

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

MEHANIZMI ODGOVORA BILJAKA NA NAPAD PATOGENIH
ORGANIZAMA

MECHANISMS OF PLANT RESPONSE TO PATHOGEN ATTACK

SEMINARSKI RAD

Ivona Franjković

Preddiplomski sveučilišni studij molekularne biologije

(Undergraduate Study of Molecular Biology)

Mentor: izv. prof. dr. sc. Željka Vidaković-Cifrek

Zagreb, 2015.

SADRŽAJ

1. Uvod.....	1
2. Organizacija odgovora biljaka na napad patogena.....	3
2. 1. Receptori PRR odgovaraju na MAMPs ili PAMPs.....	3
2. 2. Citoplazmatski NB-LRR proteini kodirani <i>R</i> genima prepoznaju efektorske molekule patogena.....	4
2. 3. Dvije razine imunosti.....	6
2.3.1. Zig-zag model obrambenog odgovora biljaka	7
3. Regulacija obrambenog odgovora biljaka	9
4. Važnost spoznaja o odgovoru biljaka na napad patogena i smjernice za buduća istraživanja.....	11
5. Usporedba obrambenog odgovora biljaka s imunskim sustavom u životinja	12
6. Zaključak	13
7. Literatura	14
8. Sažetak.....	18
9. Summary	19

1. Uvod

Biljke su izložene napadu raznolikih patogenih organizama poput bakterija, gljiva, virusa i nematoda te su stoga bile primorane razviti široki raspon učinkovitih obrambenih mehanizama. No, unatoč velikoj važnosti biljaka za čovjeka, osobito imajući na umu upotrebu biljaka u ljudskoj prehrani, znanstvenici su tek sredinom 20. stoljeća počeli razumijevati različite načine i mehanizme obrane biljaka od napada patogenih organizama.

Prvi pokusi koji su značajno povećali razumijevanje odnosa biljaka i njihovih patogena bili su pokusi američkog znanstvenika Harolda H. Flor, koji je nastojao proniknuti u nasljeđivanje otpornosti u biljke domaćina i nasljeđivanje virulencije u njezinog patogena. Pokušavao je odrediti Mendelove genetske interakcije između lana (*Linum usitatissimum L.*) i gljivice *Melampsora lini*, njegovog specifičnog patogena. U radu objavljenom 1942. godine ustvrdio je da odnos biljke i patogena počiva na formiranju određenih parova gena, odnosno da za svaki gen za rezistenciju na gljivicu u biljci, postoji odgovarajući gen za patogenost u gljivici. Naime, biljke posjeduju specifične receptore kodirane tzv. genima zaduženim za otpornost na bolesti (*disease-resistance genes* ili *R genes*), koji prepoznaju molekule patogena, nazvane faktorima avirulencije, a koji su produkti tzv. gena za avirulenciju (*avirulence genes* ili *avr genes*). Spomenuta interakcija *R-avr* gena koja pokreće odgovor biljaka na napad patogena nazvana je *gene-for-gene resistance* (Staskawicz 2001).

Florova je teorija potaknula pitanje: je li interakcija između patogena i domaćina direktna ili indirektna, odnosno prepoznaje li biljka zaista patogenu molekulu, slično modelu interakcije ligand-receptor, ili je riječ o nečemu drugome? Pokusi osmišljeni da utvrde postojanje direktnih interakcija molekula domaćina i molekula patogena uglavnom su davali negativne rezultate što je dovelo do nastanka nove teorije nazvane *guard hypothesis* odnosno „teorija čuvara“ (Van der Biezen i Jones 1998). Naime, ustanovljeno je da R proteini (produkti *R* gena) zapravo prate stanje komponenti domaćina koje su cilj patogenih molekula (primjerice, prate promjene na površini membrane biljne stanice). Dakle, ne radi se o očitavanju zbiljske prisutnosti patogenih molekula, nego o prepoznavanju modifikacija odnosno manipulacija koje patogene molekule izvode na ciljnim mjestima domaćina (Jones i Dangl 2006).

Navedeno otkriće o obrambenom odgovoru biljaka kao i otkrića drugih detalja biljnih obrambenih mehanizama, pokrenuli su povlačenje paralela s imunim sustavom u životinja,

a u znanstvenim su člancima potaknuli sve češće spominjanje pojmova „imunski odgovor u biljaka“ te čak „imunski sustav biljaka“. No, mogu li se ti termini smatrati opravdanima? I može li se odgovor biljaka na napad patogena uspoređivati s imunskim odgovorom u životinja? Odgovor na ova pitanja složen je i zahtijeva razumijevanje organizacije obrane biljaka od napada patogenih organizama, ponajprije na genetskoj i molekularnoj razini, a potom i na svim višim razinama organizacije, sve do šireg ekološkog konteksta interakcije biljaka s okolišem.

2. Organizacija odgovora biljaka na napad patogena

Biljke odgovaraju na napad patogenih organizama različito od životinja tj. njihov je obrambeni odgovor bitno različito organiziran jer one nemaju cirkulirajućih obrambenih stanica niti sustav stečene imunosti, već svaka biljna stanica posjeduje urođenu imunost, a također i samo mjesto infekcije šalje sistemske signale na koje biljne stanice reagiraju. U slučaju napada patogenih organizama, biljke odgovaraju pokretanjem tzv. urođenog obrambenog odgovora, koji se sastoji od dva temeljna dijela. Prvi je dio tog odgovora zadužen za prepoznavanje i reakciju na prisutnost molekula karakterističnih odnosno uobičajenih za mnoge mikroorganizme pa i one koji nisu patogeni. Drugi dio biljnog odgovora odnosi se na prepoznavanje i reakciju na faktore virulencije patogena te predstavlja puno specifičniji obrambeni odgovor (Jones i Dangl 2006).

2.1. Receptori PRR odgovaraju na MAMPs ili PAMPs

Jedan dio obrambenog sustava biljaka, vjerojatno ujedno i prva linija aktivne obrane biljaka od napada patogena, uključuje receptore koji prepoznaju karakteristične uzorke molekularnih struktura (*pattern recognition receptors* ili PRRs). Ti se receptori nalaze na površini biljne stanice te reagiraju na molekularne uzorke mikroorganizama ili patogenih organizama (*microbial-* ili *pathogen-associated molecular patterns* tj. MAMPs ili PAMPs). Naime, spomenuti molekularni uzorci zapravo su (unutar klasa mikroorganizama) evolucijski visoko konzervirane molekule koje imaju esencijalnu funkciju u fitnessu ili preživljavanju mikroorganizama (Medzhitov i Janeway 1997; Nürnberger i Brunner 2002), a s obzirom da se mogu pojaviti i u nepatogenih mikroorganizama, umjesto prvotnog naziva PAMPs upotrebljava se i termin MAMPs (Boller i Felix 2009). Klasični primjeri PAMPs-a su strukturne molekule poput flagelina, peptidoglikana i lipopolisaharida iz bakterija, hitina iz gljiva i sl. (Ayers i sur. 1976; Felix i sur. 1993, 1999; Dow i sur. 2000; Erbs i sur. 2008).

Smatra se da receptori PRR na površini biljne stanice prepoznaju PAMPs svojom ekstracelularnom domenom, s obzirom da intracelularni stanični receptori nisu još pronađeni (Thomma i sur. 2011). Spomenuti receptori obično reagiraju na patogene molekule po modelu interakcije ligand-receptor, dakle ostvaruju fizičku vezu s patogenom molekulom (Chinchilla i sur. 2006; Kaku i sur. 2006). Tako nastali ligand-receptor kompleks potiče lokaliziranu

promjenu stanične stijenke biljaka i proizvodnju antimikrobnih tvari (Brown i sur. 1998; McLusky i sur. 1999).

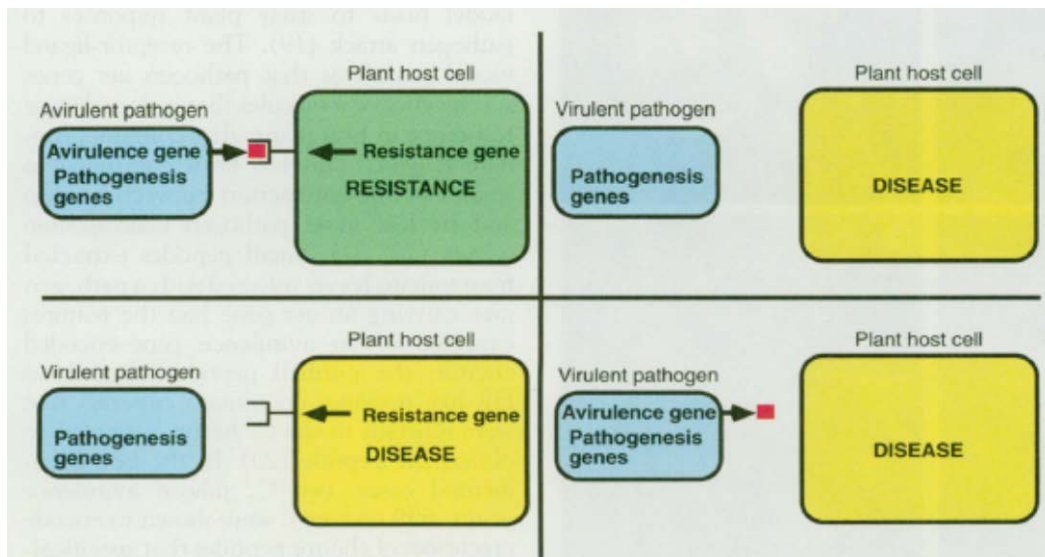
PRRs receptori većinom su evolucijski visoko očuvane molekule, čak i između različitih vrsta, kao primjerice homologni hitinski receptori koji su pronađeni u riži i u uročnjaku *Arabidopsis thaliana* (Kaku i sur. 2006; Miya i sur. 2007), te homologni receptori za bakterijski flagelin koji se nalaze u brojnim biljnim vrstama (Gomez-Gomez i Boller 2000; Takai i sur. 2008; Boller i Felix 2009). Ipak, neki PRRs mogu biti i evolucijski relativno mlađi, s obzirom da neke PAMPs prepoznaje samo mali broj biljnih vrsta (Felix i Boller 2003; Zipfel i sur. 2006). Također, otkriveno je da i unatoč prepoznavanju istog PAMP-a, različite biljne vrste mogu prepoznati različite epitope, kao što je primjećeno u slučaju prepoznavanja određenog β -glukana koji gradi staničnu stijenkku gljiva (Klarzynski i sur. 2000; Yamaguchi i sur. 2000).

2.2. Citoplazmatski NB-LRR proteini kodirani R genima prepoznaju efektorske molekule patogena

Druga linija aktivne obrane biljaka nalazi se većim dijelom unutar biljne stanice. Njezin su temelj polimorfni NB-LRR proteini uglavnom kodirani R genima, tj. većina R proteina su intracelularni receptori NB-LRR tipa koji prepoznaju molekule patogena (produkte *avr* gena patogena) u citoplazmi. Naziv spomenutih proteina proizlazi iz njihove strukture – domene zadužene za vezanje nukleotida (*nucleotide binding*, NB) te domene s ponavljajućim sekvencama bogatim leucinskim aminokiselinskim ostacima (*leucine rich repeat*, LRR). NB-LRR proteini mogu prepoznati molekule patogena nazvane faktori avirulencije, a koje se danas uglavnom nazivaju efektorskim molekulama ili efektorima (Bent i Mackey 2007; Boller i Felix 2009), te potom aktivirati biljne obrambene mehanizme.

Prema trenutno najprihvatljivijem modelu, tzv. *guard hypothesis*, funkcija R proteina je indirektno prepoznavanje efektorskih molekula patogena praćenjem stanja onih staničnih komponenti biljke domaćina koje su cilj napada efektorskih molekula (Van der Biezen i Jones 1998). Smatra se da te patogene molekule posjeduju sposobnost izražavanja svoje virulencije na način da manipuliraju ciljnim mjestima svog domaćina i upravo te promjene ciljnih molekula „osjećaju“ R proteini (Jones i Dangl 2006). Premda konkretni molekularni događaji nisu posve poznati, pretpostavlja se da promjene na ciljnim molekulama (npr. fosforilacija tih

molekula) uzrokuju konformacijske promjene NB-LRR proteina (Tameling i Takken 2008). Prepoznavanje tada prelazi u prijenos signala, odnosno aktiviraju se obrambeni mehanizmi biljaka, obično povezani s protokom iona kalcija, stvaranjem signalnih molekula i reaktivnih kisikovih spojeva, a naposljetku i lokaliziranom programiranom smrću biljnih stanica (Holt i sur. 2000), što konačno dovodi do razvoja otpornosti biljke na napad patogena. Za obrambenu reakciju biljke nužno je, dakle, prisustvo i Avr proteina patogena i odgovarajućeg biljnog R proteina, pa ako patogeni organizam „izgubi“ Avr proteine ili ako su mutirani, biljka neće moći prepoznati napad patogena (Hammond-Kosack i Jones 1997) niti pokrenuti obrambeni odgovor, te se razvija bolest (Sl. 1.).



Slika 1. Shematski prikaz potencijalnih interakcija produkata gena *R* i *avr*. Preuzeto iz Staskawicz i sur. 1995.

S obzirom da do infekcije i razvoja bolesti dolazi i u slučaju potpunog nedostatka Avr proteina, postavlja se pitanje zašto bi patogeni organizam uopće proizvodio proteine avirulencije kad upravo njih može prepoznati biljka domaćin? Jednostavni odgovor jest da faktori avirulencije zapravo mogu djelovati kao faktori virulencije. Primjerice, protein AvrRpm1, produkt bakterije *Pseudomonas syringae*, djeluje kao avirulentni protein samo na onim biljkama vrste *Arabidopsis thaliana* koje imaju ekspresiju gena *RPM1*. Ako biljci domaćinu nedostaje R protein RPM1, tada u patogenog organizma Avr protein AvrRpm1 zapravo djeluje na povećanje sposobnosti rasta patogena te potiče razvoj bolesti u napadnutoj

biljci (Holt 2000). U navedenom se očituje i temeljna razlika između PAMPs i efektorskih molekula, jer su PAMPs nužni za fitness i preživljenje mikroorganizama, dok efektori specifično pridonose virulenciji patogena (Thomma i sur. 2011).

U usporedbi s većinom PRR receptora, NB-LRR proteini uglavnom su evolucijski relativno mladi, intenzivno se razvijaju i danas u koevolucijskoj interakciji patogena i domaćina, te stoga pokazuju veliku raznolikost. Primjerice, u istraživanjima provedenim na žitaricama (riža, kukuruz, pšenica i ječam) otkriveno je da R geni kodiraju i strukturno bliske odnosno srodne ali i strukturno jedinstvene proteine koji mogu imati i, u nekim slučajevima, imaju vrlo različite funkcije (Ayliffe i Laugdah 2004). Ova raznolikost R proteina može se smatrati prilagodbom na različite načine djelovanja patogenih vrsta, ali je također i posljedica mnogobrojnih obrambenih strategija koje biljke provode protiv fitopatogena. Međutim, otkriće da neki R proteini pokazuju tipične karakteristike PRR receptora, postupno briše jasnu granicu između R proteina i PRR receptora, odnosno između citoplazmatskih R proteina tipa NB-LRR i ekstracelularnih PRR receptora te se može reći da su to zapravo dva podrazreda unutar R proteina (Thomma i sur. 2011).

2. 3. Dvije razine imunosti

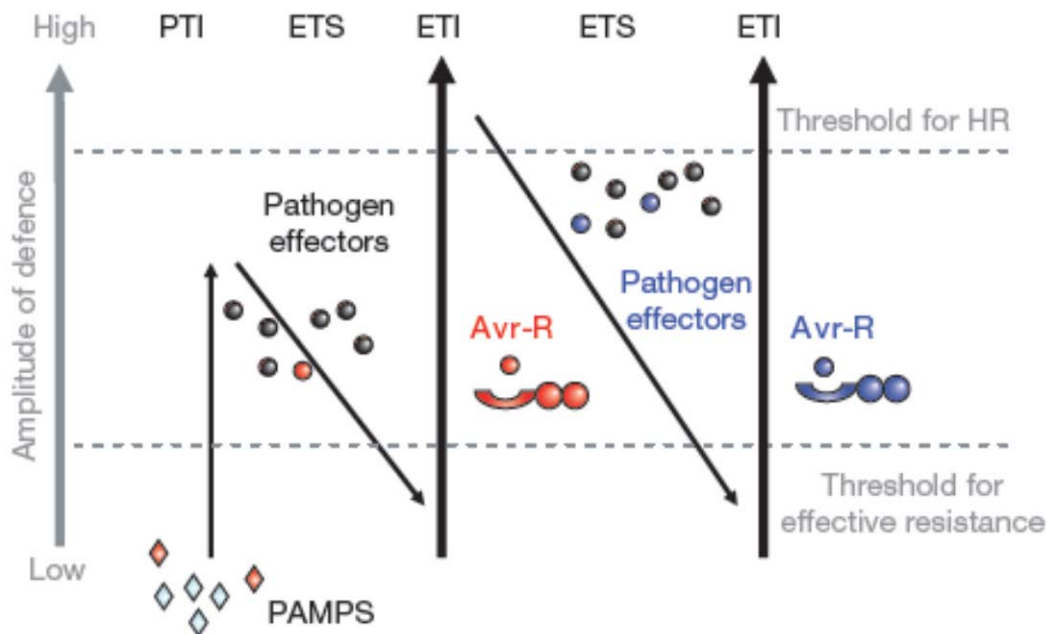
Uočeno je da postoji određena razina otpornosti prisutna u većine biljnih vrsta prema nekom parazitu ili patogenu, koja je nazvana otpornost neovisna o domaćinu (*nonhost resistance*, ili *non-race-specific resistance*). Takvu otpornost svaka biljka pokazuje prema većini patogenih organizama. U suprotnosti s navedenom otpornošću, koristi se pojam otpornosti ovisne o domaćinu (*host resistance*, odnosno *race-specific resistance*) kao otpornost koju izražavaju određeni biljni genotipovi unutar inače (na infekciju patogena) neotpornih biljnih vrsta. Ovaj posljednji tip otpornosti uglavnom je patogen-specifičan, u smislu da je ograničen na određene vrste patogena, obično čak izražen prema određenim genotipovima patogena (Heath 2000).

Na navedenu podjelu otpornosti u biljaka, i u skladu sa svime ranije opisanim, nadovezuje se podjela temeljena na različitim načinima prepoznavanja napada patogenog organizma. Naime, prepoznavanje se patogena može odvijati preko receptora na površini biljne stanice, čime se prepoznaju molekule karakteristične za različite patogene, ili preko receptora koji se nalaze u citoplazmi, a koji odgovaraju na specifične molekule patogena.

PRRs odgovaraju na PAMPs, što aktivira obrambeni odgovor biljaka koji se naziva imunost koju pokreće PAMP (*PAMP-triggered immunity* tj. PTI). Intracelularni receptori biljaka tipa NB-LRR prepoznaju efektorske molekule patogena, što aktivira drugi tip obrambenog odgovora biljaka, koji se naziva imunost koju pokreće efektor (*effector-triggered immunity* tj. ETI). Dakle, u skladu s navedenim, smatra se da se mogu razlikovati dvije razine otpornosti u biljaka: PTI koju pokreće PAMP i ETI koju pokreće prisutnost ili aktivnost efektor. Pretpostavlja se da se obrambeni odgovor u ETI događa brže, traje dulje i snažniji je od odgovora u PTI (Tao i sur. 2003; Jones i Dangl 2006; Tsuda i Katagiri 2010).

2.3.1. Zig-zag model obrambenog odgovora biljaka

S obzirom na različite razine imunosti u biljaka i na temelju dosad opisanih mehanizama obrane biljaka na napad patogena, osmišljen je jednostavni model obrambenog odgovora biljaka koji predstavlja sintezu dosadašnjih spoznaja. Nazvan je zig-zag model, sastoji se od četiri faze (Sl. 2.), a uveli su ga Jones i Dangl 2006. godine (Jones i Dangl 2006).



Slika 2. Nacrt zig-zag modela. Preuzeto iz Jones i Dangl 2006.

Prema predloženom modelu, u prvoj fazi, putem ekstracelularnih receptora PRRs, biljke prepoznaju uzorke MAMPs ili PAMPs što vodi razvoju imunosti koju potiče PAMP (PTI), što može zaustaviti daljnje napredovanje patogenih organizama. U drugoj fazi, uspješni patogeni (tj. oni koji su preživjeli napad prve linije obrane u biljaka) ispuštaju efektorske molekule koje pridonose virulenciji patogena, što interferira sa spomenutim obrambenim odgovorom, te konačno dovodi do osjetljivosti na patogen pokrenutu efektorskom molekulom (*effector-triggered susceptibility* tj. ETS). U trećoj fazi, određenu efektorsku molekulu specifično prepoznaje jedan od intracelularnih receptora biljaka tipa NB-LRR, što aktivira drugi tip obrambenog odgovora biljaka, odnosno imunost koju pokreće efektor (ETI), koja se smatra bržim i jačim oblikom ranije opisane imunosti, te vodi otpornosti na bolest, a često i lokaliziranoj progamiranoj smrti biljnih stanica na mjestu infekcije. U četvrtoj fazi, s obzirom na mehanizme prirodne selekcije, pojedine jedinke patogenih organizama, u kojima je mutacijama u postojećem efektorskom genu došlo do razvoja novih varijanti efektorske molekule što je ranije pokrenula obrambeni odgovor ili su možda dobili i nove efektorske gene odnosno molekule (putem horizontalnog prijenosa gena), mogu potisnuti obrambene mehanizme biljaka i ponovno izazvati napad na biljku. S druge strane, prirodna selekcija dovodi i do pojave mutacija u *R* genima, odnosno do razvoja novih alelnih formi postojećih *R* gena, a s obzirom da možda neki od novonastalih alela određenog NB-LRR receptora može prepoznati efektorske molekule koje su izazvale spomenuti napad na biljku, može se opet aktivirati imunost pokrenuta efektorom (Jones i Dangl 2006). Pretpostavlja se da se na opisani način neprestano odvija koevolucija patogena i njegovog domaćina, odnosno da razvoj novih efektorskih molekula i drugih načina na koji patogeni uzrokuju infekciju u biljaka, potiče i razvoj novih receptora nužnih za biljnu otpornost na napad patogena, kao i obrnuto.

3. Regulacija obrambenog odgovora biljaka

Dva glavna razreda receptora uključenih u obrambeni odgovor biljaka, ranije opisani u radu kao PRR receptori i NB-LRR receptori, proteinski su produkti određenih biljnih gena u kojih mehanizmi regulacije genske ekspresije još nisu posve istraženi. Međutim, kao što ispravna regulacija ekspresije tih gena dovodi do sinteze odgovarajućih receptora, prepoznavanja patogenih organizama i zaustavljanja napada patogena, tako neispravna regulacija ekspresije istih gena može pokrenuti autoimunski odgovor u biljaka u odsustvu patogena i zaustaviti rast biljke (Li i sur. 2012).

Novija istraživanja regulacije ekspresije eukariotskih gena sve više upućuju na iznimno značajnu ulogu malih RNA molekula u tom procesu. Osobito su značajna dva razreda malih RNA molekula (*small* RNA ili sRNA), duljine između 20 i 27 nukleotida, nazvanih *micro* RNA (miRNA) i *short interfering* RNA (siRNA). Spomenute molekule uključene su u procese nužne za stabilnost genoma, razvoj organizma te prilagodbu na biotički i abiotički stres. U svrhu regulacije genske ekspresije, djeluju na molekule DNA prilikom remodeliranja kromatina te usmjeravaju proces metilacije ciljnih mjesta na kromosomima, što dovodi do inhibicije genske transkripcije (transkripcijsko utišavanje gena). Još je češće njihovo djelovanje na molekule RNA, pri čemu najčešće usmjeravaju nukleaze da cijepaju određene ciljne mRNA, ali i onemogućuju translaciju ciljnih transkripata, što predstavlja posttranskripcijsko utišavanje gena (Vaucheret 2006; Jover-Gil i sur. 2005). S obzirom na navedeno represorno djelovanje, ekspresija gena posredovana malim RNA molekulama naziva se i utišavanje gena posredovano RNA molekulama ili RNA interferencija (RNAi).

Primjer opisanog djelovanja malih RNA molekula na ekspresiju gena potvrdilo je i istraživanje provedeno na duhanu (*Nicotiana benthamiana* L.) u kojem su pronađene dvije male RNA molekule, duljine 21 i 22 nukleotida. One posreduju utišavanje gena koji kodira za NB-LRR receptor N, a uključen je u otpornost biljke na mozaični virus duhana (*tobacco mosaic virus*, TMV). Pritom je otkriveno da 22-nt duga miRNA usmjerava specifično cijepanje transkripata NB-LRR receptora N, što potom potiče produkciju 21-nt dugih siRNA molekula. Koekspresija gena za N receptor s navedenim malim RNA molekulama dovodi do atenuacije otpornosti na virus posredovane N receptorom, pokazujući da male RNA molekule imaju važnu ulogu u regulaciji otpornosti na viruse u biljkama porodice *Solanaceae*. Slični

eksperimenti provedeni na drugim vrstama iz iste porodice (rajčici i krumpiru) otkrili su nove razrede miRNA molekula koje na sličan način reguliraju ekspresiju određenih ciljnih *R* gena (Li i sur. 2012).

4. Važnost spoznaja o odgovoru biljaka na napad patogena i smjernice za buduća istraživanja

Razvoj eksperimentalnih metoda u molekularnoj biologiji omogućio je izolaciju i kloniranje biljnih *R* gena, a u projektima sekvenciranja molekule DNA, pronađeni su brojni DNA-sljedovi u biljnim genomima za koje se pretpostavlja da su *R* geni koji kodiraju za NB-LRR receptore (Staskawicz 2001). S obzirom da neki proteinski receptori pronađeni u različitim biljnim vrstama pokazuju značajnu srodnost, dok su drugi prilično strukturno jedinstveni (Ayliffe i Laugdah 2004), što upućuje na raznolikost mehanizama prijenosa signala u biljaka ključnih za razvoj otpornosti prema različitim patogenima (Thomma i sur. 2011), potrebno je usmjeriti daljnje napore u bolje razumijevanje tih molekularnih puteva. Stečena bi znanja mogla omogućiti razvoj biljaka s povećanom otpornosti na bolesti, osobito u biljnih vrsta važnih za poljoprivrednu proizvodnju, bilo da se spoznaje primijene na klasične tehnike uzgoja ili direktno u svrhu bioinženjeringa (Staskawicz 1995).

Međutim, detalji regulacije ekspresije *R* gena, kao i regulacije većine drugih eukariotskih gena, još uvijek su nedovoljno poznati pa je stoga jasno da su i brojni detalji molekularnih događaja ključnih za ekspresiju otpornosti biljke prema određenom patogenu još nepoznati. Primjerice, postavlja se pitanje preklapanja transkripcijske i postranskripcijske kontrole dvaju opisanih tipova biljne otpornosti (PTI i ETI), s obzirom da rezultiraju sličnim ishodom, i da se obrambeni odgovor u ETI može smatrati bržim i snažnijim oblikom obrambenog odgovora u PTI (Jones i Dangl 2006). Ipak, novija istraživanja uloge malih RNA molekula u regulaciji genske ekspresije, kao i općenito istraživanja različitih drugih uloga malih RNA molekula, daju sve više spoznaja o tim slabo poznatim detaljima, a može se očekivati da će se uvidi u ove molekularne puteve s budućim istraživanjima sve više povećavati.

Osim razumijevanja genetske i molekularne razine obrambenog odgovora u biljaka, potrebno je obratiti pažnju i na interakcije biljaka s biotičkim i abiotičkim signalima iz okoliša, s obzirom da sesilna priroda biljaka zahtijeva takvu neprestanu interakciju. Ne smije se zaboraviti ni na razliku uvjeta u kojima biljke rastu u prirodi ili u kojima se uzgajaju na kultiviranim površinama, u odnosu na uvjete rasta u laboratoriju. Nužno je razumijevanje međuodnosa različitih razina organizacije, odnosno integrirani pristup ovoj problematici (Taylor i sur. 2004), kako bi se omogućilo ispravno tumačenje rezultata istraživanja i kako bi se oni mogli primijeniti u razvoju novih strategija za kontrolu biljnih bolesti.

5. Usporedba obrambenog odgovora biljaka s imunostim sustavom u životinja

Prema definiciji, imunost (lat. *immunitas* = otpornost) je sposobnost odupiranja organizma djelovanju štetnih utjecaja okoliša, odnosno djelovanju stranih tvari koje imunostni sustav prepoznaje kao tuđe (Oršolić 2007).

Način na koji biljke prepoznaju prisutnost patogena, neovisno radi li se o prepoznavanju uzoraka MAMP odnosno PAMP ili o prepoznavanju efektorskih molekula, ne svodi na očitavanje zbiljske prisutnosti patogena, nego na prepoznavanje, putem PRR receptora, modifikacija odnosno manipulacija koje patogeni organizam izvodi na površini biljne stanice, ili na konformacijsku promjenu receptora NB-LRR koju uzrokuje efektorska molekula. Navedeno prepoznavanje u biljaka veoma nalikuje na prepoznavanje „promijenjenog vlastitog“ (vlastitih izmijenjenih molekula i stanica koje promjenom predstavljaju opasnost za očuvanje samosvojnosti jedinke), i razlikovanje tog „stranog“ naspram „vlastitog“ u životinja. Spomenuta sposobnost razlikovanja vlastitog od stranog smatra se temeljem imunostnog prepoznavanja, odnosno imunosti općenito, a omogućuje svakoj jedinki preživljavanje u okolišu kratom patogenim organizmima (Oršolić 2007).

Što se tiče pojma imunostni sustav, koji obuhvaća sustavnu organizaciju i kontrolu imunostne reakcije, to se u biljaka ipak značajno razlikuje u odnosu na životinje, s obzirom da biljke ne posjeduju cirkulirajuće stanice isključivo zadužene za obranu niti sustav stečene imunosti kao primjerice sisavci. Naime, u biljaka svaka stanica ima sposobnost vlastite obrane te samostalno reagira na pojavu patogena i nastoji spriječiti razvoj i širenje infekcije (Jones i Dangl 2006).

Međutim, iako biljke nemaju organizaciju obrambenog odgovora istovjetnu onoj u životinja, nije neobično da ipak postoje značajne sličnosti u načinu na koji biljke i životinje prepoznaju patogene organizme, s obzirom da istraživanja pokazuju i strukturnu sličnost između biljnih receptora kodiranih *R* genima i primjerice Toll receptora insekata ili Toll-like receptora sisavaca uključenih u prepoznavanje patogena (Cohn i suradnici 2001). Na temelju navedenog čak se može pretpostaviti zajedničko evolucijsko porijeklo obrambenog odgovora u viših eukariota (Nürnberger i Brunner 2002).

6. Zaključak

Trenutne spoznaje o obrambenom odgovoru biljaka na napad patogena upućuju da se u genomu biljaka nalazi veliki broj gena zaduženih za uspostavu otpornosti na napad patogenih organizama. Spomenuti R geni (*resistance genes*) kodiraju za mnoge slične proteinske produkte ali i za neke strukturno prilično jedinstvene, a produkte tih gena grubo razlikujemo kao PRR receptore i NB-LRR receptore. Spomenute receptorske molekule, uključene u različite oblike obrambenog odgovora biljaka, pokazuju značajnu sličnost s receptorskim molekulama koje se nalaze na površini animalnih stanica, poput Toll receptora kukaca i Toll-like receptora sisavaca, značajnih za imunsko prepoznavanje i imunski odgovor životinja.

S obzirom da se način na koji biljke prepoznaju prisutnost patogena svodi na očitavanje manipulacije koje patogeni organizam izvodi na površini biljne stanice putem PRR receptora ili na konformacijsku promjenu receptora NB-LRR koju uzrokuje efektorska molekula, što nalikuje na prepoznavanje promijenjenog vlastitog i razlikovanje tog stranog naspram vlastitog, a što je temelj imunskog prepoznavanja, smatram da bi se obrambeni odgovor biljaka uistinu mogao nazvati imunskim odgovorom, odnosno imunskom reakcijom. Što se tiče primjene pojma imunski sustav na obrambene mehanizme biljaka, smatram da se organizacija obrambenog odgovora u biljaka ipak ne može usporediti s organizacijom imunskog odgovora u životinja, odnosno da se ne može govoriti o imunskom sustavu u biljaka (barem ne na jednak način kao u životinja).

7. Literatura

- Ayers AR, Ebel J, Finelli F, Berger N, Albersheim P, 1976. Host-pathogen interactions: IX. quantitative assays of elicitor activity and characterization of the elicitor present in the extracellular medium of cultures of *Phytophthora megasperma* var. *sojae*. *Plant Physiology* **57**, 751–759.
- Ayliffe MA, Laugdah ES, 2004. Molecular genetics of disease resistance in cereals. *Annals of Botany* **94**, 765–773.
- Bent AF, Mackey D, 2007. Elicitors, effectors, and R genes: the new paradigm and a lifetime supply of questions. *Annual Review of Phytopathology* **45**, 399–436.
- Boller T, Felix G, 2009. A renaissance of elicitors: perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. *Annual Review of Plant Biology* **60**, 379–406.
- Chinchilla D, Bauer Z, Regenass M, Boller T, Felix G, 2006. The *Arabidopsis* receptor kinase FLS2 binds flg22 and determines the specificity of flagellin perception. *Plant Cell* **18**, 456–476.
- Cohn J, Sessa G, Martin GB, 2001. Innate immunity in plants. *Current Opinion in Immunology* **13**, 55–62.
- Dow M, Newman M-A, von Roepenack E, 2000. The induction and modulation of plant defense responses by bacterial lipopolysaccharides. *Annual Review of Phytopathology* **38**, 241–261.
- Erbs G, Silipo A, Aslam S, De Castro C, Liparoti V, Flagiello A, Pucci P, Lanzetta R, Parrili M, Molinaro A, Newman MA, Cooper RM, 2008. Peptidoglycan and muropeptides from pathogens *Agrobacterium* and *Xanthomonas* elicit plant innate immunity: structure and activity. *Chemical Biology* **15**, 438–448.
- Felix G, Boller T, 2003. 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* **278**, 6201–6208.

- Felix G, Duran JD, Volko S, Boller T, 1999. Plants have a sensitive perception system for the most conserved domain of bacterial flagellin. *Plant Journal* **18**, 265–276.
- Felix G, Regenass M, Boller T, 1993. Specific perception of subnanomolar concentrations of chitin fragments by tomato cells: induction of extracellular alkalization, changes in protein phosphorylation, and establishment of a refractory state. *Plant Journal* **4**, 307–316.
- Flor HH, 1942. Inheritance of pathogenicity in *Melampsora lini*. *Phytopathology* **32**, 653–669.
- Gomez-Gomez L, Boller T, 2000. FLS2: an LRR receptor-like kinase involved in the perception of the bacterial elicitor flagellin in *Arabidopsis*. *Molecular Cell* **5**, 1003–1011.
- Hammond-Kosack KE, Jones JD, 1997. Plant disease resistance genes. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* **48**, 575–607.
- Heath MC, 2000. Nonhost resistance and nonspecific plant defenses. *Current Opinion in Plant Biology*. **3**, 315–319.
- Holt BF, Mackey D, Dangl JL, 1999. Recognition of pathogens by plants. *Current Opinion in Plant Biology* **2**, 255–338.
- Jones DJ, Dangl JL, 2006. The plant immune system. *Nature* **444**, 323–329.
- Jover-Gil S, Candela H, Ponce M-R, 2005. Plant microRNAs and development. *International Journal of Development Biology* **49**, 733–744.
- Kaku H, Nishizawa Y, Ishii-Minami N, Akimoto-Tomiyama C, Dohmae N, Takio K, Minami E, Shibuya N, 2006. Plant cells recognize chitin fragments for defense signaling through a plasma membrane receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **103**, 11086–11091.
- Klarzynski O, Plesse B, Joubert JM, Yvin JC, Kopp M, Kloareg B, Fritig B, 2000. Linear beta-1,3 glucans are elicitors of defense responses in tobacco. *Plant Physiology* **124**, 1027–1038.

- Li F, Pignatta D, Bendix C, Brunkard JO, Cohn MM, Tung J, Sun H, Kumar P, Baker B, 2012. MicroRNA regulation of plant innate immune receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **109**, 1790–1795.
- Medzhitov R, Janeway CA, 1997. Innate immunity: the virtues of a nonclonal system of recognition. *Cell* **91**, 295–298.
- Miya A, Albert P, Shinya T, Desaki Y, Ichimura K, Shirasu K, Narusaka Y, Kawakami N, Kaku H, Shibuya N, 2007. CERK1, a LysM receptor kinase, is essential for chitin elicitor signaling in *Arabidopsis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **104**, 19613–19618.
- Nürnberg T, Brunner F, 2002. Innate immunity in plants and animals: emerging parallels between the recognition of general elicitors and pathogen-associated molecular patterns. *Current Opinion in Plant Biology* **5**, 318–324.
- Oršolić N, 2007. Osnove imunosne reakcije (interna skripta iz imunologije). Zagreb, str. 2.
- Staskawicz BJ, 2001. Genetics of plant-pathogen interactions specifying plant disease resistance. *Plant Physiology* **125**, 73–76.
- Staskawicz BJ, Ausubel FM, Baker BJ, Ellis JG, Jones JD, 1995. Molecular genetics of plant disease resistance. *Science* **268**, 661–667.
- Takai R, Isogai A, Takayama S, Che F-S, 2008. Analysis of the flagellin perception mediated by flg22 receptor OsFLS2 in rice. *Molecular Plant-Microbe Interactions* **21**, 1635–1642.
- Tameling IL, Takken LW, 2008. Resistance proteins: scouts of the plant innate immune system. *European Journal of Plant Pathology* **121**, 243–255.
- Tao Y, Xie Z, Chen W, Glazebrook J, Chang HS, Han B, Zhu T, Zou G, Katagiri F, 2003. Quantitative nature of *Arabidopsis* responses during compatible and incompatible interactions with the bacterial pathogen *Pseudomonas syringae*. *Plant Cell* **15**, 317–330.
- Taylor JE, Hatcher PE, Paul ND, 2004. Crosstalk between plant responses to pathogens and herbivores: a view from the outside in. *Journal of Experimental Biology* **55**, 159–168.

- Thomma PHJ, Nürnberger T, Joosten HAJ, 2011. Of PAMPs and effectors: the blurred PTI-ETI dichotomy. *The Plant Cell* **23**, 4–15.
- Tsuda K, Katagiri F, 2010. Comparing signaling mechanisms engaged in pattern-triggered and effector-triggered immunity. *Current Opinion in Plant Biology*. **13**, 459–465.
- Van der Biezen EA, Jones DJ, 1998. Plant disease-resistance proteins and the gene-for-gene concept. *Trends in Biochemical Sciences* **23**, 454-456.
- Vaucheret H, 2006. Post-transcriptional small RNA pathways in plants: mechanisms and regulations. *Genes and Development* **20**, 759–771.
- Yamaguchi T, Yamada A, Hong N, Ogawa T, Ishii T, Shibuya N, 2000. Differences in the recognition of glucan elicitor signals between rice and soybean: beta-glucan fragments from the rice blast disease fungus *Pyricularia oryzae* that elicit phytoalexin biosynthesis in suspension-cultured rice cells. *Plant Cell* **12**, 817–826.
- Zipfel C, Kunze G, Chinchilla D, Caniard A, Jones JD, Boller T, Felix G, 2006. Perception of the bacterial PAMP EF-Tu by the receptor EFR restricts *Agrobacterium*-mediated transformation. *Cell* **125**, 749–760.

8. Sažetak

Biljke su razvile brojne mehanizme kojima prepoznaju prisutnost patogenih organizama i odgovaraju na njihove napade. Spomenuti mehanizmi prepoznavanja sastoje se od prepoznavanja molekularnih uzoraka koji potječu od mikroorganizama i patogena (MAMP odnosno PAMP), te od prepoznavanja specifičnih efektorskih molekula. U prvi dio spomenutog prepoznavanja uključeni su površinski PRR receptori, koji aktiviraju obrambeni odgovor biljaka nazvan imunosni odgovor kojeg pokreće PAMP (*PAMP-triggered immunity* tj. PTI), a u drugi dio unutarstanični NB-LRR receptori, koji aktiviraju obrambeni odgovor nazvan imunosni odgovor kojeg pokreće efektor (*effector-triggered immunity* tj. ETI).

Rad opisuje organizaciju odgovora biljaka na napad patogena, s naglaskom na genskoj i molekularnoj razini odgovora, navodeći zig-zag model obrambenog odgovora biljaka kao sintezu dosadašnjih spoznaja. Ukratko se opisuju spoznaje o regulaciji ekspresije gena koji kodiraju spomenute receptorske molekule. Navodi se važnost spoznaja o obrambenom odgovoru biljaka za razvoj novih strategija za kontrolu biljnih bolesti te se daju smjernice za buduća istraživanja. Naposljetku se obrambeni odgovor biljaka uspoređuje s imunosnim sustavom u životinja, te s obzirom da biljne receptorske molekule zapravo prepoznaju modifikacije koje patogene molekule izvode na ciljnim mjestima domaćina, što veoma nalikuje razlikovanju vlastitog od promijenjenog vlastitog, te je temelj imunosnog prepoznavanja, zaključuje se da je opravdano nazvati obrambeni odgovor biljaka imunosnim odgovorom.

9. Summary

Plants have developed many mechanisms to recognize the presence of pathogens and to respond to their attack. Mentioned recognition mechanisms consist of the identification of microbial or related pathogenic molecular patterns (PAMPs or MAMPs), and of the recognition of specific effector molecules. In the first part of the recognition surface PRR receptors are included, which activate a defense response of plants called immunity driven by PAMP (PAMP-triggered immunity i.e. PTI), and in the second part are included intracellular NB-LRR receptors, which activate a defense response called immunity driven by effector (effector-triggered immunity i.e. ETI).

This paper describes the organization of the plant response to pathogen attack, focusing on genetic and molecular level of response, mentioning the zig-zag model of plant defense response as a synthesis of current knowledge. Briefly is described the understanding of the regulation of the expression of genes encoding for the defense receptor molecules. It states the importance of knowledge of the plant defense response to the development of new strategies for the control of plant diseases and is given guidance for future research. Finally, the defensive response of plants is compared with the immune system in animals, and because the plant receptor molecules actually recognize modifications that the pathogenic molecules perform at the target sites of the host, which greatly resembles the distinction between self and changed self, and is the basis of immune recognition, it is concluded that it is justified for the defense response of plants to be called immune response.