جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقاله آموزشی-مروری

مسیرهای ترارسانی علامت (پیام مولکولی) در مقاومت به ویروس های گیاهی

امین اله طهماسبی [1*]، اکبر دیزجی، مریم زنگنه، مینا کوهی حبیبی
گروه گیاهپزشکی، بخش بیماری شناسی گیاهی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

چکیده

گیاهان به طور طبیعی در مقابله با بیمارگرهای مختلف از جمله ویروس ها با بکارگیری مکانیسم های مقاومت، همانند پاسخ فوق حساسیت و مقاومت اکتسابی سیستمیک، پاسخ های دفاعی از خودنشان می دهند. مقاومت مستلزم تشخیص ویروس توسط گیاه و سیگنال دهی بعد از تشخیص ویروس می باشد. در این زمینه می توان به پروتئین های مقاومت (R) گیاه اشاره نمود که محصول ژن Avr ویروس ها را به طور مستقیم یا غیر مستقیم تشخیص می دهند. پس از تشخیص ویروس توسط میزبان، عملکرد کمپلکس پروتئین R باید از حالت تشخیص به انتقال سیگنال تغییر یابد. سپس مسیرهای سیگنال دهی در گیاه بکار می افتند که مولکول ها و ترکیبات متنوعی در این مسیرهای سیگنال دهی ایفای نقش می کنند که از جمله آن ها می توان به انواع اکسیژن آزاد، نیتریک اکسید، سالیسیلیک اسید، جاسمونیک اسید، اتیلن، پلی آمین ها و آبشارهای MAP کیناز اشاره کرد. به نظر می رسد که گیاهان با توسعه ارتباط بین این مسیرها، در صدد محدود نمودن آلودگی های ویروسی می باشند. در این مقاله مسیرهای ترارسانی علامت برای ایجاد مقاومت به ویروس های گیاهی بحث میشود.

واژگان کلیدی: مقاومت گیاه؛ پروتئین های R؛ تشخیص ویروس؛ مسیرهای سیگنال دهی.

مقدمه

گیاهان دائما با طیف وسیعی از بیمارگرها از جمله ویروس‌ها مواجه هستند. برای هر گونه گیاهی خاص اغلب ویروس‌ها نمی توانند بر دفاع‌های پایه ای گیاه که شامل لایه مومی پوشاننده گیاه و خاموشی ژن پس از رونویسی میباشد، غلبه کنند. زمانی که ویروس قادر به نفوذ در گیاه است، بقای میزبان به تشخیص سریع ویروس حمله کننده و علامتدهی سریع پاسخ دفاعی بستگی دارد. یک شکل از مقاومت نوع ژن برای ژن میباشد. چنانچه گیاه توسط پروتئین مقاومت خود (R) محصول Avr بیمارگر را تشخیص دهد گیاه پاسخ‌های دفاعی اش را بالا میبرد و آلودگی را خنثی میکند. بنابراین پروتئین‌های R گیاه نقش دوگانه ای دارند، نه تنها آن‌ها بیمارگر را به طور مستقیم یا غیر مستقیم تشخیص میدهند بلکه باید بتوانند سیگنال دهی منجر به پاسخ دفاعی را نیز آغاز کنند. برهمکنش بیمارگر_میزبان به احتمال زیاد یک برهمکنش بین پروتئین Avr بیمارگر و کمپلکس تشخیص میزبان میباشد که این برهمکنش منجر به سیگنال دهی و یک پاسخ دفاعی در میزبان

* امین اله طهماسبی MSc
دانشجوی کارشناسی ارشد گروه گیاهپزشکی، بخش بیماری شناسی گیاهی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
پست الکترونیک: tahmasebia@ut.ac.ir
تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۵/۲۲
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۷/۵

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

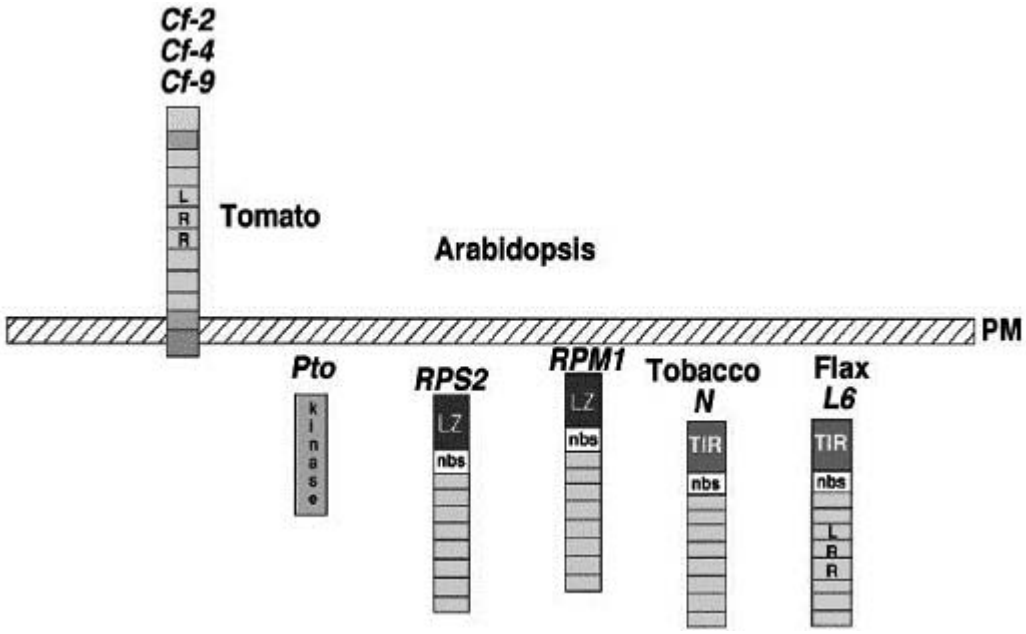
می گردد. یکی از پاسخ‌های دفاعی اولیه، پاسخ فوق حساسیت (HR[1]) است که نوعی مرگ برنامه ریزی شده سلولی است که در محل نفوذ بیمارگرها از جمله ویروس‌ها رخ میدهد، ولی همیشه برای محدود کردن ویروس‌ها لازم نیست (۱). نیتریک اکسید و انواع اکسیژن فعال[2] نیز برای سیگنال دهی HR مشارکت دارند. نیتریک اکسید مشابه پراکسید هیدروژن کاندیدای عالی برای سیگنال دهی سلول به سلول می‌باشد (۲). علاوه بر انواع اکسیژن فعال و نیتریک اکسید، سالیسیلیک اسید هم در HR علیه بیمارگرهای ویروسی و غیر ویروسی نقش دارد. سالیسیلیک اسید باید از طریق مسیری که مستقل از NPR1[3] است (که در مورد ویروسها، مسیر حساس به سالیسیلیک هیدروکسامیک اسید میباشد) سیگنالدهی کند (۳). مقاومت اکتسابی سیستمیک (SAR[4]) باعث مقاومت طولانی مدت به آلودگی‌های ثانویه طیف وسیعی از بیمارگرها از جمله ویروس‌ها، باکتری‌ها ، اامیست‌ها و قارچ‌ها می‌شود (۴). علاوه بر عوامل ذکر شده، پلی آمین‌ها نیز ممکن است در مقاومت ایجاد شده توسط گیاهان به ویروس موزائیک توتون نقشی ایفا کنند (۵). همچنین آبشارهای MAP kinase[5] کیناز نیز نقش‌های متفاوتی در گیاه ایفا می کنند که شامل سیتوکینز، سیگنال دهی هورمون گیاهی، پاسخ به زخم، تنش اسمزی و مقاومت به بیماری می باشد (۶). پروتئین‌های تنظیمی نیز در مقاومت گیاهان علیه بیمارگرها نقش ایفا میکنند که از جمله آن‌ها میتوان به پروتئین‌های EDS1[6] و PAD4[7] اشاره کرد. پروتئین‌های رمز شده توسط EDS1 و PAD4 به تری آسیل گلیسرول لیپازها _ استرازها تشابه نشان میدهند. از این رو احتمال میرود که سیگنال دهی اسید چرب_ لیپید نیز در مقاومت به بیمارگرهای ویروسی لازم باشد (۱). در این مقاله مسیرهای مختلف سیگنال دهی مقاومت گیاه علیه بیمارگرهای ویروسی مرور میشود.

نقش ژن‌های مقاومت R در گیاهان علیه بیمارگرها

در گیاهان ژن‌های مقاومت به بیماری اغلب بیمارگرهای خاصی را که ژن Avr مربوطه را بیان میکنند، تشخیص میدهند. بیش از ۲۰ ژنR از ۷ گونه گیاهی شامل تک لپه ای‌ها و دو لپه ای‌ها با اختصاصیت در تشخیص برای ژن‌های Avr معین جداسازی شده است. ژن‌های R پروتئین‌های مخصوص با موتیف‌های مشترک را کد میکنند. ۵ دسته از ژن‌های R با دامنه[8]های مختلف تاکنون تشخیص داده شده اند که شامل پروتئین کینازهای درون سلولی، پروتئین کینازهای شبه رسپتوری با یک دامنه LRR[9] خارج سلولی، پروتئین‌های LRR درون سلولی با یک دامانه NBS[10] و یک موتیف LZ[11]، پروتئین‌های NBS-LRR درون سلولی با یک ناحیه شبیه به پروتئین‌های TIR[12] و پروتئین‌های LRR که پروتئین‌های خارج سلولی متصل به غشاء را کد میکنند، میباشند (۷). اغلب پروتئین‌های R که باعث مقاومت به ویروس‌ها و بیمارگرهای دیگر میشوند در گروه خاصی از دسته‌های پروتئینی قرار می گیرند که دارای دامنه NBS- LRR میباشند. ژن‌های R دارای دامانه NBS-LRR در تشخیص بیمارگر و شروع بعدی پاسخ‌های دفاعی عمل میکنند. دامانه NBS از موتیف‌های P-Loop، Kinase-2، Kinase-3a و GLPL تشکیل شده است که برای فعالیت هیدرولیز و اتصال به GTP یا ATP بسیار حفاظت شده اند، در حالی که تصور میشود دامانه انتهای c، LRR فعالیت وابسته به تشخیص مقاومت را تامین میکند (۸). اغلب ژن‌های R شناخته شده، رسپتورهای درون سلولی مهمی را رمز میکنند که دارای یک دامانه CC[13] یا TIR در انتهای N میباشند. عملکردهای دامانه‌های CC، TIR و NBS به طور کامل شناخته نشده است، اما همه پروتئین‌های مشابه شناسایی شده در سیستم حیوانات نقش‌هایی در برهمکنش‌های پروتئین- پروتئین و انتقال سیگنال ایفا میکنند. پروتئین‌های دارای دامانه‌های LRR -NBS بسته به اینکه ناحیه انتهای N این پروتئین‌ها از چه ترادفی تشکیل شده باشد، به دو زیر دسته CC و TIR تقسیم میشوند (۹). ژن N متعلق به زیر دسته ژن‌های NBS- LRR دارای یک دامانه TIR در انتهای N میباشد. ژن R ضد ویروسی کلون شده دیگر که به این زیر دسته تعلق دارد ژن Y۱ سیب زمینی است که باعث مقاومت به ویروس Y سیب زمینی (Potato virus Y, PVY) میشود (۱۰). ژن‌های R ضد ویروسی متعلق به زیر دسته CC-NBS-LRR نظیر RX1 وRX2 می‌باشند که دو ژن غیر مرتبط بوده ولی شبیه

1. Hypersensitive Response
2. Reactive oxygen species
3. Non expresser of PR Genes 1
4. Systemic acquired resistance
5. Mitogen activated protein kinase
6. Enhanced disease susceptibility 1
7. Phytoalexin deficient 4
8. Domain
9. Leucine rich repeat
10. Nucleotide binding site
11. Leucine Zipper
12. Toll and interleukin-1 receptor
13. Coiled Coil

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد



شکل ۱: ساختار پروتئین های R در میزبان های مختلف

هم عمل می‌کنند وباعث مقاومت حداکثر[14] به ویروس X سیب زمینی (Potato virus X, PVX) بدون القای HR میشوند (۱۱و۱۲). بعضی از ژن‌های مقاومت بدون این که مرگ سلولی واکنش فوق حساسیت ظاهر شود باعث ایمنی در گیاهان می‌شوند که از همانند سازی ویروس جلوگیری و هیچ ویروسی نمی تواند مشاهده شود که به عنوان مقاومت بی نهایت توصیف میشود که در مورد ویروس X سیب زمینی، همانندسازی به میزان محدودی اتفاق می افتد و در پی آن یک مقاومت القا شده رخ میدهد که منجر به جلوگیری از همانندسازی بیشتر ویروس میشود. HRT و RCY1 دو ژن ضد ویروسی جداسازی شده آرابیدوپسیس هستند که به ترتیب باعث مقاومت به ویروس چروکیدگی شلغم (Turnip crinkle virus, TCV) و نژاد زرد ویروس موزائیک خیار (Cucumber mosaic virus, CMV) میشوند (۱۳و۱۴). RPP8 باعث مقاومت به شبه قارچ Peronospora parasitica میشود. HRT، RCY1 و RPP8 سه آلل یک ژن میباشند که باعث مقاومت به سه بیمارگر گیاهی مختلف میشود (۱۳و۱۵). مکانیسم‌های حفاظت شده ای برای تشخیص و سیگنال دهی توسط ژن‌های LRR– NBS وجود دارد. تعداد بیمارگرهای شناسایی شده توسط HRT/RCY1/RPP8 از ژن‌های R پیشنهاد میکند که گیاهان ممکن است آلل‌هایی را که میتوانند کار تشخیص را انجام دهند تکامل دهند و باعث مقاومت به تعداد زیادی از بیمارگرها شوند (۱۳). به طور متناوب ژن‌های R به وسیله فرآیند تکرار[15] و یک واگرایی[16] در تشخیص تغییر داده میشوند. برای مثال Gpa2 در سیب زمینی در مجاورت RX1 می باشد ولی سبب مقاومت به نماتد میشود (۱۶). در شکل ۱ ساختار چندین پروتئین R نشان داده شده است.

تولیدات ویروسی(Avr) تشخیص داده شده توسط پروتئین‌های R

توباموویروس‌ها نظیر ویروس موزائیک توتون (TMV) [17] و ویروس موزائیک گوجه فرنگی (ToMV)[18] سه پروتئین را کد میکنند که شامل رپلیکاز، پروتئین حرکتی و پروتئین پوششی میباشند. ژن‌های R برای تشخیص هر سه پروتئین این ویروس‌ها تکامل یافته اند. همچنین پروتئین‌های R میتوانند پروتئین‌های ویروسی را از طریق برهمکنش‌های پروتئین- پروتئین علاوه بر شناسایی محصول آنها تشخیص دهند. پروتئین N دامنه هلیکاز پروتئین رپلیکاز ویروس موزائیک توتون را تشخیص میدهد. ژن N باعث مقاومت به همه توباموویروس‌ها

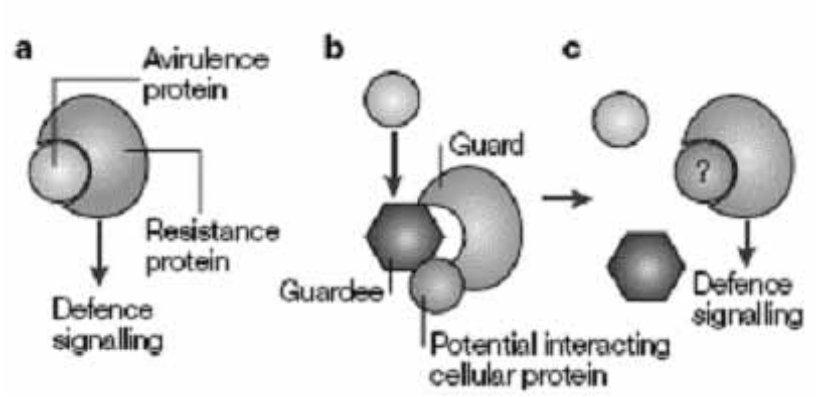
14. Extreme Resistance
15. Duplication
16. Divergence
17. Tobacco Mosaic Virus
18. Tomato Mosaic Virus

به استثنای نژاد ob ویروس موزائیک توتون میشود (۱۷). تغییرات آمینواسیدی در جایگزینی آمینو اسید پرولین با لوسین در دامنه هلیکاز پروتئین رپلیکاز نژاد ob باعث شد که بر مقاومت ایجاد شده توسط ژن N غلبه کند (۱۸). ژن‌های آللی Tm-2 و $Tm-2^2$، پروتئین حرکتی ویروس موزائیک گوجه فرنگی را تشخیص میدهند (۱۹و۲۰). آلل‌های Tm-2 و $Tm-2^2$ عملکرد پروتئین حرکتی را تشخیص نمی دهند بلکه تشخیص احتمالا از طریق برهمکنش‌های پروتئین- پروتئین رخ میدهد (۲۱). جهش در انتهای C متغیر پروتئین حرکتی که برای حرکت و همانندسازی ویروس موزائیک گوجه فرنگی غیرضروری است باعث شکستن مقاومت در بعضی نژادها میشود (۲۲). ژن‌های R ضدویروسی نظیر HRT، N ، RX2، RX1 وRCY1 همگی پروتئین پوششی ویروس را تشخیص می‌دهند. جهش در پروتئین پوششی نژادهای مقاوم ویروس X سیب زمینی باعث جلوگیری از تشخیص محصول ژن RX1 میزبان میشود (۲۳). پروتئین پوششی ویروس X سیب زمینی برای تحریک پاسخ مقاومتی ایجاد شده توسط ژن RX1 به ویروس X سیب زمینی ضروری است. ویروس موزائیک توتون نوترکیب بیان کننده پروتئین پوششی ویروس X سیب زمینی، در پروتوپلاست‌های دارای RX1 بیان شد. ویروس موزائیک توتون به طور عادی میتواند پروتوپلاست‌های دارای RX1 را آلوده و درون آن‌ها همانندسازی کند اما ویروس موزائیک توتون بیان کننده پروتئین پوششی ویروس X سیب زمینی در پروتوپلاست‌های دارای RX1 نمی تواند همانندسازی کند (۲۴). ژن RY باعث یک مقاومت پایدار و حداکثری به ویروس Y سیب زمینی میشود. یک پروتئاز هسته ای در ویروس Y سیب زمینی میتواند پاسخ مقاومتی ایجاد شده توسط ژن RY1 را تحریک کند (۲۵). این پروتئاز هسته ای هم از طریق برهمکنش پروتئین- پروتئین و یا از طریق فعالیت پروتئازی خود که یک پروتئین میزبانی را میشکند، تشخیص داده میشود.

انواع برهمکنش‌های بین پروتئین‌های R و تولیدات ویروسی (Avr)

در موارد محدودی برهمکنش‌های مستقیمی بین پروتئین‌های R و لیگاندهای Avr بین گیاهان و بیمارگرهای غیر ویروسی نشان داده شده است (۲۸،۲۷،۲۶و۲۹). به دلیل اینکه اغلب پروتئین‌های R همسانه سازی شده در ایجاد برهمکنش مستقیم با پروتئین‌های Avr ناموفق بودند، نظریه دیگری به نام نظریه گارد[19] پیشنهاد شد (۳۰). بر اساس نظریه گارد (شکل b2) پروتئین‌های R به عنوان گاردهایی عمل میکنند که فاکتورهای کلیدی سلول میزبان (guardee) را کنترل کرده و گاردی توسط محصول Avr بیمارگر تغییر داده میشود. پروتئین‌های R، بیمارگر را توسط یک تغییر در وضعیت فاکتور سلولی تشخیص میدهند نظریه گارد ممکن است بعضی از برهمکنش‌های غیر ویروسی بیمارگر- میزبان را بیان کند. برای مثال در برهمکنش بین نژادهای غیر بیماریزای باکتری Pseudomonas syringae وArabidopsis thailiana محصول دو ژن R مختلف، پروتئین سلولی RIN4 را گارد میکنند. Avr

19. Guard Hypothesis



شکل ۲: انواع برهمکنش های بین پروتئین های R و تولیدات ویروسی (Avr) (۸۳) a- نظریه لیگاند-گیرنده بیان می کند که پروتئین های مقاومت، بیمارگر را به طور مستقیم توسط برهمکنش با پروتئین های Avr تشخیص می دهند و سیگنال دهی دفاعی را آغاز می کنند. b- در نظریه گارد، کمپلکسی از پروتئین های سلولی میزبان (شامل گاردی، گارد و پروتئینی که پتانسیل برهمکنش با گارد را دارد) توسط محصول Avr بیمارگر تغییر یافته و نهایتا منجر به سیگنال دهی و دفاع می شود (c).

RPM1 یا Avr B باعث فسفوریله شدن RIN4 میشود که این پدیده توسط RPM1 تشخیص داده شده و در نهایت یک پاسخ مقاومتی القا میشود (۳۱). دیگر پروتئین R ، RPS2 میباشد که تجزیه سریع RIN4 را تشخیص میدهد (۳۲). مثال برهمکنش گیاه–ویروس که از نظریه گارد تبعیت میکند، برهمکنش بین TIP[20]میزبان و پروتئین پوششی ویروس چروکیدگی شلغم میباشد که برای مقاومت ایجاد شده توسط ژن HRT لازم است. بنابر این محصول ژن HRT ممکن است گارد پروتئین میزبانی TIP باشد. نظریه دیگر این است که HRT گارد پروتئینی است که به TIP باند میشود و یا توسط TIP تنظیم میشود. پروتئین میزبانی TIP به خانواده NAC تعلق دارد و توانایی القای رونویسی در مخمر را دارا میباشد. احتمالا موقعی که پروتئین پوششی ویروس چروکیدگی شلغم به پروتئین میزبانی TIP باند میشود رونویسی ژن‌های تنظیم شده توسط TIP تغییر کرده و ژن HRT ممکن است به طور غیرمستقیم تغییر در رونویسی را تشخیص و این امر منجر به ایجاد مقاومت شود (۳۳).

کمپلکس‌های دارای پروتئین R و نقش آن‌ها در فعال شدن سیگنال دهی مقاومت

نظریه گارد بیان میکند که برهمکنش بیمارگر–میزبان به احتمال زیاد یک برهمکنش بین پروتئین Avr بیمارگر و کمپلکس تشخیص میزبان میباشد که این برهمکنش منجر به سیگنال دهی و یک پاسخ دفاعی در میزبان میگردد. پروتئین شوک حرارتی ۹۰ کیلو دالتونی [21](Hsp90) اولین پروتئینی بود که برهمکنش مستقیم آن با پروتئین N مقاومت به ویروس موزائیک توتون به صورت برهمکنش مستقیم دامانه LRR پروتئین N با Hsp90 در سیستم دو رگه سازی مخمر [22]شناسایی شد (۳۴). خاموشی ژن Hsp۹۰ باعث از دست دادن مقاومت ایجاد شده توسط پروتئین N به ویروس موزائیک توتون شد (۳۴و۳۵). بر اساس نتایج تحقیقات، مشخص شده که Hsp90 برای عملکرد ژن‌های R، Rpm1 ، Rps2 و Pto ژن‌های مقاومت به نژادهای مختلف باکتری Pseudomonas syringae و RX1 ژن مقاومت به ویروس ایکس سیب زمینی لازم است (۳۶و۳۷). نقش دقیق پروتئین شوک حرارتی در مقاومت به بیماری ناشناخته است. پروتئین شوک حرارتی یک چاپرون وابسته به ATP بسیار حفاظت شده یوکاریوتی است که تا خوردگی صحیح پروتئین و فعال شدن پروتئین‌ها را آسان میکند (۳۸). احتمال دارد که Hsp90 نقشی غیراختصاصی در تا خوردگی پروتئین‌های R و اجزای دخیل در مقاومت ایجاد شده توسط ژن R داشته باشد (۳۹). زمانی که ژن Hsp90 خاموش میشود سطح پروتئین RX1 کاهش مییابد. بنابر این احتمال میرود Hsp90 پایداری RX1 را کنترل کند (۳۵). Hsp90 به طور مستقیم با پروتئین مقاومت N و اجزای دیگر سیگنال دهی مقاومت به بیماری (SGT1, RAR1) برهمکنش میدهد (۳۴و۳۷). خاموشی RAR1 [23] در گیاهان مقاوم باعث از دست دادن مقاومت ایجاد شده توسط N به ویروس موزائیک توتون شد (۴۰). SGT1[24] به طور مستقیم با RAR1 و Hsp90 برهمکنش میدهد. خاموشی SGT1 باعث مختل شدن مقاومت به ویروس X سیب زمینی توسط RX1 و مقاومت به ویروس موزائیک توتون توسط N شد (۴۱و۴۲). Hsp۹۰ چاپرونی[25] است که تا خوردگی و تشکیل کمپلکس پروتئین R را تنظیم میکند و RAR1 و SGT1 را به عنوان چاپرون‌های همراه[26] به کار میگیرد. بنابراین احتمال میرود کمپلکس RAR1 ، SGT1 وHsp90 در تنظیم فراوانی و یا فعال شدن کمپلکس‌های دارای پروتئین R نقش داشته باشد (۳۶). تغییرات در کمپلکس تشخیص ممکن است توسط تغییرات در برهمکنش‌های درون مولکولی دامنه‌های پروتئین R آغاز شود. دامانه‌های CC–NBS و LRR پروتئین RX1 به طور فیزیکی با هم دیگر بر همکنش دارند. این برهمکنش فقط در حضور پروتئین پوششی ویروس ایکس سیب زمینی مختل می شود. تشخیص ممکن است توسط الیسیتور ویروسی رخ دهد که به طور مستقیم یا غیر مستقیم برهمکنش‌های درون مولکولی دامانه‌های پروتئین‌های R را مختل می کند. عدم برهمکنش دامانه‌ها ممکن است اجزای کمپلکس پروتئین R را تغییر دهد که توسط فعال شدن دامانه‌های سیگنال دهی از جمله CC یا NBS رخ می دهد که سپس اجزای سیگنال دهی را برای کمپلکس به کار می گیرد (۴۳).

ترارسانی علامت

پس از اینکه یک ویروس توسط میزبان تشخیص داده می شود عملکرد کمپلکس پروتئین R میزبان باید از تشخیص به انتقال سیگنال تغییر یابد. برهمکنش‌های درون مولکولی، فعال شدن دامانه NBS و تغییرات

20. TCV interacting protein
21. Heat shock protein 90
22. Yeast two-hybrid system
23. Required forMla12 resistance
24. Suppressor of G-two allele of Skp1
25. Chaperone
26. Co- chaperone

در اجزای سیگنال دهی که ممکن است مرتبط با دامانه‌های CC یا TIR و LRR باشد همگی در اوایل سیگنال دهی نقش دارند. به هر حال نقش دقیق آن‌ها در ابتدای انتقال سیگنال مبهم باقی مانده است. دانشمندان تحقیقات عمده ای را در زمینه شناسایی مولکول‌های سیگنال ضروری، مسیرهای سیگنال دهی مرتبط با دفاع و اجزای سیگنال دهی انجام داده اند.

انواع اکسیژن فعال[27]

یکی از پاسخ‌های دفاعی اولیه پاسخ فوق حساسیت (HR) است که نوعی مرگ برنامه ریزی شده سلولی است که در مکان نفوذ بیمارگرها از جمله ویروس‌ها رخ میدهد ولی همیشه برای محدود کردن ویروس‌ها این مکانیسم لازم نیست. HR در ارتباط با سیگنال دهی پاسخ مقاومتی ایجاد شده توسط ژن R میباشد. بعد از HR پاسخ مقاومت اکتسابی سیستمیک (SAR) منجر به مقاومت به آلودگی بعدی توسط تعدادی از بیمارگرها میشود (۱). HR وابسته به تولید انواع اکسیژن فعال است که به طور عمده به شکل‌های آنیون سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل می‌باشند (۴۴). انواع اکسیژن فعال در میزبان در طی آلودگی به بیمارگرهای قارچی، باکتریایی و ویروسی شناسایی شده اند. تولید انواع اکسیژن فعال دو مرحله ای است، در مرحله اول (دقایق ابتدایی آلودگی) یک انفجار کوچک رخ می دهد که توسط جدایه‌های بیماریزا و غیر بیماریزای بیمارگر القا می شود. مرحله دوم که قویتر و پایدارتر است، در ارتباط با مقاومت به بیماری می باشد (۴۵). انواع اکسیژن فعال نقش مهمی در مقاومت ایجاد شده توسط ژن R به ویروس‌ها ایفا می کنند. تولید آنیون سوپراکسید وابسته به کلسیم است و ممکن است توسط NADPH اکسیداز تولید شود. آنیون سوپراکسید فورا به پراکسید هیدروژن تبدیل می شود و یا به طور فعال توسط سوپر اکسید دیسموتاز به پراکسیدهیدروژن تبدیل میشود (۴۶). موقعی که آنتی اکسیدانت‌هایی نظیر آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و کربونیک انهیدراز ممانعت می شوند غلظت پراکسید هیدروژن در میزبان تجمع می یابد (۴۷،۴۸و۴۹). پراکسید هیدروژن ممکن است توسط پراکسیدازها و پلی آمین اکسیدازهای دیواره سلولی نیز تولید شود (۵۰و۵۱). پراکسید هیدروژن برای تنظیم HR ضروری است. بیان ۲ تا ۴ برابری ژن کاتالاز CAT1 (کاتالاز، پراکسید هیدروژن را به آب تبدیل میکند) میزان پراکسید هیدروژن را کاهش می دهد که منجر به لکه‌های بزرگتر HR در اثر القای ویروس موزائیک توتون می شود (۵۲).

پراکسید هیدروژن ممکن است جریان کلسیم را کنترل کند و باعث القای کلسیم سیتوپلاسمی شود که نقش مهمی در طول HR ایفا می کند. پراکسید هیدروژن ممکن است روی مسیرهای سیگنال دهی که به تغییرات در وضعیت ردوکس[28](Redox) سلولی حساس اند اثر بگذارد. پراکسید هیدروژن بیان گلوتاتیون–اس– ترانسفراز و گلوتاتیون پراکسیداز را القا می کند (۵۳). این آنزیم‌ها به سرعت وضعیت ردوکس سلولی را به یک محیط احیا شونده تغییر می دهند که این تغییرات در وضعیت ردوکس سلولی برای القای یک پاسخ دفاعی ضروری است. مشخص شده که محیط سلولی احیا شده باعث مونومری شدن جزء سیگنال دهی NPR1 و حرکت آن به داخل هسته می شود.NPR1 در هسته به فاکتورهای رونویسی TGA باند شده و بیان ژن‌های مرتبط با دفاع[29]را القا می کند (۵۴و۵۵). به علاوه غلظت بالای سالیسیلیک اسید می تواند تجمع پراکسید هیدروژن را در نتیجه بازدارندگی آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز به وسیله باند شدن به این آنزیم‌ها افزایش دهد. آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز باعث تجزیه پراکسید هیدروژن میشوند. غلظت بسیار بالای سالیسیلیک اسید برای بازدارندگی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز لازم است (۴۸).

نیتریک اکسید

تولید نیتریک اکسید دو مرحله ای است و تقریبا از نظر زمانی مشابه انواع اکسیژن فعال تولید می شود (۵۶). نیتریک اکسید و انواع اکسیژن فعال برای سیگنال دهی HR مشارکت دارند. نیتریک اکسید مشابه پراکسید هیدروژن کاندیدای عالی برای سیگنال دهی سلول به سلول می باشد. اگر چه نیتریک اکسید به شدت با اکسیژن واکنش می دهد و نیمه عمر چند دقیقه ای دارد اما توانایی انتشار در طول غشاءها را نیز دارد (۲). در پستانداران سیگنال‌های نیتریک اکسید از طریق یک مسیر وابسته به گوانوزین مونو فسفات حلقوی (cGMP) می باشد (۵۷). نیتریک اکسید میزان گوانوزین مونو فسفات حلقوی را افزایش می دهد و در پایین دست گوانوزین مونو فسفات حلقوی، ADP ریبوز حلقوی برای تنظیم کلسیم عمل می کند (۵۸). اخیرا مولکول فعال نیتریک اکسید به عنوان یک سیگنال در دفاع گیاه نشان داده شده است، که به طور جالب نیتریک اکسید از فعالیت سیتوکروم اکسیداز در کمپلکس ۴ انتقال

27. Reactive oxygene species
28. Reduction-oxidation
29. Pathogenesis related genes

الکترون میتوکندری جلوگیری میکند و متعاقبا اکسیداز متناوب را فعال میکند. علاوه بر نقش نیتریک اکسید در بالا دست سالیسیلیک اسید، ممکن است یک عمل ثانویه درآغاز فعالیت اکسیداز متناوب داشته باشد و در نتیجه مسیر حساس به سالیسیل هیدروکسامیک اسید را تحریک کند (۵۹). نیتریک اکسید ممکن است پاسخ مقاومت به بیماری را از طریق نیتروزیله شدن (افزوده شدن گروه نیتروزیل) آمینو اسیدهای حساس به ردوکس نظیر سیستئین یا تیروزین و یا با واکنش با فلزهای مرکزی القا کند (۶۰و۶۱).

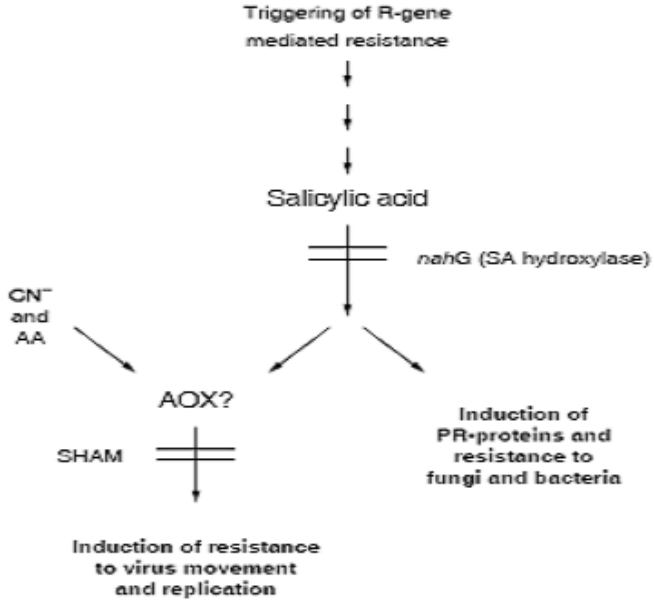
نقش یون کلسیم در سیگنال دهی دفاعی

ابتدا انفجار اکسایشی جریان یون کلسیم را در طول غشای پلاسمایی از طریق کانال‌های بادروازه نوکلئوتید چرخه ای [۳۰]فعال میکند که به خاطر تحرک یون‌های کلسیم از نقاط ذخیره ای درون سلولی میباشد. دامانه‌های پروتئین‌های NADPH اکسیداز، موتیف‌های EF-hand دارند که از خصوصیات پروتئین‌های تنظیم شده توسط میزان یون کلسیم میباشد. تغییرات در جریان یون کلسیم هم در بالادست و هم درپایین دست مسیر تولید انواع اکسیژن فعال عمل می کند که منجر به یک فیدبک مثبت روی تولید انواع اکسیژن فعال شده و همراه با نیتریک اکسید به مرگ سلولی در واکنش فوق حساسیت کمک میکند. اثر دیگر تغییرات غلظت یون کلسیم در سیتوپلاسم، آغاز فعالیت پروتئین کینازهای وابسته به کلسیم میباشد (۶۲). نقش سوم برای کلسیم و کالمودولین در تنظیم و افزایش سیگنال دهی سالیسیلیک اسید عنوان شده است. همچنین اتصال کلسیم و کالمودولین به فاکتور رونویسی SR1 آرابیدوپسیس از بیان EDS1 جلوگیری و تجمع سالیسیلیک اسید و دفاع را سرکوب میکند. از طرف دیگر باند شدن کالمودولین به پروتئین القا شده توسط PTI [۳۱] (مقاومت پایه) به طور مثبت در ارتباط با افزایش سالیسیلیک اسید و مقاومت به بیمارگر میباشد (۶۳).

سیگنال دهی سالیسیلیک اسید از طریق مسیر مستقل از NPR۱در مقاومت علیه بیمارگرهای ویروسی

سالیسیلیک اسید باید از طریق مسیری که مستقل از NPR1 است، سیگنال دهی کند. مسیر مستقل از NPR1 اختصاصی که برای مقاومت به ویروس‌ها لازم است، در سال ۱۹۹۷ شناسایی شده است. سالیسیل هیدروکسامیک اسید [۳۲](SHAM) مقاومت وابسته به سالیسیلیک اسید علیه ویروس موزائیک توتون در توتون را سرکوب می کند، در حالی که از مقاومت به بیمارگرهای قارچی و باکتریایی جلوگیری نمی کند. بنابر این مسیر حساس به سالیسیل هیدروکسامیک اسید شکل جدیدی از انتقال سیگنال وابسته سالیسیلیک اسید بوده و یک مسیر اختصاصی مقاومت علیه ویروس‌ها است (۳). در پایین دست سالیسیلیک اسید، مسیر انتقال سیگنال دفاعی به دو شاخه تقسیم میشود. یک شاخه منجر به القای پروتئین‌های PR و مقاومت اکتسابی سیستمیک میشود که علیه قارچها و باکتری‌ها عمل میکنند. شاخه دیگر منجر به القای مقاومت به همانندسازی یا حرکت در مسافت طولانی ویروس‌ها میشود. این شاخه مختص ویروس میتواند توسط سیانید (CN) و آنتی مایسین A (AA)، فعال و توسط سالیسیل هیدروکسامیک اسید (SHAM) ممانعت شود. فعالیت پروتئین اکسیداز متناوب (AOX) و میزان رونوشت آن در بافت توتون بیان کننده مقاومت اکتسابی سیستمیک افزایش مییابد. در چرخه آلودگی گیاه توسط ویروس، احتمالا سالیسیلیک اسید میتواند سه مرحله همانند سازی، حرکت سلول به سلول و حرکت طولانی مسافت را توسط کاهش بیان ژن‌های گیاهی کدکننده (فاکتورهای میزبانی) که همانندسازی و حرکت ویروس را حمایت میکنند، مورد هدف قرار دهد. همچنین سالیسیلیک اسید ممکن است تجمع بازدارنده‌های همانند سازی و حرکت ویروس را القا کند. کاربرد سالیسیلیک اسید خارجی، رونویسی ژن‌های اکسیداز متناوب را القا و مسیر متناوب تنفسی را فعال میکند. افزایش در میزان رونوشت‌های اکسیداز متناوب به طور مثبت با تعداد لکههای واکنش فوق حساسیت مرتبط است. سالیسیلیک اسید فعالیت کمپلکس آر.ان.ای پلی مراز وابسته به آر.ان.ای (RdRp[۳۳]) ویروس موزائیک توتون را مختل میکند. به علاوه سالیسیلیک اسید مقاومت به ویروس‌ها را توسط بازدارندگی زنجیره انتقال تنفسی افزایش میدهد که منجر به افزایش انواع اکسیژن فعال میتوکندری میشود. کاربرد سالیسیلیک اسید میزان رونوشت ژن HRT (ژن مقاومت به ویروس چروکیدگی شلغم) را تا چندین برابر افزایش میدهد. افزایش میزان ژن R باعث افزایش مقاومت توسط سالیسیلیک اسید به ویروس چروکیدگی شلغم میشود. سالیسیلیک اسید همچنین بیان PAD4 و EDS1 را به میزان بالایی تنظیم میکند و بنابر این در یک حلقه افزایش دهنده

30. Cyclic nucleotide gated channels
31. Pathogen – associated molecular pattern- triggered immunity
32. Salicyl hydroxamic acid
33. RNA dependent RNA polymerase



شکل ۳: انواع مسیرهای سیگنال دهی سالیسیلیک اسید در مقاومت علیه بیمارگرهای ویروسی و غیر ویروسی

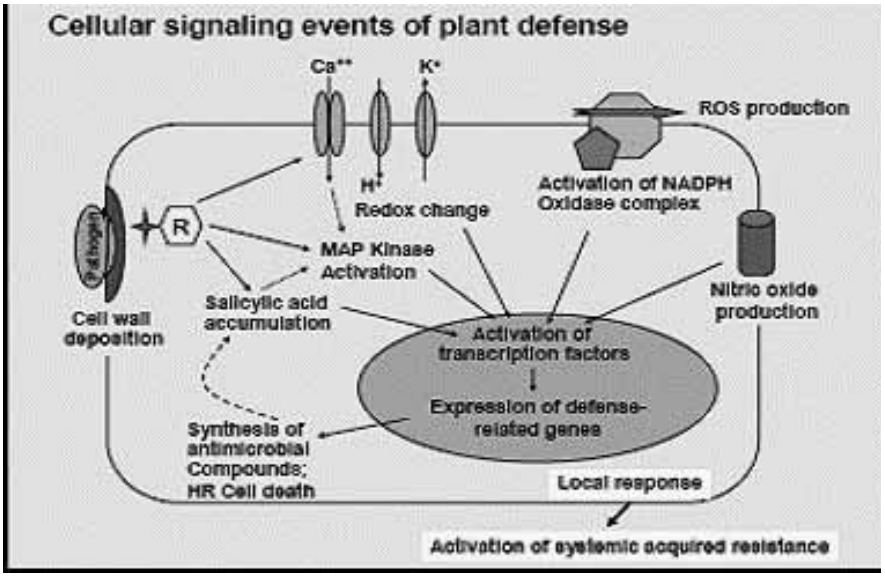
سیگنال در بر گیرنده این ژن‌ها شرکت دارد. حلقه افزایش دهنده سیگنال SA-PAD4می تواند مقاومت را توسط بیان زیاد ژن‌های R تنظیم کند. سالیسیلیک اسید همچنین بیان ژن‌های RNA پلی مراز وابسته به RNA آرابیدوپسیس و توتون را القا میکند که نقش مهمی در خاموشی RNA بازی میکند و پخش و تجمع ویروس‌های دارای RNA را محدود میکند. شکل ۳ نشانگر انواع مسیرهای سیگنال دهی سالیسیلیک اسید در مقاومت علیه بیمارگرهای ویروسی و غیر ویروسی میباشد.

مسیر سیگنال دهی القا شده توسط پلی آمین اسپرمین

پلی آمین‌ها ترکیبات چند کاتیونی با یک ساختار کربنی قابل انعطاف هستند که توانایی ارتباط با ترکیبات بار منفی نظیر نوکلئوئیک اسیدها، فسفولیپیدهای اسیدی و پروتئین‌ها را دارند. پلی آمین‌ها ممکن است نقشی در مقاومت ایجاد شده توسط گیاهان مقاوم به ویروس موزائیک توتون ایفا کنند (۵). نقش احتمالی پلی آمین‌ها در طول مقاومت به بیماری‌های ویروسی اغلب نادیده گرفته میشود. فراوانترین پلی آمین‌ها پوتریسین، اسپرمیدین و اسپرمین هستند(۷۳). پلی آمین اکسیدازها، پلی آمین‌ها را بواسطه دآمینه شدن اکسیداتیو به پراکسید هیدروژن تبدیل می کنند (۵۱). در طی HR القا شده توسط ویروس موزائیک توتون پلی آمین اسپرمین تا ۲۰ برابر در آپوپلاست افزایش می یابد(۵). افزایش در میزان پلی آمین‌ها فقط در فضاهای بین سلولی رخ میدهد و در کل عصاره سلولی برگ مشاهده نمی شود. میزان پروتئین‌های مرتبط با بیماریزایی (PR) در پاسخ به تیمار خارجی اسپرمین، سالیسیلیک اسید و آلودگی ویروس موزائیک توتون افزایش مییابد. کاربرد خارجی اسپرمین تشکیلHR را در یک مسیر وابسته به غلظت افزایش میدهد و بنابر این مقاومت ایجاد شده توسط گیاه مقاوم به ویروس موزائیک توتون را افزایش میدهد. اسپرمین و سالیسیلیک اسید ممکن است در مسیرهای جداگانه ای عمل کنند. زیرا سالیسیلیک اسید قادر به افزایش در میزان اسپرمین نیست و اسپرمین قادر به افزایش در میزان سالیسیلیک اسید نیست. به علاوه ژن‌های پراکسیداز توتون توسط اسپرمین القا میشوند اما توسط سالیسیلیک اسید القا نمیشوند (۷۴). بر اساس تحقیقات انجام شده، پلی آمین‌ها بواسطه دآمینه شدن اکسیداتیو توسط پلی آمین اکسیدازها و تبدیل به پراکسیدهیدروژن در مقاومت به ویروس‌ها ایفای نقش میکنند (۵۱). به نقش پراکسیدهیدروژن در مقاومت به ویروس‌ها قبلا اشاره شده است.

آبشارهایMAPKinaseدرمقاومت‌علیه‌بیمارگرهای‌ویروسی

آبشارهای MAP کیناز نقش‌های متفاوتی در گیاه ایفا می کنند که شامل سیتوکینزیز، سیگنال دهی هورمون گیاهی، پاسخ به زخم، تنش اسمزی و مقاومت به بیماری می باشد (۶). یک آبشار MAP کیناز از طریق یک سلسله از پروتئین کینازها جایی که MAPKKK[۳۴]



شکل۴: شمای کلی از مسیرهای مختلف سیگنال دهی در مقاومت علیه بیمارگرها

یک MAPKK[35] را توسط فسفوریله شدن فعال می کند، شروع می شود. در طول مقاومت ایجاد شده توسط ژن N به ویروس موزائیک توتون دو MAP کیناز، پروتئین کیناز القا شده توسط سالیسیلیک اسید (SIPK)[36] و پروتئین کیناز القا شده توسط زخم (WIPK)[37] فعال می شوند (۷۵و۷۶). خاموشی SIPK و WIPK منجر به کاهش مقاومت ایجاد شده توسط ژن N در گیاه توتون شد اما اثری روی واکنش فوق حساسیت نداشت (۷۷). احتمال دارد دی ترپنی به نام WAF-1 که در حالت طبیعی نیز وجود دارد، فعال کننده بالا دست SIPK و WIPK باشد. زیرا کاربرد خارجی WAF-1 باعث فعال شدن SIPK و WIPK بصورت مستقل مستقل از مسیر سیگنال دهی سالیسیلیک اسید میشود. میزان WAF-1 به دنبال آلودگی با TMV در گیاهان مقاوم به سرعت افزایش می یابد(۷۸). از طرف دیگرSIPK و WIPK زمانی که در طی دفاع فعال میشوند، بیان ژن‌های مرتبط با دفاع از جمله چندین فاکتور رونویسی از خانواده WRKY و MYB را القا میکنند(۷۷). در شکل ۴ شمای کلی از مسیرهای مختلف سیگنال دهی در مقاومت علیه بیمارگرها نشان داده شده است.

سیگنال دهی اسید چرب در مقاومت به بیمارگرهای ویروسی

قبلا ارتباط PAD4، EDS1 (پروتئین‌های تنظیمی) و سالیسیلیک اسید بیان شد. از طرف دیگر پروتئین‌های EDS1 و PAD4 به تری آسیل گلیسرول لیپازها – استرازها تشابه نشان میدهند. از این رو احتمال میرود که سیگنال دهی اسید چرب– لیپید در مقاومت به بیمارگرهای ویروسی لازم باشد. جهش یافته ssi2 که در یک استیرویل ACP دی ستوراز نقص دارند مقادیر کاهش یافته ای از اولئیک اسید تولید میکنند. این گیاهان جهش یافته ssi2 نسبتا به ویروس موزائیک خیار مقاوم اند. مقاومت این گیاهان به ویروس موزائیک خیار احتمالا به خاطر مقادیر کاهش یافته اولئیک اسید میباشد که در تنظیم پاسخ دفاعی گیاه علیه بیمارگرهای دیگر نقش دارد . به نظر میرسد میزان پایین اسیدهای چرب غیر اشباع ممکن است مقاومت را فقط علیه گروه خاصی از ویروس‌ها افزایش دهد به طور مثال گیاهان جهش یافته ssi۲ به ویروس موزائیک خیار نسبتا مقاوم ولی نسبت به ویروس چروکیدگی شلغم حساس اند (۱).

تجزیه پروتئین در سیگنال دهی دفاعی

ضرورت تجزیه پروتئین توسط یوبی کوئیتین [38]در مقاومت به برخی بیماری‌ها اثبات شده است. تجزیه پروتئین توسط یوبی کوئیتین توسط یک سری از آنزیم‌های متصل شونده به یوبی کوئیتین E1-E3 انجام

34. Mitogen activated protein kinase kinase kinase
35. Mitogen activated protein kinase kinase
36. Salicylic acid induced protein kinase
37. Wound induced protein kinase
38. Ubiquitin

میشود. پروتئین‌های متصل شونده به یوبی کوئیتین سپس توسط پروتئوزوم S۲۶ تجزیه میشوند. چندین پروتئین در یوبی کوئیتینه شدن پروتئین‌های تنظیم کننده منفی برای برخی مسیرهای مقاومت مورد نیاز میباشند که از جمله این پروتئین‌ها میتوان به SKP1، SGT1 و RAR1اشاره کرد. پروتئین‌های تجزیه شده میتوانند تنظیم کننده‌های منفی دفاع و مرگ برنامه ریزی شده سلولی باشند. این تنظیم کننده‌های منفی میتوانند از طریق مهندسی ژنتیک برای تولید گیاهان با مقاومت بیشتر تغییر یابند (۸۳). SGT1 دارای یک عملکرد ثانویه در طی مقاومت به بیماری می باشد. در مخمر، SGT1 یک جزء حفاظت شده از کمپلکس یوبی کوئیتین لیگاز SCF می باشد (۸۴). کمپلکس یوبی کوئیتین لیگاز SCF با همکاری پروتئین‌های دیگری اتصال یوبی کوئیتین به پروتئین‌های هدف را کاتالیز می کنند. اغلب پروتئین‌های یوبی کوئیتینه شده برای تجزیه بعدی از طریق پروتئوزوم S۲۶ مورد هدف قرار می گیرند (۸۵). کمپلکس یوبی کوئیتین لیگاز SCF با تجزیه فاکتور رونویسی EIN3 باعث فعال شدن مسیر سیگنال دهی اتیلن میشود (۸۶). خاموشی ژن بسیاری از اجزای دخیل در تجزیه پروتئوزوم یوبی کوئیتین منجر به از دست دادن مقاومت ایجاد شده توسط ژن N به ویروس موزائیک توتون شده است (۸۷). نتایج تحقیقات نشان میدهد که یک پروتئاز واکوئلی پاسخ فوق حساسیت القا شده توسط ویروس موزائیک توتون را به وسیله کمک به تجزیه واکوئل آغاز میکند. خاموشی پروتئاز واکوئلی پاسخ فوق حساسیت در گیاهان مقاوم را سرکوب کرده و میزان پروتئین پوششی ویروس موزائیک توتون را افزایش می دهد. این پروتئاز واکوئلی که به یک مسیر سیگنال دهی تعلق دارد، پاسخ فوق حساسیت و احتمالا مقاومت ایجاد شده توسط ژن N به ویروس موزائیک توتون را تنظیم می کند اما برای القای پروتئین‌های مرتبط بیماریزایی ضروری نیست (۸۸).

References

1. Loebenstein G and Carr JP (2006) Natural Resistance Mechanisms of Plants to Viruses. Springer publishers, Netherland, 532p.
2. Beligni MV, Fath A, Bethke PC, Lamattina L and Jones RL (2002) Nitric oxideacts as an antioxidant and delays programmed cell death in barley aleurone layers. Plant Physiol, 129: 1642-1650.
3. Chivasa S, Murphy AM, Naylor M and Carr JP (1997) Salicylic acid interferes with tobacco mosaic virus replication via a novel salicylhydroxamic acid-sensitive mechanism. Plant Cell, 9: 547-557.
4. Durrant WE and Dong X (2004) Systemic acquired resistance. Annu. Rev. Phytopathol., 42: 185–209.
5. Yamakawa H, Kamada H, Satoh M and Ohashi Y (1998) Spermine is a salicylate independent endogenous inducer for both tobacco acidic pathogenesis-related proteins and resistance against tobacco mosaic virus infection. Plant Physiol, 118: 1213-1222.
6. Zhang S and Klessig DF (2001) MAPK cascade in plant defense signaling. Trends Plant Sci, 6: 520-527.
7. Martin GB (1999) Functional analysis of plant disease resistance genes and their downstream effectors. Curr. Opin. Plant Biol, 2: 273–279.
8. Xu Q, Wen X and Deng X (2005) Isolation of TIR and nonTIR NBS–LRR resistance gene analoguesand identification of molecular markers linked to a powdery mildew resistance locus in chestnut rose (Rosa roxburghii Tratt). Theor. Appl. Genet, 111: 819–830.
9. Mondraǵn-Palomino M, Meyers BC, Michelmore RW and Gaut BS (2002) Patterns of Positive Selection in the Complete NBS-LRR Gene Family of Arabidopsis thaliana. Genome Res., 12: 1305-1315.
10. Vidal S, Cabrera H, Andersson RA, Fredriksson A and Valkonen JP (2002) Potato gene Y-1 is an N gene homolog that confers cell death upon infection with Potato virus Y. Mol. Plant-Microbe Interact, 15: 717-727.
11. Bendahmane A, Kanyuka K and Baulcombe DC (1999) The Rx gene from potato controls separate virus resistance and cell death responses. Plant Cell, 11: 781-791.
12. Bendahmane A, Querci M, Kanyuka K and Baulcombe DC (2000) Agrobacterium transient expression system as a tool for the isolation of disease resistance genes: application to the Rx2 locus in potato. Plant J, 21: 73-81.
13. Cooley MB, Pathirana S, Wu HJ, Kachroo P and Klessig DF (2000) Members of the Arabidopsis HRT/RPP8 family of resistance genes confer resistance to both viral and oomycete pathogens. Plant Cell, 12: 663-676.
14. Takahashi H, Miller J, Nozaki Y, Sukamto Takeda M, Shah J, Hase S, Ikegami M, Ehara Y and Dinesh-Kumar SP (2002) Arabidopsis thaliana RPP8/HRT family resistance gene, conferring resistance to cucumber mosaic virus requires salicylic acid, ethylene and a novel signal transduction mechanism. Plant J, 32: 655-667.
15. McDowell J, Dhandaydham M, Long T, Aarts M, Goff S, Holub E and Dangl J (1998) Intragenic recombination and diversifying selection contribute to the evolution of downy mildew resistance at the RPP8 locus of

Arabidopsis. Plant Cell, 10: 1861-1874.
16. van der Vossen EA, van der Voort JN, Kanyuka K, Bendahmane A, Sandbrink H, Baulcombe DC, Bakker J, Stiekema WJ and Klein-Lankhorst RM (2000) Homologues of a single resistance-gene cluster in potato confer resistance to distinct pathogens: a virus and a nematode. Plant. J, 23: 567-576.
17. Tobias I, Rast B and Maat DZ (1982) Tobamoviruses of pepper, eggplant, and tobacco: comparative host reactions and serological relationships. Neth. J. Plant Pathol, 88: 257-268.
18. Padgett HS and Beachy RN (1993) Analysis of a tobacco mosaic virus strain capable of overcoming N gene-mediated resistance. Plant Cell, 5, 577-586.
19. Meshi T, Motoyoshi F, Maeda T, Yoshiwoka S, Watanabe H and Okada Y (1989) Mutations in the tobacco mosaic virus 30-kD protein gene overcome Tm-2 resistance in tomato. Plant Cell, 1: 515-522.
20. Weber H, Schultze S and Pfitzner AJ (1993) Two amino acid substitutions in the tomato mosaic virus 30-kilodalton movement protein confer the ability to overcome the Tm-2(2) resistance gene in the tomato. J. Virol, 67: 6432-6438.
21. Toedt JM, Braswell EH, Schuster TM, Yphantis DA, Taraporewala ZF and Culver JN (1999) Biophysical characterization of a designed TMV coat protein mutant, R46G, that elicits a moderate hypersensitivity response in Nicotiana sylvestris. Protein Sci, 8: 261-270.
22. Gafny R, Lapidot M, Berna A, Holt CA, Deom CM and Beachy RN (1992) Effects of terminal deletion mutations on function of the movement protein of tobacco mosaic virus. Virology, 187: 499-507.
23. Kohm BA, Goulden MG, Gilbert JE, Kavanagh TA and Baulcombe D (1993) A potato virus X resistance gene mediateds an induced, nonspecific resistance response in protoplasts. Plant Cell,5: 913-920.
24. Bendahmane A, Kohn BA, Dedi C and Baulcombe DC (1995) The coat protein of potato virus X is a strain-specific elicitor of Rx1-mediated virus resistance in potato. Plant J, 8: 933-941.
25. Mestre P, Brigneti G, Durrant MC, and Baulcombe DC (2003) Potato virus Y NIa protease activity is not sufficient for elicitation of Ry-mediated disease resistance in potato. Plant J, 36: 755-761.
26. Scofield SR, Tobias CM, Rathjen JP, Chang JH, Lavelle DT, Michelmore RW and Staskawicz BJ (1996) Molecular basis of gene-for-gene specificity in bacterial speck disease of tomato. Science, 274: 2063-2065.
27. Tang X, Frederick RD, Zhou J, Halterman DA, Jia Y and Martin GB (1996) Initiation of plant disease resistance by physical interaction of avrPto and Pto kinase. Science, 274: 2060-2063.
28. Jia Y, SA M, Bryan GT, Hershey HP and Valent B (2000) Direct interaction of resistance gene and avirulence gene products confers rice blast resistance. EMBO J, 19: 4004-4014.
29. Deslandes L, Olivier J, Peeters N, Feng DX, Khounlotham M, Boucher C, Somssich I, Genin S and Marco Y (2003) Physical interaction between RRS1-R, a protein conferring resistance to bacterial wilt, and PopP2, a type III effector targeted to the plant nucleus. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 100: 8024-8029.
30. Dangl JL and Jones JDG (2001) Plant pathogens and integrated defence responses to infection. Nature, 411: 826-833.
31. Mackey D, Holt BF, Wiig A and Dangl JL (2002) RIN4 interacts with Pseudomonas syringae type III effector molecules and is required for RPM1-mediated resistance in Arabidopsis. Cell, 108: 743-754.
32. Axtell MJ and Staskawicz BJ (2003) Initiation of RPS2-specified disease resistance in Arabidopsis is coupled to the AvrRpt2-directed elimination of RIN4. Cell, 112: 369- 377.
33. Ren T, Qu F and Morris TJ (2000) HRT gene function requires interaction between a NAC protein and viral capsid protein to confer resistance to Turnip crinkle virus. Plant Cell, 12: 1917-1926.
34. Liu Y, Burch-Smith T, Schiff M, Feng S and Dinesh-Kumar SP (2004b) Molecular chaperone Hsp90 associates with resistance protein N and its signaling proteins SGT1 and Rar1 to modulate an innate immune response in plants. J. Biol. Chem, 279: 2101- 2108.
35. Lu R, Malcuit I, Moffett P, Ruiz MT, Peart J, Wu AJ, Rathjen JP, Bendahmane A, Day L, and Baulcombe DC (2003) High throughput virus-induced gene silencing implicates heat shock protein 90 in plant disease resistance. EMBO J, 22: 5690-5699.
36. Hubert DA, Tornero P, Belkhadir Y, Krishna P, Takahashi A, Shirasu K, and Dangl JL (2003) Cytosolic HSP90 associates with and modulates the Arabidopsis RPM1 disease resistance protein. EMBO J, 22: 5679-5689.
37. Takahashi A, Casais C, Ichimura K and Shirasu K (2003) HSP90 interacts with Rar1 and Sgt1 and is essential for RPS2-mediated disease resistance in Arabidopsis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 100: 11777-11782.
38. Picard D (2002) Heat-shock protein 90, a chaperone for folding and regulation. Cell Mol.Life Sci, 59: 1640-1648.
39. Shirasu K and Schulze-Lefert P (2003) Complex formation, promiscuity and multifunctionality: protein interactions in disease-resistance pathways. Trends Plant Sci, 8: 252-258.
40. Liu Y, Schiff M, Marathe R and Dinesh-Kumar SP (2002a) Tobacco Rar1, EDS1 and NPR1/NIM1 like

genes are required for N-mediated resistance to tobacco mosaic virus. Plant J, 30: 415-429.
41. Peart JR, Lu R, Sadanandom A, Malcuit I, Moffet P, Brice DC, Schauser L, DAJ, Xiao S, Dow M, Jones JD, Shirasu K and Baulcombe DC (2002b) Ubiquitin ligase-associated protein SGT1 is required for host and non-host disease resistance in plants. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 99: 10865-10869.
42. Liu Y, Schiff M, Serino G, Deng X-W and Dinesh-Kumar SP (2002b) Role of SCF ubiquitin-ligase and the COP9 signalosome in the N gene-mediated resistance response to tobacco mosaic virus. Plant Cell,14: 1483-1496.
43. Moffett P, Farnham G, Peart J and Baulcombe DC (2002) Interaction between domains of a plant NBS-LRR protein in disease resistance-related cell death. EMBO J, 21: 4511-4519.
44. Grant JJ and Loake GJ (2000) Role of reactive oxygen intermediates and cognate redox signaling in disease resistance. Plant Physiol, 124: 21-29.
45. Doke N and Ohashi Y (1988) Involvement of an O2-generating system in the induction of necrotic lesions on tobacco leaves infected with tobacco mosaic virus. Physiol. Mol. Plant Pathol, 32: 163-175.
46. Lamb C and Dixon RA (1997) The oxidative burst in plant disease resistance. Annu. Rev. Plant Physiol Plant Mol. Biol, 48: 251-275.
47. Chen Z, Silva H and Klessig DF (1993) Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid. Science, 262: 1883-1886.
48. Durner J, and Klessig DF, (1995) Inhibition of ascorbate peroxidase by salicylic acid and 2, 6-dichloroisonicotinic acid, two inducers of plant defense responses. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92: 11312–11316.
49. Slaymaker DH, Navarre DA, Clark D, del Pozo O, Martin GB and Klessig DF (2002) The tobacco salicylic acid-binding protein 3 (SABP3) is the chloroplast carbonic anhydrase, which exhibits antioxidant activity and plays a role in the hypersensitive defense response. Proc Natl. Acad. Sci. USA, 99: 11640-11645.
50. Allan AC and Fluhr R (1997) Two distinct sources of elicited reactive oxygen species in tobacco epidermal cells. Plant Cell, 9: 1559-1572.
51. Yoda H, Yamaguchi Y and Sano H (2003) Induction of hypersensitive cell death by hydrogen peroxide produced through polyamine degradation in tobacco plants. Plant Physiol, 132: 1973-1981.
52. Talarczyk A and Hennig J (2001) Early defence responses in plants infected with pathogenic organisms. Cell Mol. Biol. Lett, 6: 955-970.
53. Levine A, Tenhaken R, Dixon R and Lamb C (1994 H2O2 from the oxidative burst orchestrates the plant hypersensitive disease resistance response. Cell, 79: 583-593.
54. Després C, Chubak C, Rochon A, Clark R, Bethune T, Desveaux D and Fobert PR (2003) The Arabidopsis NPR1 disease resistance protein is a novel cofactor that confers redox regulation of DNA binding activity to the basic domain/leucine zipper transcription factor TGA1. Plant Cell, 15: 2181–2191.
55. Mou Z, Fan W and Dong X (2003) Inducers of plant systemic acquired resistance regulate NPR1 function through redox changes. Cell, 113: 935-944.
56. Delledonne M, Xia Y, Dixon RA and Lamb C (1998) Nitric oxide functions as a signal in plant disease resistance. Nature, 394: 585-588.
57. Durner J, Wendehenne D and Klessig DF (1998) Defense gene induction in tobacco by nitric oxide, cyclic GMP, and cyclic ADP-ribose. Proc. Natl. Acad. Sci.USA, 95:10328-10333.
58. Denninger JW and Marletta MA (1999) Guanylate cyclase and the NO/cGMP signaling pathway. Biochim. Biophys. Acta,1411: 334-350.
59. Murphy AM, Chivasa S, Singh DP, Carr JP (1999) Salicylic acid-induced resistance to viruses and other pathogens: a parting of the ways? Trends plant sci, 4: 155- 160.
60. Stamler JS, Lamas S and Fang FC (2001) Nitrosylation. the prototypic redox-based signaling mechanism. Cell, 106: 675-683.
61. Romero-Puertas MC, Perazzolli M, Zago ED and Delledonne M (2004) Nitric oxide signalling functions in plant-pathogen interactions. Cell Microbiol, 6: 795-803.
62. Palukaitis P and Carr JP) 2008) Plant resistance responses to viruses. Plant Pathol J, 90: 153-171.
63. Vlot AC , Dempsey DA and Klessig DF (2009) Salicylic acid, a multi faceted hormone to combat disease.. Annu. Rev. Phytopathol, 47: 177-206.
64. Enyedi AJ, Yalpani N, Silverman P and Raskin I (1992) Localization, conjugation,and function of salicylic acid in tobacco during the hypersensitive reaction to tobacco mosaic virus. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 89: 2480-2484.
65. Mur LA, Bi YM, Darby RM, Firek S and Draper J (1997) Compromising early salicylic acid accumulation delays the hypersensitive response and increases viral dispersal durin lesion establishment in TMV-infected tobacco. Plant J, 12: 1113-1126.
66. Kachroo P, Yoshioka K, Shah J, Dooner HK and Klessig DF (2000) Resistance to turnip crinkle virus in Arabidopsis is regulated by two host genes and is salicylic acid dependent but NPR1, ethylene, and jasmonate independent. Plant Cell,12: 677-690.

67. Kunkel BN and Brooks DM (2002) Cross talk between signaling pathways in pathogen defense. Curr. Op. Plant Biol, 5: 325-331.
68. Takahashi H, Kanayama Y, Zheng MS, Kusano T, Hase S, Ikegami M and Shah J (2004) Antagonistic interactions between the SA and JA signaling pathways in Arabidopsis modulat expression of defense genes and gene-for-gene resistance to cucumber mosaic virus. Plant Cell Physiol, 45: 803-809.
69. Kieber JJ, Rothenberg M, Roman G, Feldmann KA and Ecker JR (1993) CTR1, a negative regulator of the ethylene response pathway in Arabidopsis, encodes a member of the Raf family of protein kinases. Cell, 72: 427-441.
70. Liu Y, Schiff M and Dinesh-Kumar SP (2004a) Involvement of MEK1 MAPKK, NTF6 MAPK, WRKY/MYB transcription factors, COI1 and CTR1 in N-mediated resistance to tobacco mosaic virus. Plant J, 38: 800-809.
71. Dhondt S, Geoffroy P, Stelmach BA, Legrand M and Heitz T (2000) Soluble phospholipase A2 activity is induced before oxylipin accumulation in tobacco mosaic virus-infected tobacco leaves and is contributed by patatin-like enzymes. Plant J, 23:431-440.
72. Chivasa S and Carr JP (1998) Cyanide restores N gene-mediated resistance to tobacco mosaic virus in transgenic tobacco expressing salicylic acid hydroxylase. Plant Cell, 10: 1489-1498.
73. Janne J, Alhonen L, Pietila M and Keinanen TA (2004) Genetic approaches to the cellular functions of polyamines in mammals. Eur. J. Biochem, 271: 877-894.
74. Hiraga S, Ito H, Yamakawa H, Ohtsubo N, Seo S, Mitsuhara I, Matsui H, Honma M and Ohashi Y (2000) An HR-induced tobacco peroxidase gene is responsive to spermine, but not to salicylate, methyl jasmonate, and ethephon. Mol. Plant-Microbe Interact, 13: 210-216.
75. Zhang S and Klessig DF (1998a) Resistance gene N-mediated de novo synthesis and activation of a tobacco mitogen-activated protein kinase by tobacco mosaci virus infection. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95: 7433-7438.
76. Zhang S and Klessig DF (1998b) The tobacco wounding-activated mitogen-activated protein kinase is encoded by SIPK. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95: 7225-7230.
77. Jin H, Liu Y, Yang KY, Kim CY, Baker B and Zhang S (2003) Function of a mitogen-activated protein kinase pathway in N gene-mediated resistance in tobacco. Plant J, 33: 719-731.
78. Seo S, Seto H, Koshino H, Yoshida S and Ohashi Y (2003) A diterpene as an endogenous signal for the activation of defense responses to infection with tobacco mosaic virus and wounding in tobacco. Plant Cell, 15: 863-873.
79. Uquillas C, Letelier I, Blanco F, Jordana X and Holuigue L (2004) NPR1-independent activation of immediate early salicylic acid-responsive genes in Arabidopsis. Mol. Plant.- Microb. Interact, 17: 34-42.
80. Yang YO and Klessig DF (1996) Isolation and characterization of a tobacco mosaic virus-inducible myb oncogene homolog from tobacco. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93: 14972-14977.
81. Eulgem T, Rushton PJ, Robatzek S and Somssich IE (2000) The WRKY superfamily of plant transcription factors. Trends Plant Sci, 5: 199-206.
82. Kim CYand Zhang S (2004) Activation of a mitogen-activated protein kinase cascade induces WRKY family of transcription factors and defense genes in tobacco. Plant J, 38: 142-151.
83. Soosaar JLM , Burch –Smith T M and Dinesh-Kumar SP (2005) Mechanisms of plant resistance to viruses. Nature, 3: 789-798.
84. Kitagawa K, Skowyra D, Elledge SJ, Harper JW and Hieter P (1999) SGT1 encodes an essential component of the yeast kinetechore assembly pathway and a novel subunit of the SCF ubiquitin ligase complex. Mol. Cell, 4: 21-33.
85. Deshaies RJ (1999) SCF and Cullin/Ring H2-based ubiquitin ligases. Annu. Rev. Cell Dev. Biol, 15: 435-467.
86. Guo H and Ecker JR (2003) Plant responses to ethylene gas are mediated by SCF(EBF1/EBF2)-dependent proteolysis of EIN3 transcription factor. Cell, 115: 667-677.
87. Zhivotovsky B (2003) Caspases: the enzymes of death. Essays Biochem, 39: 25-40.
88. Hatsugai N, Kuroyanagi M, Yamada K, Meshi T, Tsuda S, Kondo M, Nishimura M and Hara-Nishimura I (2004) A plant vacuolar protease, VPE, mediates virus induced hypersensitive cell death. Science, 305: 855-858.
89. Pieterse CMJ and Van Loon LC (2004) NPR1: the spider in the web of induced resistance signaling pathways. Curr. Opin. Plant Biol, 7: 456–464.
90. Wiermer M, Feys BJ and Parker JE (2005) Plant immunity: the EDS1 regulatory node. Plant Biology, 8: 383–389.
91. Feys BJ, Wiermer M, Bhat AR, Lisa JM, Escobar MN, Neu C, Cabral A and Parker JE (2005) Arabidopsis senescence-associated gene101 stabilizes and signals within an enhanced disease susceptibility1 complex in plant innate immunity. Plant Cell, 17: 2601–2613.
92. Aarts N, Metz M, Holub E, Staskawicz BJ, Daniels MJ and Parker JE (1998) Different requirements for EDS1 and NDR1 by disease resistance genes define at least two R gene-mediated signaling pathways in Arabidopsis.

Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 95: 10306-10311.
93. Day b, Dahlbeck D and Staskawicz BJ (2006) NDR1 interaction with RIN4 mediates the differential activation of multiple disease resistance pathways in Arabidopsis. Plant Cell, 18:2782-2791.
94. Peart JR, Cook G, Feys BJ, Parker JE and Baulcombe DC (2002a). An EDS1 orthologue is required for N-mediated resistance against tobacco mosaic virus. Plant J, 29: 569-75.
95. Zheng MS, Takahashi H, Miyazaki A, Hamamoto H, Shah J, Yamaguchi I and Kusano T (2004) Up-regulation of Arabidopsis thaliana NHL10 in the hypersensitiveresponse to Cucumber mosaic virus infection and in senescing leaves is controlled by signalling pathways that differ in salicylate involvement. Planta, 218: 740-750.
96. White RF (1979) Acetylsalicylic acid (aspirin) induces resistance to tobacco mosaic virus. Virology, 99: 410-412.
97. Ross AF (1966) Systemic effects of local lesion formation. In: Beemster ABR, Dijkstra J, eds. Viruses of Plants, Amsterdam, North-Holland, 127–150.
98. Métraux JP, Signer H, Ryals J, Ward E, Wyss-Benz M,Gaudin J, Raschdorf K, Schmid E, Blum W and Inverardi B (1990) Increase in salicylic acid at the onset of systemic acquired resistance in cucumber. Science, 250: 1004–1006.
99. Vernooij B, Friedrich L, Morse A, Reist R, Kolditz-Jawhar R, Ward E, Uknes S, Kessmann H and Ryals J (1994) Salicylic acid is not the translocated signal responsible for inducing systemic acquired resistance but is required in signal transduction. Plant Cell, 6: 959–965.
100. Bowles DJ (1990) Defense-related proteins in higher plants. Annu. Rev. Biochem, 59: 873-907.
101. Wong CE, Carson RA and Carr JP (2002) chemically induced virus resistance in Arabidopsis thaliana is independent of pathogenesis-related protein expression and the NPR1 gene. Mol. Plant-Microbe Interact, 15: 75-81.
102. Xiao S, Brown S, Patrick E, Brearley C and Turner JG (2003) Enhanced transcription of the Arabidopsis disease resistance genes RPW8.1 and RPW8.2 via a salicylic acid dependent amplification circuit is required for hypersensitive cell death. Plant Cell, 15: 87-95.
103. Nandi A, Welti R and Shah J (2004) The Arabidopsis thaliana dihydroxyacetone phosphate reductase gene suppressor of fattyacid desaturase deficiency 1 is required for glycerolipid metabolism and for the activation of systemic acquired resistance. Plant Cell, 16: 465–477.
104. Suzuki H, Xia Y, Cameron R, Shadle G, Blount J, Lamb C and Dixon RA (2004) Signals for local and systemic responses of plants to pathogen attack. J. Exp. Bot, 55: 169-179.
105. Kumar D and Klessig DF (2003) High-affinity salicylic acid-binding protein 2 is required for plant innate immunity and has salicylic acid-stimulated lipase activity. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 100: 16101-16106.
106. Pennazio S, Roggero P and Gentile IA (1985) Effects of salicylate on virus-infected tobacco plants. Phytopathol, 114, 203–213.