

Bitki Hastalık Dayanıklılık Proteinleri: İmmün Savunma Molekülleri Olarak R-gen Ürünleri

Berna Baş^{1*} 

ÖZET

Çoğu bitkinin NBS-LRR proteinlerini kodlayan hastalık dayanıklılığı ile ilgili R genleri, sistemik olarak kazanılmış immünitede işlevseldir, kısaca ETI olarak bilinir. Patojen organizmalar hücre yüzey reseptörleri ile harekete geçirilen PTI immüniteyi bertaraf ettikten sonra, daha sonraki aşamada ETI immünite aktif hale geçmektedir. Aynı zamanda patojen organizmaların efektörleri direkt sitoplazmaya ulaşınca, efektörleri tanıyan R proteinleri aracılığı ile PTI'nin etkisinden daha hızlı ve güçlü bir ETI immün tepki gelişmektedir. Patojen efektörlerinin çoğu, epitop-paratop ilişkisindeki yapısal interaksiyona benzer şekilde direkt veya indirekt olarak R-gen proteinleri ile reaksiyona girerler. Bilinen bütün biyotik faktörlere, birbirine benzer tepki veren bitkiler ne tür mekanizmalarla çok çeşitli patojen efektörlerini tanımaktadırlar? Ancak bitkilerdeki hücre içi örnek-tanım reseptörlerinin moleküler mekanizmalarıyla ilgili birçok yaklaşım mevcut olmakla beraber, her mekanizmaya ait sonuçlar, kişisel olarak araştırmacıların kendi özel çalışmalarından elde edilmiştir. Çok çeşitli efektör-reseptör tanımanın moleküler interaksiyonunda geçerli olan toplam kaç farklı strateji modelinin işlevsel olduğu bilinmemektedir. Bu nedenle sunulan derlemede, birçok farklı efektörler ile intraselüler reseptörleri arasındaki fiziki bağlantının moleküler mekanizma çeşitlerine odaklanılmıştır.

MAKALE GEÇMİŞİ

Geliş

18 Mayıs 2021

Kabul

15 Temmuz 2021

ANAHTAR KELİMELER

Bitki hastalık dayanıklılığıyla ilgili proteinler, R-gen proteinleri, Efektör-reseptör interaksyonları, NB-LRR proteinleri

Plant Disease Resistance Proteins: R-gene Products as Immune Defense Molecules

ABSTRACT

Disease resistance-related R genes encoding NBS-LRR proteins are functional in systemic acquired immunity, briefly referred as ETI, in plant pathology. Upon infection of pathogens at first stage of plant immune responses, if plant pathogens subvert PTI immunity that activated by cell membrane surface receptor, then ETI immunity is initiated the relay to second step of defense. Also when pathogen effectors are directly translocated into cell cytoplasm across host membranes where can be faced with plant R proteins, ETI immunity develops faster and stronger than PTI efficacy. A great number of pathogen effectors are directly or indirectly reacted with R-gene proteins in similar to epitope-paratope structural interaction. With what kind of mechanisms do the plants that show similar immune responses to all known biotic agents recognize the effectors of a wide variety of pathogenic organisms? However, many approaches are available involved in molecular mechanisms of intracellular pattern-recognition receptors in plants, findings for each mechanism have been obtained from specific workings of personally researchers. It is not known how many different strategy models prevailing in molecular interaction of a wide variety of effector-receptor recognition are functional. So in the presented review article is focused just to molecular mechanism kinds of physical connection between many different effectors and intracellular receptors.

ARTICLE HISTORY

Received

18 May 2021

Accepted

15 July 2021

KEY WORDS

Proteins related with plant disease resistance, R-gene proteins, Effector-receptor interactions, NB-LRR proteins

¹ Gaziantep Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Gaziantep/ TÜRKİYE

*Corresponding Author: bas@gantep.edu.tr Tel: +90 (342) 3171924

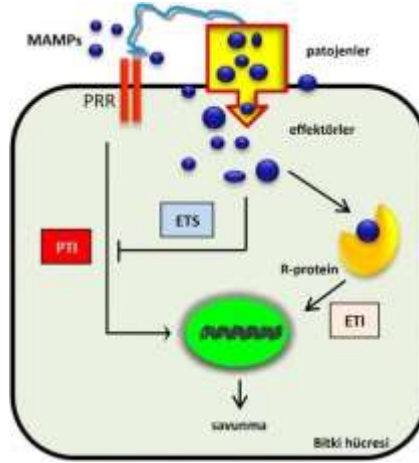
Giriş

Çeşitli patojen mikroorganizmaların saldırısına sürekli maruz kalan bitkilerin, patojenlerle aralarındaki amansız savaş durmaksızın sürmektedir. Tarımın başlangıcından itibaren bitkisel hastalıklar nedeniyle meydana gelen ürün kayıpları açlık, yetersiz beslenme gibi sorunları da beraberinde getirmektedir [1, 2]. Bu nedenlerle bitki hastalık kontrolünün ıslah araştırmalarında, fitopatoloji ve tarımsal kimya endüstrisi büyük bir öneme sahiptir. Bitkilerin hastalık kontrol mekanizmaları tarafından neden olunan seleksiyon baskısını patojen organizmalar çok hızlı ekarte etmekte, bunun sonucunda da bitki hastalık dayanıklılığı ve pestisidlerin etkinliği sürekli olamamaktadır [2, 3]. Son yıllarda moleküler bitki-patojen interaksyonlarında yeni anlayışlar ortaya çıkaran temel araştırmalar üzerinde yoğun çalışmalar yapılmakta olup, "fitopatojen organizmaların bitki immünitesini nasıl devre dışı bıraktığı, patojeni tanıyan bitki hücre reseptörleriyle, patojene ait efektör-elisitör biyolojisi, bitkisel hücrelerin sinyal yolakları" gibi konular ilgi odağı olmaya başlamıştır [4, 5, 6]. Besin güvenliği ve bitki hastalık dayanıklılığını artırmak için bitki sinyal yolaklarında işlevsel olan hücresel olayların açığa çıkarılması, genetik olarak bitki korumada ıslah amaçlı yeni yaklaşımların geliştirilmesinde önemli bir potansiyele sahiptir. Bitki patojenlerinin infeksiyon stratejilerini anlamak için sadece bitki savunmasında görev alan bileşenlerin (veya moleküllerin) ortaya çıkarılması yeterli değildir. Aynı zamanda efektörlerin virülenslik mekanizmasının da bilinmesi gereklidir. Bitki hücrelerinin biyotik bir sinyali hücre yüzey reseptörleriyle algıladıktan sonra sitosolik reseptörlerle bağlantılı olarak karmaşık bir ağ mekanizmasıyla nükleusa kadar ilettiği bilinmektedir [7]. Bu sinyaller yoluyla bitkiler kendi hücrelerinde önceden mevcut olan sekonder antimikrobiyal kimyasalları kullanarak ve savunma tepkimelerini teşvik ederek, patojen saldırılarına karşı koymaktadırlar [8]. Bitkiler çok özel patojen ırklarının infeksiyon sırasında ürettiği proteinleri tayin edebilen karmaşık tanıma sistemleri geliştirmişlerdir. Efektör olarak isimlendirilen patojene ait bu proteinler, bitki hastalık dayanıklılık (R; Resistance) proteinleri aracılığı ile son derece özel olarak tanınmaktadırlar [9]. Günümüze kadar bitki immün sistemlerine ait yaklaşık olarak 600 farklı R geni rapor edilmiştir [10]. Bu derlemede, reseptör olarak işlev gören farklı R gen ve ürünlerinin, fiziki olarak reseptör-efektör bağlanma modeli ve dolayısıyla da fizyolojisini ilgilendiren örnekler son gelişmelerle birlikte verilerek bitkilerde hastalık kontrolünün yeni uygulamaları ve gelecekteki potansiyelleri özetlenmiştir. Önce temel

savunma ve teşvik edilen savunma arasındaki farklara kısaca değinilmesi daha yararlı olacaktır.

Bitki Hastalık Dayanıklılığında Temel Savunma

Bitkiler, immün reseptörleriyle patojenleri algılayacak birçok stratejiler geliştirmişlerdir. Klasik olarak bitkiler, başlıca iki temel hastalık dayanıklılık modeline sahiptirler, bunlar 1) temel savunma ve 2) R-gen aracılığı ile gelişen savunmadır [11, 12]. Temel savunma hem konukçuya özel (host-specific) hem de konukçuya özel olmayan (non-host specific) dayanıklılık şekliinden ibaret olup, “*konukçuya özel olmayan dayanıklılık*” modeli çok fazla patojen takımı ile meydana getirilir ve infeksiyonlara karşı savunmanın ilk aşamasını oluşturan bitkiler için genel bir dayanıklılıktır [13, 14, 15]. Eğer hastalık dayanıklılığı bitki çeşidine özgü ise “*konukçuya özel dayanıklılık*” olarak ifade edilir ve özel organizmalar tarafından teşvik edilir [16]. Bitkiyi istila eden patojenlerin salgıladığı hidrolitik enzimlerle parçalanan bitki hücre duvarından açığa çıkan fragmentlerden lipopolisakkaritler, kitin, glukan, flagellin gibi bitkiye zarar veren moleküller PAMP (**P**athogen-**A**ssociated **M**olecular **P**atterns; Patojenle İlgili Moleküler Örnekler) grubunda yer alır ve bunlar bitki temel savunmasının elisitörleridirler [17, 18, 19]. Patojen organizmalar gibi apatojen organizmalar da yukarıda adı geçen elisitör (yani PAMP/MAMP gibi; MAMP **M**icrobe- **A**ssociated **M**olecular **P**atterns; Mikropla İlgili Moleküler Örnekler) grubu moleküler bileşenlere sahip oldukları için bitkilerde temel savunmayı teşvik edebilmektedirler [20, 21]. Epitop görevi yapan PAMP/MAMP molekülleri genellikle bitki hücrelerinin hücre dışı yüzey reseptörleri ile algılanmakta olup, bakteriyel soğuk şok proteini, translasyon elongasyon faktör-Tu gibi bazı PAMP’lar da hücre dışı moleküllerdir [18]. PAMP molekülleri bitkide PTI (**P**AMP-**T**riggered **I**mmunity = Patojenle İlgili Moleküler Örnekler ile Uyarılan İmmünite) savunmayı teşvik ederken, hücre içi patojen efektörleri de özel R proteinleri ile tayin edilir ve ETI (**E**ffector-**T**riggered **I**mmunity = Efektör ile Uyarılan İmmünite) immüniteyi teşvik ederler [22]. Şekil 1’de özet olarak verildiği gibi eğer patojen PTI savunmanın üstesinden gelirse, ardından ETI immünite aktiflenmeye başlar. Ancak sadece bitkiye adapte olabilen mikroorganizmaların efektörleri, bitkinin R-gen ürünü olan proteinlerini açığa çıkarabilmektedir. Böylece bitki R-gen protein reseptörleri yardımıyla patojen efektörleri algılanarak bitkide güçlü bir savunma tepkisi oluşmaktadır [20].



Şekil 1 Elisitör/efektör-reseptör interaksiyonunun genel şeması [23]

Şekil 1'e göre PTI, bitki hücrelerinin sitoplazma membran yüzeyinde lokalize olan reseptörlerin (PRRs; **P**attern **R**ecognition **R**eceptors = Örnek Tanıma Reseptörleri) aktivasyonu ile tetiklenir, bu reseptörler genellikle reseptör-kinaz proteinleri veya reseptör-benzeri proteinlerden ibarettir (RLPs/RLKs reseptör benzeri proteinler/kinazlar olarak da bilinirler). ETI tepki ise, sitoplazmik NB-LRR yapıda olan dayanıklılık veya R gen proteinleri ile başlatılır [24, 25].

Teşvik Edilen Savunma: Bitki R-gen Dayanıklılığı

Bitkiler, kendilerini istila eden fitopatogen organizmaların avirülenslik (*Avr*) faktörleri olarak salgıladıkları efektör proteinleri tayin edecek olan R-genleri tarafından kodlanan reseptörler sayesinde algılanan ve sonuçta bitki immün tepkiyi uyandıracak savunma modeline de sahiptirler. Eğer patojen *Avr* (Antivirülens) genine sahip değilse, bitkideki ilgili R-gen de etkin olamaz. Fitopatogen bakteriler salgı sistemleri (T3 SS) aracılığıyla, avirülens genleri (*Avr*) tarafından kodlanan diğer ismi ile "efektör gen" olarak isimlendirilen gen ürünü moleküllerini direkt olarak bitki hücresinin sitoplazmasına bırakarak bitkiyi infekte ederler [26]. Bu efektörler sayesinde bitkinin fizyolojisi, ya patojenin konukçu bitkiyi kolonize etmesine yardımcı olmak için ya da konukçu bitkinin savunma reaksiyonlarına engel olmak amacıyla patojenin amacına uygun olarak değiştirilir. Buna karşın bitkiler de, patojen dayanıklılığında fonksiyonel olan R-gen aracılı dayanıklılık proteinlerini üreterek immün tepki geliştirirler [27]. Gen-İçin-Gen ilişkisi içinde ele alınan bu dayanıklılık modelinde, sadece hastalık dayanıklılık geni taşıyan bitkiler belli efektörlere sahip olan patojen ırklarına engel olmaktadır. Bakteri,

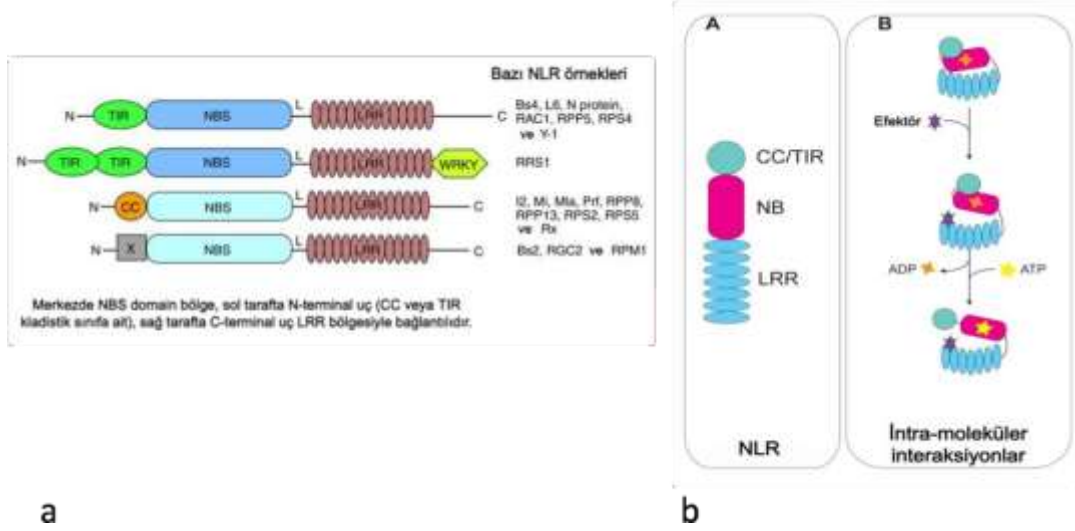
virüs, fungus, oomiset, böcek gibi çeşitli organizmalarda bulunan efektörler sayesinde bu zararlı ajanlar, konukçu oldukları bitkide dayanıklılık tepkisini harekete geçirmektedirler. Bu tarz bitki dayanıklılık tepkimeleri; programlı hücre ölümleriyle (PCD) sonuçlanan Hipersensitif Reaksiyon (HR) ve HR'nin geri planında bulunan sinyal mekanizmalarının harekete geçmesiyle hücre dışı alandan hücre içine Ca^{+2} girişi, anyon miktarındaki artışla oksidatif stres artışı, savunma genlerinin aktiflenmesi, sonuç olarak da lokal ve sistemik dayanıklılık yani kalitatif dayanıklılık gelişmektedir [28]. Pas funguslarına ait efektörler de, infeksiyon sırasında haustoriumlar vasıtasıyla konukçu bitkinin sitoplazmasına taşınmaktadır [29]. Tipik örnekler RTP1 ve AvrM efektörleridir, virülenslik fonksiyonları bilinmemekle beraber bu efektörlerden RTP1'in reseptörü henüz rapor edilmemiştir [30, 31, 32].

Bitki R-gen Protein Sınıfları

Bitki R gen grubunda yer alan dayanıklılık gen proteinlerinin sınıflandırılma temeli standart olmayıp, molekül içindeki amino asit dizilimi, hücre membranıyla bağlantılı protein domain alanları, referans alınan bitki çeşitleri, dayanıklılığın moleküler mekanizmaları gibi çeşitli özelliklere dayalı sınıflandırılma örnekleri bulunmaktadır [20, 24, 25, 33, 34]. Angiosperm bitkilerin R-gen proteinleri domain alanları ve protein organizasyon yapıları esas alınarak sınıflandırılmaktadır [35, 36].

Bitki hastalık dayanıklılığındaki R-genleri; çok büyük ve çok çeşitli bir protein sınıfını kodlar ve bakteri, virüs, fungus, nematod, böcek gibi çeşitli biyotik organizmaların tayin edilmesinde görev yaparlar. R-gen proteinleri yapısal olarak NBS-LRR (Nucleotide-Binding Site Leucine-Rich Repeat; bazen kısaca NLRs olarak da ifade edilmektedir) molekülleridir [37]. Bitki NLR grubu moleküllerin hepsi sensör veya dedektör görevi yapan, bitkilerde bol miktarda bulunan, moleküler ağırlığı büyük olan ve çeşitli fitopatojen mikroorganizmaları tanıyan proteinlerdir [38]. Şekil 2'de NLR'nin genel modüler yapısı verilmiştir [39]. Bir NLR molekülü dört farklı domain alana sahip olup bu domainler linker moleküller ile birbirlerine bağlıdır. Domain alanları değişken olan bir N-terminal domain, NBS domain, LRR domain alan ve değişken olan bir C-terminal domain alana sahiptir [37]. Her alan immüniteyi harekete geçirmede önemli rollere sahiptir. Kapsamlı bitki genom analiz sonuçları NLR'lerin çok çeşitli olduğunu göstermiş olup, bütün R gen proteinleri sınıfında yer alan reseptörlerin domain alanlarının önemli bir yüzdesi NLR yapıdadır (Şekil 2). Bu NLR dedektör molekülleride DNA baz dizi

yapısına bağlı olarak ekzon-intron yapılarına göre TNL, CNL ve RNL şeklinde kladistik sınıflara ayrılmaktadır [34, 35, 40]. TNL; N-terminal Toll-interleukin NBS-LRR (TIR-NBS-LRR) CNL; Coiled-coiled-NBS-LRR (non TNL); RNL; Resistance powdery mildow8 (RPW8)-NBS-LRR (non TNL).



Şekil 2 NLR'nin basit modüler yapısı [37] (a), NLR'nin aktif duruma geçişi [39](b)

Şekil 2'ye göre reseptör-efektörün tanınması üç adımda gerçekleşir: **1)** mikrobiyel molekül, efektör veya efektörün konukçuda değişime uğrattığı konukçunun molekülü direkt ya da indirekt olarak NLR aracılığı ile fiziksel bağlantı kurar. Bu tanıma olayı ile ilk moleküler düzenlenme gerçekleşir ve NB domain bölgesinden LRR domain bölgesi serbest hale geçer. Böylece LRR'nin de inhibitör etkisi ortadan kalkar. **2)** NB domain alanı inter- veya intra-moleküler olarak karşılıklı nükleotit değişimleri için hazır hale gelir ve ardından NLR aktif hale geçer. **3)** Bu döngü devam ederken ikinci bir konformasyon değişimi ile N-terminal domain bölge serbest kalır. Ardında da savunma olayları gelişir.

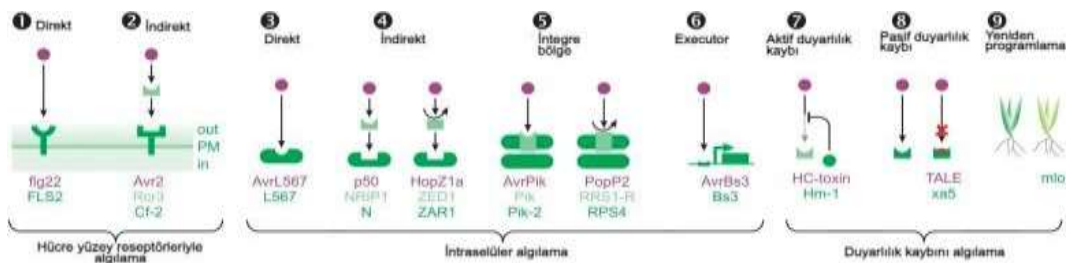
Sitoplazmik NLR'nin Yapısı ve İşlevi

Belirli CC ve TIR domain yapılarının varlığıyla beraber N-terminal bölgesinin, bekçi hipotezine (guard hypothesis) göre hücre içinde gözlenen yabancı proteinlerle veya epitop-paratop bağlantısından sonraki gelişen olaylarda yer alan sinyal molekülleriyle protein-protein interaksyonlarında yer aldığı düşünülmektedir [41]. NBS domain bölgesi; *NB-ARC domain olarak da isimlendirilir [42, 43, 44, 45]. Bu domain alan farklı motif yapılarına sahiptir ve hastalık sinyal yollarında ATP'nin bağlanması/hidrolizi ile

aktif-inaktif dönüşümle şalter görevi yapmaktadır. Hayvansal NB domain alan, oligomerizasyon için gereklidir [40]. C-terminal’de bulunan LRR domain alan ise, efektörün tanınmasından sorumlu bölgedir ve oto-inhibitör olarak görev yapar. Yani reseptör-efektör bağlantısından sonraki gelişmesi gereken olaylara ait sinyallerin otomatik olarak kendi kendine aktif hale geçmesine engel olur [46]. Bazı NLR’lerin LRR bölgelerinin silinmesi otoimmünitenin sürekli olarak teşvik edilmesine neden olmaktadır [47, 48]. C-terminal domain alan, farklı N-terminal domain alanlarına sahip NBL’lerde de farklılık göstermektedir [37]. *NB-ARC: Nucleotide-Binding Adaptor Shared by APAF1 (Apoptotic Protease- Activating Factor 1), R proteinleri ve CED-4).

R Proteinlerinin Hücre-içi Algılama Mekanizmaları

Bitki hücreleri, sitoplazmalarında mikrobiyel efektörlerin algılanmasından sorumlu çeşitli mekanizmalar geliştirmişlerdir. Genel olarak bu mekanizmalar aşağıda özetle açıklandığı şekildedir (Şekil 3). Konukçu bitkinin sitoplazmasında bulunan patojene ait bazı efektörler, bitki R proteinleriyle direkt interaksiyona girebilmektedir. Bazı efektörler ise konukçu bitkideki fizyolojik değişimlerden sorumlu olup indirekt olarak algılanmaktadır. Transkripsiyon aktivatör-benzeri efektörler (TALEs: Transcription Activator-Like Effectors) de executor genleri (yönetici gen olarak düşünülebilir) aktif hale getirerek bitki duyarlılık genlerinin transkriptlerini değişime uğratarak fonksiyonel olmaktadır. Bir kısım bitkilerde patojen efektörlerine karşı direkt veya indirekt duyarlılık kayıpları meydana gelmek suretiyle veya resesif olan dayanıklılık genleri aktif hale gelerek dayanıklılık kazanılmaktadır. Bazı efektörler de APR (Adult Plant Resistance) genleri ile olgun bitkilerde kısmi dayanıklılık sağlamaktadır.

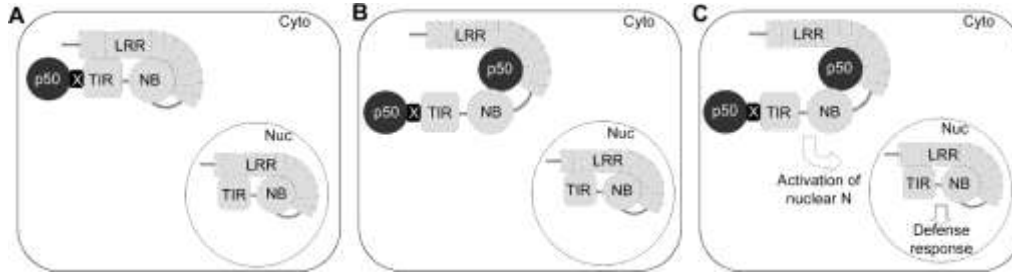


Şekil 3 R proteinlerinin şematik moleküler mekanizması [33]. Şemada 1 ve 2 nolu: mekanizma bitki membran yüzey reseptörlerinin ekstraselüler algılaması ile ilgili olup, 3-9 arası mekanizma ise hücre içi algılamayı ilgilendirmektedir

Bitkide bazı hücre içi efektörler bitki R proteinleriyle direkt olarak algılanmaktadır. Efektörlerin sitoplazmik NLR'lere direkt bağlanmasıyla direkt algılamanın fiziki yapısı da ortaya çıkmakta, bu da algının moleküler mekanizmasına ulaşılmasını kolaylaştırmaktadır. Konuyla ilgili birçok çalışmalar mevcut olup ketene ait L5/L6/L7 reseptörleri efektörle bağlandığı zaman reseptörün açık-kapalı pozisyonunda nasıl stabilize olduğu aşağıda örneklenmiştir [49]. Bu reseptör proteinler, pas fungusu *Melampsora lini*'nin polimorfik AvrL567 efektörlerinin özgül yapısıyla ayırt edilmektedir. L5 ve L6 proteinleri, ilgili efektörle direkt olarak interaksiyona girerek dayanıklılık reaksiyonlarını tetiklemektedir. Polimorfik olan L6 ve L7'nin moleküler-içi ve -arası interaksiyonla, AvrL567 efektörlerinin reseptörlere bağlanması ya teşvik edilmekte veya engel olunmaktadır. Böylece gereksiz bir şekilde immün olayların tetiklenmesi de önlenmektedir. Dolayısıyla ortamda efektör varsa ilgili immün genlerin aktivasyonu, inhibisyonu veya otoinhibisyonu gelişmektedir, efektör yoksa L reseptörünün büyük bir kısmı inaktif olmakta az miktarda kısmı da muhtemel bir efektöre karşı aktif pozisyonda hazır bulunmaktadır. Sonuçta L gen bölgesinde sinyal vermeden sorumlu olan bölgede görülen polimorfizm ortaklaşa bir etkileşimle kümülatif bir etki yaratabilir.

Patojen efektörlerinin çoğu konukçu bitki sitoplazmik NLRs'lerle indirekt olarak algılanmaktadır. Efektörlerin konukçu tarafından indirekt algılanması üç şekilde gelişebilir; ya konukçu proteinleri ile efektörlerin interaksiyonları konukçuya ait diğer aracı moleküllerle gözlemlenerek veya konukçu proteinlerinde gözlenen enzimatik değişimlerle ya da hücrel homeostaz değişimleri gözlenerek bitki immün tepkisi gelişmektedir [33]. Her üç mekanizmaya ait örnekler aşağıda verilmiştir. Konukçu bitki proteinlerinde meydana gelen konformasyonel değişimler yoluyla yaratılan yeni proteinler ya efektörü hedeflemekte ya da efektör hedefinin taklitçiliği yoluyla etki göstermektedir. Burch-Smith ve ark. [50], yaptığı çalışmada tütünde bir R geni olan N proteini ile tütün mozaik virüsünün replikaz molekülünün (p50 olarak isimlendirilir) indirekt bağlantısını rapor etmiştir. Hem bitki N proteini hem de virüs p50 proteini sitoplazmada da nükleusta da bulunabilmektedir. Virüsün p50 efektörü nükleusta yer alsa da bir immün tepki gelişmemektedir. Aşağıdaki şekil 4'te görüldüğü gibi viral p50 efektörü, bitkinin sitoplazmik N proteininin TIR-NB bölgesine bağlanınca oligomerize olan N proteini konformasyonel değişim geçirmektedir. Ardından da N proteininin NB- LRR

domain alanı ilgili efektöre bağlanmaya hazır hale gelmektedir. Bu değişimin nükleusta yer alan N proteinine bilinmeyen bir mekanizmayla iletilerek N'nin aktif hale geçmesinin sağlandığı ve böylece konukçu savunma tepkimeleri harekete geçirildiği bildirilmiştir [50].



Şekil 4 Virüse ait p50 efektörüyle bitki N proteininin interaksyonu sonucu reseptörün aktiflenmesi [50]

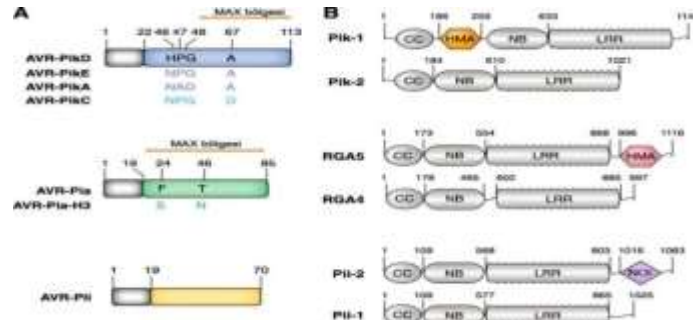
Arabidopsis R proteini olan ZAR1'in aktiflenmesiyle konukçuda gözlenen proteinlerin enzimatik değişimlerden dolayı efektör indirekt algılanmaktadır. Bu model sisteme göre, fitopatojen *Pseudomonas syringae*'nin efektörü olan HopZ1a, *Arabidopsis*'in sitoplazmik reseptörü ZAR1 (HopZ-Activated Resistance) proteini tarafından dolaylı olarak tanınmaktadır [51]. Efektör HopZ1a, avirülenslik fonksiyonu için direkt olarak *Arabidopsis*'e ait ZED1 (HopZETI-Deficient) proteinini hedef alır. Bitkiye ait ZED1 ise gerçek bir katalitik kinaz etkinliği olmayan bir pseudokinaz proteini olup efektör HopZ1a tarafından asetile edilir. [52, 53]. ZED1 asetile olduktan sonra bir bitki R proteini olan ZAR1 tarafından tanınmaktadır [53]. Böylece efektör HopZ1a, bitki proteini ZED1 aracılığı ile tuzağa düşürülerek ZAR1 yoluyla immün tepki harekete geçirilmektedir.

Bazı NLR molekülleri ise hücre homeostazını takip etmektedir. Çeşitli biyolojik olaylarda görev alan MAP Kinazlar bitkilerde biyotik ve abiyotik streslere tepki olarak hormonal faaliyetler, hücre bölünmesi, bitki gelişimi ile ilgili olayların düzenlenmesinde karşımıza çıkmaktadır [54]. MAP Kinaz yolağında yer alan MEKK1, MKK1/MKK2 ile MPK4 MAP kinazlar hem pozitif hem negatif düzenleyici olarak bitki immünesinde çift fonksiyona sahiptirler [55]. Tipik örneklerden *P. syringae*'nin HopAI efektörü, konukçu MPK4'ün aktivitesine engel olur ve MKK1 MKK2 2'nin baskılanmasına bağlı olarak immün olaylar başlar [56].

Bazı bitkiler, patojen efektörlerini tanımak için NLR reseptörlerine entegre olan ilave domain alanlarına sahiptirler [57, 58]. *Arabidopsis* RRS1 [59] ve çeltik RGA5 ile Pik NLR [9] reseptörlerinin sahip oldukları entegre domain alanları detaylı olarak

çalışılmıştır. Bunlardan çeltik NLR'lerinden olan RGA4 ile RGA5 gen bölgeleri çalışılmış [9] ve *Magnaporthe oryzae*'dan Avr-Pia [60], AVR-Pita [61], AVR-Pik ile AVR-Pii [60], AVR-Piz-t [62] ve AVR1-CO39 [63] efektörleri ise klonlanmıştır. Yukardaki efektörlerden AVR-Pia ve AVR-CO39 efektörleri, reseptör RGA4/RGA5 çifti tarafından tanınmaktadır. Şekil 5'te görüldüğü gibi bu tanıma olayı da patojen efektörünün çeltik R geni olan NLR RGA5 bölgesine entegre olan HMA (**H**ea**v**y-**M**et**a**l-**A**ssociated) domain alan ile direkt bağlanmak suretiyle gerçekleşmektedir [64, 65]. Konukçu hücrede AVR-Pia efektörü yoksa RGA4 ve RGA5 fiziki olarak interaksiyona girerek hücre ölümüne engel olmakta, efektörün varlığında ise bu interaksiyon son bulmaktadır [9]. Yine çeltik NLR Pik-1/Pik-2'de AVR-Pik'i tanımakta ve HMA domain alanı ile bağlantı kurmaktadır [60, 66]. Patojen izolat ile çeltik varyetelerindeki nükleotit polimorfizmi evrim süresince silahlanma yarışında, konukçu-patojenin birlikte evrimleşmesi sonucuna götürebilir [67, 68, 69, 60]. Böylece patojene ait çeşitli AVR proteinleri, konukçunun bir tek NLR bölgesinin ortak domain alanı ile direkt bağlantı kurabilmektedir. Bu da göstermektedir ki, birçok efektörlerle konukçuya ait bir tek hedef üzerinde kantitatif etki oluşturulmaya çalışılmıştır (Şekil 5a).

Fujisaki ve ark. [70]'ın yaptıkları çalışmanın sonuçlarına göre yine çeltikte NBL Pii reseptörü, patojene ait Avr-Pii efektörünü indirekt algılamaktadır. Bir entegre domain bölge olan NOI (NOI; Nitrate (NO_3) Induced Domain, NOI domain içeren proteinle nitrojen metabolizmasının bağlantısı yoktur) çeltik bitkisi Pii-2 reseptör bölgesi içinde yer alır. Avr-Pii efektörünün esas hedefi olan çeltik proteinlerinden OsExo70-F3 ile direkt bağlantı kurduktan sonra Pii-NOI ile interaksiyona girebilmektedir. Ardından konukçu immün savunması gelişmektedir (Şekil 5b). NOI-domaine sahip olan protein ailesinin bitkilerde biyotik savunma (patojen bakteriler gibi) olaylarını kontrol ettiği bildirilmiştir [71]. AvrRpt2 tarafından da hedeflenen NOI içeren proteinlerin amacı PTI'yi düzenlemek suretiyle virülens hedefleri aşmak olabilir [72].



Şekil 5 NLR reseptörlerine entegre olan domain alanları [73]. *Magnaporthe oryzae* efektörleri (A), ve bitkideki ilgili NLR proteinleri. **A)** *M. oryzae*'nin AVR-Pik, AVR-Pia, AVR-Pii efektörlerine ait allellerin polimorfik pozisyonları gösterilmektedir. AVR-Pik ve AVR-Pia efektörleri MAX efektör ailesinden olup farklı sekanslara sahip olsa da ana çekirdek yapısı olan MAX (*Magnaporthe* Avr ve ToxB-Like) bölgesi evrimsel olarak korunmuştur. **B)** Çeltik R gen ürünleri olan Pik, Pia (RGA4 ve RGA5) ve Pii proteinlerine entegreolan HMA domain alanları vurgulanarak gösterilmektedir. NOI domain bölgesi de entegre domain bir alandır

Bitkilerde stresle ilgili gen promotör bölgelerinde bulunan W-box bir DNA cis- regülatör elementi olup, WRKY transkripsiyon faktörleriyle tanınır ve patojen efektörleriyle interaksiyona girerek immün tepki uyanmasını sağlar [74]. *Arabidopsis*'te bir NLR olan RRS1'in WRKY domain bölgesi patojen efektörüyle etkileşir ve RPS4- bağlı immün reaksiyonu teşvik eder, böylece WRKY transkripsiyon faktör domain bölgesi promotöre entegre olmuş bir çeşit tuzak olarak çalışmaktadır [59]. Arpa da WRKY transkript elementlerinin varlığını gösteren bir çalışmada *Fusarium culmorum* ile infeksiyon sonrası 8 WRKY gen transkript düzeylerinin yükseldiği bildirilmiştir (75). Bitki immünolojisi henüz keşfedilmemiş birçok aracı molekül ve mekanizmayı barındırmaktadır. Entegre domain bölgeleri (IDs; **I**ntegrated **D**omains) aracılığı ile patojen tanıma olaylarına ait çalışılan örnek sayısı şimdilik birkaç adet ile sınırlıdır. Sinyal yolak olaylarının moleküler düzeyde açığa çıkarılmasıyla efektörün direkt ve/veya indirekt hedefine uygun antagonist etkili bitki koruma ilaçlarının geliştirilmesi yeni araştırma alanlarına da öncülük yapacaktır.

Bir R gen çeşidi olan executor genler (E genes), transkripsiyon aktivatör-benzeri efektörler (TALEs: Transcription Activator-Like Effectors) ile aktif hale getirilmektedir [33].

TALE'ler *Xanthomonas* ve *Ralstonia* türlerine ait efektör molekülleri olup [76, 77, 78, 79] ayrıca endosimbiyont tür olan *Burkholderia rhizoxinica*'da da rapor edilmiştir [80, 81]. TALE'ler, biber ve domates patojeni olan *Xanthomonas campestris* pv *vesicatoria* (Xcv)'nin AvrBs3 efektör proteininin genetik ve yapısal özelliklerinin ortaya çıkarılmasıyla keşfedilmeye başlanmıştır [82]. Patojene ait olan TALE proteinleri, bitkinin duyarlılık

Dayanıklılık alleline sahip çeltik varyeteleri *Xoo* ile infekte olduğu zaman uyumsuz (incompatible) bitki-patojen interaksyonu sonucunda R proteini ifade olmakta (expression) ve sonuçta bitki hastalık dayanıklılığı gelişmektedir. Duyarlılık allelerine sahip çeltik varyetelerinin polimorfik olan promotör bölgelerindeki özel TALE sekansları aracılığıyla bilinmeyen bir mekanizmayla hastalık dayanıklılığı konstitütif olarak gelişmektedir. Promotör ile ilgili transgenik varyete analiz çalışmalarından elde edilen sonuçlara göre, *Xa27* promotörünün null allel bölgesi *Xoo* için hem uyumlu ve hem de uyumsuz konukçu-patojen ilişkisi içinde *Xa27*'nin ektopik ekspresyonuna neden olmaktadır. Böylece bitkiye uyumlu konukçu-patojen için hastalık oluşumuna konstitütif bir dayanıklılık sağlamaktadır. Promotöre bağlı bu dayanıklılığın, transkripsiyon sonrası değişimlerden kaynaklı olabileceği vurgulanmıştır. Ancak patojen AvrXa27 efektörü çeltik *Xa27*'nin promotörüne direkt mi veya indirekt mi etki ettiği bilinmemektedir. Önemli bir diğer sonuçta indüksiyon sonrası dayanıklı bitkide ilgili gen ifadesi artarken duyarlı varyetelerin ektopik ifadesi sürekli. Duyarlılık alleline sahip olan bitkiler promotör taklitçiliği geliştirerek evrimleşmişler ve efektörün bitkide hedef aldığı substratı engelleyecek şekilde savunma tepkimeleri tetiklenmekte ve patojen bertaraf edilmektedir (Şekil 6).

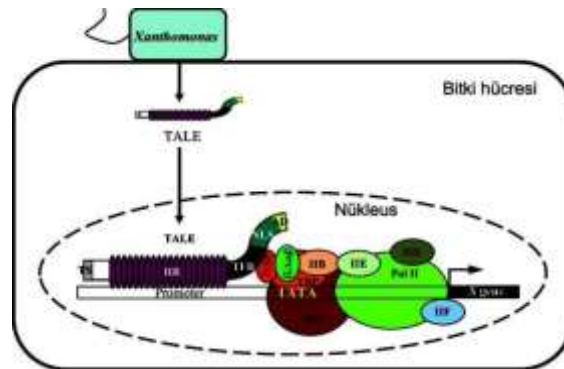
Römer ve ark. [90] biber, çeltik ve *Xanthomonas* türlerinde yaptığı çalışmada, TALEs efektörü AvrBs3'ün biberde bir R geni olan *Bs3*'ün promotör bölgesinde bulunan ve sadece TALE efektörlerine ait özel olan UPT kutusu (*UP regulated by TAL effectors*) ile etkileşimi sonucunda tanındığını bildirmiştir. Ancak çeltik *Xa27* R geninin bağlantılı olduğu TALEs ile interaksyonun tanımlanmadığını rapor etmişlerdir. Mono- ve di-kotiledonlarda UPT kutusu ile TALEs'in kodlanan baz dizilerinde bir homoloji bulunamamış olup böylece mono- ve di-kotiledon bitki türlerinde TALEs ile ilgili dayanıklılık mekanizmalarının birbirlerinden bağımsız evrimleştiği düşünülmektedir [90]. Patojen TALEs efektörlerinin konukçu DNA'sında TALEs'e özgül baz dizilerine bağlanma özelliğinin anlaşılmasıyla, *Xanthomonas* türlerine karşı sentetik executor genler aracılığı ile immün dayanıklılık geliştirme araştırmaları da dikkat çekmeye başlamıştır [90, 91, 92].

Bitki R genlerinin sahip olduğu diğer bir mekanizma bitkide aktif duyarlılık kaybı olup, bitki patojenin istila stratejisini etkin olarak kesmekte ve patojeni direkt etkisizleştirmektedir [33]. Bu mekanizmaya ait çeşitli fikirler ileri sürülebilir. Örneğin,

bitkiye ait immün sinyal mekanizmaları ya sürekli ifade olmakta veya ifade miktarı artmaktadır. Bitki, mantar ve bakteriler ribozomları inaktif eden proteinlere (**RIP: Ribosome-Inactivating Proteins**) sahiptirler [93, 94, 95, 96]. Çeltik genomuna, DNA'nın ektopik pozisyonunda yerleştirilen bir genin aşırı eksprese olması sonucunda genç çeltik varyetelerinin kuraklık, tuzluluk gibi koşullara dayanıklı olduğu rapor edilmiştir [97]. Dayanıklılığın mekanizması bilinmemekle beraber, RIP'le teşvik edilen protein sentez mekanizmasının engellenmesiyle proteinler biyotik ve abiyotik streslere karşı tekrar organize olmaktadır [98]. Protein replikasyonunu hedefleyen dayanıklılık sistemi birçok konukçu bitki-virüs sistemlerinde mevcuttur. Konu ile ilgili son yıllarda yapılan çalışmalardan olan *Phytolacca americana* L. bitkisinin ürettiği PAP (**Pokeweed Antiviral Protein**) proteini ve bunun birçok izoformları antiviral-antifungal olup ribozom aktivitesine engel olmaktadır, ayrıca ribozomdaki pürinleri de hidrolize etmektedir [99]. Domashevskiy ve ark. [100]'da TEV (Tobacco Etch Virus) RNA pürinlerinin, bitki PAP proteini ile hidroliz edildiğini bildirmiştir. Böylece bitkide immün sistem daha harekete geçmeden virüsler ekarte olmuştur. Resesif dayanıklılığa diğer örnek ise; *eIF4E* genin bir izoformu olan *eIFiso4E* geni mutanlı olan *A. thaliana* bitkisi Tobacco Etch Virüs (TEV)'ne karşı dayanıklılık göstermiştir [101]. *A. thaliana*'da bol miktarda bulunan *eIF4E*, translasyona başlama faktör proteinlerindedir. Benzer şekilde domates hücrelerinin hücre içi membranında *Tm-1* gen ürünü, tütün mozayik virüsünün RNA'sı üzerinde yer alan replikasyon protein genlerine bağlanarak virüsün replikasyonunu önlemekte ve böylece bitki dayanıklılık kazanmaktadır [102, 103]. *Tm-1*, domates mozayik virüsü (ToMV)'ne karşı dayanıklılık genidir. Domates mozayik virüsü (ToMV) de pozitif-kolonlu bir RNA virüsüdür.

Bazı bitkiler resesif R genleriyle, patojenin konukçudaki esas hedefinde interaksyon kaybı yaratarak indirekt (veya pasif) duyarlılık kaybına neden olmaktadır. Transkripsiyon Aktivatör-Benzeri Efektörler (TALEs: **T**ranscription **A**ctivator-**L**ike **E**ffectors), *Xanthomonas* cinsi fitopatojen bakterilerde bulunan önemli efektörlerdir [104]. Çeltikte bakteriyel yanıklık etmeni *Xoo*'nın TALEs proteinleri, konukçu bitkileri infeksiyon için gerekli olup aynı zamanda konukçuya ait resesif duyarlılık gen transkripsiyonunu aktifleyen bir faktördür. Şekil 7'de görüldüğü gibi patojen bakteri *Xoo*, TALEs proteinlerini tip III bakteriyel salgı sistemi aracılığı ile konukçu bitki çeltiğe injekte ettikten sonra konukçuya ait bazal bir transkripsiyon faktörü olan TFIIA γ 5 ile

direkt interaksyon kurmaktadır. Bu interaksyon duyarlılık genlerini çalıştırarak bitkiyi hastalığa teşvik etmektedir [105]. Aynı araştırmacılar çalışmalarında, transkripsiyon faktöründe yaratılan mutasyonla RNAi aracılığıyla *Xoo*'ya dayanıklılığın artırıldığını da göstermişlerdir. Sonuçta konukçunun TFIIA γ 5 gen ekspresyonu azaldığı zaman bitki duyarlılığı da azalarak hastalığa dayanıklı hale gelmektedir. Böylece bakteri TALEs proteinlerinin konukçudaki hedefi ile oluşan interaksyon kaybı bitkiyi hastalığa dayanıklı yapmaktadır. Yukarıda açıklamalarda ele alınan TALEs ile farkı kısaca şu şekilde özetlenebilir; *Xoo*-çeltik interaksyonlarında TFIIA γ 5 faktörü çift fonksiyona sahiptir, birincisi *Xoo*'nun bitkiyi hastalandırması için TALE efektörü gereklidir. Patojene ait TALE ile bitki transkripsiyon faktörü TFIIA γ 5 interaksyon kurduktan sonra duyarlılık genleri çalışarak bitkiyi hastalığa hazır hale getirmektedir. İkinci fonksiyonu ise konuyla ilgili çeltik R geninin promotör bölgesinde TALE'yi bağlayan özgül baz dizileri sayesinde bitki hastalığa karşı korunmaktadır. Ancak mekanizmanın biyokimyasal ve genetik detayları henüz bilinmemektedir. Kısaca TALE'ler konukçu bitkide R gen allellerine bağlı olarak ya direkt promotöre bağlanarak bitkiye dayanıklılık sağlamaktadır ya da konukçu transkripsiyon faktörleri ile bağlantı kurarak duyarlılık kaybı yaratmak suretiyle bitkiyi hastalığa teşvik etmektedir. Bu iki durumdan hangisinin gelişeceği, TALEs efektörlerinin özel özelliği ile bitkinin ilgili R gen alleline bağlı olarak belirlenmektedir. Tarımsal biyoteknolojide TALEs taşıyan patojenlere karşı, bitki duyarlılık genlerinin aktivitesini azaltacak bitki koruma ile ilgili ilaç çalışmaları, doğal seleksiyonla veya moleküler biyolojik yöntemlerle ıslah çalışmaları yeni bir uygulama stratejisinin geliştirilmesinde önemli potansiyellere sahiptir.



Şekil 7 *Xanthomonas* bakterisi ile infekte olan çeltik bitkisinin hastalık eğilimi bitkinin özel bir transkripsiyon faktörü ile teşvik edilir [105]. Bakterinin TALE efektörü, bitkinin bir transkripsiyon faktörü olan TFIIA γ 5 aracılığıyla bitki duyarlılık genini teşvik yoluyla infeksiyon için promotör üzerinde özel bir bölgeye bağlanır

Bazı konukçu bitkiler R genlerinden farklı genlerle patojene karşı kısmi dayanıklılık sağlayarak belli oranda hastalık gelişimine olanak vermektedirler [106]. Bu grupta yer alan genler “**Adult Plant Resistance**” (APR) genleri olarak isimlendirilir [106]. Hastalığa karşı duyarlılığı azalan genlerle ilgili stratejiye göre patojen efektörlerini hedef alan bitki proteinlerinin gen fonksiyonlarında değişimler veya kayıplar meydana gelmektedir. Bitki gen fonksiyonlarında ki kayıplar ve hasarlar bitkiyi genetik olarak hastalığa dayanıklı kılmakta olup geniş spektrumlu bir dayanıklılık şekli olan bu duyarlılık kaybı resesif bir karakterdir [107, 108]. Ancak bu mekanizmada dominant negatif alleller de dahil olabilir [33]. Mekanizması tam olarak bilinmemekle beraber bu grupta yer alan dayanıklılık genleri bitki yaşamının daha geç evrelerinde etkilidir [106]. Mono- ve di-kotiledon bitkilerde geniş olarak dağılım gösteren MLO alleli (MLO; Mildew Locus O), bitkiye ait özel bir integral membran proteini kodlamaktadır, arpada külleme etmeninin penetrasyonu için kritik öneme sahiptir [109]. Buna göre arpa MLO allellerinde meydana gelen fonksiyon kaybı, bazı ascomycetes fitopatojenlerine karşı konukçu bitkiye özel olmayan geniş ölçekli bir dayanıklılık sağlamaktadır [109]. Yani MLO gen ailesinin belli homologları, külleme hastalığının duyarlılık faktörleridir ve MLO’da görülen fonksiyon kayıpları birçok bitki türlerinde sürekli sürdürülebilir MLO dayanıklılığı sağlamaktadır [110].

Sonuç ve Öneriler

Efektör-reseptör ilişkisinin biyolojik sonuçları tarımsal ıslah ve bitki koruma mücadelesinde önemli ve yeni bir konudur. Hala bilinmeyenleri çok fazla olan ve keşfedilmeyi bekleyen bitki sinyal yollarına ait efektör biyolojisinin alt araştırma konuları olan NLR moleküllerinin kofaktör gereksinimleri, NLR aktivasyonunda sekonder ara olaylar gibi çalışmalar da sürekli genişlemektedir. Biyotik bir canlıya ait olan ve konukçu bitkiye yabancı bir kimyasal madde, reseptör olarak isimlendirilen bitki hücre sensörleri aracılığı ile fiziksel kontak kurar ve hemen ardından konukçu hücre içinde bir dizi moleküler olaylar serisinin harekete geçmesiyle meydana gelen hücresel tepkiye neden olan işlemler toplamı sinyal yolları (signal transduction) olarak isimlendirilmektedir. Bu yolda işlevsel olan moleküller, bir bilgisayarın iletişim ağına benzer şekilde, birbirleriyle etkileşerek koordineli olarak bir kombinasyon ağı oluştururlar. Patojen organizmalar, sinyal yollarının herhangi bir ara aşamasında karşısına çıkan engelleri alt etmek için sürekli olarak evrimleşmektedir. Benzer şekilde

bitkilerde yeni savunma stratejileri geliştirmektedirler. Böylece bitki immunitesi dāhilinde bitki korumaya yönelik yeni stratejilerin geliştirilmesi dezorunlu hale gelmektedir. zet olarak bitki immunitesinin yeni savunma strateji hedeflerinin ana hatları aşağıdaki şekilde değerlendirilebilir;

1) Patojen efektörleri veya analogları tek veya efektörler kokteyli şeklinde bitkiye önceden uygulanmak suretiyle bitkinin immunitesi teşvik edilebilir böylece kısmi dayanıklılık sağlanabilir. Örneğin *Rhizobium* sp. türü nodozite bakterilerinin baklagil köklerinde bitkilerle simbiyotik bir ilişki içinde yařadđı bilinmektedir. Nodlasyon için çeşitli efektörleri bitkilere gönderen rhizobiyumların bazı efektörleri bitki savunma tepkimelerini de harekete geçirebilmektedir, bazı efektörleri ise savunmayı baskılamaktadır. Ayrıca rhizobiumlar marul, kanola, *Arabidopsis* gibi baklagil familyasından olmayan bitki türlerinin köklerini de kolonize edebilmektedirler [111]. Bitki korumada biyolojik pestisit olarak kullanılan *Bacillus thuringiensis* modeline benzer sistemler geliştirilerek *Rhizobium* gibi patojenik olmayan mikroorganizmalar da sentetik kimyasallar yerine doğal kimyasallar olarak bitki immün savunmayı harekete geçirmede öneri olarak sunulabilir.

2) Yine bitki korumaya yönelik genel ilaçlama yerine direkt efektörleri hedef olarak bunların etkisini zayıflatacak veya inaktif edecek kimyasal/biyolojik mücadele yöntemleri geliştirilebilir. Mikroorganizmaların kendi aralarındaki antagonistik mekanizmalara dayalı birbirlerine zıt etkili efektörlerin araştırılması gerekmektedir.

3) Patojenler tarafından efektörler bitki sitoplazmasına injekte edildikten sonra sitoplazmik R-gen proteinleriyle dolaylı veya dolaysız bağlantı kurmaktadır. Bu bağlantı yolları ortaya çıkarılıp kimyasal/biyolojik uygulamalarla bloke edilebilir veya reaksiyona gireceği bitki R-gen proteinleri kimyasal yolla manipule edilebilir böylece efektörle interaksiyon engellenebilir.

4) Bitkilerin duyarlılık gen fonksiyonları değerştirilerek bitkiye dayanıklılık sağlanabilir. Bazı patojen efektörleri bitki R-gen transkriptleriyle interaksiyona girerek bitkinin hastalık duyarlılığını artırmaktadır. Bu R-gen transkriptleri kimyasal/biyolojik uygulamalarla inaktif edilerek efektörle bağlantısı fiziki olarak kesilirse, bitki dolaylı dayanıklılık kazanabilir.

5) Patojen efektörlerinin etkisini bitkiler tarafından doğal azaltacak mekanizmalar teşvik edilebilir. Örneğin bazı bitkiler ribozom-inaktif eden proteinlere

(RIP protein) sahiptir, bu proteinler antiviral ve antifungal özelliğindedir ve organizmaların nükleik asitlerine ya da ribozomlarına zarar vererek patojeni etkisizleştirmektedir. Böylece bitki immünitesi harekete geçmeden bu tarz mekanizmalar ve indüksiyonla teşvik yolları araştırılabilir.

Bitki R-gen promotörleri patojen efektörlerle interaksyona girebilmektedir. TALEs efektör örneğinde olduğu gibi bitkinin R gen allel özelliğine bağlı olarak bazı TALE efektörleri duyarlılık genlerinin promotörüne bağlanır. Bu promotör bölgeler aslında bitki tarafından geliştirilen TALE'leri tuzağa düşürme yöntemidir. Böylece promotör taklitçiliğiyle tuzağa düşürülen efektörler bitkinin dayanıklılık genlerini çalıştırmaya başlar. Bitkilerde TALE bağlayan gen bölgelerinin varlığı tespit edilirse, promotöre uygun analog efektörlerle dayanıklılık genleri çalıştırılabilir.

Efektör-reseptör biyolojisi, fizyoloji, biyokimya, moleküler biyoloji, genetik, biyoinformatik gibi interdisipliner alanlardan elde edilecek bilgiler ışığında aydınlanacaktır. Ama en önemli konu ise buradan elde edilecek kümülatif sonuçların ülkemizde bitki koruma ıslahına uygulanabilirliği, bu teknolojilerden ne gibi sonuçlar üretileceği, nasıl yarar sağlanacağı ve gıda güvenliği mutlaka temin edilmelidir. Bu doğrultuda sürdürülebilir yeni bitki koruma planları oluşturularak, bitki-patojen interaksiyonlarının hangi aşamasında ve nasıl etkili mücadele yöntemleri geliştirilmesi gerekliliği konusuna zemin hazırlanacaktır.

Bitki immünitesi, bitkilere gen nakilleri yapılmadan bitkinin mevcut sistemleri harekete geçirilerek kısmen veya tam dayanıklılık sağlama olasılıkları sunmaktadır. İndüksiyon için çok çeşitli kimyasallarla uygulanabilir, sürdürülebilir, pahası makul olan ve insan/çevre zararını minimumda tutacak doğal, sentetik/yarı sentetik maddelerin keşfi ya da biyolojik yolla uygulamayı mümkün hale getiren projeler geliştirilmesi gerekir. Sonuç olarak bitki hastalık dayanıklılık ıslahı amaçlı araştırmalarda bitkisel sinyal transdüksiyon olayları çok büyük bir potansiyel taşımaktadır.

Kaynaklar

1. Dong, O.X. and P.C. Ronald, Genetic engineering for disease resistance in plants: Recent Progress and Future Perspectives. *Plant Physiology*, 2019. 180(1): p. 26-38.
2. Yin, K. and J.L. Qiu, Genome editing for plant disease resistance: applications and perspectives. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 2019. 374(1767): p. 20180322.
3. Engelhardt, S., R. Stam, and R. Hükelhoven, 2018. Good Riddance? Breaking Disease

- Susceptibility in the Era of New Breeding Technologies. *Agronomy*, 2018. 8(7): p. 114.
4. Franceschetti, M., et al., Effectors of filamentous plant pathogens: Commonalities amid diversity. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2017. 81(2): p. e00066-16.
 5. Kubicek, C.P., T.L. Starr, and N.L. Glass, Plant cell wall-degrading enzymes and their secretion in plant-pathogenic fungi. *Annual Review of Phytopathology*, 2014. 52: p. 427-451.
 6. Wang, M.B., et al., RNA silencing and plant viral diseases. *Molecular Plant Microbe- Interactions: MPMI*, 2012. 25(10): p. 1275-1285.
 7. Giese, W., et al., Spatial modeling of the membrane-cytosolic interface in protein kinase signal transduction. *PLoS Computational Biology*, 2018. 14(4): p. e1006075.
 8. Silva, M.S., et al., Review: Potential biotechnological assets related to plant immunity modulation applicable in engineering disease-resistant crops. *Plant Science: an International Journal of Experimental Plant Biology*, 2018. 270: p. 72-84.
 9. Césari, S., et al., A novel conserved mechanism for plant NLR protein pairs: the "integrated decay" hypothesis. *Frontiers in Plant Science*, 2014. 5: p. 606.
 10. Jatwa, T.K., M. Sharma, and A.K. Malav, R gene and its role in disease managements in plants. *International Journal of Current Research in Biosciences and Plant Biology*, 2017. 4(5): p. 61-64.
 11. Nepal, M.P., et al., Comparative Genomics of Non-TNL Disease Resistance Genes from Six Plant Species. *Genes*, 2017. 8(10): p. 249.
 12. Zhang, Y., T. Lubberstedt, and M. Xu, The genetic and molecular basis of plant resistance to pathogens. *Journal of Genetics and Genomics = Yi chuan xue bao*, 2013. 40(1): p. 23-35.
 13. Heath, M.C., Nonhost resistance and nonspecific plant defenses. *Current Opinion in Plant Biology*, 2000. 3(4): p. 315-319.
 14. Staskawicz, B.J., et al., Molecular genetics of plant disease resistance. *Science(New York, N.Y.)*, 1995. 268(5211): p. 661-667.
 15. Heath, M.C., Evolution of plant resistance and susceptibility to fungal invaders. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 1987. 9(4): p. 389-397.
 16. Heath, M. C., 2003. Nonhost resistance in plants to microbial pathogens, in *Innate immunity. Infectious disease*, R.A.B. Ezekowitz and J.A. Hoffmann, Editors. 2003, Humana Press Totowa, NJ. p. 47-57.
 17. Nie, J., et al., A small cysteine-rich protein from two kingdoms of microbes is recognized as a novel pathogen-associated molecular pattern. *The New Phytologist*, 2019. 222(2): p. 995-1011.
 18. Schwessinger, B. and C. Zipfel, News from the frontline: recent insights into PAMP-triggered immunity in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 2008. 11(4): p. 389-395.
 19. Zipfel, C., Pattern-recognition receptors in plant innate immunity. *Current Opinion in Immunology*, 2008. 20(1): p. 10-16.
 20. Gururani, M.A., et al., Plant disease resistance genes: Current status and future directions. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 2012. 78: p. 51-65.
 21. Freeman, B.C. and G.A. Beattie, An overview of plant defenses against pathogens and herbivores. *Plant Health Instructor*, 2008. <http://dx.doi.org/10.1094/PHI-I-2008-0226-01%20> [Erişim Tarihi: 17. 05. 2021].
 22. Monaghan J. and C. Zipfel, Plant pattern recognition receptor complexes at the plasma membrane. *Current Opinion in Plant Biology*, 2012. 15(4): p. 349-357.
 23. Kazan, K. and R. Lyons, Intervention of Phytohormone Pathways by Pathogen Effectors. *The Plant Cell*, 2014. 26(6): p. 2285-2309.
 24. Macho, A.P. and C. Zipfel, Plant PRRs and the activation of innate immune signaling. *Molecular Cell*, 2014. 54(2): p. 263-272.
 25. Jones, J. D. and J.L. Dangl, The plant immune system. *Nature*, 2006. 444(7117): p. 323-329.
 26. Chang, J.H., D. Desveaux, and A.L. Creason, ABCs and 123s Bacterial Secretion Systems in Plant Pathogenesis. *Annual Review of Phytopathology*, 2014. 52: p. 317-345.
 27. MacQueen, A. and J. Bergelson, Modulation of R-gene expression across environments. *Journal*

- of Experimental Botany, 2016. 67(7): p. 2093-2105.
28. Zhang, H. and S. Wang, Rice versus *Xanthomonas oryzae* pv *oryzae*: a unique pathosystem. Current Opinion in Plant Biology, 2013. 16(2): p. 188-195.
 29. Petre, B., D.L. Joly, and S. Duplessis, Effector proteins of rust fungi. Frontiers in Plant Science, 2014. 5: p. 416.
 30. Kemen, E., et al., A novel structural effector from rust fungi is capable of fibril formation. The Plant Journal, 2013. 75(5): p. 767-780.
 31. Rafiqi, M., et al., Internalization of flax rust avirulence proteins into flax and tobacco cells can occur in the absence of the pathogen. The Plant Cell, 2010. 22(6): p. 2017-2032.
 32. Kemen, E., et al., Identification of a protein from rust fungi transferred from haustoria into infected plant cells. Molecular Plant-Microbe Interactions: MPMI, 2005. 18(11): p. 1130-1139.
 33. Kourelis, J. and R. van der Hoorn, Defended to the nines: 25 years of resistance gene cloning identifies nine mechanisms of R protein function. The Plant Cell, 2018. 30(2): p. 285-299.
 34. Neupane, S., et al., Genome-Wide Identification of NBS-Encoding Resistance Genes in Sunflower (*Helianthus annuus* L). Genes, 2018. 9(8): p. 384.
 35. Shao, Z.Q., et al., Large-scale analyses of angiosperm nucleotide-binding site-leucine-rich repeat genes reveal three anciently diverged classes with distinct evolutionary patterns. Plant Physiology, 2016. 170(4): p. 2095-2109.
 36. Meyers, B.C., et al., Genome-wide analysis of NBS-LRR-encoding genes in *Arabidopsis*. The Plant Cell, 2003. 15(4): p. 809-834.
 37. McHale, L., et al., Plant NBS-LRR proteins: adaptable guards. Genome Biology, 2006. 7(4): p. 212.
 38. Baggs, E., G. Dagdas, and K.V. Krasileva, NLR diversity, helpers and integrated domains: making sense of the NLR identity. Current Opinion in Plant Biology, 2017. 38: p. 59-67.
 39. Bonardi, V. and J.L. Dangl, How complex are intracellular immune receptor signaling complexes?. Frontiers in Plant Science, 2012. 3: p. 237.
 40. Kapos, P., K.T. Devendrakumar, and X. Li, Plant NLRs: From discovery to application. Plant Science: an international journal of experimental plant biology, 2019. 279: p. 3-18.
 41. Belkhadir, Y., R. Subramaniam, and J.L. Dangl, Plant disease resistance protein signaling: NBS-LRR proteins and their partners. Current Opinion in Plant Biology, 2004. 7(4): p. 391-399.
 42. Williams, S.J., et al., An autoactive mutant of the M flax rust resistance protein has a preference for binding ATP, whereas wild-type M protein binds ADP. Molecular Plant-Microbe Interactions: MPMI, 2011. 24(8): p. 897-906.
 43. Tameling, W.I., et al., Mutations in the NB-ARC domain of I-2 that impair ATP hydrolysis cause autoactivation. Plant Physiology, 2006. 140(4): p. 1233-1245.
 44. Riedl, S.J., et al., Structure of the apoptotic protease-activating factor 1 bound to ADP. Nature, 2005. 434(7035): p. 926-933.
 45. Tameling, W.I., et al., The tomato R gene product I-2 and MI-1 are functional ATP binding proteins with ATPase activity. The Plant Cell, 2002. 14(11): p. 2929-2939.
 46. Hu, Z., et al., Crystal structure of NLRC4 reveals its autoinhibition mechanism. Science (New York, N.Y.), 2013. 341(6142): p. 172-175.
 47. Tameling, W.I., et al., RanGAP2 mediates nucleocytoplasmic partitioning of the NB-LRR immune receptor Rx in the solanaceae, thereby dictating Rx function. The Plant Cell, 2010. 22(12): p. 4176-4194.
 48. Ade, J., et al., Indirect activation of a plant nucleotide binding site-leucine-rich repeat protein by a bacterial protease. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS), 2007. 104(7): p. 2531-2536.
 49. Ravensdale, M., et al., Intramolecular interaction influences binding of the Flax L5 and L6 resistance proteins to their AvrL567 ligands. PLoS Pathogens, 2012. 8(11): p. e1003004.
 50. Burch-Smith, T.M., et al., A novel role for the TIR domain in association with pathogen-derived

- elicitors. *PLoS Biology*, 2007. 5(3): p. e68.
51. Lewis, J.D., et al., Allele-specific virulence attenuation of the *Pseudomonas syringae* HopZ1a type III effector via the *Arabidopsis* ZAR1 resistance protein. *PLoS Genetics*, 2010. 6(4): p. e1000894.
 52. Jayaraman, J., et al., A bacterial acetyltransferase triggers immunity in *Arabidopsis thaliana* independent of hypersensitive response. *Scientific Reports*, 2017. 7(1): p. 3557.
 53. Lewis, J.D., et al., The *Arabidopsis* ZED1 pseudokinase is required for ZAR1-mediated immunity induced by the *Pseudomonas syringae* type III effector HopZ1a. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*, 2013. 110(46): p. 18722-18727.
 54. MAPK Group., Mitogen-activated protein kinase cascades in plants: a new nomenclature. *Trends in Plant Science*, 2002. 7(7): p. 301-308.
 55. Zhang, Z., et al., Disruption of PAMP-induced MAP kinase cascade by a *Pseudomonas syringae* effector activates plant immunity mediated by the NB-LRR protein SUMM2. *Cell Host & Microbe*, 2012. 11(3): p. 253-263.
 56. Zhang, Z., et al., The NLR protein SUMM2 senses the disruption of an immune signaling MAP kinase cascade via CRCK3. *EMBO Reports*, 2017. 18(2): p. 292-302.
 57. Kroj, T., et al., Integration of decoy domains derived from protein targets of pathogen effectors into plant immune receptors is widespread. *The New Phytologist*, 2016. 210(2): p. 618-626.
 58. Sarris, P.F., et al., Comparative analysis of plant immune receptor architectures uncovers host proteins likely targeted by pathogens. *BMC Biology*, 2016. 14: p. 8.
 59. Sarris, P.F., et al., A plant immune receptor detects pathogen effectors that target WRKY transcription factors. *Cell*, 2015. 161(5): p. 1089-1100.
 60. Yoshida, K., et al., Association genetics reveals three avirulence genes from the rice blast fungal pathogen *Magnaporthe oryzae*. *The Plant Cell*, 2009. 21(5): p. 1573-1591.
 61. Orbach, M.J., et al., A telomeric avirulence gene determines efficacy for the rice blast resistance gene Pi-ta. *The Plant Cell*, 2000. 12(11): p. 2019-2032.
 62. Li, W., et al., The *Magnaporthe oryzae* avirulence gene AvrPiz-t encodes a predicted secreted protein that triggers the immunity in rice mediated by the blast resistance gene Piz-t. *Molecular Plant-Microbe Interactions (IS-MPMI)*, 2009. 22(4): p. 411-420.
 63. Ribot, C., et al., The *Magnaporthe oryzae* effector AVR1-CO39 is translocated into rice cells independently of a fungal-derived machinery. *The Plant Journal: for cell and molecular biology*, 2013. 74(1): p. 1-12.
 64. Césari, S., et al., The rice resistance protein pair RGA4/RGA5 recognizes the *Magnaporthe oryzae* effectors AVR-Pia and AVR1-CO39 by directing binding. *The Plant Cell*, 2013. 25(4): p. 1463-1481.
 65. Okuyama, Y., et al., A multifaceted genomics approach allows the isolation of the rice Pia-blast resistance gene consisting of two adjacent NBS-LRR protein genes. *The Plant Journal: for cell and molecular biology*, 2011. 66(3): p. 467-479.
 66. Ashikawa, I., et al., Two adjacent nucleotide-binding site-leucine-rich repeat class genes are required to confer Pikm-specific rice blast resistance. *Genetics*, 2008. 180(4): p. 2267-2276.
 67. Wu, W., et al., Stepwise arms race between AvrPik and Pik alleles in the rice blast pathosystem. *Molecular Plant-Microbe Interactions (IS-MPMI)*, 2014. 27(8): p. 759-769.
 68. Zhai, C., et al., Function and interaction of the coupled genes responsible for Pik-h encoded rice blast resistance. *PloS One*, 2014. 9(6): p. e98067.
 69. Kanzaki, H., et al., Arms race co-evolution of *Magnaporthe oryzae* AVR-Pik and rice Pik genes driven by their physical interactions. *The Plant Journal*, 2012. 72(6): p. 894-907.
 70. Fujisaki, K., et al., An unconventional NOI/RIN4 domain of a rice NLR protein binds host EXO70 protein to confer fungal immunity. *bioRxiv*, 2017. 239400. <https://doi.org/10.1101/239400>[Erişim Tarihi: 17. 05. 2021]
 71. Afzal, A.J., J.H. Kim, and D. Mackey, The role of NOI-domain containing proteins in plant immune signaling. *BMC Genomics*, 2013. 14:p. 327.

72. Chisholm, S.T., et al., Molecular characterization of proteolytic cleavage sites of the *Pseudomonas syringae* effector AvrRpt2. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*, 2005. 102(6): p. 2087-2092.
73. Bialas, A., et al., Lessons in Effector and NLR Biology of Plant-Microbe Systems. *Molecular Plant-Microbe Interactions: (IS-MPMI)*, 2018. 31(1): p. 34-45.
74. Uluhan, E., E.N. Keleş, and F. Tufan, Analysis of WRKY Transcription Factors in Barley Cultivars Infected with *Fusarium culmorum*. *International Journal of Life Sciences and Biotechnology*, 2019. 2(3): p. 165-174.
75. Rushton, P.J., et al., WRKY transcription factors. *Trends in Plant Science*, 2010. 15(5): p. 247–258.
76. Heuer, H., et al., Repeat domain diversity of avrBs3-like genes in *Ralstonia solanacearum* strains and association with host preferences in the field. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007. 73(13): p. 4379-4384.
77. Salanoubat, M., et al., Genome sequence of the plant pathogen *Ralstonia solanacearum*. *Nature*, 2002. 415(6871): p. 497-502.
78. De Feyter, R., Y. Yang, and D.W. Gabriel, Gene-for-genes interactions between cotton R genes and *Xanthomonas campestris* pv *malvacearum* avr genes. *Molecular Plant-Microbe Interactions (IS-MPMI)*, 1993. 6(2): p. 225-237.
79. Hopkins, C.M., et al., Identification of a family of avirulence genes from *Xanthomonas oryzae* pv *oryzae*. *Molecular Plant-Microbe Interactions (IS-MPMI)*, 1992. 5(6): p. 451-459.
80. Juillerat, A., et al., BurrH: a new modular DNA binding protein for genome engineering. *Scientific Reports*, 2014. 4: p. 3831.
81. de Lange, O., et al., Programmable DNA-binding proteins from Burkholderia provide a fresh perspective on the TALE-like repeat domain. *Nucleic Acids Research*, 2014. 42(11): p. 7436-7449.
82. Bonas, U., R.E. Stall, and B. Staskawicz, Genetic and structural characterization of the avirulence gene avrBs3 from *Xanthomonas campestris* pv *vesicatoria*. *Molecular and General Genetics*, 1989. 218(1): p. 127-136.
83. Bogdanove, A.J., S. Schornack, and T. Lahaye, TAL effectors: finding plant genes for disease and defense. *Current Opinion in Plant Biology*, 2010. 13(4): p. 394-401.
84. Zhang, J., Z. Yin, and F. White, TAL effectors and the executor R genes. *Frontiers in Plant Science*, 2015. 6: p. 641.
85. Gu, K., et al., R gene expression induced by a type-III effector triggers disease resistance in rice. *Nature*, 2005. 435(7045): p. 1122-1125.
86. Tian, D., et al., The rice TAL effector-dependent resistance protein XA10 triggers cell death and calcium depletion in the endoplasmic reticulum. *The Plant Cell*, 2014. 26(1): p. 497-515.
87. Wang, C., et al., XA23 is an executor R protein and confers broad-spectrum disease resistance in rice. *Molecular Plant*, 2015. 8(2): p. 290-302.
88. Römer, P., et al., Plant pathogen recognition mediated by promoter activation of the pepper Bs3 resistance gene. *Science (New York, N.Y.)*, 2007. 318(5850): p. 645-648.
89. Strauss, T., et al., RNA-seq pinpoints a *Xanthomonas* TAL-effector activated resistance gene in a large-crop genome. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*, 2012. 109(47): p. 19480-19485.
90. Römer, P., S. Recht, and T. Lahaye, A single plant resistance gene promoter engineered to recognize multiple TAL effectors from disparate pathogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*, 2009. 106(48): p. 20526-20531.
91. Zeng, X., et al., Genetic engineering of the Xa10 promoter for broad-spectrum and durable resistance to *Xanthomonas oryzae* pv *oryzae*. *Plant Biotechnology Journal*, 2015. 13(7): p. 993-1001.
92. Hummel, A.W., E.L. Doyle, and A.J. Bogdanove, Additional of transcription activator-like

- effector binding sites to a pathogen strain-specific rice bacterial blight resistance gene makes it effective against additional strains and against bacterial leaf streak. *New Phytologist*, 2012. 195(4): 883-893.
93. Puri, M., et al., Ribosome-inactivating proteins: current status and biomedical applications. *Drug Discovery Today*, 2012. 17(13-14): p. 774-783.
 94. Stirpe, F. and M.G. Battelli, Ribosome-inactivating proteins: progress and problems. *Cellular and Molecular Life Sciences: CMLS*, 2006. 63(16): p. 1850-1866.
 95. Girbés, T., et al., Description, distribution, activity and phylogenetic relationship of ribosome-inactivating proteins in plants, fungi and bacteria. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 2004. 4(5): p. 461-476.
 96. van Damme, E.J., et al., Ribosome-inactivating proteins: a family of plant proteins that do more than inactivate ribosomes. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2001. 20: p. 395-465.
 97. Jiang, S.Y., et al., Over-expression of OSRIP18 increases drought and salt tolerance in transgenic rice plants. *Transgenic Research*, 2012. 21(4): p. 785-795.
 98. Stirpe, F., Ribosome-inactivating proteins: from toxins to useful proteins. *Toxicon: official journal of the International Society on Toxinology*, 2013. 67: p. 12-16.
 99. Musidlak, O., R. Nawrot, and A. Goździcka-Józefiak, 2017. Which Plant Proteins Are Involved in Antiviral Defense? Review on In Vivo and In Vitro Activities of Selected Plant Proteins against Viruses. *International Journal of Molecular Sciences*, 2017. 18(11): p. 2300.
 100. Domashevskiy, A.V., et al., Plant Translation Initiation Complex eIFiso4F Directs Pokeweed Antiviral Protein to Selectively Depurinate Uncapped Tobacco Etch Virus RNA. *Biochemistry*, 2017. 56(45): p. 5980-5990.
 101. Lellis, A.D., et al., Loss-of-susceptibility mutants of *Arabidopsis thaliana* reveal an essential role for eIF(iso)4E during potyvirus infection. *Current Biology: CB*, 2002. 12(12): p. 1046-1051.
 102. Ishibashi, K. and M. Ishikawa, Mechanisms of tomato mosaic virus RNA replication and its inhibition by the host resistance factor Tm-1. *Current Opinion in Virology*, 2014. 9: p. 8-13.
 103. Ishibashi, K., et al., Structural basis for the recognition-evasion arms race between Tomato mosaic virus and the resistance gene Tm-1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*, 2014. 111(33): p. E3486-E3495.
 104. Boch, J., et al., Breaking the code the DNA binding specificity of TAL-type III effectors. *Science*, 2009. 326(5959): p. 1509-1512.
 105. Yuan, M., et al., A host basal transcription factor is a key component for infection of rice by TALE-carrying bacteria. *eLife*, 2016. 5: p. e19605.
 106. Ellis, J.G., et al., The past, present and future of breeding rust resistance wheat. *Frontiers in Plant Science*, 2014. 5: p. 641.
 107. Lyngkjær, M.F. and T.L.W. Carver, Conditioning of cellular defence responses to powdery mildew in cereal leaves by prior attack. *Molecular Plant Pathology*, 2000. 1: p. 41-49.
 108. Jørgensen, I. H., Discovery, characterization and exploitation of Mlo powdery mildew resistance in barley. *Euphytica*, 1992. 63: p. 141-152.
 109. Hüchelhoven, R. and R. Panstruga, Cell biology of the plant-powdery mildew interaction. *Current Opinion in Plant Biology*, 2011. 14(6): p. 738-746.
 110. Andolfo, G., et al., Evolutionary conservation of MLO gene promoter signatures. *BMC Plant Biology*, 2019. 19: p. 150.
 111. Gkarmiri, K., Interactions of fungal pathogens and antagonistic bacteria in the rhizosphere of *Brassica napus*. Faculty of Forest Sciences Department of Forest Mycology and Plant Pathology, Doctoral thesis, 2018. Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden 125 pp.