
КЛЕТОЧНАЯ БИОЛОГИЯ И ФИЗИОЛОГИЯ

CELL BIOLOGY AND PHYSIOLOGY

УДК 581.192.7

РОЛЬ ЭНДОГЕННЫХ ПЕПТИДНЫХ ЭЛИСИТОРОВ В УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ К БИОТИЧЕСКИМ СТРЕССАМ

Г. Г. ФИЛИПЦОВА¹⁾

¹⁾Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, 220030, г. Минск, Беларусь

Пептидные элиситоры (Peps) представляют собой один из классов веществ-элиситоров, образующихся в клетках растений в ответ на действие различных биотических стрессоров и способствующих формированию неспецифической устойчивости. Они широко распространены у различных представителей покрытосеменных, включая важные сельскохозяйственные культуры, и могут рассматриваться как перспективный класс соединений для создания экологически безопасных препаратов, индуцирующих фитоиммунитет и повышающих устойчивость растительных организмов к стрессовым воздействиям. В работе проведен анализ современных литературных данных о функциональной активности эндогенных пептидных элиситоров растений, механизмах Пер-сигналинга и их роли в устойчивости к биотическим стрессорам.

Ключевые слова: пептидные элиситоры растений; механизмы сигналинга; устойчивость растений; биотический стресс.

Образец цитирования:

Филипцова Г.Г. Роль эндогенных пептидных элиситоров в устойчивости растений к биотическим стрессам. *Журнал Белорусского государственного университета. Биология*. 2019;2:3–12.
<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2019-2-3-12>

For citation:

Filipstova HG. The role of endogenous elicitor peptides in plant resistance to biotic stress. *Journal of the Belarusian State University. Biology*. 2019;2:3–12. Russian.
<https://doi.org/10.33581/2521-1722-2019-2-3-12>

Автор:

Галина Григорьевна Филипцова – кандидат биологических наук; доцент кафедры клеточной биологии и биоинженерии растений биологического факультета.

Author:

Halina G. Filipstova, PhD (biology); associate professor at the department of plant cell biology and bioengineering, faculty of biology.
filiptsova@bsu.by

THE ROLE OF ENDOGENOUS ELICITOR PEPTIDES IN PLANT RESISTANCE TO BIOTIC STRESS

H. G. FILIPTSOVA^a

^aBelarusian State University, 4 Niezaliežnasci Avenue, Minsk 220030, Belarus

Plant elicitor peptides (Peps) are one class of elicitor substances, which are formed in plant cells in response to various biotic stressors and induced of nonspecific plant resistance. They are present and active in angiosperms, including many important agricultural crops, and can be considered as a promising class of compounds for creating environmentally safe drugs that induce phytoimmunity and increase the resistance of plants to stress. In this paper, an analysis of current literature data on the functional activity of endogenous plant elicitor peptides, the mechanisms of Pep-signaling and their role in plant resistance to biotic stresses is carried out.

Keywords: plant elicitor peptides; signaling mechanisms; plant resistance; biotic stress.

Введение

Рост и развитие растения происходят в непрерывной связи с окружающей средой. На него оказывают влияние не только абиотические факторы (свет, температура, влажность), но и биотические, в первую очередь фитопатогены. Длительная эволюция растений вместе с микроорганизмами привела к формированию ряда механизмов узнавания и противодействия внедрению и распространению фитопатогенов в тканях растения-хозяина. При контакте патогенные микроорганизмы выделяют целый набор соединений, обеспечивающих их проникновение в растительную ткань. Вместе с тем растение воспринимает данные сигналы и осуществляет индукцию сигнальных систем, приводящих к запуску защитных механизмов.

Врожденный фитоиммунитет обусловлен генетически детерминированной способностью растительной клетки узнавать молекулы различного химического состава, выделяемые бактериями, грибами, насекомыми-вредителями. Поскольку данные вещества вызывают иммунный ответ, их принято называть элиситорами. В зависимости от происхождения экзогенные элиситоры могут быть подразделены на MAMPs (microbe-associated molecular patterns), другое их название – PAMPs (pathogen-associated molecular patterns), HAMPs (herbivory-associated molecular patterns) и VAMPs (virus-associated molecular patterns) [1–3]. Растения воспринимают данные соединения с помощью рецепторов, известных как PRRs (pattern recognition receptors), расположенных на внешней поверхности цитоплазматической мембраны растительной клетки и осуществляющих запуск механизмов физиологического ответа [3–5]. Возникающая серия защитных реакций растения на MAMPs известна в научной литературе как PTI (pattern-triggered immunity) [3; 4]. Согласно современным представлениям PTI включает быстрые, а также длительные физиологические реакции, в том числе такие, как продуцирование активных форм кислорода (АФК), изменение ионной проницаемости цитоплазматической мембраны, индукция защитных генов, активация протеолитических ферментов, усиление синтеза вторичных метаболитов, обладающих противомикробным действием, лигнизация клеточных стенок, синтез фитоалексинов и др.

В последние годы стало очевидным, что в ответ на действие стрессовых факторов (повреждение либо внедрение патогена) в растениях образуются эндогенные элиситоры, также способные вызывать PTI. Эти соединения принято называть в научной литературе DAMPs (damage(danger)-associated molecular patterns) [1; 2; 5]. Параллельное использование терминов *damage* (повреждение) и *danger* (опасность) в контексте DAMPs указывает на механистические, а также функциональные различия между соединениями данной группы. Например, к DAMPs относятся фрагменты клеточных стенок растений, такие как олигогалактурониды или мономеры кутина, образующиеся пассивно при механическом повреждении ткани растения [6]. С другой стороны, существует группа пептидных DAMPs, таких как системны или Peps (plant elicitor peptides), образование которых находится под контролем растения-хозяина [1; 7; 8]. Эндогенные пептидные элиситоры образуются из растительных белков-предшественников, затем они распознаются специфическими рецепторами и запускают каскад защитных реакций, приводящих в конечном итоге к увеличению устойчивости растения к действию стрессовых факторов [8; 9]. Установлено, что Pep-зависимая передача сигналов повышает устойчивость к бактериальным, грибковым, вирусным патогенам, защищает от травоядных насекомых, а также действия абиотических стрессоров [10; 11]. В дополнение к их роли в иммунитете появляется все больше доказательств того, что Peps участвуют в регуляции роста и развития растений [12; 13].

Первый представитель эндогенных пептидных элиситоров Peps был выделен в 2006 г. из листьев *Arabidopsis thaliana* и назван AtPep1 [5]. Через год в кукурузе *Zea mays* было обнаружено аналогичное по химическому составу и физиологическим функциям соединение ZmPep1 [10]. Интенсификация исследований в данной области показала, что Peps широко распространены. К настоящему времени эндогенные пептидные элиситоры идентифицированы у более чем 50 видов растений из различных семейств: Brassicaceae (арабидопсис, репа), Solanaceae (картофель, баклажан, перец, томаты), Fabaceae (соя, арахис, люцерна), Poaceae (однодольные: кукуруза, рис, сорго) [9; 14; 15]. Совсем недавно эндогенные пептидные элиситоры идентифицированы у 10 видов растений семейства Rosaceae [16]. Вероятнее всего, образование эндогенных пептидных элиситоров в ответ на механическое повреждение или действие биотических стрессоров широко распространено в мире флоры и характерно для многих видов. Хотя, несмотря на попытки, до сих пор Peps и их предшественники не обнаружены у голосеменных растений.

Образование Peps

Как уже отмечалось, AtPep1 был первым идентифицированным эндогенным пептидным элиситором, участвующим в регуляции антимикробной защиты у растений арабидопсиса. Данный пептид состоит из 23 аминокислотных остатков (ATKVKAKQGRGKEKVSSGRPGQHN) и образуется из С-терминального конца более крупного белка-предшественника PROPEP1 [5]. К настоящему времени в арабидопсисе обнаружено 8 гомологов AtPeps и соответственно 8 белков-предшественников PROPEP1 – PROPEP8 [17]. PROPEPs, как правило, содержат около 100 аминокислот и кодируются небольшими семействами генов. У арабидопсиса были идентифицированы 8 генов *PROPEP*, у кукурузы – 7 [9; 12], у других видов покрытосеменных растений их количество ограничено 1–2 генами [15].

Индукция генов *PROPEP* осуществляется при механическом повреждении листьев (например, насекомыми), бактериальными, грибковыми и вирусными патогенами, а также при обработке растений стрессовыми гормонами и некоторыми Peps [9–11; 12; 18]. Причем разные гомологи пептидов индуцируются различными стимулами. Показано, что транскрипция генов *AtPROPEP1* и *ZmPROPEP1* осуществляется при поражении растений грибковыми инфекциями, тогда как транскрипция генов *AtPROPEP3* и *ZmPROPEP3* возрастает при механическом повреждении тканей насекомыми-вредителями [10; 11; 19; 20]. Транскрипция *AtPROPEP2* и *AtPROPEP3* индуцируется при обработке растений AtPeps и некоторыми бактериальными элиситорами [5; 9; 18; 21]. Ранение листа вызывает транскрипцию *AtPROPEP5* и *AtPROPEP8*, тогда как *AtPROPEP4* и *AtPROPEP7* вообще не индуцируются [12]. Более того, установлено, что ни обработка стрессовыми гормонами (жасмоновой и салициловой кислотами), ни воздействие пептидов AtPep1 – AtPep6 не приводит к повышенной транскрипции генов *AtPROPEP4*, *AtPROPEP5* и *AtPROPEP6* [9]. Предполагают, что первые три гена *AtPROPEPs* связаны с иммунитетом растений, их индукция приводит к образованию AtPep1, AtPep2 и AtPep3, являющихся РТИ-индуцирующими пептидами, тогда как пептиды AtPep4 – AtPep8 дополнительно могут участвовать в регуляции иных клеточных процессов, не связанных с защитой [12].

Несмотря на очевидную общую роль пептидных элиситоров у разных видов растений, их гомология на основе аминокислотных последовательностей не очень высокая. Ранее указывалось, что среди PROPEPs из *Arabidopsis* общая идентичность аминокислотных последовательностей составляет от 12 до 47 % [22]. В работе М. Лори и др. [15] осуществлен поиск последовательностей PROPEPs в базах данных секвенированных геномов растений и проведена идентификация гомологии PROPEPs как внутри одного вида, так и между разными видами покрытосеменных растений. Показано, что большинство PROPEPs, принадлежащих различным семействам растений, содержат менее 10 % идентичных аминокислотных последовательностей. Однако внутри одного семейства PROPEPs образуют специфические кластеры и подкластеры, например, у представителей семейства Brassicaceae идентичность аминокислотных последовательностей различных гомологов PROPEPs составляет более 50 % [15]. Предполагается, что терминальный конец PROPEP, содержащий функционально активную последовательность Peps, более консервативен [5]. Все же идентичность последовательности Peps внутри кластера не является абсолютной и варьирует от 43,5 до 100,0 % [15].

Относительно РЕР-рецепторов на сегодняшний день показано, что большинство видов растений содержат только один такой рецептор, исключение составляет арабидопсис, у которого обнаружено два рецептора: PEPR1 и PEPR2 [17; 23]. Идентичность аминокислотных последовательностей рецепторов внутри кластера составляет до 90 %, общий уровень гомологии между различными кластерами равен примерно 40 % [15].

Представленные данные свидетельствуют о различиях в структуре, а следовательно, и в функциональной активности Peps у представителей разных семейств растений. Возникает вопрос: какова структурная основа восприятия и специфичности Peps? В литературе имеются сведения о том, что растения

не воспринимают Peps, происходящие от представителей других семейств, несмотря на наличие рецепторов. Так, в работе [11] указывается, что баклажаны и соя нечувствительны к обработке пептидными элиситорами, образуемыми видами за пределами семейств Solanaceae и Fabaceae соответственно. Для определения специфики восприятия Peps между различными видами и семействами растений в работе [15] была исследована элиситорная активность различных гомологов Peps у представителей трех семейств: Brassicaceae, Solanaceae и Poaceae. Установлено, что AtPeps воспринимаются только арабидопсисом и его близким родственником *Brassica rapa*. Под действием пептидов усиливается выделение стрессового гормона этилена, отсутствующего у представителей других семейств. Аналогичные результаты получены для пептидов ZmPeps, воспринимаемых только однодольными растениями, а также NbPer и StPer, проявляющих элиситорную активность на растениях *Nicotiana benthamiana* и *Solanum lycopersicum* [15]. Очевидно, что гомологи пептидных элиситоров хорошо воспринимаются растениями разных видов в пределах одного семейства и обычно не распознаются растениями из различных семейств. В связи с этим говорят о межвидовой совместимости в восприятии Peps и несовместимости между различными семействами.

Относительно немного известно об экспрессии PROPEP в различных тканях растений. Транскрипционный анализ растений *Arabidopsis* показал, что наиболее высокое содержание всех генов AtPROPEPs характерно для клеток корней, при этом AtPROPEP4 и AtPROPEP7 ограничены кончиками первичного и боковых корней [12]. Гены AtPROPEP1, AtPROPEP2 и AtPROPEP3 также имеют наиболее высокий уровень экспрессии в корне, исключая его верхушку. В листьях, напротив, активность этих генов крайне низкая, но механическое ранение листовых пластинок приводит к их индукции в проводящей ткани. Кроме того, в клетках листьев выявлена высокая активность AtPROPEP5, а в тканях цветка обнаружены гены AtPROPEP8 [12]. В зависимости от локализации и условий экспрессии авторы разделяют AtPROPEPs на две отдельные группы: первая группа включает гены PROPEP1, PROPEP2, PROPEP3, PROPEP5 и PROPEP8, экспрессирующиеся в корнях и в меньшей степени в проводящих сосудах листьев, их экспрессия индуцируется ранением; вторая группа включает гены PROPEP4 и PROPEP7, их экспрессия ограничена кончиками корней и не индуцируется ранением.

Что касается чувствительности различных зон корня к экзогенной обработке AtPeps, в работе [24] установлено, что наиболее отзывчивыми являются клетки зоны всасывания и зоны дифференцировки. Авторы предполагают, что эти клетки имеют менее жесткую клеточную стенку по сравнению со зрелыми клетками, следовательно, могут иметь повышенную восприимчивость по отношению к потенциальным вредителям или повреждающим факторам.

Флуоресцентная микроскопия меченых предшественников пептидов позволила выявить, что члены семейства PROPEPs присутствуют в двух разных субклеточных компартментах: цитозоле и тонопласте [12]. Например, PROPEP3 является водорастворимым белком и локализуется в цитоплазме, тогда как PROPEP1 и PROPEP6 связаны с внешней поверхностью тонопласта. Для индукции защитных сигналов в растениях PROPEPs должны быть расщеплены с высвобождением функционально активных Peps. Предполагают, что высвобождение Peps в апопласт может происходить пассивно при повреждении целостности клеток либо активно в качестве реакции на сигналы опасности (например, другие элиситоры или стрессовые гормоны). Попадая в апопласт, пептидные элиситоры связываются с рецепторами на мембранах соседних клеток, вызывая клеточный ответ и усиливая иммунитет.

В настоящее время очень мало известно о ферментах, расщепляющих предшественники пептидов. Относительно недавно в растениях арабидопсиса обнаружена метакаспаза (METACASPASE-9), осуществляющая расщепление внеклеточного белка GRIM REAPER [25]. Поскольку METACASPASE-9, как и другие метакаспазы растений, представляет собой лизин и аргининспецифическую протеазу, а AtPROPEP1 содержит аргинин перед последовательностью AtPer1, предполагают, что METACASPASE-9 является одним из возможных ферментов, расщепляющих PROPEPs. Но для этого PROPEPs должны вначале выйти в межклеточное пространство, что возможно при механическом повреждении клетки. Другими вероятными кандидатами на роль расщепляющих PROPEPs ферментов являются внутриклеточные метакаспазы [2].

Восприятие Peps-сигнала

Рецепторы для эндогенных пептидных элиситоров, обозначаемые PEPRs, представляют собой трансмембранные белки, расположенные на цитоплазматической мембране и принадлежащие к большому классу LRR (Leucine-Rich Repeat) богатых лейцином рецепторподобных киназ RLK (Receptor-Like Kinase) [22; 23]. Анализ генов *Arabidopsis AtPEPR* показал, что они конститутивно экспрессируются в корне и в несколько меньшей степени в стебле и проводящих сосудах листовых пластинок [2]. При этом ген PEPR2 в основном активен в центральном цилиндре корня, тогда как экспрессия PEPR1

присутствует в большинстве тканей корня. Экспрессия генов *PEPR1* и *PEPR2* практически отсутствует в цветах. Механическое повреждение вегетативных тканей растения, а также обработка метилжасмоном приводят к быстрой (от 30 мин до 1 ч), но переходной индукции транскрипции генов *AtPEPR1* и *AtPEPR2* [23].

Структура рецептора, механизм связывания с Peps и пути передачи сигнала изучены на примере арабидопсиса [19–21]. Рецептор имеет два домена: внеклеточный LRR-домен для связывания с AtPeps и внутриклеточный домен, проявляющий киназную активность. LRR-домен характеризуется значительной пластичностью у разных видов растений, тогда как внутриклеточная часть PEPR более консервативна [2]. С ней взаимодействует корецептор BAK1 (BRASSINOSTEROID-INSENSITIVE-ASSOCIATED KINASE1) [19].

AtPeps связываются с внеклеточным LRR-доменом рецептора. AtPEPR1 способен взаимодействовать со всеми восемью AtPeps, тогда как AtPEPR2 обнаруживает только AtPep1 и AtPep2 [12]. Поскольку двойные мутанты *Arabidopsis pep1 pep2* оказались нечувствительными ко всем AtPeps, предполагают, что это единственные рецепторы, способные воспринимать Peps [17; 23].

Замещение различных аминокислот в пептидах AtPeps позволило идентифицировать три важнейшие консервативные аминокислоты на С-концевом участке: серин-15, глицин-19 и аспарагин-23, обеспечивающие взаимодействие с рецептором. Замена этих аминокислот приводит к значительному снижению чувствительности клеток к модифицированным пептидам AtPep1 [26]. Важность этих аминокислот была подтверждена при изучении кристаллической структуры комплекса AtPep1/AtPEPR1-LRR. Вместе с тем установлено, что другие аминокислоты также способствуют стабильному взаимодействию Peps с рецептором и запуску путей сигнальной трансдукции. Так, для индукции защитных ответов при восприятии AtPep1 необходимо взаимодействие AtPEPR1 с корецептором BAK1 [27]. Решающее значение в нем играют аминокислоты пролин-19, глутамин-21 и гистидин-22 [28]. Очевидно, С-концевой мотив пептида из 9 аминокислот сохраняется во всех 8 гомологах AtPeps и определяет их взаимодействие с рецептором и функциональную активность.

Данные секвенированных геномов других растений показали, что гомологи AtPEPR присутствуют у большого числа видов покрытосеменных. Подобно ситуации с *Arabidopsis*, большинство видов растений содержат один или два *PEPR*, но очень немногие из них охарактеризованы. Помимо двух AtPEPR из *Arabidopsis*, были исследованы рецепторы ZmPEPR1 из *Zea maise* и SlPEPR1 из *Solanum lycopersicum*, показана их способность воспринимать ZmPep1 и SlPep1 соответственно и активировать РТТ-подобный ответ [15]. Эндогенные пептиды этих растений имеют отличную структуру С-концевого мотива, например, SlPep6 в положении 15 вместо серина содержит глицин, а ZmPep1 в положении 23 вместо аспарагина – гистидин. Таким образом, можно заключить, что пептидные элиситоры растений, принадлежащие различным семействам, не имеют общего и строго консервативного Пер-мотива, но каждое семейство приобрело свой собственный довольно чистый Пер-мотив, который определяет способность взаимодействовать с рецептором и запускать защитный ответ.

Запуск путей сигнальной трансдукции

После присоединения AtPeps к рецептору происходит индукция целого ряда сигнальных путей, приводящих в конечном итоге к повышению устойчивости растения к стрессовым факторам. Начальные стадии этого процесса были довольно хорошо изучены на молекулярном уровне. Выявлено, что PEPR используют сигнальные пути, во многом аналогичные тем, которые активируются бактериальными элиситорами флагеллином (flg22) или фактором элонгации (EF-Tu) после их присоединения к соответствующим рецепторам FLS2 (FLAGELLIN SENSING2) и EFR [2]. Подобно флагеллину, при связывании AtPep1 с рецептором AtPEPR1 последний взаимодействует с корецептором BAK1 с последующим фосфорилированием как BAK1, так и AtPEPR1 [29]. Далее AtPEPR1 взаимодействует с BIK1 (BOTRYTIS-INDUCED KINASE1) и осуществляет его фосфорилирование [19]. Фосфорилированный BIK1 может покинуть комплекс аналогично тому, как он покидает рецептор FLS2 при восприятии flg22, и приводить к активации синтеза жасмоновой кислоты [30].

В отличие от FLS2 AtPEPR1 и, возможно, AtPEPR2 содержат цитозольный домен гуанилатциклазы, способной продуцировать циклический ГМФ (цГМФ) [31]. При связывании AtPep1 с рецептором происходит активация гуанилатциклазы, что вызывает локальное увеличение уровня цГМФ, приводящего к активации нуклеотидзависимых катионных каналов CNGC2 (CYCLIC NUCLEOTIDE GATED CATION CHANNEL2), расположенных на цитоплазматической мембране клетки и обеспечивающих вход внеклеточного Ca^{2+} в цитоплазму. Увеличение цитоплазматической концентрации ионов Ca^{2+} активирует целый ряд Ca^{2+} -зависимых путей сигнализации. В частности, под действием ионов кальция происходят процессы трех основных групп процессов: активация НАДФН-оксидазы, функционирование которой приводит

к повышению уровня супероксидных анион-радикалов и перекиси водорода снаружи клетки; активация кальмодулина и кальмодулинподобных белков и синтез NO в клетке; активация кальцийзависимых протеинкиназ [31; 32]. Очевидно, что первая и вторая группы процессов приводят к увеличению уровня АФК, с одной стороны являющихся сигнальными молекулами, с другой стороны способных вызвать локальный окислительный взрыв (реакция сверхчувствительности). Продукция АФК есть ранний ответ растительных клеток на многие MAMPs. Сравнение уровней АФК в ответ на обработку различными элиситорами показывает, что под действием AtPep1 уже через 10 мин содержание АФК в изолированных корнях арабидопсиса увеличивается в 3–4 раза по сравнению с контролем, аналогичные данные наблюдаются при действии flg22, гораздо меньшее влияние на исследуемый параметр оказывает гептомер хитина [24]. Следовательно, Peps индуцируют мощный всплеск АФК, сравнимый с действием флагеллина. В настоящий момент существует ряд убедительных доказательств того, что Ca^{2+} -зависимая генерация АФК играет важную роль в передаче сигналов, индуцирующих фитоиммунитет [32–34].

Параллельно с описанными процессами под действием Peps активируются каскады MAP-киназ. В [12] показано, что в *Arabidopsis* рецепция AtPeps приводит к фосфорилированию по меньшей мере двух типов MAP-киназ: МРК6 и МРК3. Активированные MAP-киназы вызывают синтез защитных гормонов этилена и жасмоновой кислоты. При этом они работают параллельно и синергично с кальцийзависимыми протеинкиназами [32; 35]. Все эти события влияют на активность факторов транскрипции, в том числе WRKY, которые, в свою очередь, индуцируют экспрессию защитных генов, а также транскрипцию *PROPEP* и *PEPR* [12; 24; 31].

Из представленных данных очевидно, что сигнальные пути Peps во многом схожи, но неидентичны таковым для бактериальных элиситоров. Как упоминалось выше, Peps, а также flg22 индуцируют подобные наборы защитных генов через MAP-киназный и кальцийзависимый протеинкиназный сигнальные пути. Одно из различий в сигналинге между flg22 и Peps заключается в их влиянии на синтез защитных гормонов. Оба элиситора инициируют синтез этилена в *Arabidopsis*, но восприятие flg22 приводит к повышению синтеза салициловой кислоты, тогда как AtPeps вызывают существенное увеличение уровня жасмоновой кислоты [20; 35; 36]. Исследование экспрессии генов в растениях *Arabidopsis* показало, что экзогенная обработка AtPep2 приводит к индукции генов ингибиторов протеаз (*LTP*, *TII*), пероксидаз (*PRX52*), а также ряда генов, вовлеченных в жасмонатный сигнальный путь (*JAZ10*, *LOX3*, *AOC1*) [18]. Восприятие AtPep-сигнала индуцирует транскрипцию генов *PDF1.2* (plant defensin 1.2) и *VSP2* (vegetative storage protein 2), которые являются маркерами жасмоновой кислоты [37]. Схожие группы генов активируются при обработке кукурузы элиситором ZmPep3. В частности, наблюдается значительно повышенное накопление транскриптов, кодирующих биосинтетические ферменты для синтеза этилена и жасмоновой кислоты: 1-аминоциклопропан-1-карбоксилат оксидазы, алленоксидсинтазы и алленоксидциклазы [11]. Многочисленные экспериментальные данные свидетельствуют, что PEPR-опосредованная сигнализация особенно тесно связана с жасмонатным сигнальным путем [9; 18; 20; 37].

В работе [24] проведено сравнение уровней экспрессии ряда защитных генов в корнях арабидопсиса под действием элиситоров различной природы – DAMP AtPep1 и двух MAMPs – флагеллина (flg22) и гептамера хитина (chi7). Показано, что количество значимых ответов маркеров было наибольшим для AtPep1 ($n = 18$), за которым следовали ответы на flg22 ($n = 10$) и ответы на chi7 ($n = 6$). При этом маркеры гормонов, связанных с активацией жасмонатного и салицилатного сигнальных путей, активировались только при обработке AtPep1, в то время как после восприятия flg22 и chi7 никаких значительных изменений в их уровне экспрессии не наблюдалось [24]. Данное исследование доказывает, что обработка растений AtPep1 приводит к более сильному ответу изученных защитных генов в корнях по сравнению с бактериальными элиситорами флагеллином и хитином.

Помимо индукции защитных генов, при восприятии AtPeps клеткой происходит изменение экспрессии генов, напрямую не связанных с защитой. Выявлено, что экзогенная обработка растений арабидопсиса пептидом AtPep1 вызывает ингибирование роста корневой системы [24]. Добавление в среду 100 нмоль/л и 1 мкмоль/л AtPep1 приводит к уменьшению длины первичного корня проростков *Arabidopsis* в 2,5 и 8,5 раза соответственно. Этот дозозависимый эффект AtPep1 не наблюдается у двойных мутантных растений *pepr1 pepr2*, у которых отсутствуют рецепторы для AtPeps. Имеются данные, что обработка растений AtPep1 вызывает репрессию генов *GLUTAMINE DUMPER* (*GDUs*), кодирующих транспортеры аминокислот и, следовательно, влияющих на рост и развитие корней [2; 12]. Кроме того, в листьях *Arabidopsis* в условиях темнового стресса под действием AtPep1 происходит быстрая индукция генов *PAO*, ответственных за деградацию хлорофилла, а также *APG7* и *APG8a*, связанных с аутофагией [13]. Показано, что этот ответ зависел от передачи этилена и ингибировался добавлением цитокининов. Поскольку под действием Peps происходит изменение гормонального статуса растений, функциональная активность их пептидных элиситоров может быть гораздо шире, чем предполагалось ранее, и связана не только с индукцией защитных реакций, но и с регуляцией роста и развития.

Ингибирование роста проростков, а также отложение каллозы являются маркерами поздних РТИ-ответов. Установлено, что AtPeps, а также flg22 запускают оба эти ответа, хотя существуют некоторые различия [12; 19]. Обработка flg22 влияет на рост и развитие всего проростка, тогда как ингибирующий эффект AtPer проявляется главным образом на корнях [17; 24].

Еще одним поздним ответом Пер-опосредованной сигнализации является индукция синтеза вторичных метаболитов. Накопление ряда соединений вторичной природы, таких как алкалоиды, терпеноиды, фенилпропаноиды, глюкозинолаты и др., представляет собой одну из важнейших систем химической защиты растений в ответ на самые разнообразные стрессовые воздействия. Особенно велика их роль в защите от насекомых-вредителей. Эти метаболиты могут быть токсичными для насекомых, либо обладать антипитательными свойствами, т. е. выступать в качестве пищевых сдерживающих факторов, либо подавлять рост и развитие насекомых посредством имитации их гормонов [38]. В настоящее время влияние Peps на накопление вторичных метаболитов исследовано главным образом на кукурузе. Установлено, что обработка растений кукурузы пептидом ZmPer1 вызывает усиленный синтез антрацилина и индола, являющихся предшественниками гликозида 2,4-дигидрокси-7-метокси-1,4-бензоксазин-3-она [39]. Это соединение обладает сильными антибиотическим, фунгицидным и инсектицидным эффектами по отношению к бактериальным, грибковым фитопатогенам и насекомым-вредителям. Накопление гликозида 2,4-дигидрокси-7-метокси-1,4-бензоксазин-3-она кукурузой является важным компонентом защиты от *Diatraea grandiosella*, *Spodoptera littoralis* и *Spodoptera frugiperda* [39–41].

В работе [11] было проанализировано влияние пяти различных ZmPeps на синтез летучих соединений кукурузой. Данная реакция растений считается универсальным ответом растений на повреждающее воздействие травоядными насекомыми путем привлечения их естественных хищников, а также важным инструментом для общения с соседними растениями. Четыре из пяти исследуемых пептидов стимулировали выброс летучих соединений терпеноидной природы, при этом ZmPer3 проявил наиболее сильный элиситорный эффект [11]. Показано, что обработка различных сортов кукурузы пептидом ZmPer3 в пикомолярных концентрациях способствовала выделению летучих веществ, схожих с соединениями, выделяемыми растениями при атаке травоядными насекомыми *Spodoptera exigua*. Эти соединения привлекают естественных врагов многих видов чешуекрылых – энтомопаразитных ос *Cotesia marginiventris* [42]. Таким образом, очевидно, что экзогенная обработка растений пептидными элиситорами воспринимается ими как сигнал опасности и приводит к запуску целого ряда как быстрых, так и длительных защитных реакций, вносящих определенный вклад в иммунитет растений.

Формирование местного и системного иммунитета растений

Исследователи давно задавались вопросом о роли Peps-сигналинга в формировании механизмов устойчивости растений к биотическим стрессорам. Сложность в понимании общей картины обусловлена отсутствием экспериментальных данных, объясняющих механизм высвобождения Peps во внеклеточное пространство, где они могли бы взаимодействовать с PEP-рецепторами. В настоящее время обсуждаются две модели: модель повреждения и модель опасности [2]. Согласно первой модели PROPEP и Peps пассивно выделяются во внеклеточное пространство при повреждении клетки, окружающие клетки обнаруживают Peps и индуцируют РТИ-подобный ответ. Для формирования быстрого защитного эффекта эта модель требует конститутивного присутствия PROPEP в большинстве клеток растения. Модель опасности (или усилителя) предполагает, что после атаки фитопатогена и обнаружения MAMPs (например, флагеллина) растительной клеткой запускается РТИ, в результате чего во внеклеточное пространство активно выделяется PROPEP и Peps. Как и в предыдущей модели, соседние клетки обнаруживают присутствие PROPEP и Peps во внеклеточном пространстве и индуцируют РТИ-подобный отклик, тем самым усиливая исходный сигнал опасности. Какая из моделей более верно отражает реальную картину, пока не доказано. Обе модели могут быть правильными в зависимости от конкретного типа PEPs. Как показано выше, PROPEPs различаются по аминокислотным последовательностям, субклеточной локализации, и, возможно, некоторые из них конститутивно присутствуют в клетке и высвобождаются после повреждения, тогда как образование других индуцируется при обнаружении патогенного организма.

Несмотря на отсутствие четкого понимания механизма функционирования Peps, количество доказательств их участия как в местном, так и в системном иммунитете с каждым годом увеличивается [5; 9–11; 12; 18; 27; 38]. Установлено, что Peps способствуют формированию устойчивости растений к различным биотическим стрессорам, включая бактерии, грибы и травоядных животных.

Первые данные об участии AtPeps в иммунном ответе растений были представлены в 2006 г. [5]. Авторы показали, что трансгенные растения *Arabidopsis* с повышенной экспрессией гена *PROPEP1* проявляли более высокую устойчивость к корневому патогену *Pythium irregulare*. Позже показано

участие системы Пер – PEPR в устойчивости растений арабидопсиса к грибковым патогенам *Botrytis cinerea* [19]. Мутантные растения *pepr1 pepr2* имеют повышенную восприимчивость к *P. syringae*, *Botrytis cinerea* и *Colletotrichum higginsianum*, что свидетельствует о том, что PEPR-опосредованная передача сигналов участвует в иммунитете к разнообразным патогенам [24].

Вклад Перс в резистентность растений к травоядным насекомым-вредителям и фитопатогенным грибам был отмечен на растениях кукурузы [10; 11]. Показано, что предварительная обработка растений кукурузы ZmPer1 приводит к повышенной устойчивости к грибковым патогенам *Cochliobolus heterostrophus* и *Colletotrichum graminicola* [10], тогда как обработка ZmPer3 усиливает устойчивость к травоядным насекомым *Spodoptera exigua* [11]. Защитный ответ растений включал индукцию синтеза жасмоновой кислоты и этилена, экспрессию ряда защитных генов, усиление синтеза вторичных метаболитов.

Защитная роль Перс по отношению к насекомым-вредителям установлена и на мутантных растениях арабидопсиса *pepr1 pepr2*, на которых личинки *Spodoptera littoralis* намного лучше развивались по сравнению с растениями дикого типа [20]. Авторами показано, что обработка листьев арабидопсиса слюнным секретом гусеницы *Spodoptera littoralis* запускает PEPR-опосредованную сигнализацию и уже через 4 ч после обработки приводит к 5-кратному увеличению уровня этилена и жасмоновой кислоты и незначительному повышению содержания салициловой кислоты.

Изучена роль Перс у томатов. Растения с молчащим геном *SIPROPEP1* демонстрировали пониженный уровень экспрессии вирусиндуцируемых защитных генов. Эти растения имели пониженную резистентность к некротрофическому грибу *Pythium dissotocum* [14]. Недавно было проведено исследование, связанное с выявлением роли Перс у фруктовых культур семейства Rosaceae [16]. Подтверждено наличие системы Пер – PEPR в этом семействе и показано, что обработка растений *Prunus spp.* наномолярными концентрациями Перс вызывает индукцию ряда защитных генов и повышение устойчивости к *Xanthomonas arboricola*.

В целом можно заключить, что к настоящему времени проведены многочисленные исследования, подтверждающие вклад системы Пер – PEPR в устойчивость растений к большому количеству разнообразных фитопатогенных организмов и насекомых-вредителей. Показано, что, подобно flg22, локальная обработка отдельных тканей растения пептидами AtPerps является достаточной для индуцирования системного иммунитета [18; 36]. Поскольку PROPEPs и PEPR присутствуют не во всех тканях растительного организма, высказано предположение, что система Пер – PEPR, скорее всего, способствует или усиливает генерацию неизвестного системного сигнала.

Заключение

Эндогенные пептидные элиситоры растений представляют собой важное звено в формировании устойчивости растений к разнообразным биотическим стрессорам. Пер-сигналинг может индуцировать и усиливать защитные отклики растительной клетки в ответ на внедрение фитопатогенов и насекомых-вредителей. При этом развивается серия неспецифических реакций, приводящих к формированию индуцированной устойчивости. Следовательно, экзогенная обработка растений синтетическими аналогами пептидных элиситоров может рассматриваться как своего рода иммунизация, способствующая возникновению неспецифической устойчивости сельскохозяйственных культур к широкому кругу фитопатогенных организмов и травоядных насекомых. С нашей точки зрения, синтетические пептидные элиситоры могут служить основой для разработки экологически безопасных препаратов, индуцирующих как локальный, так и системный иммунитет растений и снижающих потребность в использовании пестицидов.

Библиографические ссылки / References

1. Albert M. Peptides as trigger of plant defence. *Journal of Experimental Botany*. 2013;64:5269–5279. DOI: 10.1093/jxb/ert275.
2. Bartels S, Boller T. Quo vadis, Pep? Plant elicitor peptides at the crossroads of immunity, stress, and development. *Journal of Experimental Botany*. 2015;66:5183–5193. DOI: 10.1093/jxb/erv180.
3. 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.
4. Jones JD, Dangl JL. The plant immune system. *Nature*. 2006;444:323–329. DOI: 10.1038/nature05286.
5. Huffaker A, Pearce G, Ryan CA. An endogenous peptide signal in *Arabidopsis* activates components of the innate immune response. *PNAS USA*. 2006;103(26):10098–10103. DOI: 10.1073/pnas.0603727103.
6. Ferrari S, Savatin DV, Sicilia F, Gramegna G, Cervone F, Lorenzo GD. *Oligogalacturonides: plant damage-associated molecular patterns and regulators of growth and development*. *Frontiers in Plant Science*. 2013;4:49. DOI: 10.3389/fpls.2013.00049.

7. Ryan CA, Pearce G. Systemins: a functionally defined family of peptide signal that regulate defensive genes in *Solanaceae* species. *PNAS USA*. 2003;100. Supplement 2:14577–14580. DOI: 10.1073/pnas.1934788100.
8. Yamaguchi Y, Huffaker A. Endogenous peptide elicitors in higher plants. *Current Opinion in Plant Biology*. 2011;14(4):351–357. DOI: 10.1016/j.pbi.2011.05.001.
9. Huffaker A, Ryan A. Endogenous peptide defense signals in *Arabidopsis* differentially amplify signaling for the innate immune response. *PNAS USA*. 2007;104(25):10732–10736. DOI: 10.1073/pnas.0703343104.
10. Huffaker A, Dafoe NJ, Schmelz EA. ZmPep1, an ortholog of *Arabidopsis* elicitor peptide 1, regulates maize innate immunity and enhances disease resistance. *Plant Physiology*. 2011;155(3):1325–1338. DOI: 10.1104/pp.110.166710.
11. Huffaker A, Pearce G, Veyrat N, Erb M, Turlings TCJ, Sartor R, et al. Plant elicitor peptides are conserved signals regulating direct and indirect antiherbivore defense. *PNAS USA*. 2013;110(14):5707–5712. DOI: 10.1073/pnas.1214668110.
12. Bartels S, Lori M, Mbengue M, van Verk M, Klauser D, Hander T, et al. The family of Peps and their precursors in *Arabidopsis*: differential expression and localization but similar induction of pattern-triggered immune responses. *Journal of Experimental Botany*. 2013;64(17):5309–5321. DOI: 10.1093/jxb/ert330.
13. Gully K, Hander T, Boller T, Bartels S. Perception of *Arabidopsis* AtPep peptides, but not bacterial elicitors, accelerates starvation-induced senescence. *Frontiers in Plant Science*. 2015;6(14):1–10. DOI: 10.3389/fpls.2015.00014.
14. Trivillin AP, Hartke S, Moraes MG. Components of different signaling pathways regulated by a new orthologue of AtPROPEP1 in tomato following infection by pathogens. *Plant Pathology*. 2014;63(5):1110–1118. DOI: 10.1111/ppa.12190.
15. Lori M, van Verk MC, Hander T, Schatowitz H, Klauser D, Flury P, et al. Evolutionary divergence of the plant elicitor peptides (Peps) and their receptors: interfamily incompatibility of perception but downstream signaling. *Journal of Experimental Botany*. 2015;66(17):5315–5325. DOI: 10.1093/jxb/erv236.
16. Ruiz C, Nadal A, Montesinos E, Pla M. Novel *Rosaceae* plant elicitor peptides as sustainable tools to control *Xanthomonas arboricola* pv. pruni in *Prunus* spp. *Molecular Plant Pathology*. 2018;19(2):418–431. DOI: 10.1111/mpp.12534.
17. Krol E, Mentzel T, Chinchilla D, Boller T, Felix G, Kemmerling B, et al. Perception of the *Arabidopsis* danger signal peptide 1 involves the pattern recognition receptor AtPEPR1 and its close homologue AtPEPR2. *Journal of Biological Chemistry*. 2010;285(18):13471–13479. DOI: 10.1074/jbc.M109.097394.
18. Ross A, Yamada K, Hiruma K, Yamashita-Yamada M, Lu X, Takano Y, et al. The *Arabidopsis* PEPR pathway couples local and systemic plant immunity. *EMBO Journal*. 2014;33(1):62–75. DOI: 10.1002/embj.201284303.
19. Liu Z, Wu Y, Yang F, Zhang Y, Chen S, Xie Q, et al. BIK1 interacts with PEPRs to mediate ethylene-induced immunity. *PNAS USA*. 2013;110(15):6205–6210. DOI: 10.1073/pnas.1215543110.
20. Klauser D, Desurmont GA, Glauser G, Vallat A, Flury P, Boller T, et al. The *Arabidopsis* Pep – PEPR system is induced herbivore feeding and contributes to JA-mediated plant defense against herbivore. *Journal of Experimental Botany*. 2015;66(17):5327–5336. DOI: 10.1093/jxb/erv250.
21. Tintor N, Ross A, Kanehara K, Yamada K, Fan L, Kemmerling B, et al. Layered pattern receptor signaling via ethylene and endogenous elicitor peptides during *Arabidopsis* immunity to bacterial infection. *PNAS USA*. 2013;110(15):6211–6216. DOI: 10.1073/pnas.1216780110.
22. Yamaguchi Y, Pearce G, Ryan CA. The cell surface leucine-rich repeat receptor for AtPep1, an endogenous peptide elicitor in *Arabidopsis*, is functional in transgenic tobacco cells. *PNAS USA*. 2006;103(15):10104–10109. DOI: 10.1073/pnas.0603729103.
23. Yamaguchi Y, Huffaker A, Bryan AC, Tax FE, Ryan CA. PEPR2 is a second receptor for the Pep1 and Pep2 peptides and contributes to defense responses in *Arabidopsis*. *Plant Cell*. 2010;22(2):508–522. DOI: 10.1105/tpc.109.068874.
24. Poncini L, Wyrsh I, Dénervaud TV, Vorley T, Boller T, Geldner N, et al. In root of *Arabidopsis thaliana*, the damage-associated molecular pattern AtPep1 is a stronger elicitor of immune signaling than flg22 or the chitin heptamer. *PLOS ONE*. 2017;12(10):e0185808. DOI: 10.1371/journal.pone.0185808.
25. Wrzaczek M, Vainonen JP, Stae S, Tsiatsiani L, Help-Rinta-Rahko H, Gauthier A, et al. GRIM REAPER peptide binds to receptor kinase PRK5 to trigger cell death in *Arabidopsis*. *EMBO Journal*. 2015;34(1):55–66. DOI: 10.15252/embj.201488582.
26. Pearce G, Yamaguchi Y, Munske G, Ryan CA. Structure-activity studies of AtPep1, a plant peptide signal involved in the innate immune response. *Peptides*. 2008;29(12):2083–2089. DOI: 10.1016/j.peptides.2008.08.019.
27. Roux M, Schwessinger B, Albrecht C, Chinchilla D, Jones A, Holton N, et al. The *Arabidopsis* leucine-rich repeat receptor-like kinases BAK1/SERK3 and BKK1/SERK4 are required for innate immunity to hemibiotrophic and biotrophic pathogens. *Plant Cell*. 2011;23(6):2440–2455. DOI: 10.1105/tpc.111.084301.
28. Tang J, Han Z, Sun Y, Zhang H, Gong X, Chai J. Structural basis for recognition of an endogenous peptide by the plant receptor kinase PEPR1. *Cell Research*. 2015;25(1):110–120. DOI: 10.1038/cr.2014.161.
29. Schulze B, Mentzel T, Jehle AK, Mueller K, Beeler S, Boller T, et al. Rapid heteromerization and phosphorylation of ligand-activated plant transmembrane receptors and their associated kinase BAK1. *Journal of Biological Chemistry*. 2010;285(13):9444–9451. DOI: 10.1074/jbc.M109.096842.
30. Lal NK, Nagalakshmi U, Hurlburt NK, Flores R, Bak A, Sone P, et al. The receptor-like cytoplasmic kinase BIK1 localizes to the nucleus and regulates defense hormone expression during plant innate immunity. *Cell Host Microbe*. 2018;23(4):485–497. DOI: 10.1016/j.chom.2018.03.010.
31. Ma Y, Walker RK, Zhao Y, Berkowitz GA. Linking ligand perception by PEPR pattern recognition receptors to cytosolic Ca²⁺ elevation and downstream immune signaling in plants. *PNAS USA*. 2012;109(48):19852–19857. DOI: 10.1073/pnas.1205448109.
32. Ma Y, Zhao Y, Walker RK, Berkowitz GA. Molecular steps in the immune signaling pathway evoked by plant elicitor peptides: Ca²⁺-dependent protein kinases, nitric oxide, and reactive oxygen species are downstream from the early Ca²⁺ signal. *Plant Physiology*. 2013;163(3):1459–1471. DOI: 10.1104/pp.113.226068.
33. Guo FQ, Okamoto M, Crawford NM. Identification of a plant nitric oxide synthase gene involved in hormonal signaling. *Science*. 2003;302(5642):100–103. DOI: 10.1126/science.1086770.
34. Moreau M, Lindermayr C, Durner J, Klessig DF. NO synthesis and signaling in plants – where do we stand? *Physiologia Plantarum*. 2010;138(4):372–383. DOI: 10.1111/j.1399-3054.2009.01308.x.
35. Flury P, Klauser D, Schulze B, Boller T, Bartels S. The anticipation of danger: microbe-associated molecular pattern perception enhances AtPep-triggered oxidative burst. *Plant Physiology*. 2013;161(4):2023–2035. DOI: 10.1104/pp.113.216077.

36. Mishina TE, Zeier J. Pathogen-associated molecular pattern recognition rather than development of tissue necrosis contributes to bacterial induction of systemic acquired resistance in *Arabidopsis*. *Plant Journal*. 2007;50(3):500–513. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2007.03067.x.
37. Tintor N, Ross A, Kanehara K, Yamada K, Fan L, Kemmerling B, et al. Layered pattern receptor signaling via ethylene and endogenous elicitor peptides during *Arabidopsis* immunity to bacterial infection. *PNAS USA*. 2013;110(15):6211–6216. DOI: 10.1073/pnas.1216780110.
38. Howe GA, Jander G. Plant immunity to insect herbivores. *Annual Review of Plant Biology*. 2008;59:41–66. DOI: 10.1146/annurev.arplant.59.032607.092825.
39. Huffaker A, Kaplan F, Vaughan MM, Dafoe NJ, Ni X, Rocca JR, et al. Novel acidic sesquiterpenoids constitute a dominant class of pathogen-induced phytoalexins in maize. *Plant Physiology*. 2011;156(4):2082–2097. DOI: 10.1104/pp.111.179457.
40. Oikawa A, Ishihara A, Hasegawa M, Kodama O, Iwamura H. Induced accumulation of 2-hydroxy-4,7-dimethoxy-1,4-benzoxazin-3-one glucoside (HDMBOA-Glc) in maize leaves. *Phytochemistry*. 2001;56(7):669–675.
41. Glauser G, Marti G, Villard N, Doyen GA, Wolfender JL, Turlings TC, et al. Induction and detoxification of maize 1,4-benzoxazin-3-ones by insect herbivores. *Plant Journal*. 2011;68(5):901–911. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2011.04740.x.
42. Turlings TC, Tumlinson JH, Lewis WJ. Exploitation of herbivore-induced plant odors by host-seeking parasitic wasps. *Science*. 1990;250(4985):1251–1253. DOI: 10.1126/science.250.4985.1251.

Статья поступила в редколлегию 11.02.2019.
Received by editorial board 11.02.2019.