr9 имеют низкую гомологию. Зрелый пептид Avr2 включает 58 аминокислот, 8 из которых приходится на цистеин. После процессинга более крупных белков-предшественников грибными и/или растительными протеазами зрелые пептиды обнаруживаются в апопласте томатов и индуцируют СВЧ ответ в растениях с комплементарными генами устойчивости *cf4*, *cf9* или *cf2*, вслед за которым развиваются и другие защитные реакции (31, 106). Ниже в качестве примеров будут более подробно рассмотрены три (Avr4, Avr9, Ecp6) из идентифицированных в настоящее время

Avr- и Ecr-элиситоров.

Как и большинство грибных эффекторов, Avr4 и Avr9 поступают в растения через секреторный путь эндоплазматического ретикулума *S. fulvum* и распознаются продуктами R-генов как расоспецифические элиситоры. Avr4 узнает и связывает рецептороподобный белок Cf4 без киназной активности. Кроме того, для развития реакции СВЧ может быть необходимо взаимодействие Cf4 с рецептороподобной киназой OBIR1 (108, 109). Индукция СВЧ в ответ на Avr9 может, по-видимому, происходить в результате его распознавания одним из двух способов. Во-первых, после образования комплекса Avr9 с высокоаффинным сайтом связывания и последующим взаимодействием с заякоренным в мембране внеклеточным рецепторным гликопротеином белком Cf-9, во-вторых, после непосредственного низкоаффинного связывания Avr9 с Cf-9 (99, 100). Инфильтрация Avr4 и Avr9 в ткани томата приводит к специфической активации целого арсенала защитных ответов растений, включая утечку электролитов, стимуляцию H-АТФазы плазматической мембраны, генерацию АФК и окислительный взрыв, а также повышение активности липоксигеназы и индукцию PR-белков ( $\beta$ -глюканазы и хитиназы) (31).

Ecr6 — еще один хитин-связывающий эффекторный белок, который *S. fulvum* секретирует в апопласт при колонизации растений томата. Он содержит три лизинового мотива (LysM1, LysM2 и LysM3). LysM2 и LysM3, как предполагают, формируют домены, необходимые для взаимодействия с хитином, а LysM1 может узнаваться растением, поскольку способен запускать ответ в суспензионной культуре клеток томата (110). Предполагают, что у растений томата, развивающих при инфильтрации в них Ecr6 реакцию СВЧ, на поверхности клеток локализован гипотетический рецептор, названный Cf-Ecr6 (111). Что касается распространения специфических элиситоров, сходных с описанными здесь для *S. fulvum*, то гомологи Avr4 найдены у грибов из класса *Dothideomycetes*, а Ecr6-подобные гены широко распространены в царстве грибов (112, 113).

Известно также, что *S. fulvum* продуцирует белок CfHNNI1, гомологичный фактору трансляции bZIP. Этот неспецифичный элиситор индуцирует экспрессию *lehsr203* (маркерный ген СЧВ) и вызывает устойчивость у растений-нехозяев, принадлежащих к трем разным семействам. Трансгенные растения табака с геном, кодирующим CfHNNI1, оказались устойчивы к *P. parasitica* var. *nicotianae*, *P. syringae* pv. *tabaci* и ВТМ. Установлено, что способность CfHNNI1 индуцировать СВЧ обусловлена консервативными для факторов bZIP аминокислотными остатками. Показано также, что механизм его действия не связан с активацией JA/ET-зависимого сигнального пути и что элиситорная активность CfHNNI1 снижается под влиянием индукторов SA-зависимого сигналинга (31).

*Элиситоры фитопатогенных и непатогенных фузариевых грибов.* Как и *S. fulvum*, возбудитель фузариозного вилта томата *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (FOL) продуцирует обогащенные цистеином белки-эффекторы, опознаваемые растениями с комплементарными генами устойчивости. Один из таких эффекторов, названный SIX1-белком, был первым фактором авирулентности, который обнаружили у FOL и других патогенов, проникающих в растения через корни (113). После созревания 32 кДа-предшественника, полипептид (12 кДа) из центральной части SIX1, содержащий 6 остатков цистеина, секретируется в ксилемный сок инфицированных растений и индуцирует защитные реакции у линий томата с геном устойчивости к этому эффектору. У *F. oxysporum* идентифицировано не менее 11 малых богатых цистеином белков типа SIX1 и показано, что, по крайней мере, три из них

(SIX1, SIX3/SIX4) играют роль факторов авирулентности, которые у сортов и линий томатов с геном *I* (*I-1*, *I-2*, *I-3*) индуцируют устойчивость к специализированным для разных растений-хозяев формам *FOL*. Гомолог SIX1 был обнаружен также у *F. graminearum* (113).

Из мицелия непатогенного для томата штамма *F. oxysporum* CS-20, защищающего растения от штаммов *FOL*, вызывающих вилт, выделен элиситор CS20EP — основной полипептид белковой фракции, снижавшей поражение томата этим патогеном за счет ослабления симптомов и замедления развития болезни. CS20EP представляет собой малый богатый цистеином основной белок (pI 9,87) с молекулярной массой около 10 кДа, содержащий 23 % гидрофобных аминокислотных остатков. Его цистеиновый мотив составлен 11 остатками цистеина, 6 из которых локализованы в N-терминальной области. Фракция, содержащая CS20EP, индуцирует быстрое обратимое изменение внеклеточного pH в культуре клеток томата, повышенную активность хитиназы в корневой системе его проростков и системное усиление в листьях экспрессии генов, кодирующих медиаторный белок PR-1 — маркер SAR. Предполагается, что этот элиситор может секретироваться штаммом CS-20 и вносить вклад в его биоконтролирующий эффект (114).

В составе другого агента биоконтроля — непатогенного для пшеницы изолята *F. sambucinum* FS-94 также были обнаружены и частично идентифицированы элиситоры белковой природы, которые, в отличие от CS20EP, индуцируют системную и локальную устойчивость растений не только к *FOL* (115), но и к возбудителям корневых гнилей пшеницы (*Fusarium* spp., *Bipolaris sorokiniana*) (116) и серой гнили крестоцветных (*Phoma lingam*). Эти неспецифические элиситоры объединяют фракцию белков размером от 40 кДа до 67 кДа, основной полипептидный компонент которой имеет молекулярную массу около 50 кДа, и активируют как ранние, так и более поздние защитные ответы двудольных и однодольных растений. В частности, в суспензионной культуре клеток двух видов пшеницы — *Triticum aestivum* L. и *T. kiharae* Dorof. et Migush. они вызывают обратимое изменение ионного обмена и повышают толерантность клеток к лизису, вызванному *F. culmorum*. В проростках из обработанных семян *T. kiharae* они усиливают экспрессию генов дефензиноподобных антимикробных пептидов (АМП), чьи продукты имеют высокую гомологию с дефензинами Tk-AMP-D и Ec-AMP-D1, обнаруженными соответственно у пшеницы и диких злаковых. Эти АМП в микромолярных концентрациях активны против нескольких фитопатогенных грибов, включая *Fusarium* spp. и *H. sativum* (син. *B. sorokiniana*).

Из культуральных фильтратов *F. oxysporum* f. sp. *erythroxyli* (FOE), вызывающего васкулярный вилт растений коки (*Erythroxyllum coca* Lam.), выделен белок Nep1 (24 кДа) с консервативным доменом GHRHDWE. Он индуцирует некроз и продукцию ET у многих видов двудольных растений. В листьях табака Nep1 вызывает накопление синтазы 1-аминоциклопропан-1-карбоновой кислоты (АЦК) и оксидазы АЦК, участвующих в синтезе ET, а в культуре клеток растений — обратимое изменение ионного обмена и генерацию АФК (32). Генетически не родственные, но обладающие аналогичной активностью и таким же размером белки были обнаружены у *F. acuminatum* и *F. avenaceum*, а у FOE выявлен белок, гомологичный описанному ниже элиситору PaNie<sub>213</sub> из *Pythium aphanidermatum*. Хотя в модельных экспериментах Nep1 из FOE активирует те же многие процессы, что и типичные элиситоры, он обладает выраженной фитотоксичностью в отношении двудольных и не индуцирует устойчивость растений к болезням. Более того, он может действовать как контактный гербицид, который способствует растениям патогеном растений, а не их защите (117). В настоящее время

Nep1-подобные белки (Nep1-like proteins, NLP) обнаружены у многих ассоциированных с растениями микроорганизмов, и некоторые из них продуцируют NLP, не обладающие фитотоксичностью. Так, биотроф *Hyaloperonospora arabidopsidis* (возбудитель ложной мучнистой росы арабидопсиса) секретирует 10 нецитотоксических NLP, которые не вызывают образования некрозов, но запускают механизмы ПТИ и индуцируют устойчивость к *H. arabidopsidis*. Один из этих NLP — HaNLP3 активирует экспрессию большого набора защитных генов арабидопсиса, действуя как элиситор МАРР типа. Интересно, что фрагмент (24 кДа) из центральной части NLP некоторых других грибов, а также бактерий тоже способны активировать ПТИ (118).

*Элиситоры из других микромицетов.* Различные белки и пептиды, обладающих свойствами элиситоров, идентифицированы и у других фитопатогенных мицелиальных грибов, принадлежащих к некротрофам или гембиотрофам, а также у сапротрофов — антагонистов этих фитопатогенов.

Расспецифический элиситор NIP1 — продукт гена *AvrRrs1* был выделен из культурального фильтрата *Rhynchosporium secalis* (возбудитель ожога ржи и ячменя). Этот ген кодирует белок из 82 аминокислот, который после отщепления сигнального пептида превращается в зрелый белок из 60 аминокислот, содержащий 10 остатков цистеина в пяти внутримолекулярных дисульфидных связях. У сортов ячменя с геном *Rrs1*, устойчивых к несовместимым расам *R. secalis*, NIP1 индуцирует некроз и накопление связанных с патогенезом белков PR-1, PR-5, PR-9 и PR-10. Он также способен вызывать некрозы на растениях ячменя, независимо от их генотипа, стимулируя  $H^+$ -АТФазную активность плазматической мембраны растительных клеток. Наряду с этим у вирулентных рас патогена он работает как обладающий токсичностью эффектор. Вариации биологических свойств NIP1 зависят от его первичной структуры. Известны, по крайней мере, четыре изоформы NIP1, которые значительно различаются по своей биологической активности (119).

Многие штаммы-антагонисты у некоторых видов рода *Trichoderma* широко используются в сельскохозяйственной практике как агенты биоконтроля. Элиситорной активностью обладают гидрофобины — низкомолекулярные (менее 20 кДа) секретируемые гидрофобные белки грибов с консервативным мотивом из восьми остатков цистеина, образующих четыре дисульфидных связи. Так, элиситор Sm1 был обнаружен в культуральных фильтратах *Trichoderma virens* Gv29-8 (120). Авторы сообщают, что этот гидрофобин-подобный белок имеет высокий процент гидрофобных остатков (40 %), включает четыре цистеина и три триптофана. Зрелый Sm1 с расчетной молекулярной массой 12,55 кДа и рI 5,78 состоит из 120 аминокислот и, по-видимому, подвергается посттрансляционной модификации, поскольку содержит сайты сульфатирования, фосфорилирования и N-гликозилирования. Sm1 не обладает фито- и фунгитоксичностью. В обработанных им растениях риса и семядолях хлопчатника он запускает локальные и системные ответы (генерацию АФК, экспрессию супероксиддисмутазы, образование оксипинов, фитоалексинов, синтез PR-белков и повышение их активности) и препятствует колонизации возбудителем антракноза. Элиситорная активность также была обнаружена у двух других гидрофобинов из группы низкомолекулярных цистеин-содержащих белков грибов — EPL1 (12,6 кДа, рI 5,5-5,7) и EPLT4 (гомолог EPL1), продуцируемых соответственно *T. atroviride* и *T. asperellum* (121, 122). Еще один гидрофобин с элиситорной активностью, названный NYTLO1, был получен из штамма *T. longibrachiatum* MK1 (123). Он полностью аналогичен белку NYTRA1 из *T. harzianum* T22 и

представляет собой белок массой 7,2 кДа с восемью цистеиновыми остатками, расположенными, как и у других гидрофобов, в консервативном мотиве. Наряду со способностью ингибировать рост некоторых микробов и активностью, стимулирующей рост растений, NYTLO1 служит сильным стимулятором защитных реакций растений. Его инфильтрация в листья томата приводит к развитию локальной и системной устойчивости к возбудителю серой плесени (*B. cinerea*) за счет СВЧ реакции, генерации окислительного взрыва в растительных клетках и усиления транскрипции или активности PR-белков (124).

Белки SCFE1 и PebC1 — неспецифические элисторы, продуцируемые соответственно фитоптогенными некротрофными грибами *Sclerotinia sclerotiorum* и *B. cinerea* (125, 127). SCFE1 — секретируемый белок, обнаруженный *in vitro* в культуральной жидкости, а PebC1 выделен из мицелия. Показано, что в растениях арабидопсиса SCFE1 распознается рецептор-подобным белком RLP30 и, взаимодействуя с киназой ВАК1, индуцирует характерные для РТИ защитные ответы (125). Обработка проростков томата белком PebC1 (36 кДа, рI 4,85) повышала их устойчивость к патогену и приводила к увеличению в растительных тканях содержания ферментов, связанных с ее развитием (PAL и полифенолоксидаза), генерации АФК, а также стимулировала развитие корневой системы проростков пшеницы и их толерантность к засухе (29).

У фитопатогенных гембиотрофов *M. oryzae* и *Verticillium dahliae* обнаружены соответственно элисторные белки PemG1 (36 кДа, Ip 4,7) и PevD1 (около 16 кДа) (126, 127). PemG1 отличается термостабильностью и активирует СУ риса к *M. oryzae*, а также устойчивость риса и арабидопсиса к бактериальным инфекциям. В этих растениях он индуцирует сверхэкспрессию генов, контролируемых SA-зависимый путь передачи элисторного сигнала, транзиторную экспрессию генов PR-белков, накопление АФК и OsPR-1a (маркер SAR риса), повышает активность целлюлазы и алкогольдегидрогеназы. Блокаторы кальциевых каналов предотвращают вызываемое PemG1 накопление OsPR-1a. Мутанты арабидопсиса, дефективные по JA/ET-зависимому сигналингу, после обработки PemG1 проявляют повышенную устойчивость к бактериальной инфекции, а мутанты с нарушенной трансдукцией сигнала по салицилатному пути, напротив, не реагируют на воздействие элистора. Это свидетельствует о том, что PemG1 функционирует как активатор салицилат- и Ca<sup>2+</sup>-зависимого сигнала и элистор SAR (127). Для того чтобы получить предсказанный белок PevD1 и подтвердить его элисторные свойства, ген, кодирующий PevD1 у *V. dahliae*, был интродуцирован в *E. coli*. Растения, обработанные рекомбинантным PevD1, приобретали СУ к ВТМ. В ответ на обработку элистором культивируемых клеток табака происходило изменение ионного обмена, регистрируемое по подщелачиванию их суспензии. В обработанных растениях табака возрастала продукция перекиси водорода, отмечалось отложение каллозы, усиливался синтез фенолов и лигнина (128). *V. dahliae* секретирует также гликопротеины 65 кДа и 28 кДа, которые индуцируют синтез фитоалексина госсипола у культивируемых клеток хлопка. С помощью ферментативного протеолиза и перйодатного окисления углеводов показано, что за элисторную активность этих гликопротеинов отвечает белковый компонент (7, 31).

Вид *Alternaria tenuissima* служит источником нескольких элисторных белков, например индуктора SAR белка Hrip1, который вызывает СВЧ-гибель клеток табака и экспрессию генов, ассоциированных с СУ к ВТМ (129). Этот же вид продуцирует элисторы PeaT1 и PeaT2. PeaT2 высокоого-

мологичен полифункциональным структурным мембранным белкам прохитинам. Помимо индукции устойчивости, он может стимулировать прорастание семян и рост корней пшеницы (130). PeaT1 представляет собой термостабильный кислый белок (Ip 4,22), выделенный из мицелия гриба, который, как и Hrip1, индуцирует СУ табака, но не вызывает реакции СВЧ. С помощью экспрессии в *E. coli* был получен рекомбинантный PeaT1 (около 22,6 кДа). Биоинформационный анализ его структуры показал, что PeaT1 — консервативный белок патогенов растений, который содержит домен UBA, ассоциированный с убиквитином. Мотив UBA, состоящий примерно из 45 аминокислотных остатков, присутствует в различных белках, участвующих в передаче клеточных сигналов через рецептороподобные протеинкиназы. PeaT1, лишенный UBA-домена, не способен индуцировать СУ. Данные о структуре сигнального пептида этого элиситора позволяют предположить, что он поступает в эндоплазматический ретикулум, а не в апопласт растений. Есть также доказательства существования сайтов связывания белковой природы для PeaT1 на плазматической мембране табака, которые могут передавать сигналы в цитоплазму растительных клеток, вызывая SAR (131).

*Недавно открытые MAMPs/PAMPs и ETI-элиторы грибов.* За последнее время у гембиотрофа *B. sorokiniana* был обнаружен ген, кодирующий новый эффектор CsSP1 (малый белок с предсказанной молекулярной массой 25,9 кДа и Ip 8.84), который секретируется этим патогеном во время инфекции. Аминокислотная последовательность CsSP1 имеет сходство с последовательностями индицирующих некроз и продукцию ET специфических Nер-элиторов других грибов (32, 119). Этот эффектор необходим патогену для инфицирования, преодоления PTI и успешного развития в растениях пшеницы. В то же время он действует как элиситор, запускающий ETI в растении-хозяине. К новым элиситорам относится также малый белок PeSy1 (11 кДа), который обнаружен у актиномицета *Saccharothrix yanglingensis* Hhs.015 — эндофита, повышающего устойчивость растений к патогенам. Установлено, что PeSy1 активно индуцирует реакцию СВЧ, а рекомбинантный белок PeSy1 вызывает ранние защитные ответы (генерация АФК, отложение каллозы) и трансдукцию элиситорного сигнала. Это приводит к повышению устойчивости табака (*N. benthamiana*) к *S. sclerotiorum* и *P. capsici*, а также устойчивости томата к *P. syringae* pv. *tomato*. PeSy1 взаимодействует со специфической, ранее не известной рецептороподобной цитоплазматической киназой RSy1 (Response to PeSy1). Эти результаты и способность PeSy1 усиливать экспрессию маркерных генов PTI позволяют предполагать, что он действует как элиситор MAMP-типа (132). Новые эффекторы — ортологи Esp (*C. fulvum*) обнаружены также у поражающего сосновые деревья гриба *Dothistroma septosporum*. Некоторые из белков вызывают реакцию СВЧ и способствуют развитию устойчивости в растениях, не являющихся хозяевами патогена (133). Наконец, совсем недавно у одного из возбудителей фузариоза колоса пшеницы *Fusarium graminearum* были найдены два новых белка — Fg02685 и Fg62, которые необходимы грибу для колонизации и секретируются в апопласт во время инфицирования растений патогеном (134, 135).

Малый белок Fg02685 идентифицирован как новый PAMP грибов. У табака (*N. benthamiana*) он вызывает защитные ответы, типичные для PTI, а именно СВЧ-гибель клеток, экспрессию ассоциированных с неспецифической устойчивостью генов растения, активацию MAP-киназного сигнального каскада, накопление АФК и каллозы. В распознавании Fg02685 не участвуют рецептороподобные киназы BAK1 и SOBIR1, а за его способ-

ность вызывать СВЧ отвечает консервативный  $\alpha$ -спиральный мотив N-терминальной области белковой молекулы. Элиситорная активность Fg02685 обусловлена 32-аминокислотным N-концевым фрагментом этого мотива — пептидом FgNP32, под воздействием которого повышается устойчивость растений к видам *Fusarium* и *Phytophthora*. Интересно, что гомологи Fg02685 часто встречаются у ржавчинных грибов (*Puccinia* spp.) и других микромицетов, а также среди видов *Phytophthora* и других оомицетов (136). Fg62 вызывает устойчивость *N. benthamiana* к *P. capsici*. За его СВЧ-индуцирующую активность ответственен сигнальный пептид. Этот белок не имеет консервативных цистеиновых доменов, но содержит 7 остатков цистеина. У *N. benthamiana* он индуцирует экспрессию двух РТИ-маркерных генов. По-видимому, Fg62 относится к орфаным белкам; гомологичные ему последовательности обнаружены пока только у *F. culmorum* и *F. pseudograminearum* (136).

Элиситоры оомицетов. Элиситины. Элиситины — это малые (около 10 кДа) гидрофильные белки *Phytophthora*, *Pythium* и некоторых других оомицетов, высококонсервативные в пределах семейства *Pythiaceae*. Они убедительно охарактеризованы как РAMPs. Все элиситины могут связывать стеринны, поэтому принято считать, что оомицеты, не способные самостоятельно синтезировать эти метаболиты, используют элиситины как транспортеры растительных стериннов в свою клетку, в том числе для встраивания их в мембраны зооспор. Однако эти белки не относятся к эффекторам оомицетов. Более того, виды *Pythiaceae* продуцируют ряд эффекторов, чтобы нивелировать активность элиситинов, для проявления которой стерин-связывающая способность не является решающей, но, увеличивая текучесть плазмалеммы инфицированных растительных клеток, вероятно, может вносить вклад в передачу сигналов и индуцированную генерацию АФК (137-139). Некоторые авторы предлагают рассматривать элиситины как факторы авирулентности, связанные с устойчивостью на видовом уровне, которые представляют собой промежуточное звено между РAMP и специфическими элиситорами (140).

Элиситины были открыты еще в конце 1980-х годов как элиситоры реакции СВЧ у табака, зараженного *P. cryptogea* или *P. capsici*, но продолжают интенсивно изучаться до сих пор. Наиболее детально они исследованы у *P. cryptogea*, *P. capsici*, *P. parasitica*, *P. megasperma* и *P. infestans* и известны под названиями соответственно криптогеин (cryptogein, CRY), капсицин (capsicin, CAP), паразитицин (parasitacin, PAR), мегаспермин и INF1. Всего в настоящее время проанализировано 100 последовательностей этих белков (139). На основании особенностей первичной структуры их подразделяют на несколько классов и на кислые ( $\alpha$ ) и щелочные ( $\beta$ ) белки, а по кодирующим генами — на истинные элиситины (elicitins, ELI) и элиситин-подобные (elicitin like proteins, ELL) белки, образующие филогенетические клады, которые у разных видов неодинаковы по своей СВЧ-индуцирующей активности (138, 140). В результате всесторонних исследований ELI- и ELL-белков определена их структура и получена информация о процессе их рецепции и роли во взаимоотношениях оомицетов с растениями (138, 140). Установлено, что все элиситины содержат сигнальный пептид; высококонсервативный домен, состоящий из 98 аминокислот, среди которых присутствуют 6 не варьирующих остатков цистеина, формирующих 3 дисульфидных мостика; переменные C-концевые последовательности. Как правило, C-концевые домены ELI- и ELL-белков (за исключением клады ELI-1) обогащены треонином, серином и пролином (138). Исследование трехмерной структуры  $\beta$ -CRY и других элиситинов из клады ELI-1 показало, что их

консервативные домены образованы пятью  $\alpha$ -спиралями, одним  $\beta$ -антипараллельным листом и одной  $\omega$ -петлей (137). Предполагают, что ELL секретируются во внеклеточное пространство, в то время как некоторые ELL-белки, вероятно, закорены в плазматической мембране (в том числе, в мембране подвижных зооспор) и клеточной стенке оомицетов (141).

Как и многие другие MAMPs/PAMPs, элиситины распознаются PRR, в том числе такими рецептороподобными киназами, как SERK3/BAK1, относящимся к основным рецепторам микробных элиситоров PTI (139), а также могут непосредственно или опосредовано взаимодействовать со специфическими R-рецепторами элиситоров (140). Рецепторы элиситинов, вероятно, узнают их консервативный домен. Установлено, что специфическая область  $\omega$ -петли содержит в позиции 41 высококонсервативный остаток лейцина, важный для восприятия элиситинов разными видами растений (141).

Растения, которые отвечают на воздействие элиситинов развитием локальной реакции СВЧ или SAR, принадлежат к различным семействам. Так, кроме табака, защитный эффект элиситинов продемонстрирован на томате, перце, картофеле, турнепсе, репе и редьке, горохе, а также для виноградской лозы, цитрусовых и саженцев дуба, причем ответная реакция различалась у разных таксонов и у разных растений в пределах одного таксона (139). В индуцировании СВЧ ответа и некрозообразовании ключевую роль играет наличие остатков лизина или валина в положении 13 и лизина в положении 39, а SAR-индуцирующая активность элиситинов становится результатом комбинации нескольких особенностей первичной структуры, включая общий поверхностный заряд и наличие специфических остатков лизина (138).

Обработка растений элиситинами пред инокуляцией повышает устойчивость к патогенным для них видам оомицетов, а также к другим патогенам, в том числе к возбудителям бактериальных болезней (138-142).

Как и многие другие индукторы устойчивости, элиситины вызывают ранние защитные ответы растений: обратимый сдвиг экстрацеллюлярного pH (139) и взрывообразную генерацию АФК, связанную с активацией растительных NADPH-оксидазы и MAP-киназного каскада. Однако, за исключением *Nicotiana* spp. и некоторых видов *Solanum*, индуцированный элиситинами окислительный взрыв не всегда приводит к СВЧ-гибели клеток и образованию некрозов, а иногда СВЧ ответ развивается под влиянием характерного для элиситинов более позднего всплеска АФК (138, 139) с фосфорилированием MAP-киназ и длительным повышением их активности (140). Первоначально SA-опосредованное развитие SAR и накопление PR-белков считались основными результатом воздействия элиситинов на растения (142). Однако позже было обнаружено, что обработка томата INF1 и  $\beta$ -CRY или ELL-белком из непатогенного *Pythium oligandrum* индуцирует устойчивость растений к бактериальному увяданию, мучнистой росе и *P. parasitica*, активируя характерный для ISR JA/ET-зависимый путь передачи элиситорного сигнала и экспрессию генов PR-белков (138, 139, 142). Таким образом, элиситины могут рассматриваться как эффективные элиситоры неспецифической СУ, запускающие как SA-зависимый, так и JA/ET-зависимый сигналинг.

*Другие элиситоры оомицетов.* Помимо элиситинов, у видов *Pythiaceae* известны такие элиситорные белки и пептиды, как Pep-13, PB90, PaNie213, CBEL.

Пептид Pep-13 представляет собой мотив из 13 аминокислот, ответственный за элиситорную активность обнаруженного в клеточной стенке

*P. sojae* белка GP42 (42 кДа) из семейства транскляминаз, а CBEL — это лектин фитогторовых, связывающий целлюлозу и участвующий в адгезии к клеткам растений (7). Рер-13 высококонсервативен у видов *Phytophthora* и характеризуется высокой активностью. Он индуцирует типичные для РТИ защитные ответы клеток картофеля и петрушки в крайне низких концентрациях (около 1 нМ) (143). Мутации, изменяющие состав Рер-13, лишают его как элиситорной, так и транскляминазной активности (143). РаNie<sub>213</sub> из *P. aphanidermatum* способен вызывать СВЧ у арабидопсиса и других растений. Зрелый белок (25 кДа) состоит из 213 аминокислотных остатков, синтезируется как 234-аминокислотный предшественник с сигнальным пептидом и имеет сайт расщепления протеиназой. Он индуцирует синтез de novo 4-гидроксibenзойной кислоты в культивируемых клетках моркови, образование каллусов у арабидопсиса и некроз листьев табака и томатов (144). Сходный с РаNie элиситорный белок был выделен из *P. megasperma* f. sp. *glycinea*, *P. infestans* и *P. parasitica* (145). Белок РВ90 (90 кДа) выделен из культурального фильтрата возбудителя фитогтороза хлопка *P. boehmeriae*. Его инфильтрация в листья табака, не хозяина этого патогена, вызывает реакцию СВЧ, индуцирует синтез АФК (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), накопление SA и повышенные активности защитных ферментов — пероксидазы (POD) и PAL (32). Сообщается также, что в культуральном фильтрате возбудителя фитогтороза колоказии (*Colocasia esculenta*) *P. colocasiae* был обнаружен гликопротеин (15 кДа), который структурно сходен с некоторыми элиситинами; за его способность индуцировать повышение активности POD, PAL и липоксигеназы ответствен полипептидный фрагмент (145).

Микробные ферменты, обладающие свойствами элиситоров. При инфицировании растений некротрофные патогены выделяют различные ферменты, которые разрушают целлюлозные и гемицеллюлозные компоненты растительной клеточной стенки, чтобы обеспечить доступность питательных веществ. Некоторые из ферментов распознаются растениями и действуют как элиситоры защитных ответов, причем способность этих ферментов индуцировать устойчивость в подавляющем большинстве случаев не связана с их энзиматической активностью.

Как примеры ферментов-элиситоров наиболее известны ксиланазы грибов и бактерий. Так, хорошо охарактеризована индуцирующая биосинтез ЕТ эндоксилаза EIX из *T. viride*. При ее инфильтрации в листья томата или табака происходит развитие ранних и поздних защитных ответов (СВЧ, генерация АФК и экспрессия генов PR-белков, синтез фиоалексинов) (146). Установлено, что EIX распознается растениями томата как MAMP и связывается рецепторами LRR-типа — LeEix1 и LeEix2; реакцию СВЧ и продукцию ЕТ инициирует только контакт с LeEix2, а LeEix1 действует как рецептор-приманка (147). Фермент синтезируется как предшественник (25 кДа) и подвергается посттрансляционному гликозилированию. Гриб секретирует зрелый белок (22 кДа), обогащенный глицином, серином, тирптофаном, тирозином и треонином и не содержащий лизина, аланина, лейцина и глутамина. Мутантные формы EIX, утратившие эндоглюконазную активность, сохраняют способность индуцировать СВЧ. Защитные ответы растений вызывают также ксиланаза II из *T. reesei* и ксиланазы *F. graminearum* (148). Элиситорная активность ксиланазы приписывается последовательности TKLGE, в которой замена концевых остатков треонина (Т) и глутамата (Е) соответственно на валин и треонин приводит к потере защитных свойств EIX. У эндоксилоназы Xun11A из *B. cinerea* за элиситорную активность отвечает пептид из 25 остатков (Xun25), который вызывает СВЧ и индуцирует экспрессию ряда защитных генов (149). В свою очередь, для

проявления защитной активности этого пептида необходима короткая консервативная последовательность из 4 аминокислот, но не его каталитическая активность (146).

Эндоцеллюлаза EG1, выделенная из *R. solani*, содержит белок, предположительно состоящий из 227 аминокислот, с сигнальным пептидом и доменом гликозилгидролазы. С помощью замены остатка аспарагиновой кислоты в положении 32 на аланин был получен каталитически неактивный фермент, который затем был экспрессирован в дрожжах и очищен до гомогенности. Эта рекомбинантная EG1 (rEG1), лишенная ферментативной активности, полностью сохраняла свойства элиситора. Она индуцировала гибель клеток в листьях кукурузы, табака и арабидопсиса, а также усиливала экспрессию генов маркеров SAR и ряда защитных ферментов и PR-белков у кукурузы и табака (PR1a, POD, PAL, хитиназы,  $\beta$ -1,3-глюконазы и др.). Кроме того, rEG1 вызывала накопление АФК, обратимый сдвиг эстрацеллюлярного рН в щелочную сторону, накопление ионов  $\text{Ca}^{2+}$  и биосинтез этилена в суспензии культивируемых клеток табака. В опытах с заражением растений кукурузы *R. solani* СВЧ-гибель клеток также была связана с экспрессией EG1 (150).

Белок MF3 (microbial factor 3, 16,9 кДа) был выделен из культуральной жидкости и клеточного гомогената *P. fluorescens*. Этот белок способен индуцировать в растениях СУ широкого спектра действия против вирусов, грибов и нематод (151). Он был идентифицирован как пептидил-пролил-цис/транс-изомераза, причем за ее элиситорную активность отвечает фрагмент, входящий в консервативную область фермента и состоящий из 29 аминокислотных остатков (IPGLEKALEGKAVGDDLEVAVEPEDAYG). Пептид сохраняет защитные свойства полноразмерного белка (151) и может вызывать накопление SA в обработанных им листьях табака, возможно, в результате усиления экспрессии гена изохоризматсинтазы, которая катализирует синтез SA.

Гликопротеины и пептидогликаны. Гликопротеины (ГП) образуются в результате посттрансляционного гликозилирования белков и регулируют несколько биологических процессов, жизненно важных для микроорганизмов. Фитопатогенные грибы секретируют некоторые из ГП при заражении растений, используя их в качестве эффекторов, способствующих вирулентности. Углеводная часть молекулы таких эффекторов регулирует их стабильность, активность, конформационную укладку, целевой транспорт и клеточную локализацию (152), но может также определять эффекторную/элиситорную активность микробных ГП. Так, секретируемый *M. oryzae* ГП Slp1 (синоним LysM 1) связывает хитин и препятствует взаимодействию этого PAMP с его рецептором в клетках риса (CEViP), причем подобным образом действует только гликозилированный белок. Негликозилированный Slp1 склонен к быстрой деградации, поэтому несвязавшийся хитин становится снова доступным для CEViP и запускает защитный ответ (153). Фракции ГП из клеточных стенок и культурального фильтрата *P. oligandrum*, способные вызывать у пшеницы и сахарной свеклы экспрессию генов устойчивости к фитопатогенам и накопление связанных с ней ферментов, утрачивали эту способность после автоклавирования или ферментативного протеолиза. В то же время перйодат, атакующий углеводный фрагмент ГП, не влиял на элиситорную активность этих фракций (154).

Отдельную группу элиситоров из разряда сложных белков представляют пептидогликаны бактерий. Поскольку клеточной стенки почти всех их видов содержат пептидогликан, растения распознают его как неспецифический элиситор. В частности, показано, что у арабидопсиса, табака и риса

этот бактериальный PAMP активирует такие ранние защитные ответы, как увеличение концентрации ионов кальция в цитоплазме и генерация АФК (155).

Эффекторы фитовирусов. Взаимодействие между вирусами и растениями служит удобной моделью для изучения молекулярных механизмов противовирусного фитоиммунитета. Внедрение вирусных частиц в растительные клетки запускает механизмы защиты, в том числе СВЧ, приводящие к быстрой изоляции патогена в клетках устойчивых к нему растений. В этих процессах участвуют малые интерферирующие РНК, подавляющие или нарушающие синтез нуклеиновых кислот вируса, препятствуя его репликации. В процессе эволюции фитовирусы приобрели способность синтезировать специфические эффекторы — супрессоры РНК-интерференции (viral suppressors of RNA silencing, VSR), основная роль которых заключается в подавлении РНК-интерференции (RNAi). Было показано, что VSR вызывают сайленсинг растительных генов и таким образом позволяют вирусам преодолевать РТИ (156). VSR, как и другие продукты экспрессии вирусных генов с разнообразными функциями, распознаются рецепторными R-белками растений, что приводит к сайленсингу вирусных РНК.

Так, растения табака вида *N. glutinosa* имеют набор белков, вызывающих РНК-сайленсинг фитопатогенных вирусов. У полеровирусов, способных поражать этот вид, обнаружен белок PO, функционирующий как VSR. Мишенью PO служит продукт гена *ARGONAUTE1* AGO1, растительный белок, каталитический компонент RISC (RNA-induced silencing complex, белковый комплекс, обеспечивающий сайленсинг генов по механизму RNAi) (157). Отмечено, что действие других VSR также направлено на AGO1. Например, его деградацию вызывает P25 X-вируса картофеля, что приводит к подавлению СВЧ ответа у *N. glutinosa*.

RNAi-ингибирующие свойства PO разных изолятов полеровирусов зависят от внутривидовых различий его структуры. Так, при сравнении супрессирующей активности PO из двух разных изолятов вируса желтой карликовости злаковых (CYDV-RPV, cereal yellow dwarf *Polerovirus*, сем. *Luteoviridae*) было установлено, что присутствие пролина в С-терминальной области снижает стабильность этого белка и отрицательно влияет на его супрессорную активность. Вероятно, высокая конформационная жесткость пролина способствует структурной дестабилизации белковой молекулы, которая усиливается при повышении температуры. Замена пролина на другие аминокислоты, например на серин, улучшает структурную стабильность PO (158). Именно такая замена найдена у некоторых природных изолятов полеровирусов, успешно поражающих злаки. Обнаружено также, что мутация, приводящая к замене С-концевого проксимального пролина на серин в PO с низкой супрессорной активностью из изолята CYDV-RPV, слабо поражающего растения при повышенной температуре, восстанавливает активность этого белка (156-158). Интересно, что в природных популяциях полеровирусов спонтанно возникают мутанты, в которых пролин замещен серином. Для индукции СВЧ ответа растений необходим полноценный функциональный белок PO. VSR мутанты с аминокислотными заменами в мотиве F-box этого белка утрачивали супрессирующую активность и, как следствие, не могли вызывать СВЧ. Сохранение структуры белкового мотива F-box, по-видимому, важно для способности PO вызывать деградацию белка AGO1, которая приводит к нарушению механизма сайленсинга РНК.

При исследовании взаимодействия растений *N. glutinosa* с вирусом желтухи турнепса (turnip yellow virus, TuYV) и вирусом скручивания листьев картофеля (potato leaf roll virus, PLRV) было установлено, что устойчивость

этого вида к указанным полеровирусам, а также к вирусу желтухи тыквенных (cucurbit aphid borne yellows virus, CABYV) связана со способностью белков PO TuYV (POTu), PLRV (POPL) и CABYV (ПОСА) вызывать реакцию СВЧ у сорта TW59, тогда как растения других сортов этого вида распознают только POPL из PLRV (159). Генетический анализ показал, что у *N. glutinosa* за способность узнавать POTu ответствен ген устойчивости RPO1 (resistance to poleroviruses 1), который наследуется как доминантный аллель. У многих фитовирусов идентифицированы белки-эффекторы, которые, как и PO, проявляют RNAi-ингибирующие свойства, подавляя защитный сайленсинг вирусных РНК в инфицированных растениях, поэтому сайленсинг считается основным механизмом ЕТІ к этим патогенам.

Перспективы использования элиситорных белков микроорганизмов в сельском хозяйстве и примеры защитных препаратов, разработанных на их основе. В связи с разнообразием микробных белков, которые могут быть восприняты растениями как элиситоры, вызывающие в низких дозах быстрое развитие ответных реакций, активирующих общую или распецифическую СУ растений и приводящих к длительной защите от фитопатогенов, исследователи стремятся оценить возможность применения этих элиситоров для повышения урожайности сельскохозяйственных культур (26, 160-162). Например, эффективность защитного действия белков-элиситоров из FS-94 подтверждена данными трехлетних полевых испытаний. Показано, что предпосевная обработка семян яровой пшеницы приводит к значительному снижению распространенности и ослаблению симптомов фузариозной и гельминтоспорной корневых гнилей в течение всего вегетационного периода, способствуя увеличению урожая (116). С практической точки зрения привлекательность белковых элиситоров также связана с тем, что некоторые из них повышают устойчивость растений к абиотическому стрессу и оказывают положительное влияние на их рост и развитие (<https://doraagri.com/product/buy-harpin-protein/>). В целом, перспективы включения элиситоров в экологически безопасные сценарии защиты сельскохозяйственных культур от болезней, основанные на стимулировании активного фитоиммунитета, представляются весьма обнадеживающими. Однако эта область исследований по-прежнему остается относительно новой и недостаточно востребованной. Пока известно лишь небольшое число белков-элиситоров и созданных на их основе коммерческих препаратов, которые нашли широкое практическое применение.

Первым препаратом на основе белкового элиситора, внедренным в практику сельскохозяйственного производства, был харпин. Под торговым названием Messenger к 2000 году он был зарегистрирован в США компанией «Eden Biotechnology Company» и разрешен к использованию на всех культурах. Агентство по охране окружающей среды США (U.S. Environmental Protection Agency) в 2001 году присудило препарату премию «Presidential Green Chemistry Challenge» в области защиты растений и безопасности сельскохозяйственной продукции. Препарат использовался для защиты посевов табака, овощей и фруктов в США, Мексике, Испании и других странах. Messenger также получил временную регистрацию в Китае, а с 2007 года было разрешено его использование на томате, перце, табаке и рапсе.

В 2008 году лицензию на производство харпина приобрела китайская фирма «Dora Agri», которая наладила на его основе производство препарата Dora Immune (<https://doraagri.com/product/buy-harpin-protein/>). В течение последних пяти лет препарат поставляется на китайский рынок, а также на рынки стран Центральной и Южной Америки и Западной Европы. Его

предлагается использовать в качестве фактора оздоровления растений, который активирует иммунную систему и влияет на экспрессию генов, ответственных за рост и активацию защитных реакций. Препарат Doga Immune используется для обработки семенного материала, корневой системы и листьев и разрешен к применению на яблоне, сливе, киви, нектарине, авокадо, манго, цитрусовых, вишни, винограда, конопли, табака и некоторых других растениях. По утверждению фирмы-производителя, обработка растений этим препаратом приводит к увеличению урожайности и улучшению качества продукции, повышает защиту от болезней, увеличивает срок хранения фруктов на 5-7 сут, а их сахаристость — на 10-25 %. Однако такая эффективность достигается лишь при условии использования рабочего раствора, приготовленного не более чем за 6 ч до опрыскивания, а в случае семенного материала — если он обработан не более чем за 30 мин до высадки в почву. Кроме того, при совместном применении с препаратами, содержащими соли тяжелых металлов, эффективность обработок может заметно снижаться, поскольку последние адсорбируют белок, препятствуя его контакту с рецепторами растений.

Другим убедительным примером успешного внедрения в сельскохозяйственную практику белковых элиситоров может служить белок PeaT1 из *A. tenuissima* (129, 130), который также продуцирует вид *A. alternata* (160). В 2014 году Институт защиты растений Китая зарегистрировал в Китае PeaT1 в качестве действующего вещества защитного препарата с иммуностимулирующим действием, получившим коммерческое название ATaiLing (160). Его производством занимается китайская компания «Zhongbao Chemicals Co., Limited». Показано, что ATaiLing способен ингибировать экспрессию вирусных генов и репарировать патологические изменения в пораженных вирусами растительных тканях. В то же время ATaiLing вызывает множественную защитную реакцию растений против насекомых-вредителей. Препарат эффективен против болезни полосатости риса, вируса желтой курчавости листьев томата, вируса табачной мозаики. Важно подчеркнуть, что он обеспечивает защиту против одной из наиболее вредоносных болезней цитрусовых Huanglongbing (болезнь озеленения цитрусовых, или пиньинь), вызываемой *Candidatus Liberibacter*. В связи с высокой эффективностью препарата объем его продаж с момента выхода на рынок достиг 200 т в год с годовой прибылью 70 млн юаней. На сегодняшний день Atailing применяется на 5 млн га посевных площадей в Китае. Ряд агрохимических компаний ведут переговоры о возможности использования препарата в Америке и Западной Европе. В настоящее время компания «Алтбиотех» проводит в России регистрацию биопрепарата на основе пептидил-пролил цис/транс-изомеразы (MF3), элиситорные свойства которой впервые были обнаружены и изучены во Всероссийском НИИ фитопатологии (151). Структура и элиситорные функции белка были запатентованы в России и в ряде стран Европы, Азии и США (162). Испытания препарата на основе MF3 в трех различных агроклиматических зонах показали его противовирусную эффективность на производственных посадках картофеля, способность улучшать физиологическое состояние растений и возможность повышения урожая, а токсикологические испытания — отсутствие острой токсичности для лабораторных животных. Перспективным в качестве биоконтролирующего агента также может быть белковый элиситор AMEP412 из *B. subtilis*, индуцирующий системную устойчивость к бактериям (163).

Таким образом, индуцированная устойчивость к болезням становится привлекательной альтернативой использования химических пестицидов в защите растений. Индуцированный ответ активируется элиситорами, в том

числе белковой природы, которые распознаются различными рецепторами, управляют несколькими сигнальными путями растений и вызывают у них разнообразные защитные ответы. Несмотря на то, что в настоящее время известно большое число специфических и неспецифических биогенных элиситоров, лишь некоторые из них на практике используются для защиты сельскохозяйственных культур. В то же время широкий арсенал элиситорных белков микроорганизмов, непрекращающийся интенсивный поиск новых микробных белков, активирующих фитоиммунитет, и использование инновационных методов их скрининга позволяют предполагать, что будут выявлены новые белки-элиситоры, на основе которых могут быть разработаны препараты для защиты сельскохозяйственных растений.

<sup>1</sup>*ФГБНУ Всероссийский НИИ фитопатологии,*  
143050 Россия, Московская обл., Одинцовский р-н,  
пос. Большие Вяземы, ул. Институт, вл. 5,  
e-mail: larisavniif@yahoo.com ✉, dzhavakhiya@yahoo.com;

<sup>2</sup>*Nanjing Agricultural University,*  
Nanjing, Jiangsu province, China,  
e-mail: dyb@njau.edu.cn, 2018202061@njau.edu.cn

*Поступила в редакцию*  
*29 мая 2023 года*

*Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2023, V. 58, № 5, pp. 789-820

## MICROBIAL PROTEINS AS ELICITORS OF PLANT RESISTANCE TO PATHOGENS AND THEIR POTENTIAL FOR ECO-FRIENDLY CROP PROTECTION IN SUSTAINABLE AGRICULTURE

(review)

*L.A. Shcherbakova*<sup>1</sup> ✉, *V.G. Dzhavakhiya*<sup>1</sup>, *Y. Duan*<sup>2</sup>, *J. Zhang*<sup>2</sup>

<sup>1</sup>*All-Russian Research Institute of Phytopathology*, 5, ul. Institute, pos. Bol'shie Vyazemy, Odintsovskii Region, Moscow Province, 143050 Russia, e-mail larisavniif@yahoo.com (✉ corresponding author), dzhavakhiya@yahoo.com;

<sup>2</sup>*Nanjing Agricultural University*, No. 1 Weigang, Nanjing, Jiangsu province, China, e-mail dyb@njau.edu.cn, 2018202061@njau.edu.cn

ORCID:

Shcherbakova L.A. orcid.org/0000-0003-0254-379X

Duan Y. orcid.org/0000-0002-4183-8729

Dzhavakhiya V.G. orcid.org/0000-0001-8704-0512

Zhang J. orcid.org/0000-0003-2541-4923

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgements:

Supported financially by the Russian Scientific Foundation (project No. 22-16-00154)

Final revision received May 29, 2023

doi: 10.15389/agrobiologia.2023.5.789eng

Accepted July 20, 2023

### Abstract

To combat plant diseases, modern agriculture has a large arsenal of xenobiotic pesticides that are toxic to microorganisms. However, the hazardous effects of such pesticides or their degradation products on the environment and human health urgently require the search for new harmless and environmentally safe means of plant pathogen control. In this regard, the attention of researchers is attracted by the phenomenon of natural plant resistance, including the active plant immunity and natural substances that can induce plant defense mechanisms (J.D. Jones et al., 2006; M. Albert, 2013; L. Wiesel et al., 2014; E.J. Andersen et al., 2018; D.F. Klessig et al., 2018). Various microorganisms, pathogenic or nonpathogenic to plants can serve as sources of such substances, including proteins and peptides. When interacting with them, microbial proteins play the role of nonspecific resistance elicitors recognized by plants as conserved microbial patterns (MAMPs or PAMPs) that induce the first line of active plant defense (basic resistance, or PTI) (C. Zipfel, 2009; M.A. Newman, 2013; J. Guo, Y. Cheng, 2022).. Other microbial proteins play the role of effectors involved in the development of the disease, and, if recognized by host plants, can also activate defense responses as elicitors of race-specific resistance (B.P. Thomma et al., 2011; W. Zhang et al., 2022; B.C. Remick et al, 2023). The perception of microbial protein elicitors by plant receptors causes rapid responses and can lead to the development of prolonged systemic resistance in plants (T. Boller, G. Felix, 2009; J.B. Joshi et al., 2022; S. Wang et al., 2023). Studying the properties and mechanisms of action of microbial proteins is new and fast-paced research cluster, which results create the basis for one of the most eco-friendly avenue in the field of plant protection and can lead to the development of novel effective biocontrol agents for sustainable agriculture. Over the past few decades, in nonpathogenic and plant pathogenic fungi, oomycetes, bacteria, and viruses, including those affecting agricultural crops, a number of elicitor

proteins have been identified that belong to the MAMP/PAMP type, as well as effectors that induce specific immunity (ETI). The review below summarizes and analyzes information on the most important advances in the identification and studying of elicitor proteins produced by various bacteria, fungi, oomycetes, and viruses (D. Qutob et al., 2003; M. Tarallo et al., 2022; Q. Xu et al., 2022). If the corresponding information is known, the peculiarities of the elicitor structure and their mechanisms of action, namely, defense responses of various plants induced by the corresponding elicitors, are briefly described. We also tried to illustrate the diversity of microorganism species able to produce elicitor proteins, which trigger the mechanisms of both specific and nonspecific resistance. The examples of protein and peptide elicitors, for which both basic and novel data are presented, are described in more details. Such bacterial elicitors include flagellin, harpins (similar and differing effects of harpins and flagellins are described), elongation factor Tu, cold shock proteins; elicitors produced by mycelial fungi include effectors of *Cladosporium fulvum*, elicitors of pathogenic and nonpathogenic *Fusarium* fungi, and recently discovered MAMPs/PAMPs and ETI-inducing proteins. The review also includes information on the oomycetal elicitors, microbial enzymes possessing eliciting properties, glycoproteins and peptidoglycans, and vector proteins of viruses (Y. Jin et al., 2021; L. Cai et al., 2023). In addition, the prospects for practical application of microbial elicitor proteins are described in a separate section by the example of commercial preparations based on bacterial and fungal protein elicitors, which have been developed in Russia and China and have proved their protective efficiency under field conditions (Dzhavakhiya et al., 2003; W.P. Liu et al., 2007; J. Mao et al., 2010; Q. Dewen et al., 2017).

Keywords: biogenic elicitors, microbial proteins and peptides, microbial patterns, effectors, PTI, ETI, plant defence responses, biocontrol, eco-friendly remedies.

## REFERENCES

1. Nelson R., Wiesner-Hanks T., Wissner R., Balint-Kurti P. Navigating complexity to breed disease-resistant crops. *Nat. Rev. Genet.*, 2018, 19(1): 21-33 (doi: 10.1038/nrg.2017.82).
2. *Food and Agriculture Organization. New standards to curb the global spread of plant pests and diseases.* Available: <https://www.fao.org/news/story/en/item/1187738/icode/>. Accessed: 28.05.2023.
3. Hawkins N.J., Bass C., Dixon A., Neve P. The evolutionary origins of pesticide resistance. *Biol. Rev.*, 2019, 94(1): 135-155 (doi: 10.1111/brv.12440).
4. Fisher M.C., Hawkins N.J., Sanglard D., Gurr S.J. Worldwide emergence of resistance to antifungal drugs challenges human health and food security. *Science*, 2018, 360(6390): 739-742 (doi: 10.1126/science.aap7999).
5. Stuthman D.D., Leonard K.J., Miller-Garvin J. Breeding crops for durable resistance to disease. *Advances in Agronomy*, 2007, 95: 319-367 (doi: 10.1016/s0065-2113(07)95004-x).
6. Conrath U., Beckers G. J., Flors V., Garcia-Agustin P., Jakab G., Mauch F., Newman M.-A., Pieterse C.M.J., Poinssot B., Pozo M.J., Pugin A., Schaffrath U., Ton J., Wendehenne D., Zimmerli L., Mauch-Mani B. Priming: getting ready for battle. *MPMI*, 2006, 19(10): 1062-1071 (doi: 10.1094/MPMI-19-1062).
7. Wiesel L., Newton A.C., Elliott I., Booty D., Gilroy E.M., Birch P.R.J., Hein I. Molecular effects of resistance elicitors from biological origin and their potential for crop protection. *Front. Plant Sci.*, 2014, 21(5): 655 (doi: 10.3389/fpls.2014.00655).
8. Klessig D.F., Choi H.W., D'Maris D.A. Systemic acquired resistance and salicylic acid: past, present, and future. *MPMI*, 2018, 31(9): 871-888 (doi: 10.1094/MPMI-03-18-0067-CR).
9. Conrath U. Molecular aspects of defence priming. *Trends in Plant Science*, 2011, 16(10): 524-531 (doi: 10.1016/j.tplants.2011.06.004).
10. Pastor V., Luna E., Mauch-Mani B., Ton J., Flors V. Primed plants do not forget. *Environmental and Experimental Botany*, 2013, 94: 46-56 (doi: 10.1016/j.envexpbot.2012.02.013).
11. Vlot A.C., Pabst E., Riedlmeier M. Systemic signalling in plant defence. In: *eLS*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, 2017.
12. Andersen E.J., Ali S., Byamukama E., Yen Y., Nepal M.P. Disease resistance mechanisms in plants. *Genes*, 2018, 9(7): 339 (doi: 10.3390/genes9070339).
13. Kamle M., Borah R., Bora H., Jaiswal A.K., Singh R.K., Kumar P. Systemic acquired resistance (SAR) and induced systemic resistance (ISR): role and mechanism of action against phytopathogens. In: *Fungal biotechnology and bioengineering*. A.L. Hesham, R. Upadhyay, G. Sharma, C. Manoharachary, V. Gupta (eds.). Springer, Cham, 2020.
14. Jones J.D., Dangl J.L. The plant immune system. *Nature*, 2006, 444(7117): 323-329 (doi: 10.1038/nature05286).
15. Newman M.A., Sundelin T., Nielsen J.T., Erbs G. MAMP (microbe-associated molecular pattern) triggered immunity in plants. *Front. Plant Sci.*, 2013, 4: 139 (doi: 10.3389/fpls.2013.00139).
16. Abdul Malik N.A., Kumar I.S., Nadarajah K. Elicitor and receptor molecules: orchestrators of plant defense and immunity. *Int. J. Mol. Sci.*, 2020, 21(3): 963 (doi: 10.3390/ijms21030963).
17. Medina-Puche L., Rufián J.S. Role of receptor-like kinases in plant-pathogen interaction. In:

- Plant receptor-like kinases*. S.K. Upadhyay, Shumayla (eds.). Academic Press, Cambridge, 2023. (doi: 10.1016/B978-0-323-90594-7.00014-4).
18. Meng X., Zhang S. MAPK cascades in plant disease resistance signaling. *Annual Review of Phytopathology*, 2013, 51: 245-266 (doi: 10.1146/annurev-phyto-082712-102314).
  19. Kadota Y., Shirasu K., Zipfel C. Regulation of the NADPH oxidase RBOHD during plant immunity. *Plant and Cell Physiology*, 2015, 56(8): 1472-1480 (doi: 10.1093/pcp/pcv063).
  20. Yuan P., Tanaka K., Du L., Poovaiah B.W. Calcium signaling in plant autoimmunity: a guard model for AtSR1/CAMTA3-mediated immune response. *Molecular Plant*, 2018, 11(5): 637-639 (doi: 10.1016/j.molp.2018.02.014).
  21. Zhang Y., Li X. Salicylic acid: biosynthesis, perception, and contributions to plant immunity. *Current Opinion in Plant Biology*, 2019, 50: 29-36 (doi: 10.1016/j.pbi.2019.02.004).
  22. Zhong C.-L., Zhang C., Liu J.-Z. Hetero-trimeric G protein signaling in plant immunity. *Journal of Experimental Botany*, 2018, 70(4): 1109-1118 (doi: 10.1093/jxb/ery426).
  23. Dodds P.N., Rathjen J.P. Plant immunity: towards an integrated view of plant-pathogen interactions. *Nat. Rev. Genet.*, 2010, 11(8): 539-548 (doi: 10.1038/nrg2812).
  24. Pruitt R.N., Gust A.A., Nürnberger T. Plant immunity unified. *Nature Plants*, 2021, 7(4): 382-383 (doi: 10.1038/s41477-021-00903-3).
  25. Remick B.C., Gaidt M.M., Vance R.E. Effector-triggered immunity. *Annual Review of Immunology*, 2023, 41: 453-481 (doi: 10.1146/annurev-immunol-101721-031732).
  26. Mejía-Teniente L., Torres-Pacheco I., González-Chavira M.M., Ocampo-Velazquez R.V., Herrera-Ruiz G., Chapa-Oliver A.M., Guevara-González R.G. Use of elicitors as an approach for sustainable agriculture. *African Journal of Biotechnology*, 2010, 9(54): 9155-9162.
  27. Naito K., Taguchi F., Suzuki T., Inagaki Y., Toyoda K., Shiraiishi T., Ichinose Y. Amino acid sequence of bacterial microbe-associated molecular pattern flg22 is required for virulence. *MPMI*, 2008, 21(9): 1165-1174 (doi: 10.1094/MPMI-21-9-1165).
  28. Zipfel C. Early molecular events in PAMP-triggered immunity. *Current Opinion in Plant Biology*, 2009, 12(4): 414-420 (doi: 10.1016/j.pbi.2009.06.003).
  29. Wang B., Yang X., Zeng H., Liu H., Zhou T., Tan B., Yuan J., Guo L., Qiu D. The purification and characterization of a novel hypersensitive-like response-inducing elicitor from *Verticillium dahliae* that induces resistance responses in tobacco. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 2012, 93(1): 191-201 (doi: 10.1007/s00253-011-3405-1).
  30. Xu Y., Chen H., Zhou X., Cai X. Induction of hypersensitive response and nonhost resistance by a *Cladosporium fulvum* elicitor CFHNN1 is dose-dependent and negatively regulated by salicylic acid. *Journal of Integrative Agriculture*, 2012, 11(5): 1665-1674 (doi: 10.1016/S2095-3119(12)60169-5).
  31. Mishra A.K., Sharma K., Misra R.S. Elicitor recognition, signal transduction and induced resistance in plants. *Journal of Plant Interactions*, 2012, 7(2): 95-120 (doi: 10.1080/17429145.2011.597517).
  32. Erbs G., Newman M.A. The role of lipopolysaccharide and peptidoglycan, two glycosylated bacterial microbe-associated molecular patterns (MAMPs), in plant innate immunity. *Molecular Plant Pathology*, 2012, 13(1): 95-104 (doi: 10.1111/j.1364-3703.2011.00730.x).
  33. Albert M. Peptides as triggers of plant defence. *Journal of Experimental Botany*, 2013, 64(17): 5269-5279 (doi: 10.1093/jxb/ert275).
  34. Boller T., He S.Y. Innate immunity in plants: an arms race between pattern recognition receptors in plants and effectors in microbial pathogens. *Science*, 2009, 324(5928): 742-744 (doi: 10.1126/science.1171647).
  35. Tyuterev S.L. *Vestnik zashchity rasteniy*, 2015, 1(83): 3-13 (in Russ.).
  36. Khavkin E.E. *Fiziologiya rasteniy*, 2021, 68(2): 115-131 (doi: 10.31857/S001533032102007X) (in Russ.).
  37. Popova E.V., Domnina N.S., Sokornova C.V., Kovalenko N.M., Tyuterev S.L. Novel hybrid modulators of plant immune responses based on chitosan and bioactive anti-oxidants and pro-oxidants. *Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2021, 26(1): 158-170 (doi: 10.15389/agrobiol.2021.1.158eng).
  38. Slavokhotova A.A., Shelentov A.A., Andreev Ya.A., Odintsova T.I. *Uspekhi biologicheskoy khimii*, 2017, 57: 209-244 (in Russ.).
  39. Shcherbakova L.A., Dzhavakhiya V.G. *Izvestiya Samarskogo nauchnogo tsentra Rossiyskoy akademii nauk*, 2013, 15(3-5): 1705-1709 (in Russ.).
  40. Ayliffe M., Sørensen C. Plant non-host resistance: paradigms and new environments. *Current Opinion in Plant Biology*, 2019, 50: 104-113 (doi: 10.1016/j.pbi.2019.03.011).
  41. Guo J., Cheng Y. Advances in fungal elicitor-triggered plant immunity. *Int. J. Mol. Sci.*, 2022, 23(19): 12003 (doi: 10.3390/ijms231912003).
  42. Gómez-Gómez L., Boller T. Flagellin perception: a paradigm for innate immunity. *Trends in Plant Science*, 2002 7(6): 251-256 (doi: 10.1016/s1360-1385(02)02261-6).
  43. Lu Y., Swartz J.R. Functional properties of flagellin as a stimulator of innate immunity. *Sci. Rep.*, 2016, 6: 18379 (doi: 10.1038/srep18379).
  44. Gómez-Gómez L., Boller T. FLS2: an LRR receptor-like kinase involved in the perception of the bacterial elicitor flagellin in *Arabidopsis*. *Molecular Cell*, 2000, 5(6): 1003-1011 (doi:

- 10.1016/s1097-2765(00)80265-8).
45. Boller T., Felix G. A renaissance of elicitors: perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. *Annual Review of Plant Biology*, 2009, 60: 379-406 (doi: 10.1146/annurev.arplant.57.032905.105346).
  46. Shiu S.-H., Karlowski W.M., Pan R., Tzeng Y.-H., Mayer K.F., Li W.-H. Comparative analysis of the receptor-like kinase family in *Arabidopsis* and rice. *The Plant Cell*, 2004, 16(5): 1220-1234 (doi: 10.1105/tpc.020834).
  47. Jelenska J., Davern S.M., Standaert R.F., Mirzadeh S., Greenberg J.T. Flagellin peptide flg22 gains access to long-distance trafficking in *Arabidopsis* via its receptor, FLS2. *Journal of Experimental Botany*, 2017, 68(7): 1769-1783 (doi: 10.1093/jxb/erx060).
  48. Fliegmann J., Felix G. Immunity: flagellin seen from all sides. *Nature Plants*, 2016, 2(9): 16136 (doi: 10.1038/nplants.2016.136).
  49. Hind S.R., Strickler S.R., Boyle P.C., Dunham D.M., Bao Z., O'Doherty I.M., Baccile J.A., Hoki J.S., Viox E.G., Clarke C.R. Vinatzer B.A., Schroeder F.C., Martin G.B. Tomato receptor FLAGELLIN-SENSING 3 binds flgII-28 and activates the plant immune system. *Nature Plants*, 2016, 2(9): 1-8 (doi: 10.1038/nplants.2016.128).
  50. Chinchilla D., Zipfel C., Robatzek S., Kemmerling B., Nürnberger T., Jones J.D., Felix G., Boller T. A flagellin-induced complex of the receptor FLS2 and BAK1 initiates plant defence. *Nature*, 2007, 448(7152): 497-500 (doi: 10.1038/nature05999).
  51. Macho A.P., Zipfel C. Plant PRRs and the activation of innate immune signaling. *Molecular Cell*, 2014, 54(2): 263-272 (doi: 10.1016/j.molcel.2014.03.028).
  52. Wei Y., Caceres-Moreno C., Jimenez-Gongora T., Wang K., Sang Y., Lozano-Duran R., Macho A.P. The *Ralstonia solanacearum* csp22 peptide, but not flagellin-derived peptides, is perceived by plants from the *Solanaceae* family. *Plant Biotechnol. J.*, 2018, 16(7): 1349-1362 (doi: 10.1111/pbi.12874).
  53. Cai R., Lewis J., Yan S., Liu H., Clarke C.R., Campanile F., Almeida N.F., Studholme D.J., Lindeberg M., Schneider D., Zaccardelli M., Setubal J.C., Morales-Lizcano N.P., Bernal A., Coaker G., Baker C., Bender C.L., Leman S., Vinatzer B.A. The plant pathogen *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* is genetically monomorphic and under strong selection to evade tomato immunity. *PLoS Pathog.*, 2011, 7(8): e1002130 (doi: 10.1371/journal.ppat.1002130).
  54. Moroz N., Tanaka K. FlgII-28 is a major flagellin-derived defense elicitor in potato. *MPMI*, 2020, 33(2): 247-255 (doi: 10.1094/MPMI-06-19-0164-R).
  55. Haney C.H., Ausubel F.M., Urbach J.M. Innate immunity in plants and animals: differences and similarities. *The Biochemist*, 2014, 36(5): 40-45 (doi: 10.1042/BIO03605040).
  56. Kunze G., Zipfel C., Robatzek S., Niehaus K., Boller T., Felix G. The N terminus of bacterial elongation factor Tu elicits innate immunity in *Arabidopsis* plants. *The Plant Cell*, 2004, 16(12): 3496-3507 (doi: 10.1105/tpc.104.026765).
  57. Xu G., Greene G.H., Yoo H., Liu L., Marqués J., Motley J., Dong X. Global translational reprogramming is a fundamental layer of immune regulation in plants. *Nature*, 2017, 545(7655): 487-490 (doi: 10.1038/nature22371).
  58. Wei Z.-M., Laby R.J., Zumoff C.H., Bauer D.W., He S.Y., Collmer A., Beer S.V. Harpin, elicitor of the hypersensitive response produced by the plant pathogen *Erwinia amylovora*. *Science*, 1992, 257(5066): 85-88 (doi: 10.1126/science.1621099).
  59. He S.Y., Huang H.C., Collmer A. *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* harpin<sub>PS</sub>: a protein that is secreted via the Hrp pathway and elicits the hypersensitive response in plants. *Cell*, 1993, 73(7): 1255-1266 (doi: 10.1016/0092-8674(93)90354-s).
  60. Kim J.G., Jeon E., Oh J., Moon J.S., Hwang I. Mutational analysis of *Xanthomonas* harpin HpaG identifies a key functional region that elicits the hypersensitive response in nonhost plants. *Journal of Bacteriology*, 2004, 186(18): 6239-6247 (doi: 10.1128/JB.186.18.6239-6247.2004).
  61. Tarafdar P.K., Vedantam L.V., Kondreddy A., Podile A.R., Swamy M.J. Biophysical investigations on the aggregation and thermal unfolding of harpin<sub>PS</sub> and identification of leucine-zipper-like motifs in harpins. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) — Proteins and Proteomics*, 2009, 1794(11): 1684-1692 (doi: 10.1016/j.bbapap.2009.07.023).
  62. Choi M.-S., Kim W., Lee C., Oh C.-S. Harpins, multi-functional proteins secreted by gram-negative plant-pathogenic bacteria. *MPMI*, 2013, 26(10): 1115-1122 (doi: 10.1094/MPMI-02-13-0050-CR).
  63. Dong H.-P., Yu H., Bao Z., Guo X., Peng J., Yao Z., Chen G., Qu S., Dong H. The ABI2-dependent abscisic acid signalling controls HrpN-induced drought tolerance in *Arabidopsis*. *Planta*, 2005, 221(3): 313-327 (doi: 10.1007/s00425-004-1444-x).
  64. Yang Y., Chen T., Dai X., Yang D., Wu Y., Chen H., Zheng Y., Zhi Q., Wan X., Tan X. Comparative transcriptome analysis revealed molecular mechanisms of peanut leaves responding to *Ralstonia solanacearum* and its type III secretion system mutant. *Front. Microbiol.*, 2022, 13: 998817 (doi: 10.3389/fmicb.2022.998817).
  65. Xie L., Liu Y., Wang H., Liu W., Di R., Miao W., Zheng F. Characterization of harpin Xoo induced hypersensitive responses in non host plant, tobacco. *J. Plant Biochem. Biotechnol.*, 2017, 26(1): 73-79 (doi: 10.1007/s13562-016-0363-9).

66. Zou L.-F., Wang X.-P., Xiang Y., Zhang B., Li Y.-R., Xiao Y.-L., Wang J.-S., Walmsley A.R., Chen G.-Y. Elucidation of the *hrp* clusters of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* that control the hypersensitive response in nonhost tobacco and pathogenicity in susceptible host rice. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(9): 6212-6224 (doi: 10.1128/AEM.00511-06).
67. Cho H.-J., Park Y.-J., Noh T.-H., Kim Y.-T., Kim J.-G., Song E.-S., Lee D.-H., Lee B.-M. Molecular analysis of the *hrp* gene cluster in *Xanthomonas oryzae* pathovar *oryzae* KACC10859. *Microbial Pathogenesis*, 2008, 44(6): 473-483 (doi: 10.1016/j.micpath.2007.12.002).
68. Liu Y., Zhou X., Liu W., Xiong X., Lv C., Zhou X., Miao W. Functional regions of HpaXm as elicitors with specific heat tolerance induce the hypersensitive response or plant growth promotion in nonhost plants. *PLoS ONE*, 2018, 13(1): e0188788 (doi: 10.1371/journal.pone.0188788).
69. Miao W.-G., Song C.-F., Wang Y., Wang J.-S. HpaXm from *Xanthomonas citri* subsp. *malvacearum* is a novel harpin with two heptads for hypersensitive response. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 2010, 20(1): 54-62.
70. Haapalainen M., Engelhardt S., Kuefner I., Li C.M., Nuernberger T., Lee J., Romantschuk M., Taira S. Functional mapping of harpin HrpZ of *Pseudomonas syringae* reveals the sites responsible for protein oligomerization, lipid interactions and plant defence induction. *Molecular Plant Pathology*, 2011, 12(2): 151-166 (doi: 10.1111/j.1364-3703.2010.00655.x).
71. Wu H., Wang S., Qiao J., Liu J., Zhan J., Gao X. Expression of HpaGXooc protein in *Bacillus subtilis* and its biological functions. *J. Microbiol. Biotechnol.*, 2009, 19(2): 194-203 (doi: 10.4014/jmb.0802.154).
72. Chen G.-Y., Zhang B., Wu X.-M., Zhao M.-Q., Wei S., Wu X.B. Cloning and characterization of an harpin encoding gene from *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* required for hypersensitive response on nonhost plant tobacco. *Wei Sheng Wu Xue Bao*, 2005, 45(4): 496-499.
73. Palmieri A.C.B., Amaral A.M., Homem R.A., Machado M.A. Differential expression of pathogenicity- and virulence-related genes of *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* under copper stress. *Genet. Mol. Biol.*, 2010, 33(2): 348-353 (doi: 10.1590/S1415-47572010005000030).
74. Wang X., Zhang L., Ji H., Mo X., Li P., Wang J., Dong H. Hpa1 is a type III translocator in *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *BMC Microbiol.*, 2018, 18(1): 105 (doi: 10.1186/s12866-018-1251-3).
75. Niu X.-N., Wei Z.-Q., Zou H.-F., Xie G.-G., Wu F., Li K.-J., Jiang W., Tang J.-L., He Y.-Q. Complete sequence and detailed analysis of the first indigenous plasmid from *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola*. *BMC Microbiol.*, 2015, 15(1): 233 (doi: 10.1186/s12866-015-0562-x).
76. Solé M., Scheibner F., Hoffmeister A.-K., Hartmann N., Hause G., Rother A., Jordan M., Lautier M., Arlat M., Büttner D. *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria* secretes proteases and xylanases via the Xps type II secretion system and outer membrane vesicles. *Journal of Bacteriology*, 2015, 197(17): 2879-2893 (doi: 10.1128/JB.00322-15).
77. Fu M., Xu M., Zhou T., Wang D., Tian S., Han L., Dong H., Zhang C. Transgenic expression of a functional fragment of harpin protein Hpa1 in wheat induces the phloem-based defence against English grain aphid. *Journal of Experimental Botany*, 2014, 65(6): 1439-1453 (doi: 10.1093/jxb/ert488).
78. Kvitko B.H., Ramos A.R., Morello J.E., Oh H.-S., Collmer A. Identification of harpins in *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000, which are functionally similar to HrpK1 in promoting translocation of type III secretion system effectors. *Journal of Bacteriology*, 2007, 189(22): 8059-8072 (doi: 10.1128/JB.01146-07).
79. Tampakaki A.P., Panopoulos N.J. Elicitation of hypersensitive cell death by extracellularly targeted HrpZpph produced in planta. *MPMI*, 2000, 13(12): 1366-1374 (doi: 10.1094/MPMI.2000.13.12.1366).
80. Rebutier D., Frankart C., Briand J., Biligui B., Laroche S., Rona J.-P., Barny M.-A., Bouteau F. The HrpNea harpin from *Erwinia amylovora* triggers differential responses on the nonhost *Arabidopsis thaliana* cells and on the host apple cells. *MPMI*, 2007, 20(1): 94-100 (doi: 10.1094/MPMI-20-0094).
81. Li P., Zhang L., Mo X., Ji H., Bian H., Hu Y., Majid T., Long J., Pang H., Tao Y., Ma J., Dong H. Rice aquaporin PIP1;3 and harpin Hpa1 of bacterial blight pathogen cooperate in a type III effector translocation. *Journal of Experimental Botany*, 2019, 70(12): 3057-3073 (doi: 10.1093/jxb/erz130).
82. Grant S.R., Fisher E.J., Chang J.H., Mole B.M., Dangl J.L. Subterfuge and manipulation: type III effector proteins of phytopathogenic bacteria. *Annual Review of Microbiology*, 2006, 60: 425-449 (doi: 10.1146/annurev.micro.60.080805.142251).
83. Engelhardt S., Lee J., Gabler Y., Kemmerling B., Haapalainen M.-L., Li C.-M., Wei Z., Keller H., Joosten M., Taira S., Nurnberger T. Separable roles of the *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* accessory protein HrpZ1 in ion-conducting pore formation and activation of plant immunity. *The Plant Journal*, 2009, 57(4): 706-717 (doi: 10.1111/j.1365-313X.2008.03723.x).
84. Oh C.S., Beer S.V. AtHIPM, an ortholog of the apple HrpN-interacting protein, is a negative regulator of plant growth and mediates the growth-enhancing effect of HrpN in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 2007, 145(2): 426-436 (doi: 10.1104/pp.107.103432).
85. Chang X., Nick P. Defense signaling triggered by flg22 and harpin is integrated into a different

- stilbene output in *Vitis* cells. *PLoS ONE*, 2012, 7(7): e40446 (doi: 10.1371/journal.pone.0040446).
86. Sang S., Li X., Gao R., You Z., Lv B., Liu P., Ma Q., Dong H. Apoplastic and cytoplasmic location of harpin protein Hpa1Xoo plays different roles in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> generation and pathogen resistance in Arabidopsis. *Plant Mol. Biol.*, 2012, 79(4-5): 375-391 (doi: 10.1007/s11103-012-9918-x).
  87. Pavli O.I., Kelaidi G.I., Tampakaki A.P., Skaracis G.N. The *hrpZ* gene of *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* enhances resistance to rhizomania disease in transgenic *Nicotiana benthamiana* and sugar beet. *PLoS ONE*, 2011, 6(3): e17306 (doi: 10.1371/journal.pone.0017306).
  88. Dong H.-P., Peng J., Bao Z., Meng X., Bonasera J.M., Chen G., Beer S.V., Dong H. Downstream divergence of the ethylene signaling pathway for harpin-stimulated Arabidopsis growth and insect defense. *Plant Physiology*, 2004, 136(3): 3628-3638 (doi: 10.1104/pp.104.048900).
  89. Chen L., Zhang S.-J., Zhang S.-S., Qu S., Ren X., Long J., Yin Q., Qian J., Sun F., Zhang C. Wang L., Wu X., Wu T., Zhang Z., Cheng Z., Hayes M., Beer S.V., Dong H. A fragment of the *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* harpin HpaG<sub>Xoo</sub> reduces disease and increases yield of rice in extensive grower plantings. *Phytopathology*, 2008, 98(7): 792-802 (doi: 10.1094/PHTO-98-7-0792).
  90. Wang D., Wang Y., Fu M., Mu S., Han B., Ji H., Cai H., Dong H., Zhang C. Transgenic expression of the functional fragment Hpa110-42 of the harpin protein Hpa1 imparts enhanced resistance to powdery mildew in wheat. *Plant Disease*, 2014, 98(4): 448-455 (doi: 10.1094/PDIS-07-13-0687-RE).
  91. Sands L.B., Cheek T., Reynolds J., Ma Y., Berkowitz G.A. Effects of harpin and flg22 on growth enhancement and pathogen defense in *Cannabis sativa* seedlings. *Plants*, 2022, 11(9): 1178 (doi: 10.3390/plants11091178).
  92. Chang X., Seo M., Takebayashi Y., Kamiya Y., Riemann M., Nick P. Jasmonates are induced by the PAMP flg22 but not the cell death-Inducing elicitor harpin in *Vitis rupestris*. *Protoplasma*, 2017, 254(1): 271-283 (doi: 10.1007/s00709-016-0941-7).
  93. Joshi J.B., Senthamilselvi D., Maupin-Furlow J.A., Uthandi S. Microbial protein elicitors in plant defense. In: *Microbial biocontrol: sustainable agriculture and phytopathogen management*. A. Kumar (ed.). Springer, Cham, 2022 (doi: 10.1007/978-3-030-87512-1\_10).
  94. Dong H., Delaney T.P., Bauer D.W., Beer S.V. Harpin induces disease resistance in Arabidopsis through the systemic acquired resistance pathway mediated by salicylic acid and the *NIM1* gene. *Plant J.*, 1999, 20(2): 207-215 (doi: 10.1046/j.1365-313x.1999.00595.x).
  95. Shoi M.S., Kim W., Lee C., Oh C.S. Harpins, multifunctional proteins secreted by gram-negative plant-pathogenic bacteria. *MPMI*, 2013, 26(10): 1115-1122 (doi: 10.1094/MPMI-02-13-0050-CR).
  96. Zhang N., Zhou S., Yang D., Fan Z. Revealing shared and distinct genes responding to JA and SA signaling in *Arabidopsis* by meta-analysis. *Front. Plant Sci.*, 2020, 11: 908 (doi: 10.3389/fpls.2020.00908).
  97. Skabkin M.A., Skabkina O.V., Ovchinnikov L.P. *Uspekhi biologicheskoy khimii*, 2004, 44: 3-52 (in Russ.).
  98. Eshwar A.K., Guldemann C., Oevermann A., Tasara T. Cold-shock domain family proteins (Csps) are involved in regulation of virulence, cellular aggregation, and flagella-based motility in *Listeria monocytogenes*. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 2017, 7: 453 (doi: 10.3389/fcimb.2017.00453).
  99. Felix G., Boller T. Molecular sensing of bacteria in plants. The highly conserved RNA-binding motif RNP-1 of bacterial cold shock proteins is recognized as an elicitor signal in tobacco. *Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278(8): 6201-6208 (doi: 10.1074/jbc.M209880200).
  100. Wang L., Albert M., Einig E., Fürst U., Krust D., Felix G. The pattern-recognition receptor CORE of *Solanaceae* detects bacterial cold-shock protein. *Nature Plants*, 2016, 2: 16185 (doi: 10.1038/nplants.2016.185).
  101. Djavakhia V.G., Nikolaev O.N., Voinova T.M., Battchikova N.A., Korpela T., Khomutov R.M. DNA sequence of gene and amino acid sequence of protein from *Bacillus thuringiensis*, which induces nonspecific resistance of plants to viral and fungal diseases. *Journal of Russian Phytopathological Society*, 2000, 1: 75-81.
  102. Shcherbakova L.A. Some natural proteinaceous and polyketide compounds in plant protection and their potential in green consumerization. In: *Natural products in plant pest management*. N.K. Dubey (ed.). CABI International, Boston, 2011 (doi: 10.1079/9781845936716.0109).
  103. Kromina K.A., Dzhavakhiya V.G. *Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya*, 2006, 1: 31-34 (in Russ.).
  104. de Wit P.J., Laugé R., Honée G., Joosten M.H., Vossen P., Kooman-Gersmann M., Vogelsang R., Vervoort J.J. Molecular and biochemical basis of the interaction between tomato and its fungal pathogen *Cladosporium fulvum*. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 1997, 71(1-2): 137-141 (doi: 10.1023/a:1000102509556).
  105. Ökmen B., de Wit P.J.G.M. *Cladosporium fulvum*-tomato pathosystem: fungal infection strategy and plant responses. In: *Molecular plant immunity*. G. Sessa (ed.). John Wiley & Sons Ltd., West Sussex, 2013 (doi: 10.1002/9781118481431.ch10).
  106. Wan J., Zhang X.-C., Neece D., Ramonell K.M., Clough S., Kim S.-Y., Stacey M.G., Stacey G.

- A LysM receptor-like kinase plays a critical role in chitin signaling and fungal resistance in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 2008, 20(2), 471-481 (doi: 10.1105/tpc.107.056754).
107. Liebrand T.W., van den Berg G.C., Zhang Z., Smit P., Cordewener J.H., America A.H., Sklenar J., Jones A.M., Tameling W.I., Robatzek S., Thomma B.P., Joosten M.H. Receptor-like kinase SOBIR1/EVR interacts with receptor-like proteins in plant immunity against fungal infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2013, 110(24): 10010-10015 (doi: 10.1073/pnas.1220015110).
  108. Wulff B.B., Chakrabarti A., Jones D.A. Recognition specificity and evolution in the tomato–*Cladosporium fulvum* pathosystem. *MPMI*, 2009, 22(10): 1191-1202 (doi: 10.1094/MPMI-22-10-1191).
  109. Sánchez-Vallet A., Saleem-Batcha R., Kombrink A., Hansen G., Valkenburg D.J., Thomma B.P., Mesters J.R. Fungal effector Ecp6 outcompetes host immune receptor for chitin binding through intrachain LysM dimerization. *eLife*, 2013, 2: e00790 (doi: 10.7554/eLife.00790).
  110. Thomma B.P., Nürnberger T., Joosten M.H. Of PAMPs and effectors: the blurred PTI-ETI dichotomy. *The Plant Cell*, 2011, 23(1): 4-15 (doi: 10.1105/tpc.110.082602).
  111. Kombrink A., Sánchez-Vallet A., Thomma B.P. The role of chitin detection in plant-pathogen interactions. *Microbes Infect.*, 2011, 13(14-15): 1168-1176 (doi: 10.1016/j.micinf.2011.07.010)
  112. Rep M., van der Does H.C., Meijer M., van Wijk R., Houterman P.M., Dekker H.L., de Koster C.G., Cornelissen B.J.C. A small, cysteine-rich protein secreted by *Fusarium oxysporum* during colonization of xylem vessels is required for I-3-mediated resistance in tomato. *Molecular Microbiology*, 2004, 53(5): 1373-1383 (doi: 10.1111/j.1365-2958.2004.04177.x).
  113. Takken F., Rep M. The arms race between tomato and *Fusarium oxysporum*. *Molecular Plant Pathology*, 2010, 11(2): 309-314 (doi: 10.1111/j.1364-3703.2009.00605.x).
  114. Shcherbakova L., Odintsova T., Stakheev A., Fravel D., Zavrjev S. Identification of a novel small cysteine-rich protein in the fraction from the biocontrol *Fusarium oxysporum* strain CS-20 that mitigates *Fusarium* wilt symptoms and triggers defense responses in tomato. *Front. Plant Sci.*, 2015, 6: 1207 (doi: 10.3389/fpls.2015.01207).
  115. Shcherbakova L.A., Nazarova T.A., Mikityuk O.D., Fravel D.R. *Fusarium sambucinum* isolate FS-94 690 induces resistance against *Fusarium* wilt of tomato via activation and priming of a salicylic acid-dependent signaling system. *Russ. J. Plant Physiology*, 2011, 58: 808-818 (doi: 10.1134/S1021443711050207).
  116. Shcherbakova L.A., Nazarova T.A., Mikityuk O.D., Istomina E.A., Odintsova T.I. An extract purified from the mycelium of a tomato wilt-controlling strain of *Fusarium sambucinum* is able to protect wheat against *Fusarium* and common root rots. *Pathogens*, 2018, 7(3): 61 (doi: 10.3390/pathogens7030061).
  117. Keates S.E., Kostman T.A., Anderson J.D., Bailey B.A. Altered gene expression in three plant species in response to treatment with Nep1, a fungal protein that causes necrosis, *Plant Physiology*, 2003, 132(3): 1610-1622 (doi: 10.1104/pp.102.019836).
  118. Oomea S., Raaymakers T.M., Cabrala A., Samwela S., Böhm H., Albert I., Nürnberger T., van den Ackerveken G. Nep1-like proteins from three kingdoms of life act as a microbe-associated molecular pattern in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2014, 111(47): 16955-16960 (doi: 10.1073/pnas.1410031111).
  119. van't Slot K. A., van den Burg H.A., Kloks C.P., Hilbers C.W., Knogge W., Papavoine C.H. Solution structure of the plant disease resistance-triggering protein NIP1 from the fungus *Rhynchosporium secalis* shows a novel beta-sheet fold. *Journal of Biological Chemistry*, 2003, 278(46): 45730-45736 (doi: 10.1074/jbc.M308304200).
  120. Djonović S., Pozo M.J., Dangott L.J., Howell C.R., Kenerley C.M. Sm1, a proteinaceous elicitor secreted by the biocontrol fungus *Trichoderma virens* induces plant defense responses and systemic resistance. *MPMI*, 2006, 19(8): 838-853 (doi: 10.1094/MPMI-19-0838).
  121. Seidl V., Marchetti M., Schandl R., Allmaier G., Kubicek C.P. Epl1, the major secreted protein of *Hypocrea atroviridis* on glucose, is a member of a strongly conserved protein family comprising plant defense response elicitors. *The FEBS Journal*, 2006, 273(18): 4346-4359 (doi: 10.1111/j.1742-4658.2006.05435.x).
  122. Wang Y., Song J., Wu Y., Odeph M., Liu Z., Howlett B.J., Wang S., Yang P., Yao L., Zhao L., Yang Q. Epl4 proteinaceous elicitor produced in *Pichia pastoris* has a protective effect against *Cercosporidium sofinum* infections of soybean leaves. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 2013, 169(3): 722-737 (doi: 10.1007/s12010-012-0015-z).
  123. Ruocco M., Lanzuise S., Lombardi N., Woo S.L., Vinale F., Marra R., Varlese R., Manganiello G., Pascale A., Scala V., Turrà D., Scala F., Lorito M. Multiple roles and effects of a novel *Trichoderma* hydrophobin. *MPMI*, 2015, 28(2): 167-179 (doi: 10.1094/MPMI-07-14-0194-R).
  124. Zhang W., Fraiture M., Kolb D., Löffelhardt B., Desaki Y., Boutrot F.F., Tör M., Zipfel C., Gust A.A., Brunner F. *Arabidopsis* receptor-like protein and receptor-like kinase suppressor of BIR1-1/EVERSHED mediate innate immunity to necrotrophic fungi. *The Plant Cell*, 2013, 25(10): 4227-4241 (doi: 10.1105/tpc.113.117010).
  125. Zhang Y., Yang X., Liu Q., Qiu D., Zhang Y., Zeng H., Yuan J., Mao J. Purification of novel protein elicitor from *Botrytis cinerea* that induce disease resistance and drought tolerance in plants.

- Microbiological Research*, 2010, 165(2): 142-151 (doi: 10.1016/j.micres.2009.03.004).
126. Peng D.-H., Qiu D.-W., Ruan L.-F., Zhou C.-F., Sun M. Protein elicitor PemG1 from *Magnaporthe grisea* induces systemic acquired resistance (SAR) in plants. *MPMI*, 2011, 24(10): 1239-1246 (doi: 10.1094/MPMI-01-11-0003).
  127. Chen M., Zeng H., Qiu D., Guo L., Yang X., Shi H., Zhou T., Zhao J. Purification and characterization of a novel hypersensitive response-inducing elicitor from *Magnaporthe oryzae* that triggers defense response in rice. *PLoS ONE*, 2012, 7(5): e37654 (doi: 10.1371/journal.pone.0037654).
  128. Kulye M., Liu H., Zhang Y., Zeng H., Yang X., Qiu D. Hrip1, a novel protein elicitor from necrotrophic fungus, *Alternaria tenuissima*, elicits cell death, expression of defence-related genes and systemic acquired resistance in tobacco. *Plant Cell Environ.*, 2012, 35(12): 2104-2120 (doi: 10.1111/j.1365-3040.2012.02539.x).
  129. Liu W.P., Zeng H.M., Liu Y.F., Yuan J.J., Qiu D.W. Expression of *Alternaria tenuissima* PeaT2 gene in *Pichia pastoris* and its function. *Wei Sheng Wu Xue Bao*, 2007, 47(4): 593-597.
  130. Mao J., Liu Q., Yang X., Long C., Zhao M., Zeng H., Liu H., Yuan J., Qiu D. Purification and expression of a protein elicitor from *Alternaria tenuissima* and elicitor-mediated defence responses in tobacco. *Annals of Applied Biology*, 2010, 156(3): 411-420 (doi: 10.1111/j.1744-7348.2010.00398.x).
  131. Zhang W., Li H., Wang L., Xie S., Zhang Y., Kang R., Zhang M., Zhang P., Li Y., Hu Y., Wang M., Chen L., Yuan H., Ding S., Li H. A novel effector, CsSp1, from *Bipolaris sorokiniana*, is essential for colonization in wheat and is also involved in triggering host immunity. *Molecular Plant Pathology*, 2022, 23(2): 218-236 (doi: 10.1111/mpp.13155).
  132. Wang J., Liu S., Ren P., Jia F., Kang F., Wang R., Xue R., Yan X., Huang L. A novel protein elicitor (PeSy1) from *Saccharothrix yanglingensis* induces plant resistance and interacts with a receptor-like cytoplasmic kinase in *Nicotiana benthamiana*. *Molecular Plant Pathology*, 2023, 24(5): 436-451 (doi: 10.1111/mpp.13312).
  133. Tarallo M., McDougal R.L., Chen Z., Wang Y., Bradshaw R.E., Mesarich C.H. Characterization of two conserved cell death elicitor families from the Dothideomycete fungal pathogens *Dothistroma septosporium* and *Fulvia fulva* (syn. *Cladosporium fulvum*). *Front. Microbiol.*, 2022, 13: 964851 (doi: 10.3389/fmicb.2022.964851).
  134. Xu Q., Hu S., Jin M., Xu Y., Jiang Q., Ma J., Zhang Y., Qi P., Chen G., Jiang Y., Zheng Y., Wei Y. The N-terminus of a *Fusarium graminearum*-secreted protein enhances broad-spectrum disease resistance in plants. *Molecular Plant Pathology*, 2022, 23(12): 1751-1764 (doi: 10.1111/mpp.13262).
  135. Wang S., Yang S., Dai K., Zheng W., Zhang X., Yang B., Ye W., Zheng X., Wang Y. The effector Fg62 contributes to *Fusarium graminearum* virulence and induces plant cell death. *Phytopathol. Res.*, 2023, 5: 12 (doi: 10.1186/s42483-023-00167-z).
  136. Janků M., Činčalová L., Luhová L., Lochman J., Petřivalský M. Biological effects of oomycetes elicitors. *Plant Prot. Sci.*, 2020, 56(1): 1-8 (doi: 10.17221/21/2019-PPS).
  137. Derevnina L., Dagdas Y.F., de la Concepcion J.C., Bialas A., Kellner R., Petre B., Domazakis E., Du J., Wu C. H., Lin X., Aguilera-Galvez C., Cruz-Mireles N., Vleeshouwers V.G., Kamoun S. Nine things to know about elicitors. *New Phytol.*, 2016, 212 (4): 888-895 (doi: 10.1111/nph.14137).
  138. Noman A., Aqeel M., Irshad M.K., Qari S.H., Hashem M., Alamri S., AbdulMajeed A.M., Al-Sadi A.M. Elicitins as molecular weapons against pathogens: consolidated biotechnological strategy for enhancing plant growth. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2020, 40(6): 821-832 (doi: 10.1080/07388551.2020.1779174).
  139. Qutob D., Huitema E., Gijzen M., Kamoun S. Variation in structure and activity among elicitors from *Phytophthora sojae*. *Molecular Plant Pathology*, 2003, 4(2): 119-124 (doi: 10.1046/j.1364-3703.2003.00158.x).
  140. Starý T., Satková P., Piterková J., Mieslerová B., Luhová L., Mikulík J., Kašparovský T., Petřivalský M., Lochman J. The elicitor  $\beta$ -cryptogein's activity in tomato is mediated by jasmonic acid and ethylene signalling pathways independently of elicitor-sterol interactions. *Planta*, 2018, 249: 739-749 (doi: 10.1007/s00425-018-3036-1).
  141. Keller H., Bonnet P., Galiana E., Pruvot L., Friedrich L., Ryals J., Ricci P. Salicylic acid mediates elicitor-induced systemic acquired resistance, but not necrosis in tobacco. *MPMI*, 1996, 9: 696-703 (doi: 10.1094/MPMI-9-0696).
  142. Kawamura Y., Hase S., Takenaka S., Kanayama Y., Yoshioka H., Kamoun S., Takahashi H. INF1 elicitor activates jasmonic acid- and ethylene-mediated signalling pathways and induces resistance to bacterial wilt disease in tomato. *Journal of Phytopathology*, 2009, 157: 287-297 (doi: 10.1111/j.1439-0434.2008.01489.x).
  143. Brunner F., Rosahl S., Lee J., Rudd J.J., Geiler C., Kauppinen S., Rasmussen G., Scheel D., Nürnberger T. Pep-13 a plant defense inducing pathogen-associated pattern from *Phytophthora* transglutaminases. *EMBO J.*, 2002, 21(24): 6681-6688 (doi: 10.1093/emboj/cdf667).
  144. Veit S., Worle J. M., Nürnberger T., Koch W., Seitz H.U. A novel protein elicitor (PaNie) from *Pythium aphanidermatum* induce dual defense responses in carrot and *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 2001, 127: 832-841.
  145. Frias M., González M., González C., Brito N. A 25-residue peptide from *Botrytis cinerea* xylanase

- BcXyn11A elicits plant defenses. *Front. Plant Sci.*, 2019, 10: 474 (doi: 10.3389/fpls.2019.00474).
146. Mishura A.A., Sharma K., Misra R.S. Purification and characterization of elicitor protein from *Phytophthora colocalisae* and basic resistance in *Colocasia esculenta*. *Microbiological Research*, 2009, 64: 688-693 (doi: 10.1016/j.micres.2008.09.001).
  147. Bar M., Sharfman M., Avni A. LeEix1 functions as a decoy receptor to attenuate LeEix2 signaling. *Plant Signaling & Behavior*, 2011, 6(3): 455-457 (doi: 10.4161/psb.6.3.14714).
  148. Tundo S., Moschetti I., Faoro F., Lafond M., Giardina T., Favaron F., Sella L., D'Ovidio R. *Fusarium graminearum* produces different xylanases causing host cell death that is prevented by the xylanase inhibitors XIP-I and TAXI-III in wheat. *Plant Science*, 2015, 240: 161-169 (doi: 10.1016/j.plantsci.2015.09.002).
  149. Noda J., Brito N., González C. The *Botrytis cinerea* xylanase Xyn11A contributes to virulence with its necrotizing activity, not with its catalytic activity. *BMC Plant Biol.*, 2010, 10: 38 (doi: 10.1186/1471-2229-10-38).
  150. Ma Y., Han C., Chen J., Li H., He K., Liu A., Li D. Fungal cellulase is an elicitor but its enzymatic activity is not required for its elicitor activity. *Molecular Plant Pathology*, 2015, 16(1): 14-26 (doi: 10.1111/mpp.12156).
  151. Shumilina D., Krämer R., Klocke E., Dzhavakhiya V. MF3 (peptidyl-prolyl cis/trans isomerase of FKBP type from *Pseudomonas fluorescens*) — an elicitor of non-specific plant resistance against pathogens. *Phytopathol. Pol.*, 2006, 41: 39-49.
  152. Struwe W.B., Robinson C.V. Relating glycoprotein structural heterogeneity to function in sights from native mass spectrometry. *Current Opinion in Structural Biology*, 2019, 58: 241-248 (doi: 10.1016/j.sbi.2019.05.019).
  153. Chen X.-L., Shi T., Yang J., Shi W., Gao X., Chen D., Xu X., Xu J.-R., Talbot N. J., Peng Y. L. N-glycosylation of effector proteins by an  $\alpha$ -1,3-mannosyltransferase is required for the rice blast fungus to evade host innate immunity. *Plant Cell*, 2014, 26(3): 1360-1376 (doi: 10.1105/tpc.114.123588).
  154. Takenaka S., Nakamura Y., Kono T., Sekiguchi H., Masunaka A., Takahashi H. Novel elicitin-like proteins isolated from the cell wall of the biocontrol agent *Pythium oligandrum* induce defence-related genes in sugar beet. *Molecular Plant Pathology*, 2006, 7(5): 325-339 (doi: 10.1111/j.1364-3703.2006.00340.x).
  155. Gust A.A., Biswas R., Lenz H.D., Rauhut T., Ranf S., Kemmerling B., Götz F., Glawischnig E., Lee J., Felix G., Nürnberger T. Bacteria-derived peptidoglycans constitute pathogen-associated molecular patterns triggering innate immunity in *Arabidopsis*. *Journal of Biological Chemistry*, 2007, 282(44): 32338-32348 (doi: 10.1074/jbc.M704886200).
  156. Jin Y., Zhao J.-H., Guo H.-S. Recent advances in understanding plant antiviral RNAi and viral suppressors of RNAi. *Curr. Opin. Virol.*, 2021, 46: 65-72 (doi: 10.1016/j.coviro.2020.12.001).
  157. Wang K.D., Empleo R., Nguyen T.T., Moffett P., Sacco M.A. Elicitation of hypersensitive responses in *Nicotiana glutinosa* by the suppressor of RNA silencing protein P0 from poleroviruses. *Molecular Plant Pathology*, 2015, 16(5): 435-448 (doi: 10.1111/mpp.12201).
  158. Cai L., Dang M., Yang Y., Mei R., Li F., Tao X., Palukaitis P., Beckett R., Miller W.A., Gray S.M., Xu Y. Naturally occurring substitution of an amino acid in a plant virus gene-silencing suppressor enhances viral adaptation to increasing thermal stress. *PLoS Pathog.*, 2023, 19(4): e1011301 (doi: 10.1371/journal.ppat.1011301).
  159. Pumphlin N., Voinnet O. RNA silencing suppression by plant pathogens: defence, counter-defence and counter-counter-defence. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2013, 11(11): 745-760 (doi: 10.1038/nrmicro3120).
  160. Dewen Q., Yijie D., Yi Z., Shupeng L., Fachao S. Plant immunity inducer development and application. *MPMI*, 2017, 30(5): 355-360 (doi: 10.1094/MPMI-11-16-0231-CR).
  161. Sokolov Yu. A. *Izvestiya Natsional'noy akademii nauk Belarusi. Seriya khimicheskikh nauk*, 2015, 4: 109-121 (in Russ.).
  162. Dzhavakhiya V., Filippov F., Skryabin K., Voinova T., Kouznetsova M., Shulga O., Shumilina D., Kromina K., Pridanniko M., Battchikova N., Korpela T. *Proteins inducing multiple resistance of plants to phytopathogens and pests. Intern. Pat. Classification: C07K 14/21. Intern. applic. number: PCT/FI2004/000766. Intern. Filing date: 17 December 2004 (17.12.2004). Priority data: 20031880 22 December 2003. Intern. Public. number: WO 2005/061533 A1*
  163. Shen Y., Li J., Xiang J., Xiang J., Wang J., Yin K., Liu Q. Isolation and identification of a novel protein elicitor from a *Bacillus subtilis* strain BU412. *AMB Expr.*, 2019, 9: 117 (doi: 10.1186/s13568-019-0822-5).