

תהליכים תאיים בתגובות הגנה בצמחים

מירב לייבמן-מרקוס ומיה בר

המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר העשבים, מנהל המחקר החקלאי, מרכז וולקני, דרך המכבים 68, ראשון לציון

תקציר

בצמחים התפתחה מערכת חיסון שאינה נרכשת, אלא מולדת, להגנה מפני פתוגנים. מערכת החיסון המולדת בצמחים מבוססת על מנגנוני הגנה מורכבים ויעילים, תמידיים, דוגמת הציפוי השעוני שעל פני העלים, או מושרים. התגובות המושרות כוללות תגובות מהירות ומידיות כגון הבססה (אלקליזציה) ופרץ תרכובות חמצן וחנקן פעילות, המתרחשות תוך שניות עד דקות ספורות מרגע זיהוי המיקרואורגניזם, וכן תגובות מורכבות וממושכות, הכוללות שינוי של דפוס ביטוי הגנים בצמח, וכפועל יוצא, שינוי מערך החלבונים והמטבוליטים. תגובות ההגנה בצמח מופעלות על ידי אליסיטורים (משרנים) כגון דפוסים-מולקולריים המצויים באסוציאציה עם מיקרואורגניזמים (MAMP). מולקולות MAMP בודדו ממגוון רחב של מיקרואורגניזמים פתוגניים ובלתי פתוגניים. רכיבים אלה מוכרים על ידי קולטני זיהוי חשי-דפוסים (PRR) הכוללים רצפטורים של שטח פני תא הצמח, כגון קינאזות דמויי-קולטן (RLK) וחלבונים דמויי-קולטן (RLP), בהתאם לנוכחות או היעדר של דומיין הקינאז, בהתאמה. בעקבות זיהוי, מרכיבי ה-PRR מפעילים הגנה מתווכת-דפוסים (PTI). כדי להתגבר על מערך הגנה זה, פתוגנים פיתחו מולקולות אפקטור המופרשות לתוך תא הצמח, אשר מונעות PTI. קולטני-הגנה תוך תאיים מגיבים לאפקטורים הללו ומפעילים הגנה מתווכת-אפקטורים (ETI). לטובת הגנת הצמח, מגויס גם מערך השינוע התוך תאי, המאפשר בליעה תאית (אנדוציטוזה), בליעת חומר אל תוך התא בתהליך בו ממברנת התא מתקפלת כלפי פנים ונסגרת לכדי שלפוחית - אנדוזום) מתווכת-קולטן. תהליך ההתנרתקות (אינוגינציה, הקפלות שטח פני התא כחלק מתהליך האנדוציטוזה) של קולטני מערכת החיסון הממברנאלי יכול לשמש לסיום איתות, באמצעות פירוק של קומפלקס-קולטן משופעל, או להעברת איתות תוך תאי מאנדוזומים המכילים רצפטורים משופעלים. על כן, אין זה מפתיע שבקרי מערך השינוע התוך-תאיים נתונים לבקרה רבה ומהווים יעד למניפולציות בקרב פתוגנים שונים.

אופן הציטוט: לייבמן-מרקוס מ' ובר מ' (2021) **תהליכים תאיים בתגובות הגנה בצמחים**. בספר **תובנות חדשות במחלות צמחים**, בעריכת אלעד י', דומברובסקי א', מנוליס-ששון ש' ועזרא ד', הוצאת המחלקה לפתולוגיה של צמחים וחקר העשבים.
<https://volcaniarchive.agri.gov.il/skn/tu/e51974>



מבוא

לצמחים אין מערכת חיסון אדפטיבית, על כן, הם נסמכים על מערכת חיסון מולדת לחישה ולוחמה במיקרובים ומזיקים שונים. מערכת חיסון זו מקנה להם את היכולת להתגבר על הרוב המכריע של מיקרו-אורגניזמים פולשים. עם זאת, קורה ופתוגנים מתמחים מסוגלים להתגבר על החסינות המולדת של הצמח. פתוגנים אלו מהווים איום בלתי פוסק על יכולת אספקת היבול החקלאי ברחבי העולם, ומעלים את הצורך בגידולים בעלי עמידות גבוהה ויעילה לפתוגנים. בצמחים התפתחה מערכת חיסון שאינה נרכשת, אלא מולדת, להגנה מפני פתוגנים. מערכת החיסון המולדת בצמחים מבוססת על מנגנוני הגנה מורכבים ויעילים, היכולים להיות תמידיים או מושרים בעת הצורך (ראו פרק הראשון עמידות בצמחים כנגד פתוגנים). תגובות ההגנה בצמח מופעלות על-ידי משרנים (אליסיטורים), הנקראים לעתים "דפוסים-מולקולריים" (Molecular patterns) - על פי רוב מולקולות המיוצרות או מצויות בקשר עם מיקרואורגניזמים שונים, לאו דווקא פתוגניים.

דפוסים אלה נקראים לעתים דפוסים משוייכים-מולקולרית למיקרואורגניזמים (MAMP, Microbe Associated Molecular Patterns), וכאשר ידוע כי מדובר בפתוגן - PAMP. מולקולות MAMP בודדו ממגוון רחב של מיקרואורגניזמים פתוגניים ובלתי פתוגניים. רכיבים אלה מוכרים על-ידי קולטנים (Receptors) צמחיים, המכונים קולטני זיהוי חשי-דפוסים (PRR- Pattern Recognition Receptor) הכוללים רצפטורים על שטח פני התא של הצמח, כגון קינאזות דמויי-קולטן (RLK) וחלבונים דמויי-קולטן (RLP), בהתאם לנוכחות או היעדר של יכולת קינאז- פעילות זרחון, בהתאמה. בעקבות הזיהוי, קולטני ה-PRR מפעילים הגנה מתווכת-דפוסים (PTI- PAMP Triggered Immunity). בכדי להתגבר על מערך ההגנה הזה, פתוגנים פיתחו מולקולות אפקטור המופרשות לתוך תא הצמח, אשר מונעות או בולמות את תגובת ה-PTI. קולטני-הגנה תוך-תאיים מגיבים לאפקטורים הללו ומפעילים בתורם הגנה מתווכת-אפקטורים (ETI- Effector Triggered Immunity).

תגובות ההגנה הצמחיות

צמחים מאותגרים ללא הפסקה על-ידי גורמי פגע ובהם פטריות, אואומצטים, חיידקים, נגיפים, נימיות (נמטודות) ופרוקי רגליים, העלולים לגרום לפגיעה קשה ביבול. עם זאת, בטבע צמחים בדרך כלל עמידים לרוב הפתוגנים. מנגנוני ההגנה המשמשים את הצמחים נעים ממחסומים מבניים המצויים עוד בטרם פגש הצמח בפתוגן ושאינם ספציפיים, דוגמת הציפוי השעוני שמצוי על פני העלים, לבין תרכובות כימיות שנוצרות בעקבות מפגש בין פתוגן לצמח פונדקאי (מאכסן) ספציפי. לאחר זיהוי MAMP ו/או אפקטור, מתרחש שפעול של המערכת החיסונית המולדת במסלולי הולכת אותות שיביאו להפעלתן של תגובות הגנה שונות כמפורט בסעיפים הבאים.

הבססה (אלקליניזציה)

תגובת ההגנה הראשונית, המתרחשת 0.5 עד 2 דקות לאחר עירור (אליסיטציה). אירוע זה מסתמך על שינויים דרסטיים בשטף של יוני מימן, אשלגן, כלור וסידן (H^+ , K^+ , Cl^- ו- Ca^{2+}) לאורך ממברנת התא (Garcia-Brugger)

(et al., 2006). עליה ברמות הסיידן הציטופלזמי, הינה צעד קריטי בתגובת PTI. העליה נוצרת בעקבות הצטברות יוני סידן בנוזל התילקואיד (שקיקים ממברנליים) של כלורופלסטים אשר גורם לעלייה מוגברת בשטף יוני הסיידן לציטופלזמה (Nomura et al., 2012). פעולה זו מושגת על-ידי שפעול תעלת-מוליכות המאפשרת מעבר יוני סידן דרך ממברנת התא. שפעול זה הינו תולדה של זרחון קולטני PRR, שפעול חלבוני-G שמתפקדים כמתג מולקולרי, ושפעול תעלות ממברנליות על-ידי מעבר מחזורי של נוקלאוטידים (Ali et al., 2007; Qi et al., 2010). העליה ברמות הסיידן התוך-תאי מזוהה על-ידי חלבונים קשורי-סיידן (Reddy and Reddy, 2004) ומתווכת תהליכים חיסוניים אחרים בצמח, כולל בקרה על רמת תרכובות החמצן הפעילות (ROS) בתא, ייצור חומצה סליצילית (SA), וסגירת פיוניות (Muthamilarasan and Prasad, 2013). חלבוני קינאז תלויי-סיידן (CDPK), המשמשים כחיישנים לזיהוי רמות הסיידן התוך-תאי, עולים ממחקרים כאחת מחוליות המפתח המוקדמות באיתותי ה-PTI (Boudsocq et al., 2010).

פרץ תרכובות חמצן וחנקן פעילות

הייצור של תרכובות חמצן פעילות (ROS), דוגמת מי-חמצן (H_2O_2) וסופראוקסיד (על-חמצן, O_2^-) וקישור תרכובות חנקן פעילות (RNI) כגון חנקן-חמצני (NO) לחלבונים, הינם הפעולות הראשונות המתרחשות במהלך תגובת ההגנה בצמח, ומתחילות תוך דקות בודדות מרגע החשיפה למיקרואורגניזם או לפתוגן. העליה בתרכובות החמצן הפעילות מובילה לקישורים-צולבים של גליקו-פרוטאינים מבניים בדופן התא. הקישור-הצולב חיוני להתגוננות הצמח מפני מיקרואורגניזמים, שכן מצד אחד הקישור גורם לחיזוק והקשחת דופן התא ובכך מונע באופן פיזי חדירה של פתוגנים, ומאידך מתפקד כשליח שניוני מקומי וסיסטמי שמעורר בתורו תגובות הגנה נוספות (Kadota et al., 2015; Gilroy et al., 2014). כמו כן, הרמות המקומיות של מי-החמצן מהוות מדד לשפעול מוות תאי מתוכנן (Programmed cell death, PCD). בנוסף, רמות מי-החמצן מהוות איתות המועבר לתאים השכנים על מקור ההדבקה, ומעודדות בהם ביטוי מוגבר של גנים המקודדים לרכיבי הגנה תאיים דוגמת גלוטטיון-S-טראנספראז וגלוטטיון פרוקסידאז (Tenhaken et al., 1995). תרכובות החמצן הפעילות הינן אנלוגים טוקסיים של תרכובות חמצן מחוזרות שפוגעות הן בפתוגן והן במאכסן. לכן, תרכובות החמצן הפעילות מתפקדות כחומר אנטי-מיקרוביאלי חשוב הדורש מנגנוני הגנה ורגולציה מוגברים למזעור נזק עצמי לצמח (Hammond-Kosack and Jones, 1996). יצור תרכובות החמצן הפעילות תלוי בעיקר ב- respiratory-burst-oxidase homolog D (RBOHD), הנשלט לרוב על-ידי רמות הסיידן (Gilroy et al., 2014; Kadota et al., 2015).

חיזוק דופן-התא

בכדי להצליח לחדור לתאי הצמח, על הפתוגן לחדור בשלב הראשון את דופן-התא הצמחי, אלא אם יש פתח טבעי או פציעה כלשהיא בדופן. אם כן, חיזוק דופן-התא יכול להגביר את יכולת ההתגוננות של הצמח. בנוסף לכך שחיזוק דופן-התא מונע חדירה של פתוגנים, הוא גם מעכב זליגה של התוכן הציטופלזמתי של התא החוצה, ובכך מקטין

את הזמינות של נוטרינטים בחלל החוץ-תאי לפתוגנים ביוטרופיים. עבור פתוגנים פטרייתיים בעלי סגנון חיים נקרוטרופי, הנסמכים על הידרוליזה של דופן-התא כשלב מקדים לגדילת הקורים לתוך התא הצמחי, הדיפוזיה של טוקסינים ואנזימים מהפטרייה אל תוך התא מתעכב. הרבצה (דיפוזיה) של קאלוז (β -1,3-glucan צמחי) שמורכב בין דופן התא וממברנת התא, מגביל את יכולת החדירה של הפתוגן ומשמש כאינדיקטור מוסכם לזיהוי (Bestwick et al., 1995). ייצור תרכובות החמצן הפעילות, התלויות ב-RBOHD, המתרחש בעקבות עירור, מעודד בסופו של דבר את יצירת הקאלוז בדופן התא. כמו כן, חסימה של הפלאזמודסמאטה על-ידי קאלוז, פוגעת ביכולת המעבר של נגיפים מתא לתא בצמח (Beffa et al., 1996).

סגירת פיוניות

בתגובה לפתוגנים חיידקיים, הצמח משרה סגירה של פיוניות (Wang et al., 2012; Melotto et al., 2006). המנגנון לסגירת הפיוניות כולל עליה של יוני סידן בציטוזול. עליה חדה ברמות הסידן החוץ-תאי מביא לפרץ תרכובות חמצן פעילות ו-RNI (הצטברות של מיי-חמצן וחמצן-חנקתי) בתאים השומרים (Guard cells), שגורמת בתורה לעליה זמנית ברמות יוני הסידן הציטוזולי בתאי הפיוניות ובכך לסגירתן (Zhang et al., 2008), ומתפקדת כמחסום פיזי המונע חדירה של פתוגנים. לסגירת הפיוניות השפעה שלילית על קצב הפוטוסינטזה של הצמח. הירידה בפוטוסינטזה בעקבות ההדבקה, הינה אסטרטגיית הגנה נוספת, בה הצמח נעזר בכדי להתחמק מפתוגנים (Bolton, 2009). שכן, הירידה המהירה בהדעכה בלתי-פוטוכימית (NPQ non photochemical quenching), מגבילה את הזמינות של מקורות הפחמן עבור הפתוגן (Gohre et al., 2012).

שינוי דפוס ביטוי הגנים

בעקבות זיהוי המשרן/אפקטור והפעלת PTI/ETI מופעלות תגובות ההגנה בצמח. בכדי שתגובות אלו יתממשו, יש צורך בשינוי נרחב של מערך הגנים – וכתלות בכך מערך החלבונים בצמח. שינויים אלו מאפשרים את הפעלתן של תגובות הגנה מהירות – למשל אינדוקציה של הגן המקודד לחלבון המפתח בייצור האתילן, האנזים ACC-סינתאז, תוך פחות מרבע שעה מרגע המפגש עם מיקרואורגניזמים מסוימים (Sharfman et al., 2011), כמו גם את הוצאתם לפועל של תגובות הגנה מאוחרות יותר – כגון חלבונים אנטי-חיידקיים, אנטי-פטרייתיים וחלבונים הנחוצים להפעלה של מסלולי הורמוני הגנה (Vega et al., 2015; Du et al., 2015; Meller Harel et al., 2013; Yang et al., 2015).

חלבונים הקשורים לפתוגנים (PR)

איתותי ה-PTI וה-ETI מובילים לשטף של פעילות MAPK ולהפעלה של חלבוני השיעתוק של הגן WRKY. שיעתוק זה מביא בתורו לשפעול שיעתוק מאסיבי של שרשרת גנים הקשורים בפתוגנים בתא המודבק ובתאים הסובבים אותו (Muthamilarasan and Prasad, 2013). ביטוי גנים זה גורם לתרגום של חלבוני PR תוך וחוץ-

תאיים שנוצרים ומצטברים בעקבות תקיפת הפתוגן. לחלבוני ה-PR יש תכונות טוקסיות אנטי-פיטרייטיות או אנטי-מיקרוביאליות כדוגמת כיטינאזות, גלוקאנאזות, חלבונים בעלי פעילות ליזוזימית, או חלבונים בעלי פונקציית חיזוק דופן-התא כגון גליקופורטאינים עשירים בפרולין (Balasubramanian et al., 2012). בנוסף, ההצטברות של תרכובות בעלות משקל מולקולרי נמוך, ליפופיליות ואנטי-מיקרוביאליות, הנקראים פיטואלקסינים, יכולה להימצא בקרבת מקור ההדבקה (Hammond-Kosack and Jones, 1996).

ויסות הורמונאלי

במורד מסלול האיתות של הפעלת PTI ו-ETI, קיים מגוון רחב של הורמונים צמחיים בעלי תפקידי מפתח ברשת הסבוכה של איתותים לחיסוניות בצמחים (Bari and Jones, 2009; Pieterse et al., 2009, 2012). תחילה, זוהו הורמוני הצמח כבקרים של גדילה והתפתחות (Santner and Estelle, 2009). חומצה סאליצילית (SA) וחומצה ג'סמונית (JA) מזוהים כיום כהורמוני הגנה מרכזיים וחשובים. מקובל לומר כי מסלול התגובות המבוקר על-ידי חומצה סאליצילית מופעל על-פי רוב והינו יעיל כנגד פתוגנים מיקרוביאליים מטיפוס ביוטרופי או המי-ביוטרופי, בעוד שמסלולי התגובה המתווכים על-ידי חומצה ג'סמונית פועלים כנגד פתוגנים נקרוטרופיים. שתי אסטרטגיות פעולה מנוגדות אלו, יוצרות מאזן כוחות גמיש המאפשר מערך בקרה שמתאים את עצמו ובעקבות כך את תגובותיו החיסוניות, בהתאם לאופי הפתוגן בו נתקל הצמח (Glazebrook, 2005). בשנים האחרונות, הוכח מספר פעמים כי קיימים חפיפה והיזון חוזר בין שני המסלולים ההורמונאליים הללו, שכל הנראה אינם בלתי תלויים ברוב מיני הצמחים (Di et al., 2017; Thomma et al., 1998; Betsuyaku et al., 2018; Liu et al., 2016). ההורמונים אתילן, חומצה אבסיסית (ABA), ג'ברלינים (GAs), אוקסינים, ציטוקינינים (CKs), ברינוסטרואידים וחנקן-חמצני יכולים לשמש אף הם כמודולטורים של מערך האיתות החיסוני של הצמח (Pieterse et al., 2012). שינויים ברמות ההורמונים השונים או ברגישות אליהם, מתווכים מערך שלם של תגובות הגנה מותאמות/אדבטיביות שעשויות לעתים לבוא על חשבון הגדילה וההתפתחות של הצמח (ראו גם פרק השראת עמידות בצמחים כנגד פתוגנים). ההרכב והתיזמון של כלל תרכובות ההורמונים בתא יכול לקבוע אם רקמת הצמח תהיה רגישה או עמידה בפני אורגניזם מסוים (Verhage et al., 2010).

ההורמון הגזי – אתילן מעורב בתהליכים רבים בחיי הצמח, בכללם במנגנונים שונים באמצעותם הצמח מגיב לתקיפת פתוגן (Broekaert et al., 2006). אחת מההתרחשויות התאיות הראשונות הניתנות לכימות, במהלך האינטרקציה צמח-פתוגן, היא עליה חדה ומהירה בייצור של אתילן. אינדוקציית חלבוני PR מתרחשת דרך מסלול בו אתילן וחומצה ג'סמונית פועלים באופן סינרגיסטי (Penninckx et al., 1998). כמו כן, טיפול באתילן מוביל לחיזוק דופן התא (Esquerre-Tugaye et al., 1979; Ecker and Davis, 1987). אתילן גם נחוץ לשם אטימה של העצה – תגובה המנעת את התפשטות הפתוגן דרך המערכת הוואסקולארית של הצמח (VanderMolen et al., 1983).

תגובה רגישות-יתר (HR)

סימן הכר אופייני לתגובות ההגנה התאיות בצמח הוא מוות תאי מתוכנן (PCD) מהיר של התאים המודבקים (וברמה מסויימת גם של תאים שכנים למקור ההדבקה), המכונה תגובה רגישות-יתר (HR) (Greenberg, 1997). HR הוא למעשה צורה של מוות תאי מתוכנן בעל מאפיינים של תהליך מוות תאי אפופטוטי המתרחש בבעלי חיים (Dangl et al., 1996). מוות תאי מתוכנן זה הוא מעין צעד אלטרואיסטי המונע את התפשטות הפתוגן לשאר רקמת הצמח (איור 1). המוות התאי מבוקר על-ידי בקרים שליליים (רפרסורים) וכן על-ידי רמות החומצה הסליצילית בתא. תגובת רגישות-יתר יכולה להזין את עצמה שכן היא תורמת לשחרור הבקרים השליליים שלו (Hayward et al., 2009; Fu et al., 2012). בעקבות הפעלת איתות זה, כחלק מתהליך תגובת רגישות-יתר, יש קונדנסציה של הציטופלזמה והגרעין, איבוד המגע/קישור בין תא לתא ברקמה המאורגנת, שבירה של הדנ"א, היווצרות גופים אפופטוטיים, המתחות, התנפחות והתפוצצות של ממברנת התא (Coll et al., 2011).

תגובת רגישות יתר נחשבת לתוצאה הסופית של ETI, ועל-פי רוב אינה מתרחשת ב-PTI. ה-MAMPs: harpins ו-EIX הם דוגמאות למשרני PTI שגורמים לתגובת רגישות-יתר בצמחים (Leibman-Markus et al., 2018a, 2018b). ייתרה מכך, הראו כי הפפטיד flg22 יכול לגרום לתגובת רגישות יתר בארבידופסיס (Naito et al., 2008), בעוד שפלג'לין ממספר מיני חיידקים יכול לגרום לתגובת רגישות-יתר באורז ובטבק (Che et al., 2000; Taguchi et al., 2003; Hann and Rathjen, 2007). ממצאים אלו מדגימים עד כמה תגובת רגישות-יתר אינה נחלתו של ה-ETI בלבד ומתקיימת במגוון מקרים בתגובה ל-PTI.



איור 1. תגובת רגישות יתר (HR). זני עגבנייה שונים טופלו במשך EIX לקבלת תגובת רגישות-יתר. המשך הוזרק לעלים בריכוז 2 מיקרוגרם למ"ל וצולמו כ-72 שעות לאחר ההזרקה. בזן המתורבת M82, המכיל את הקולטן לזיהוי ה-EIX ניתן לראות תגובת רגישות-יתר באיזור המוזרק. בזן IL 7-5 (קו מאוכלוסית אינטרוגרסיה (Eshed et al., 1992), תוצר של הכלאות חוזרות בין M82 לזן הבר *S. pennellii*), בו לא קיים קולטן פעיל כנגד EIX, לא התפתחה תגובת רגישות-יתר באזור המוזרק. התמונות לקוחות מתוך עבודה שנעשתה במסגרת המאמר (Leibman-Markus et al., 2018b).

מערכת החיסון הצמחית

חישת האותות מהסביבה והיכולת להגיב בהתאם חיוניים להישרדות אורגניזם בכלל וצמחים בפרט. צמחים נתקלים בשפע עצום של פתוגנים פוטנציאליים, אך לעיתים רחוקות בלבד מצליחים מיקרואורגניזמים אלו להוביל למחלות. עם זאת, פתוגנים עדיין גורמים לאובדן יבול משמעותי (Strange and Scott, 2005). בצמחים, מנגנוני ההגנה תלויים ביכולתו של כל תא ותא בצמח ליזום תגובות חיסוניות באמצעות קולטנים חוץ ופנים-תאיים (Dodds and Rathjen, 2010; Couto and Zipfel, 2016). מערכת החיסון בצמחים מופעלת על-ידי אחד משני סוגים של מולקולות: דפוסים-מולקולריים המצויים באסוציאציה עם מיקרואורגניזמים (MAMPs) המזוהים על-ידי קולטנים על פני התא, או אפקטורים המופרשים לתוך התא על-ידי הפתוגן ומזוהים על-ידי קולטנים תוך-תאיים (Thomma et al., 2011; Henry et al., 2013). שני סוגי המולקולות מובילים לחסינות המופעלות באמצעות דפוסים ואפקטורים (PTI / ETI) בהתאמה (Jones and Dangl, 2006).

חסינות המופעלת על-ידי דפוסים מולקולריים המצויים באסוציאציה למיקרואורגניזמים (PTI)

MAMPs, הידועים גם כדפוסים מולקולריים המצויים באסוציאציה לפתוגנים (PAMPs), הינם מוטיבים שמורים הקיימים במרכיבים החיוניים למיקרואורגניזמים או למיקרואורגניזמים שהינם פתוגנים, אשר צמחים יכולים לזהות, ובעקבות כך להפעיל את מערכת החיסון המולדת (Bent and Mackey, 2007). חסינות מולדת יכולה להיות משופעלת גם בעקבות זיהוי דפוסים מולקולריים שהינם תוצאה של חישה עצמית של נזק משני שנגרם למאכסן (DAMPs) (Böhm et al., 2014; Macho and Zipfel, 2014; Couto and Zipfel, 2016). חסינות זאת נקראת חסינות מופעלת באמצעות דפוסים (PTI). בעשור האחרון חלה התקדמות מחקרית מרשימה בכל הנוגע להכרת - MAMPs ו- PTI (Boutrot and Zipfel, 2017; Noman and Aqeel, 2019). בין ה- MAMPs שנחקרו לעומק ניתן למנות את הפלג'לין החיידקי (או האפיטופ הפעיל המבוסס על פפטיד בן 22 חומצות-אמינו של הפלג'לין, flg22), גורם ההתארכות Tu (EF-Tu) (או האפיטופ הפעיל המבוסס על פפטיד בן 18 חומצות-אמינו של EF-Tu, elf18), RaxX-גופרתי, ליפופוליסכרידים ופפטידוגליקנים חיידקיים, וכיטואוליגוסכרידים (COs) פטרייתיים (Bigeard et al., 2015; Ranf et al., 2015; Macho and Zipfel, 2014).

צמחים חשים ב-MAMPs באמצעות קולטנים הממוקמים בממברנת התא (Dodds and Rathjen, 2010). קולטני זיהוי-דפוסים (PRRs) אלו קושרים את המשרנים באופן ישיר ובעקבות קישור זה מתרחשים שינויים מידיים בתא (Macho and Zipfel, 2014). נהוג לחלק את ה- PRRs לשתי קבוצות הנבדלות ביניהן ביכולת לזרז את חלבוני המטרה שלהם: קינאזות דמויי-קולטן (RLKs), או חלבונים דמויי-קולטן (RLPs), חסרי יכולת לזרז. בנויים מאיזור חוץ-תאי עשיר בחזרות של לאוצין (eLRR), בעל פוטנציאל לתווך קישור ספציפי לליגנד/משרן, מקטע חוצה-ממברנה יחיד, ודומיין תוך-תאי בעל פעילות קינאז, המתווך את הולכת האותות. RLPs חולקים את אותו מבנה בסיסי כמו ה-RLKs, אך ללא הקינאז התוך-תאי. לפיכך, מניחים ש- RLPs מסתמכים על רכיבים אחרים כדי ליזום את האיתות התוך-תאי ונדרשים ליצור הטרו-קומפלקס עם קולטני RLKs או עם חלבוני קינאז דמויי-

קולטן ציטופלזמים, כדי להמיר ולהעביר את האות מהמשך לחלבונים במורד מסלול האיתות (Tör et al., 2009; Gust and Felix, 2014).

ה-RLK המאופיין ביותר הינו FLS2, המזהה את הפלג'לין החיידקי ואת הפפטידי הנגזר מהפלג'לין - flg22, ומוביל להשראת תגובות הגנה (Felix et al., 1999; Gomez-Gomez and Boller, 2000; Zipfel et al., 2004). FLS2 יוצר קומפלקס ממבראנלי עם הרגולטור LRR-RLK BAK1 / SERK3 מייד עם חישת הפלג'לין (או ה- flg22) (Chinchilla et al., 2006; Schulze et al., 2010), דבר שמצביע על האפשרות ש- FLS2 ו- SERK3 מצויים בסמיכות זה לזה בממבראנת התא (PM) עוד בטרם זוהה המשך. מחקר מבני שנערך על בסיס גביש משותף שגובש מהחלקים החוץ-תאיים של FLS2 ו- SERK3 בקומפלקס עם הפפטיד flg22, חשף את המנגנונים העומדים בבסיס תפיסת flg22 על ידי FLS2 (Sun et al., 2013): Flg22 נקשר למשטח הקעור של הסופר-הליקס החוץ-תאי של FLS2, המתפרס על פני 14 רצפי LRR (LRR3-16). החלק החוץ-תאי של FLS2, הנושא את flg22, קשור באופן ישיר עם החלק החוץ-תאי של SERK3, כאשר האזור הקרובוקסי-טרמינאלי של FLS2, הנושא את flg22, מייצב את הדימריזציה של FLS2-SERK3 ומתפקד כמעין "דבק מולקולרי" בין שני החלקים החוץ-תאיים של שני הקולטנים. לפיכך, ההטרו-דימריזציה של FLS2-SERK3 מתווכת הן על-ידי הליגנד/משך והן על-ידי הקולטנים. לכן, בעוד ש- SERK3 אינו דרוש לשם הקישור הכולל של flg22 ל-FLS2 (Chinchilla et al., 2007), הוא מתפקד כקו-קולטן ל- flg22, החיוני לצורך הפעלת האותות התוך-תאיים (Sun et al., 2013).

הפרדיגמה של הפעלת איתות על-ידי קולטני קינאזות צופה כי קשירת ליגנד על-ידי הדומיין החוץ-תאי מובילה להפעלה של הדומיין הקינאזי התוך-תאי ולזרחון של מטרות במורד הזרם, דבר המוביל להולכת אותות תוך-תאית. עם זאת, RLKs שזוהו עד היום דורשים דימריזציה עם SERK3 (או עם חלבון אחר ממשפחת SERK) כדי להעביר את האות, למרות שיש להם דומיין קינאזי תוך-תאי עם פוטנציאל איתות (Macho and Zipfel, 2014). עובדה זו מצביעה על האפשרות שללא קשר לקיומו של דומיין קינאזי, גם RLK וגם RLP עדיין דורשים אסוציאציה עם RLK אחרים.

בעגבנייה (*Solanum lycopersicum*), מספר קולטנים מטיפוס RLP נמצאו מעורבים בתגובות ההגנה. אחד מקולטני ה-RLP הבולטים הוא LeEIX2, שמזהה ומגיב ל-MAMP פטרייתי בשם EIX. משפחת קולטני ה-Cf וקולטן ה-Ve1 מעגבנייה, מעניקים חסינות/עמידות בעקבות זיהוי של חלבוני-אפקטור מ-*C. fullvum* והאפקטור Ave1 מ-*V. dahliae*, בהתאמה (Takken et al., 1999; Ron and Avni, 2004; Van der Hoorn et al., 2005; Kawchuk et al., 2001).

בעקבות חישת וקשירת ה-MAMP, PRR מפעילים מערך רחב של תגובות, מהרמה התאית ועד רמת האורגניזם השלם, במטרה למנוע את התפשטות הפתוגן והתקדמות המחלה. אירועי PTI תוך-תאיים מוקדמים כוללים התפרצות מהירה של תרכובות חמצן פעילות (ROS), הפעלת חלבוני קינאז מאוקטבי-מיטוגן (MAPKs) כמו גם חלבוני קינאז תלויי-סידן, וביטוי גנים הקשורים לחסינות (Boller and Felix, 2009; Boudsocq et al., 2009).

(2010). תגובת PTI מספקת בכדי להגן מפני מרבית המיקרואורגניזמים, לכן על הפתוגנים לחמוק או לדכא באופן פעיל את שכבת החסיונות הראשונה הזו, בכדי להצליח ולגרום למחלה (Dou and Zhou, 2012; Dodds and Rathjen, 2010).

חסיונות המופעלת על-ידי אפקטורים (ETI)

מיקרואורגניזמים שהצליחו להפוך לפתוגניים, פיתחו אסטרטגיות להתגבר על ה- PTI ולקדם התבססות מחלה על-ידי העברת מערך של חלבוני-אפקטור דרך דופן התא, לסביבה התוך תאית, באמצעות מערכת הפרשת סוג-III (Type III secretion system (T3SS) (Deslandes and Rivas, 2012). ראוי לציין כי ידועים מספר אפקטורים יוצאי דופן, דוגמת האפקטורים ממשפחת ה-Cf, שאינם מופרשים לתוך תא המאכסן אלא מזוהים על-ידי רצפטורים ממבראנליים (de Wit, 2016; Hurlburt et al., 2018).

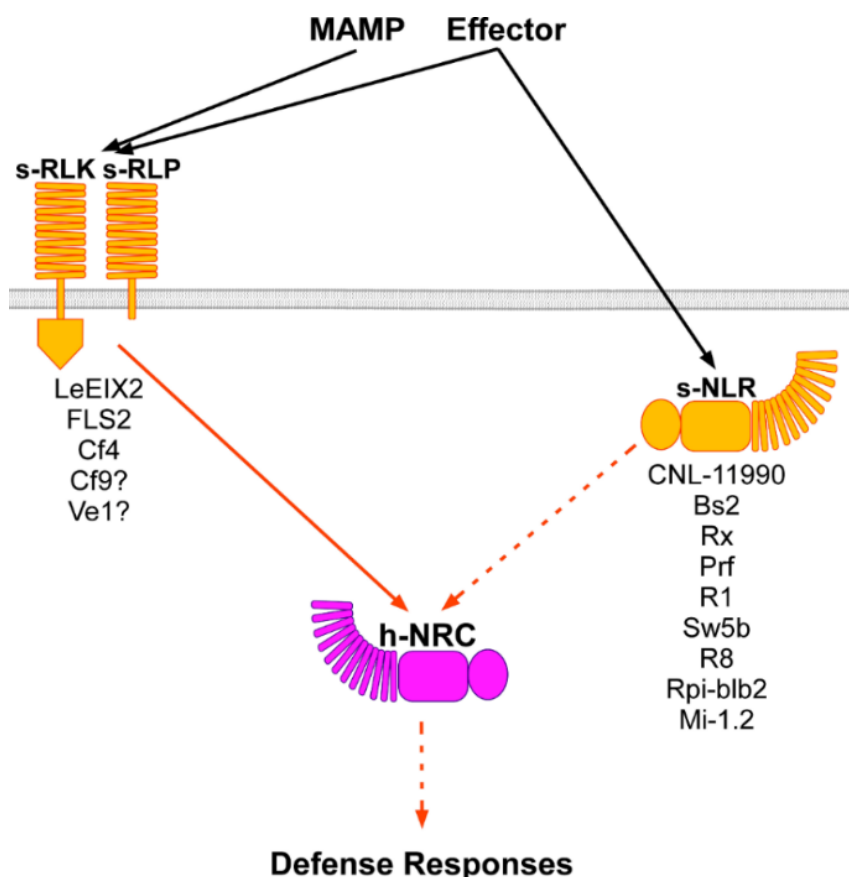
אפקטורים בתאים מודבקים מתמרנים את חילוף החומרים של המארח ומדכאים את איתותי ההגנה ואת תגובות ההגנה. לפיכך, הצמחים המאכסנים פיתחו מערך שני של חישה, המתווך על-ידי קולטני-חיסון תוך-תאיים, המזהים אפקטורים המועברים לצמח המאכסן (חלבונים א-וירולנטים (Avr), באופן ספציפי. לאחר ההכרה, מופעלת תגובת איתות חיסונית, המובילה על פי רוב למוות תאי מקומי באתר ההדבקה, המכונה תגובת רגישות-יתר (Hyper sensitive, HR) (Bernoux et al., 2011). קולטני-חיסון תוך-תאיים מגיבים לאפקטורים המועברים לתוך תא המאכסן, ומשפעלים חסיונות המופעלת על-ידי אפקטור (ETI) (Bonardi et al., 2012; Cui et al., 2015). רוב הקולטנים החיסוניים התוך-תאיים חולקים הומולוגיה עם הקולטנים היונקיים דמויי ה-NOD. קולטנים אלו שייכים למשפחה של קולטנים קושרי-נוקלאוטידים בעלי דומיין עשיר בחזרות של לאוצין (NB-LRR או NLR, nucleotide-binding leucine-rich repeat). הפעלת NLRs מתרחשת באופן ישיר, על-ידי קשירת האפקטורים המופרשים על-ידי הפתוגן, או בעקיפין, על-ידי חישה בהפרעה/שינוי ברכיבי האיתות החיסוני של המאכסן הנגרמת על-ידי האפקטור (Win et al., 2012). קולטני ה-NLR מורכבים מדומיין מרכזי קושר נוקלאוטידים (nucleotide binding, NB) הכולל מוטיב P-loop קטליטי האחראי על מצב ההפעלה של ה-NLR, ודומיין קרבוקסי-טרמינאלי של LRR פולימורפי מאוד, בעל פוצנטיאל להקנות לקולטן את היכולת להכיר אפקטור ספציפי (Bonardi and Dangi, 2012). NLRs מסווגים לשתי תתי-קבוצות, בהתאם לדומיין האמינו-טרמינאלי שלהם: חלבוני-TIR (Toll-like/interleukin 1 domain) בעלי דומיין אמינו-טרמינאלי דמוי-Toll, וחלבוני-CC (coiled-coil) (NB-LRR (CNL) המאופיינים בדומיין אמינו-טרמינאלי הכולל סליל-coil (Marone et al., 2013).

מודלים מוקדמים הצביעו על ה-LRR כעל הדומיין האחראי על הכרה וזיהוי ספציפיים של האפקטור, המאפשר אינטראקציה ישירה עם האפקטור. מודל זה נכון לגבי כמה מערכות שבהן מושרות תגובות הגנה (Zhang et al., 2017). ממצאים חדשים שנתגלו בעשור האחרון, מצביעים על מודלים מורכבים יותר של חישת האפקטור. חלק מה-NLR חשים בשינויים שהאפקטורים גורמים במולקולות-מטרה אחרות במאכסן (Jones and Dangi, 2006). במקרים מסוימים, חלבוני-הטעיה מדמים מולקולות-מטרה מסוג זה במאכסן כדי לאפשר זיהוי

על-ידי ה-NLRs (Van der Hoorn and Kamoun, 2008). מודלים עדכניים יותר מתארים רשתות מורכבות של NLRs, בהן מספר NLRs יכולים לתפקד יחד: NLR אחד פועל כ'חיישן' ונמצא באינטראקציה עם האפקטור, בעוד ה-NLR האחר פעול כ'עוזר' ויזום איתות חיסוני (Cesari et al., 2014; Wu et al., 2017, 2014). יתרה מזאת, נראה כי ל-NLR רבים מטיפוס 'חיישנים' ו-'עוזרים' יש רמות שונות של מתירנות וספציפיות, המאפשרים יצירה של רשת איתות מורכבת, מסועפת ורקומביננטית (Wu et al., 2017). הוכחו מספר מנגנונים רגולטוריים לפעילות NLR, כולל ויסות אינטרמולקולרי והומו והטרו-דימרטיזציה (Jubic et al., 2019; Wu et al., 2017). לאחרונה פוענח המבנה של חלבון - ZAR1 (חלבון NLR מסוג CNL), שמדגים היווצרות של נקב בממבראנת התא, בעקבות אינטראקציה עם אפקטור, שמוביל למוות תאי (Wang et al., 2019b, 2019a).

בסולניים, תת-משפחה של חלבוני NLR, המכונה NLR-הדרוש למוות-תאי (NRC), מצטיירת כמשפחה מרכזית של NLRs 'עוזרים' (h-NLRs), הדרושים למעברת האות ממספר NLRs 'חיישנים' (s-NLRs) (Wu et al., 2017). מעניין לציון כי ל-h-NLRs יש את היכולת להעביר איתות גם בעקבות חישה של MAMP ו/או אפקטור שזוהו על-ידי קולטני LRP/RLK (איור 2) (Gabriels et al., 2007; Chen et al., 2016; Leibman-Markus et al., 2018a). כך שלמעשה, עולה כי ישנם חלבוני NRC שיכולים לשלב אותות בעקבות חישה/זיהוי על-ידי קולטני PRRs ו-s-NLRs כאחד ובכך משלבים איתותי PTI ו-ETI, ומהווים גורם מרכזי של חסינות בסולניים (Li et al., 2019; Jubic et al., 2019; Leibman-Markus et al., 2018a).

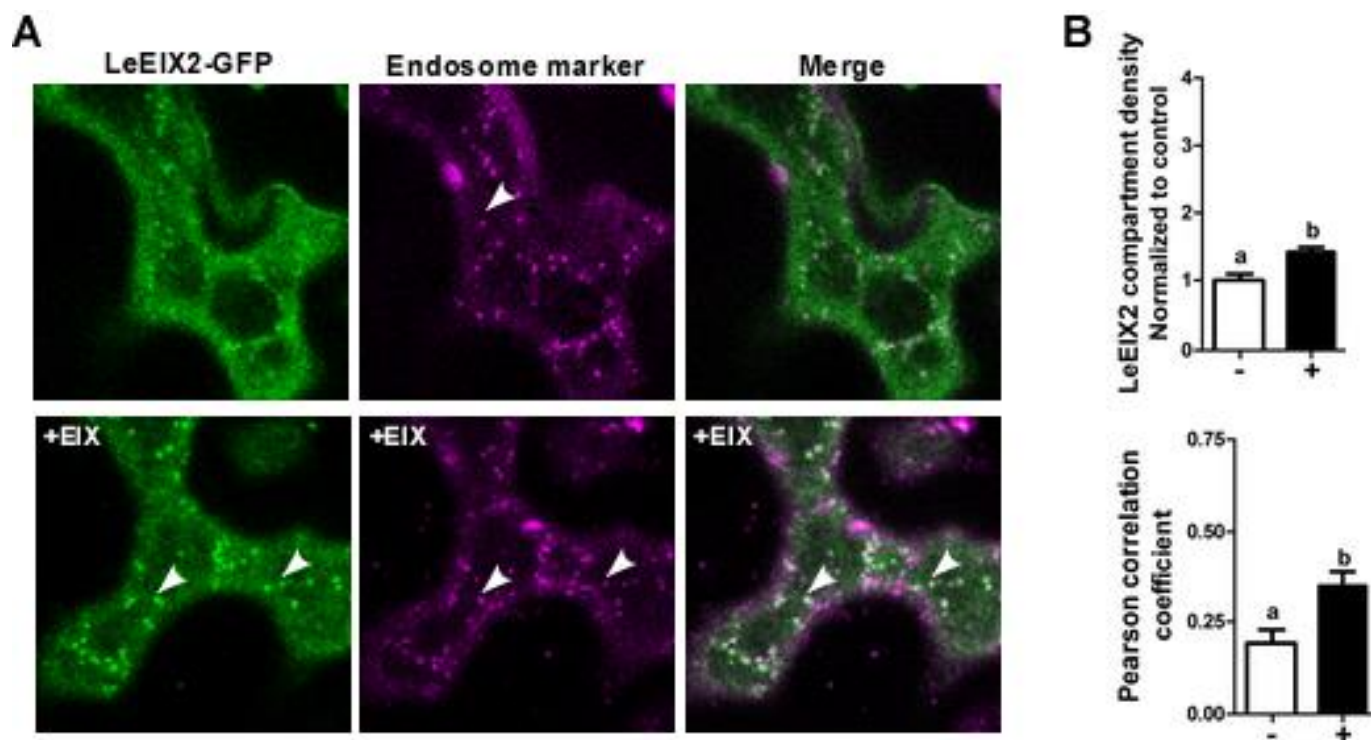
איור 2. סכמה המסכמת את איתות ההגנה של הצמח המתווכים על-ידי קולטני NLR "עוזרים" מטיפוס NRC (h-NRC). חישה של משרנים (MAMPs) או אפקטורים על-ידי קולטני מערכת חיסון חוץ או תוך-תאיים המתפקדים כחיישני פתוגן (s-RLK, s-RLP) המובילים להתחלתו של מערך אותות תוך-תאי המתווך על-ידי קולטני NLR "עוזרים" (h-NRC) (Leibman-Markus et al., 2018a).



שינוע תוך תאי כחלק ממנגנון ההגנה בצמח:

אנדוציטוזה הוא תופעה חיונית המתרחשת באאוקריוטים, בה יש בליעה של חומר חוץ-תאי ו/או אינטרנליזציה של ממבראנת התא על חלבונים, ומתקבלת וזיקולה/אנדוזומים תוך תאיים (Wu et al., 2014). בשנים האחרונות, התפקיד של אנדוציטוזה מתווכת-קולטנים (RME) במערכת החיסון של הצמח, נחקרה בהקשר של קולטני PRR כגון FLS2, EFR, PEPR, LYK5, CERK1 ו-LeEIX2 (Bar and Avni, 2009; Bar et al., 2010; Ben Khaled et al., 2015; Toruno et al., 2016; Paez Valencia et al., 2016; Gu et al., 2017; Yun and Kwon, 2017). אנדוציטוזה מתווכת-קולטן, מוכרת זה מכבר כמנגנון להתחלת ולסיום איתות, באמצעות דגרדציה של קומפלקס-קולטן משופעל לאחר כניסתו משטח פני התא לתוך התא (Claus et al., 2018). בקרב בעלי החיים, הצטברו זה מכבר ראיות רבות המעידות על כך שאיתות הקולטנים אינו מוגבל לממבראנת התא בלבד (Gould and Lippincott-Schwartz, 2009; Sorkin and von Zastrow, 2009). עדויות לאיתות אנדוזומאלי, המתרחש בעקבות אנדוציטוזה של קולטנים בצמחים, נמצאו במגוון קולטנים דוגמת BRI1, FLS2, PEPR1 ו-LeEIX2 (Geldner et al., 2007; Smith et al., 2014; Mbengue et al., 2016; Ortiz-Morea et al., 2016; Sharfman et al., 2011). במקרים אלו, ניתן לזהות הגברה של האנדוציטוזה מתווכת-קולטן בעקבות חישת משרן על-ידי קולטן זה (איור 3).

בקרים של תנועה תוך-תאית נתונים בעצמם לבקרה ברמת השיעתוק ו/או לאחר התרגום, המשפיעה רבות על רמת פעילותם בתגובה לצורות רבות ושונות של איתותים חיסוניים (Paez Valencia et al., 2016). מניפולציות בבקרי תנועה מרכזיים מהווים אסטרטגיה חשובה ליכולת ההדבקה של פתוגן ו/או ליכולת של הצמח להתגונן, במקרים רבים (Pizarro et al., 2018; Ben Khaled et al., 2015; Toruno et al., 2016).



איור 3. אנדוציטוזה מתוכנת-קולטן. מיקרוסקופיה קונפוקאלית של תאי אפידרמיס של *Nicotiana benthamiana*. המבטאים את הקולטן מטיפוס RLP מסומן בחלבון פלורסנטי ירוק (LeEIX2-GFP) וסמן אנדוזומים באדום (VHA1a-mCherry) עם או בלי טיפול במשך EIX. A. תמונות מיקרוסקופ קונפוקאלי. ראשי החץ מצביעים על אנדוזומים לדוגמה. B. גרף המציג את מספר האנדוזומים בהם מצוי הקולטן ואת כמות הקולטן שמצוי באותו מקום עם סמן האנדוזומים, בלי (-) ועם (+) נוכחות המשך EIX. הכימות נעשה באמצעות תוכנת FIJI-ImageJ. הנתונים מציגים ממוצע \pm שגיאת תקן מ-30 תמונות. מובהקות סטטיסטית נקבע על-פי מבחן one-way ANOVA עם Bonferroni post-test ($P \leq 0.05$). מבוסס על נתונים מתוך (Pizarro et al., 2019).

סיכום

באופן מסורתי, MAMPs (משרנים) מוגדרים כמולקולות שמורות ביותר במחלקה מיקרוביאלית מסוימת, החיוניות לכשירותו של המיקרואורגניזם (Nürnberg and Brunner, 2002; Medzhitov and Janeway, 1997). מאידך, אפקטורים נחשבים לספציפיים למין, גזע או זן מסויים ובעלי יכולת להקנות לצמח ייתרון ביכולת ההדבקה (Bent and Mackey, 2007; Chisholm et al., 2006). יחד עם זאת, מספר משרנים ואפקטורים מסרבים "להקשיב להוראות" ומשתייכים לקבוצה הולכת וגדלה של מקרים יוצאי דופן לחלוקה המלאכותית שיצר האדם. למשל, החלבונים NEP1 ו-NEP1-like הם אפקטורים שתורמים ליכולת ההדבקה של הפתוגן, אך אף על פי-כן, הם שמורים בין חיידקים, פיטריות ואאומוצטים (Vidhyasekaran, 2014; Thomma et al., 2011). גם חלבון האפקטור החוץ-תאי Eco6 והחלבונים השמורים האורטולוגים לו- LysM, harpin and crinkler תורמים ליכולת ההדבקה של פתוגנים אך שמורים בין חיידקים גרם-שליליים, פיטריות ואאומוצטיים (Thomma et al., 2011; Vidhyasekaran, 2014). מאידך, אנו מוצאים דוגמאות למשרנים עם תפוצה צרה ביותר כגון Ax21 ו-Pep-13

הקיימים רק במספר תבדידי החיידק *Xanthomonas* ומיני האוואמיצט *Phytophthora*, בהתאמה. כמו כן, קיימים משרנים רבים כגון פלג'לין, ליפופוליסכרידים, כיטין, EIX ו- PWL התורמים ליכולת ההדבקה של הפתוגן (Thomma et al., 2011; Vidhyasekaran, 2014).

ההבחנה והחלוקה בין מערך ה-PTI וה-ETI, מבלבלת אף היא. על פי רוב ETI מתוארת כמובילה לתגובות הגנה מהירות יותר וחזקות יותר, המגיעות בשיאן למוות התאי המוכר כתגובת רגישות-יתר (HR) (Tsuda and Katagiri, 2010; Boutrot and Zipfel, 2017). אף על פי כן, אנו יודעים על מספר משרנים (MAMPs) שיכולים לגרום אף הם לתגובת רגישות-יתר, ביניהם פלג'לין, CBEL ו- EIX (Khatib et al., 2004; Hann and Rathjen, 2007; Ron and Avni, 2004; Naito et al., 2008). בעוד שניתן למצוא אפקטורים שגורמים ל-ETI חלש ביותר שאינו מגיע בהכרח לתגובת רגישות-יתר, למשל RPS4 ו- Ve1 המהווים אפקטורים של החיידק פסאודומונאס (*Pseudomonas*) והפטרייה ורטיציליום (*Verticillium*), בהתאמה (Van Esse et al., 2009; Wirthmueller et al., 2007).

הבחנה מבלבלת נוספת, הינה אופי הקולטנים שמתווכים את החסיניות השונות. חסינות ה-PTI מתווכת על-ידי קולטני זיהוי חשי-דפוסים (PRR) מטיפוס RLP או RLK, המצויים על פני ממבראנת-התא ופונים לחלל החוץ-תאי (Liang and Zhou, 2018). מנגד, ETI מתווכת על-ידי קולטנים תוך-תאיים ציטופלזמיים, בדרך-כלל מטיפוס NLR (Dodds and Rathjen, 2010). אך גם במקרה זה, הטבע אינו מתיישר באופן מושלם עם חלוקת המדענים. קיימות דוגמאות רבות של קולטנים ממבראנליים מטיפוס RLP שמזהים אפקטורים חוץ-תאיים ומשפעלים את מסלול ה-ETI, כגון Ve1, Cf5, Cf9, Hcr9-4E, Cf2, Cf4 ו- LepR3/RLM2 (Catanzariti et al., 2017; Dixon et al., 1996; Thomas et al., 1997; Dixon et al., 1998; Jones et al., 1994; Larkan et al., 2009; Van Esse et al., 2004; Westerink et al., 2013; et al., 2013). כמו גם קולטן מטיפוס RLK שמגיב לאפקטור I-3 (Catanzariti et al., 2015).

דוגמאות אלו מהוות עדות לחוסר ההתאמה והבעייתיות בניסיון שלנו לפשט, להגדיר ולקטלג. הצמחים אינם 'מודעים' לחלוקה ל-PTI ו-ETI, למשרנים ולאפקטורים אלא נלחמים במלחמת החימוש הבלתי נגמרת על שרידותם. ואנו, כמי שנשמכים על גידול בר-קימא של צמחים בכדי לכלכל את אוכלוסיית העולם הגדלה, שואפים להבין את המלחמה הזו על בוריה בכדי להבטיח את ניצחונם של הצמחים.

מקורות

- Ali R., Ma W., Lemtiri-Chlieh F., Tsaltas D., Leng Q., von Bodman S. and Berkowitz G. A. (2007) Death don't have no mercy and neither does calcium: Arabidopsis CYCLIC NUCLEOTIDE GATED CHANNEL2 and innate immunity. *Plant Cell* 19: 1081–1095.
- Balasubramanian V., Vashisht D., Cletus J. and Sakthivel N. (2012) Plant beta-1,3-glucanases: their biological functions and transgenic expression against phytopathogenic fungi. *Biotechnology Letters* 34: 1983–1990.
- Bar M. and Avni A. (2009) EHD2 inhibits ligand-induced endocytosis and signaling of the leucine-

- rich repeat receptor-like protein LeEix2. *The Plant Journal* 59: 600–611.
- Bar M., Sharfman M., Ron M. and Avni A. (2010) BAK1 is required for the attenuation of ethylene-inducing xylanase (Eix)-induced defense responses by the decoy receptor LeEix1. *The Plant Journal* 63: 791–800.
- Bari R. and Jones J. D. G. (2009) Role of plant hormones in plant defence responses. *Plant Molecular Biology* 69: 473–88.
- Beffa R. S., Hofer R. ., Thomas M. and Meins Jr. F. (1996) Decreased susceptibility to viral disease of [β]-1,3-glucanase-deficient plants generated by antisense transformation. *Plant Cell* 8: 1001–1011.
- Bent A. F. and Mackey D. (2007) Elicitors, effectors and R genes: the new paradigm and a lifetime supply of questions. *Annual Review of Phytopathology* 45: 399–436.
- Bernoux M., Ellis J. G. and Dodds P. N. (2011) New insights in plant immunity signaling activation. *Current Opinions in Plant Biology* 14: 512–518.
- Bestwick C. S., Bennett M. H. and Mansfield J. W. (1995) Hrp mutant of *Pseudomonas syringae* pv *phaseolicola* induces cell wall alterations but not membrane damage leading to the hypersensitive reaction in lettuce. *Plant Physiology* 108: 503–516.
- Betsuyaku S., Katou S., Takebayashi Y., Sakakibara H., Nomura N. and Fukuda H. (2018) Salicylic acid and jasmonic acid pathways are activated in spatially different domains around the Infection site during effector-triggered immunity in *Arabidopsis thaliana*. *Plant and Cell Physiology* 59: 8–16.
- Bigeard J., Colcombet J. and Hirt H. (2015) Signaling Mechanisms in Pattern-Triggered Immunity (PTI). *Molecular Plant* 8: 521–539.
- Böhm H., Albert I., Fan L., Reinhard A. and Nürnberger T. (2014) Immune receptor complexes at the plant cell surface. *Current Opinion in Plant Biology* 20: 47–54.
- Boller T. and Felix G. (2009) A renaissance of elicitors: Perception of microbe-associated molecular patterns and danger signals by pattern-recognition receptors. *Annual Review of Plant Biology* 60: 379–406.
- Bolton M. D. (2009) Primary metabolism and plant defense--fuel for the fire. *Molecular Plant-Microbe Interaction* 22: 487–497.
- Bonardi V., Cherkis K., Nishimura M.T. and Dangl J.L. (2012) A new eye on NLR proteins: Focused on clarity or diffused by complexity? *Current Opinion in Immunology* 24: 41–50.
- Bonardi V. and Dangl J. L. (2012) How complex are intracellular immune receptor signaling complexes? *Frontiers in Plant Science* 3: 237.
- Boudsocq M., Willmann M. R., McCormack M., Lee H., Shan L., He P., Bush J., Cheng S. H. and Sheen J. (2010) Differential innate immune signalling via Ca(2+) sensor protein kinases. *Nature* 464: 418–422.
- Boutrot F. and Zipfel C. (2017) Function, Discovery and exploitation of plant pattern recognition receptors for broad-spectrum disease resistance. *Annual Review of Phytopathology* 55: 257–286.
- Broekaert W. F., Delaure S. L., De Bolle M. F. C. and Cammue B. P. A. (2006) The role of

- ethylene in host-pathogen interactions. *Annual Review of Phytopathology* 44: 6.1-6.24.
- Catanzariti A.-M., Do H. T. T., Bru P., de Sain M., Thatcher L. F., Rep M. and Jones D. A. (2017) The tomato *I* gene for *Fusarium* wilt resistance encodes an atypical leucine-rich repeat receptor-like protein whose function is nevertheless dependent on SOBIR1 and SERK3/BAK1. *The Plant Journal* 89: 1195–1209.
- Catanzariti A.-M., Lim G. T. T. and Jones D.A. (2015) The tomato *I-3* gene: a novel gene for resistance to *Fusarium* wilt disease. *New Phytologist* 207: 106–118.
- Cesari S., Bernoux M., Moncuquet P., Kroj T. and Dodds P.N. (2014) A novel conserved mechanism for plant NLR protein pairs: The “integrated decoy” hypothesis. *Frontiers in Plant Science* 5: 606.
- Che F. S., Nakajima Y., Tanaka N., Iwano M., Yoshida T., Takayama S., Kadota I. and Isogai A. (2000) Flagellin from an incompatible strain of *Pseudomonas avenae* induces a resistance response in cultured rice cells. *Journal of Biological Chemistry* 275: 32347–32356.
- Chen X., Zhu M., Jiang L., Zhao W., Li J., Wu J., Li C., Bai B., Lu G., Chen H., Moffett P. and Tao X. (2016) A multilayered regulatory mechanism for the autoinhibition and activation of a plant CC-NB-LRR resistance protein with an extra N-terminal domain. *New Phytologist* 212: 161–175.
- Chinchilla D., Bauer Z., Regenass M., Boller T. and Felix G. (2006) The Arabidopsis receptor kinase FLS2 binds flg22 and determines the specificity of flagellin perception. *Plant Cell* 18: 465–476.
- Chinchilla D., Zipfel C., Robatzek S., Kemmerling B., Nurnberger T., Jones J. D., Felix G. and Boller T. (2007) A flagellin-induced complex of the receptor FLS2 and BAK1 initiates plant defence. *Nature* 448: 497–500.
- Chisholm S. T., Coaker G., Day B. and Staskawicz B. J. (2006) Host-microbe interactions: shaping the evolution of the plant immune response. *Cell* 124: 803–814.
- Claus L. A. N., Savatin D. V. and Russinova E. (2018) The crossroads of receptor-mediated signaling and endocytosis in plants. *Journal of Integrative Plant Biology* 60: 827–840.
- Coll N. S., Epple P. and Dangl J. L. (2011) Programmed cell death in the plant immune system. *Cell Death and Differentiation* 18: 1247–1256.
- Couto D. and Zipfel C. (2016) Regulation of pattern recognition receptor signalling in plants. *Nature Reviews Immunology* 16: 537–552.
- Cui H., Tsuda K. and Parker J. E. (2015) Effector-triggered immunity: From pathogen perception to robust defense. *Annual Review of Plant Biology* 66: 487–511.
- Dangl J. L., Dietrich R. A. and Richberg M. H. (1996) Death don't have no mercy: Cell death programs in plant-microbe interactions. *Plant Cell* 8: 1793–1807.
- de Wit P. J. G. M. (2016) *Cladosporium fulvum* effectors: Weapons in the arms race with tomato. *Annual Review of Phytopathology* 54: 1–23.
- Deslandes L. and Rivas S. (2012) Catch me if you can: Bacterial effectors and plant targets. *Trends in Plant Science* 17: 644–655.
- Di X., Gomila J. and Takken F. L. W. (2017) Involvement of salicylic acid, ethylene and jasmonic

- acid signalling pathways in the susceptibility of tomato to *Fusarium oxysporum*. *Molecular Plant Pathology* 18: 1024–1035.
- Dixon M. S., Hatzixanthis K., Jones D.A., Harrison K. and Jones J. D. G. (1998) The tomato Cf-5 disease resistance gene and six homologs show pronounced allelic variation in leucine-rich repeat copy number. *Plant Cell* 10: 1915–1925.
- Dixon M. S., Jones D. A., Keddie J. S., Thomas C. M., Harrison K. and Jones J. D. (1996) The tomato Cf-2 disease resistance locus comprises two functional genes encoding leucine-rich repeat proteins. *Cell* 84: 451–459.
- Dodds P. N. and Rathjen J. P. (2010) Plant immunity: towards an integrated view of plant–pathogen interactions. *Nature Reviews Genetics* 11: 539–548.
- Dou D. and Zhou J. M. (2012) Phytopathogen effectors subverting host immunity: Different foes, similar battleground. *Cell Host Microbe* 12: 484–495.
- Du H., Wang Y., Yang J. and Yang W. (2015) Comparative transcriptome analysis of resistant and susceptible tomato lines in response to infection by *Xanthomonas perforans* Race T3. *Frontiers in Plant Science* 6: 1173.
- Ecker J. R. and Davis R. W. (1987) Plant defense genes are regulated by ethylene. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 84: 5202–5206.
- Eshed Y., Abu-Abied M., Saranga Y. and Zamir D. (1992) *Lycopersicon esculentum* lines containing small overlapping introgressions from *L. pennellii*. *Theoretical and Applied Genetics* 83: 1027–1034.
- Esquerre-Tugaye M. T., Lafitte C., Mazau D., Toppan A. and Touze A. (1979) Cell surfaces in plant-microorganism interactions: II. Evidence for the accumulation of hydroxyproline-rich glycoproteins in the cell wall of diseased plants as a defense mechanism. *Plant Physiology* 64: 320–326.
- Felix G., Duran J. D., Volko S. and Boller T. (1999) Plants have a sensitive perception system for the most conserved domain of bacterial flagellin. *The Plant Journal* 18: 265–276.
- Fu Z. Q., Yan S., Saleh A., Wang W., Ruble J., Oka N., Mohan R., Spoel S. H., Tada Y., Zheng N. and Dong X. (2012) NPR3 and NPR4 are receptors for the immune signal salicylic acid in plants. *Nature* 486: 228–232.
- Gabriels S.H., et al. (2007) An NB-LRR protein required for HR signalling mediated by both extra- and intracellular resistance proteins. *The Plant Journal* 50: 14–28.
- Garcia-Brugger A., Lamotte O., Vandelle E., Bourque S., Lecourieux D., Poinssot B., Wendehenne D. and Pugin A. (2006) Early signaling events induced by elicitors of plant defenses. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 19: 711–724.
- Geldner N., Hyman D. L., Wang X., Schumacher K. and Chory J. (2007) Endosomal signaling of plant steroid receptor kinase BRI1. *Genes and Development* 21: 1598–1602.
- Gilroy S., Suzuki N., Miller G., Choi W.G., Toyota M., Devireddy A. R. and Mittler R. (2014) A tidal wave of signals: Calcium and ROS at the forefront of rapid systemic signaling. *Trends in Plant Science* 19: 623–630.
- Glazebrook J. (2005) Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic

- pathogens. *Annual Review of Phytopathology* 43: 205–227.
- Gohre V., Jones A. M., Sklenar J., Robatzek S. and Weber A. P. (2012) Molecular crosstalk between PAMP-triggered immunity and photosynthesis. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 25: 1083–1092.
- Gomez-Gomez L. and Boller T. (2000) FLS2: an LRR receptor-like kinase involved in the perception of the bacterial elicitor flagellin in Arabidopsis. *Molecular Cell* 5: 1003–1011.
- Gould G. W. and Lippincott-Schwartz J. (2009) New roles for endosomes: From vesicular carriers to multi-purpose platforms. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 10: 287–292.
- Greenberg J. T. (1997) Programed cell death in plant-pathogen interactions. *Annual Review of Plant Physiology* 48: 525–545.
- Gu Y., Zavaliev R. and Dong X. (2017) Membrane trafficking in plant immunity. *Molecular Plant* 10: 1026–1034.
- Gust A. A. and Felix G. (2014) Receptor like proteins associate with SOBIR1-type of adaptors to form bimolecular receptor kinases. *Current Opinion in Plant Biology* 21: 104–111.
- Hammond-Kosack K. E. and Jones J. D. G. (1996) Resistance gene-dependent plant defense responses. *The Plant Cell* 8: 1773–1791.
- Hann D. R. and Rathjen J. P. (2007) Early events in the pathogenicity of *Pseudomonas syringae* on *Nicotiana benthamiana*. *The Plant Journal* 49: 607–618.
- Meller Harel Y., Mehari Z. H., Rav-David D. and Elad Y. (2014) Systemic resistance to gray mold induced in tomato by benzothiadiazole and *Trichoderma harzianum* T39. *Phytopathology* 104: 150–157.
- Hayward A. P., Tsao J. and Dinesh-Kumar S. P. (2009) Autophagy and plant innate immunity: defense through degradation. *Seminars in Cell and Developmental Biology* 20: 1041–1047.
- Henry E., Yadeta K. A. and Coaker G. (2013) Recognition of bacterial plant pathogens: local, systemic and transgenerational immunity. *New Phytologist* 199: 908–915.
- Hurlburt N. K., Chen L.-H., Stergiopoulos I. and Fisher A. J. (2018) Structure of the *Cladosporium fulvum* Avr4 effector in complex with (GlcNAc)₆ reveals the ligand-binding mechanism and uncouples its intrinsic function from recognition by the Cf-4 resistance protein. *PLOS Pathogens* 14: e1007263.
- Jones D. A., Thomas C. M., Hammond-Kosack K. E., Balint-Kurti P. J. and Jones J. D. G. (1994) Isolation of the tomato Cf-9 gene for resistance to *Cladosporium fulvum* by transposon tagging. *Science* 266: 789–793.
- Jones J. D. G. and Dangl J. L. (2006) The plant immune system. *Nature* 444: 323–329.
- Jubic L. M., Saile S., Furzer O. J., El Kasmi F. and Dangl J. L. (2019) Help wanted: Helper NLRs and plant immune responses. *Current Opinion in Plant Biology* 50: 82–94.
- Kadota Y., Shirasu K. and Zipfel C. (2015) Regulation of the NADPH oxidase RBOHD during plant immunity. *Plant Cell Physiology* 56: 1472–1480.
- Kawchuk L. M., et al. (2001) Tomato Ve disease resistance genes encode cell surface-like receptors. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 98: 6511–6515.
- Ben Khaled S., Postma J. and Robatzek S. (2015) A moving view: subcellular trafficking

- processes in pattern recognition receptor-triggered plant immunity. *Annual Review of Phytopathology* 53: 379–402.
- Khatib M., Lafitte C., Esquerre-Tugaye M.-T., Bottin A. and Rickauer M. (2004) The CBEL elicitor of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* activates defence in *Arabidopsis thaliana* via three different signalling pathways. *New Phytologist* 162: 501–510.
- Larkan N. J., Lydiate D. J., Parkin I. A.P., Nelson M. N., Epp D. J., Cowling W. A., Rimmer S. R. and Borhan M. H. (2013) The *Brassica napus* blackleg resistance gene *LepR3* encodes a receptor-like protein triggered by the *Leptosphaeria maculans* effector AVRLM1. *New Phytologist* 197: 595–605.
- Leibman-Markus M., Pizarro L., Bar M., Coaker G. and Avni A. (2018a) NRC proteins - a critical node for pattern and effector mediated signaling. *Plant Signaling and Behavior* 13: 1–4.
- Leibman-Markus M., Pizarro L., Schuster S., Lin Z. J. D., Gershony O., Bar M., Coaker G. and Avni A. (2018b) The intracellular nucleotide-binding leucine-rich repeat receptor (SINRC4a) enhances immune signalling elicited by extracellular perception. *Plant, Cell and Environment* 41: 2313–2327.
- Li S., et al. (2019) The hypersensitive induced reaction 3 (HIR3) gene contributes to plant basal resistance via an EDS1 and salicylic acid-dependent pathway. *The Plant Journal* 3: 1–15.
- Liang X. and Zhou J.-M. (2018) Receptor-like cytoplasmic kinases: Central players in plant receptor kinase-mediated signaling. *Annual Review of Plant Biology* 69: 267–299.
- Liu L., Sonbol F.-M., Huot B., Gu Y., Withers J., Mwimba M., Yao J., He S.Y. and Dong X. (2016) Salicylic acid receptors activate jasmonic acid signalling through a non-canonical pathway to promote effector-triggered immunity. *Nature Communications* 7: 13099.
- Macho A. P. and Zipfel C. (2014) Plant PRRs and the activation of innate immune signaling. *Molecular Cell* 54: 263–72.
- Marone D., Russo M. A., Laido G., De Leonardis A. M. and Mastrangelo A. M. (2013) Plant nucleotide binding site-leucine-rich repeat (NBS-LRR) genes: active guardians in host defense responses. *International Journal of Molecular Science* 14: 7302–7326.
- Mbengue M., Bourdais G., Gervasi F., Beck M., Zhou J., Spallek T., Bartels S., Boller T., Ueda T., Kuhn H. and Robatzek S. (2016) Clathrin-dependent endocytosis is required for immunity mediated by pattern recognition receptor kinases. *PNSA* 113: 11034-11039.
- Medzhitov R. and Janeway C. A. (1997) Innate immunity: The virtues of a nonclonal system of recognition. *Cell* 91: 295–298.
- Melotto M., Underwood W., Koczan J., Nomura K. and He S. Y. (2006) Plant stomata function in innate immunity against bacterial invasion. *Cell* 126: 969–980.
- Muthamilarasan M. and Prasad M. (2013) Plant innate immunity: an updated insight into defense mechanism. *Journal of Bioscience* 38: 433–449.
- Naito K., Taguchi F., Suzuki T., Inagaki Y., Toyoda K., Shiraishi T. and Ichinose Y. (2008) Amino acid sequence of bacterial microbe-associated molecular pattern flg22 is required for virulence. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 21: 1165–1174.
- Noman A. and Aqeel M. (2019) PRRs and NB-LRRs : From Signal Perception to Activation of

- Plant Innate Immunity. *International Journal of Molecular Sciences* 20: 1882.
- Nomura H., et al. (2012) Chloroplast-mediated activation of plant immune signalling in *Arabidopsis*. *Nature Communications* 3: 926.
- Nürnberg T. and Brunner F. (2002) Innate immunity in plants and animals: emerging parallels between the recognition of general elicitors and pathogen-associated molecular patterns. *Current Opinion in Plant Biology* 5: 318–24.
- Ortiz-Moreno F. A., et al. (2016) Danger-associated peptide signaling in *Arabidopsis* requires clathrin. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 113: 11028–11033.
- Paez Valencia J., Goodman K. and Otegui M. S. (2016) Endocytosis and endosomal trafficking in plants. *Annual Review of Plant Biology* 67: 309–335.
- Penninckx I. A., Thomma B. P., Buchala A., Metraux J. P. and Broekaert W. F. (1998) Concomitant activation of jasmonate and ethylene response pathways is required for induction of a plant defensin gene in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 10: 2103–2113.
- Pieterse C. M., Van der Does D., Zamioudis C., Leon-Reyes A. and Van Wees S. C. (2012) Hormonal modulation of plant immunity. *Annual Review of Cell Development and Biology* 28: 489–521.
- Pieterse C. M. J., Leon-Reyes A., Van der Ent S. and Van Wees S. C. M. (2009) Networking by small-molecule hormones in plant immunity. *Nature Chemical Biology* 5: 308–316.
- Pizarro L., Leibman-Markus M., Schuster S., Bar M. and Avni A. (2019) Tomato Dynamin Related Protein 2A associates with LeEIX2 and enhances PRR mediated defense by modulating receptor trafficking. *Frontiers in Plant Science* 10: 936.
- Pizarro L., Leibman-Markus M., Schuster S., Bar M., Meltz T. and Avni A. (2018) Tomato prenylated RAB acceptor protein 1 modulates trafficking and degradation of the pattern recognition receptor LeEIX2, affecting the innate immune response. *Frontiers in Plant Science* 9: 257.
- Qi Z., Verma R., Gehring C., Yamaguchi Y., Zhao Y., Ryan C. A. and Berkowitz G. A. (2010) Ca²⁺ signaling by plant *Arabidopsis thaliana* Pep peptides depends on AtPepR1, a receptor with guanylyl cyclase activity and cGMP-activated Ca²⁺ channels. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 107: 21193–21198.
- Ranf S., Gisch N., Schäffer M., Illig T., Westphal L., Knirel Y. A., Sánchez-Carballo P. M., Zähringer U., Hüchelhoven R., Lee J. and Scheel D. (2015) A lectin S-domain receptor kinase mediates lipopolysaccharide sensing in *Arabidopsis thaliana*. *Nature Immunology* 16: 426–433.
- Reddy V. S. and Reddy A. S. (2004) Proteomics of calcium-signaling components in plants. *Phytochemistry* 65: 1745–1776.
- Ron M. and Avni A. (2004) The receptor for the fungal elicitor ethylene-inducing xylanase is a member of a resistance-like gene family in tomato. *The Plant Cell* 16: 1604–1615.
- Santner A. and Estelle M. (2009) Recent advances and emerging trends in plant hormone signalling. *Nature* 459: 1071–1078.
- Schulze B., Mentzel T., Jehle A.K., Mueller K., Beeler S., Boller T., Felix G. and Chinchilla D.

- (2010) Rapid heteromerization and phosphorylation of ligand-activated plant transmembrane receptors and their associated kinase BAK1. *Journal of Biological Chemistry* 285: 9444–9451.
- Sharfman M., Bar M., Ehrlich M., Schuster S., Melech-Bonfil S., Ezer R., Sessa G. and Avni A. (2011) Endosomal signaling of the tomato leucine-rich repeat receptor-like protein LeEix2. *The Plant Journal* 68: 413–423.
- Smith J. M., Salamango D. J., Leslie M. E., Collins C. A. and Heese A. (2014) Sensitivity to Flg22 is modulated by ligand-induced degradation and de novo synthesis of the endogenous flagellin-receptor FLAGELLIN-SENSING2. *Plant Physiology* 164: 440–454.
- Sorkin A. and von Zastrow M. (2009) Endocytosis and signalling: Intertwining molecular networks. *Nature Reviews of Molecular and Cell Biology* 10: 609–622.
- Strange R. N. and Scott P. R. (2005) Plant disease: a threat to global food security. *Annual Review of Phytopathology* 43: 83–116.
- Sun Y., Li L., Macho A. P., Han Z., Hu Z., Zipfel C., Zhou J. M. and Chai J. (2013) Structural basis for flg22-induced activation of the Arabidopsis FLS2-BAK1 immune complex. *Science* 342: 624–628.
- Taguchi F., Shimizu R., Inagaki Y., Toyoda K., Shiraishi T. and Ichinose Y. (2003) Post-translational modification of flagellin determines the specificity of HR induction. *Plant Cell Physiology* 44: 342–349.
- Takken F. L., Thomas C. M., Joosten M. H., Golstein C., Westerink N., Hille J., Nijkamp H. J., De Wit P. J. and Jones J. D. (1999) A second gene at the tomato Cf-4 locus confers resistance to *Cladosporium fulvum* through recognition of a novel avirulence determinant. *The Plant Journal* 20: 279–288.
- Tenhaken R., Levine A., Brisson L. F., Dixon R.A. and Lamb C. (1995) Function of the oxidative burst in hypersensitive disease resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 92: 4158–4163.
- Thomas C. M., Jones D. A., Parniske M., Harrison K., Balint-Kurti P., Hatzixanthis K. and Jones J. D. (1997) Characterization of the tomato Cf-4 gene for resistance to *Cladosporium fulvum* identifies sequences that determine recognitional specificity in Cf-4 and Cf-9. *Plant Cell* 9: 2209–2224.
- Thomma B. P., Eggermont K., Penninckx I. A., Mauch-Mani B., Vogelsang R., Cammue B. P. and Broekaert W. F. (1998) Separate jasmonate-dependent and salicylate-dependent defense-response pathways in Arabidopsis are essential for resistance to distinct microbial pathogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 95: 15107–11.
- Thomma B. P. H. J., Nürnberger T. and Joosten M. H. A. J. (2011) Of PAMPs and effectors: The blurred PTI-ETI dichotomy. *The Plant cell* 23: 4–15.
- Tör M., Lotze M. T. and Holton N. (2009) Receptor-mediated signalling in plants: Molecular patterns and programmes. *Journal of Experimental Botany* 60: 3645–3654.
- Toruno T. Y., Stergiopoulos I. and Coaker G. (2016) Plant-Pathogen Effectors: Cellular Probes Interfering with Plant Defenses in Spatial and Temporal Manners. *Annual Review of*

- Phytopathology 54: 419–441.
- Tsuda K. and Katagiri F. (2010) Comparing signaling mechanisms engaged in pattern-triggered and effector-triggered immunity. *Current Opinion in Plant Biology* 13: 459–65.
- Van der Hoorn R. A. and Kamoun S. (2008) From guard to gecko: A new model for perception of plant pathogen effectors. *Plant Cell* 20: 2009–2017.
- Van der Hoorn R. A. L., Wulff B. B. H., Rivas S., Durrant M. C., Van der Ploeg A., de Wit P. J. G. M. and Jones J. D. G. (2005) Structure-function analysis of cf-9, a receptor-like protein with extracytoplasmic leucine-rich repeats. *The Plant Cell* 17: 1000–1015.
- Van Esse H. P., Fradin E. F., De Groot P. J., De Wit P. J. G. M. and Thomma B. P. H. J. (2009) Tomato transcriptional responses to a foliar and a vascular fungal pathogen are distinct. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 22: 245–258.
- Van der Molen G.E., Labavitch J. M., Strand L. L. and DeVay J. E. (1983) Pathogen-induced vascular gels: Ethylene as a host intermediate. *Physiologia Plantarum* 59: 573–580.
- Vega A., Canessa P., Hoppe G., Retamal I., Moyano T. C., Canales J., Gutiérrez R. A. and Rubilar J. (2015) Transcriptome analysis reveals regulatory networks underlying differential susceptibility to *Botrytis cinerea* in response to nitrogen availability in *Solanum lycopersicum*. *Frontiers in Plant Science* 6: 911.
- Verhage A., Van Wees S. C. and Pieterse C. M. (2010) Plant immunity: It's the hormones talking, but what do they say? *Plant Physiology* 154: 536–540.
- Vidhyasekaran P. (2014) PAMP signaling in plant innate immunity. In *PAMP Signals in: Plant Innate Immunity: Signal Perception and Transduction, Signaling and Communication in Plants*, Springer Science and Business Media, Dordrecht, the Netherlands, pp. 17–161.
- Wang J., Hu M., Wang J., Qi J., Han Z., Wang G., Qi Y., Wang H.-W., Zhou J.-M. and Chai J. (2019a) Reconstitution and structure of a plant NLR resistosome conferring immunity. *Science* 364: eaav5870.
- Wang J., Wang J., Hu M., Qi J., Wang G., Han Z., Qi Y., Wang H.-W., Zhou J.-M. and Chai J. (2019b) Ligand-triggered allosteric ADP release primes a plant NLR complex. *Science* 364(6435).
- Wang W. H., Yi X. Q., Han A. D., Liu T. W., Chen J., Wu F. H., Dong X. J., He J. X., Pei Z. M. and Zheng H. L. (2012) Calcium-sensing receptor regulates stomatal closure through hydrogen peroxide and nitric oxide in response to extracellular calcium in *Arabidopsis*. *Journal of Experimental Botany* 63: 177–190.
- Westerink N., Brandwagt B. F., De Wit P. J. G. M. and Joosten M. H. A. J. (2004) *Cladosporium fulvum* circumvents the second functional resistance gene homologue at the Cf-4 locus (Hcr9-4E) by secretion of a stable avr4E isoform. *Molecular Microbiology* 54: 533–545.
- Win J., Chaparro-Garcia A., Belhaj K., Saunders D. G., Yoshida K., Dong S., Schornack S., Zipfel C., Robatzek S., Hogenhout S. A. and Kamoun S. (2012) Effector biology of plant-associated organisms: concepts and perspectives. *Cold Spring Harb Symposium Quant Biology* 77: 235–247.

- Wirthmueller L., Zhang Y., Jones J. D. G. and Parker J. E. (2007) Nuclear accumulation of the Arabidopsis immune receptor RPS4 is necessary for triggering EDS1-dependent defense. *Current Biology* 17: 2023–2029.
- Wu C. H., Abd-El-Halim A., Bozkurt T. O., Belhaj K., Terauchi R., Vossen J. H. and Kamoun S. (2017) NLR network mediates immunity to diverse plant pathogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 114: 8113–8118.
- Wu L., Chen H., Curtis C. and Fu Z. Q. (2014) Go in for the kill. *Virulence* 5: 710–721.
- Yang Y.-X., Wang M. -M., Yin Y. -L., Onac E., Zhou G. -F., Peng S., Xia X. -J., Shi K., Yu J. -Q. and Zhou Y.-H. (2015) RNA-seq analysis reveals the role of red light in resistance against *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000 in tomato plants. *BMC Genomics* 16: 120.
- Yun H. S. and Kwon C. (2017) Vesicle trafficking in plant immunity. *Current Opinion in Plant Biology* 40: 34–42.
- Zhang W., He S. Y. and Assmann S. M. (2008) The plant innate immunity response in stomatal guard cells invokes G-protein-dependent ion channel regulation. *The Plant Journal* 56: 984–996.
- Zhang X., Dodds P. N. and Bernoux M. (2017) What do we know about NOD-like receptors in plant immunity? *Annual Review of Phytopathology* 55: 205–229.
- Zipfel C., Robatzek S., Navarro L., Oakeley E. J., Jones J. D. G., Felix G. and Boller T. (2004) Bacterial disease resistance in Arabidopsis through flagellin perception. *Nature* 428: 764–767.