

УДК 578.85/86-581.1

**МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ К ИНФЕКЦИЯМ**

*М.Р. Шарипова, Н.П. Балабан, А.М. Марданова,  
Ч. Нямсүрэн, Л.Р. Валеева*

**Аннотация**

В работе рассматриваются пути защиты растений от вирусных инфекций. Описываются механизмы формирования устойчивости растений к патогенам, делается попытка оценить роль PR-белков, индуцированных в растительных клетках при патогенезе. Обсуждается применение химических соединений, пробиотиков и бактериальных ферментов в противовирусной терапии. Подчеркивается важная роль микробных технологий в защите растений.

**Ключевые слова:** фитопатогенные вирусы, устойчивость растений, РНК-интерференция, фитотерапия, PR-белки, противовирусная фитотерапия.

**Введение**

Вирусы и фитопатогенные микроорганизмы вызывают различные болезни у растений. Известны около 450 патогенных вирусов растений [1], часть из которых имеют широкий круг растений-хозяев, в то же время многие растения заражаются несколькими вирусами. Есть примеры узкой специфичности вирусов. В любом случае вирусная инфекция влияет на характеристики сельскохозяйственных культур: вызывает снижение содержания белка, уменьшение морозоустойчивости растений. Способы оздоровления растений, профилактика и борьба с вирусными заболеваниями остаются актуальными проблемами современной биологии.

В сельскохозяйственной практике большое внимание уделяют выращиванию вирусоустойчивых сортов растений. На этом пути в мировой практике обработка растений химическими соединениями до сих пор имеет большое значение. Тем не менее особое внимание уделяют разработке генно-инженерных методов получения безвирусных растений [2]. Каждый из подходов имеет свои ограничения, в связи с чем успешный результат достигается путем применения всех имеющихся технологий противовирусной защиты.

Химические противовирусные соединения часто неспецифичны и токсичны в отношении растений, животных и человека, что ограничивает их применение. Поэтому поиск новых противовирусных средств связывают с использованием микробных метаболитов. Они менее токсичны, легко утилизируются растениями и разлагаются в окружающей среде без накопления вредных веществ.

Поиск противовирусных соединений для защиты растений связан с особенностями этих организмов. Антивирусные вещества в растениях утилизируются и разлагаются, что способствует реинфекции. Постоянное присутствие

вирусных частиц в растениях, устойчивость растений к химическим веществам усложняют разработку эффективных противовирусных препаратов. Цель фитохимиотерапии заключается в торможении и полном подавлении вирусной инфекции у растений с помощью химических веществ, которые влияют на процесс инфицирования. При этом химические препараты должны подавлять вирусную инфекцию до уровня, который не повлияет на конечный урожай растений.

Антивирусные соединения должны противостоять наибольшему количеству вирусных заболеваний, быть нетоксичными для растений, человека, животных и микроорганизмов почвы, быстро разлагаться без накопления вредных остатков в растениях и почве и быть доступными. Поиск таких соединений является сложной задачей. Эти соединения делят на антивирусные агенты и индукторы устойчивости к вирусам.

К ингибиторам вирусной инфекции относят фенолы, формальдегиды, ферменты-деструкторы, гормоны растений, производные нуклеиновых кислот, антибиотики [3–8]. В группу индукторов вирусостойчивости относят вещества, которые способны индуцировать антивирусное состояние у хозяина, вызванное синтезом новых белков [1].

Целью настоящей работы является анализ данных по формированию путей устойчивости растений и созданию биогенных способов защиты растений.

### **PR-белки растений**

У растений выявлены эффективные механизмы противовирусной защиты, в ответ на инфекцию у них активируются гены, кодирующие PR-белки (Pathogenesis-Related proteins). Впервые эти белки выделены из растений табака, инфицированного вирусом табачной мозаики (ВТМ). Синтез PR-белков вызывают также бактерии, грибы, токсины. PR-белки растений объединены в 18 семейств.

PR-1-белки обнаружены в растениях, пораженных вирусами, бактериями и грибами. Это в основном кислые белки с молекулярной массой около 16 кДа, растворимые в кислой среде и устойчивые к протеазам [9]. Основные PR-1-белки на 65% идентичны кислым PR-1-белкам. Механизм действия PR-1-белков не установлен.

PR-2-белки – это  $\beta$ -1,3-глюканазы с молекулярной массой от 25 до 35 кДа, большинство из них – эндоглюканазы, которые могут расщеплять клеточную стенку грибов [10]. В растениях идентифицированы изоцизмы глюканаз, их делят на классы по молекулярной массе, изоэлектрической точке, первичной структуре. Активность  $\beta$ -1,3-глюканаз повышалась в растениях после заражения вирусами, грибами и бактериями.

PR-3-, PR-4-, PR-8-, PR-11-белки – четыре семейства хитиназоподобных белков [11]. В растениях табака, сверхчувствительных к ВТМ, после заражения этим вирусом увеличивалось содержание хитиназ. В экстрактах из листьев табака, зараженных ВТМ, выявлены хитиназы, содержание которых было в 7 раз выше, чем в здоровых растениях [12].

PR-5-белки имеют гомологию с белком тауматином из африканского кустарника, поэтому их называли тауматинподобными белками [13]. Количество PR-5-белков увеличивалось в листьях сверхчувствительных растений табака, пораженных ВТМ, в 20 видах растений, зараженных вирусом кольцевой пятнистости

табака, в растениях *A. thaliana*, зараженных вирусом морщинистости турнепса, и в инфицированных растениях томатов [14–17]. Содержание тауматинподобного белка увеличивалось в листьях растений табака, пораженных вирусом огуречной мозаики [18].

PR-6-белки являются ингибиторами протеиназ. В растениях идентифицированы ингибиторы протеаз [19]. Они индуцируются механическими повреждениями, насекомыми, а также факторами (гормоном) индукции (proteinase inhibitor-inducing factor – PIIF) [20]. Трансгенные растения риса и томатов, содержащие чужеродный ген ингибитора протеиназы, были устойчивы к насекомым [21]. В растениях *N. glutinosa*, инфицированных ВТМ, индуцировался синтез белка, схожего с соевым ингибитором трипсина и ингибиторы цистеиновых протеиназ [22].

PR-7-белки – это протеиназы [23]. PR-7-белок индуцировался в растениях томатов при заражении вирусом и являлся щелочной эндопротеиназой [24]. Установлено, что в межклеточном пространстве листьев больных растений эндопротеиназа разрушает PR-белки, синтез которых активирован при заражении вириодом [25]. В инокулированных ВТМ растениях табака резко увеличивалась активность РНКазы и протеиназы, тогда как в незараженных растениях активность этих ферментов не менялась [26].

PR-9-белки – это пероксидазы, которые разделены на внеклеточные и внутриклеточные. Имеются данные о повышении активности пероксидаз в растениях, пораженных вирусами.

PR-10-белки – это белки с РНКазной активностью с молекулярной массой до 17 кДа, устойчивые к протеазам [27]. В их структуре обнаружены консервативные нуклеотид-связывающие участки. Обнаружено увеличение активности РНКаз после заражения растений вирусами, они выявлены в листьях петрушки при грибной инфекции [28]. Накопление PR-10-белков вокруг места внедрения патогена или ранения указывает на их участие в защитных механизмах растений. Трансгенные растения с повышенным уровнем экспрессии РНКаз более устойчивы к патогенам по сравнению с исходными растениями [27, 29].

PR-12-белки – это низкомолекулярные белки дефенсины (5 кДа), обогащенные остатками цистеина. Растительные дефенсины схожи с дефенсинами млекопитающих [30]. Их последовательности включают до 50 остатков аминокислот и обнаружены в листьях, корнях, клубнях, цветках, плодах и семенах [31]. Накопление дефенсинов в листьях наблюдали при заражении патогенными грибами, дефенсины обладают сильными фунгицидными свойствами [32].

PR-13-белки – это белки тионины, богатые цистеином. Тионины классифицируют по числу цистеиновых остатков и положению дисульфидных мостиков [33]. Накопление тионинов в листьях происходило при заражении растений грибами, бактериями и обработке химическими веществами. Токсичность тионинов *in vitro* обусловлена их разрушающим действием на мембраны патогенов [34].

PR-14-белки – это липидтранспортные белки с молекулярной массой 10 кДа и 8 остатками цистеина, они переносят фосфолипиды через мембраны [35]. После секреции фосфолипиды связываются с клеточными стенками [36]. Их синтез индуцирован в инфицированных растениях ячменя, а также в растениях пшеницы при холодовом стрессе [37]. Эти белки ингибировали бактериальную

и грибную инфекции [38]. Фунгицидное действие липидтранспортных белков обусловлено их разрушающим действием на мембраны патогена [39]. Инокуляция ВТМ вызывала локальные некрозы и накопление липидтранспортных белков в растениях перца, но при системном поражении растений перца ВТМ содержание этих белков не менялось [40].

PR-15-белки – это гликопротеины гермины. Они обнаружены в зародышах ячменя, риса, кукурузы, пшеницы и ржи. Мономеры гермина (22 кДа) собираются *in vivo* в олигомеры (130 кДа), устойчивы к обработке трипсином [41]. Гермины участвуют процессах роста растений, в защите от стрессов [42]. Трансгенные растения сои с пшеничным геном гермина устойчивы к грибной инфекции [43].

PR-16-белки – это герминоподобные белки с 30–70%-ной гомологией с пшеничным гермином. Обнаружены у покрытосеменных растений, некоторые имеют супероксиддисмутазную активность [44]. Они продуцируют перекись водорода и участвуют в защите растений от патогенов. Инактивация гена, кодирующего герминоподобный белок в растениях *Nicotiana attenuate*, приводила к снижению содержания перекиси водорода и ингибитора трипсиновой протеиназы, повышая чувствительность растений к вредителям [45]. Повышенное содержание этих белков наблюдали в сверхчувствительных к ВТМ растениях перца [28].

PR-17-белки обнаружены в растениях табака, пораженных ВТМ, пшеницы и ячменя, инфицированных грибами или обработанных бензотиадизолом – индуктором системной приобретенной устойчивости к повторному заражению патогеном [46–48]. Функции этих белков пока не известны. Изучение аминокислотной последовательности белков, выделенных из растений ячменя, показало, что консервативная часть их молекул имеет сходство с активным центром аминокислотаминазы N зукариот и эндопептидазы термолизина бактерий [48].

PR-18-семейство объединяет белки (60 кДа) с антимикробной активностью [49]. PR-18-белки гомологичны карбогидрат-оксидазам растений. Их синтез активирован при заражении растений грибами и обработке салициловой кислотой. Трансгенные растения табака, экспрессирующие ген карбогидрат-оксидазы подсолнечника, более устойчивы к заражению *Pectobacterium carotovorum*, чем исходные растения [50].

Таким образом, в качестве защитной реакцией в ответ на патогены в клетках растений индуцируются PR-белки. Тип и уровень накопления PR-белков зависит от природы и уровня повреждения растения. Некоторые PR-белки (протеиназы,  $\beta$ -1,3-глюканазы) способствуют инфицированию растений вирусами. Другие PR-белки, такие как ингибиторы протеиназ, рибонуклеазы и пероксидазы, эффективно участвуют в защите растений от вирусов. Их координированное накопление в растениях регулируется сигнальными системами.

### Экспрессия генов устойчивости растений

Вирусные белки участвуют в развитии патогенеза у растений [51, 52]. Вирусная инфекция в растениях является сложным и взаимозависимым процессом, вирусы используют клетки хозяина для размножения и распространения. В свою очередь, в растениях формируются механизмы устойчивости к инфекции, которые могут быть консервативными и индуцибельными [53]. При инфекции

в клетках растений экспрессируются гены устойчивости – *R*-гены. Клонированы более 200 *R*-генов устойчивости растений к вирусам, бактериям и грибам [54]. Так, *R*-гены картофеля ответственны за устойчивость растений к PVX-вирусу картофеля, ген томатов *Sw-5* обеспечивает устойчивость к вирусу пятнистого увядания томатов, гены *Tm* и *Tm2* томатов – устойчивость к вирусу мозаики томатов [55, 56]. Мутационный анализ показал, что *R*-гены кодируют факторы инициации трансляции, которые играют ведущую роль в преодолении РНК-вирусной инфекции [57, 54]. Продукты экспрессии *R*-генов влияют также на активацию транскрипции, они содержат ДНК-связывающие домены и участвуют в регуляции экспрессии [58]. При заражении растений вирусом продукт *R*-гена растения связывается в цитоплазме с продуктом вируса, в растениях табака установлено взаимодействие хеликазного домена (p50) репликазы ВТМ с ТIR-доменом белка, кодируемого *R*-геном [59]. Во взаимодействии участвует белок хлоропластов, который связывался с p50 и транспортировался из хлоропласта в цитоплазму и ядро, где взаимодействовал с ТIR-доменом [60]. Показано, что *R*-белки действуют в комплексе с клеточными сигнальными белками Rar1 и SGT1, белком теплового шока Hsp90, белком, активирующим ГТФазу [61]. В растениях белок SGT1 может связываться с убиквитин-лигазным комплексом, который ассоциирован с COP9-сигнасомой и участвует в расщеплении белков [62]. Нарушение генов, кодирующих компоненты COP9-сигнасомы, понижало устойчивость растений табака к ВТМ, обусловленную геном *N*, и указывало на участие убиквитинирования в защите растений [63]. Убиквитинирование – это присоединение небольшого белка-метчика убиквитина к белку, который должен быть разрушен в протеасоме. Белки Rar1 и SGT1 взаимодействуют с белком Hsp90, который у эукариот является высоко консервативным АТФ-зависимым шапероном, участвующим в фолдинге белков [64]. Мутации генов, кодирующих Hsp90, приводили к ослаблению устойчивости растений [65].

### Пути регуляции устойчивости растений

С развитием методов секвенирования и протеомных технологий активно исследуются регуляторные пути формирования устойчивости растений. Передача сигнала от внешних факторов ведет к активации серин/треониновых протеинкиназ, которые фосфорилируют треониновый или тирозиновый остатки других регуляторных белков этой группы, активирующихся путем фосфорилирования. Киназные каскады взаимодействуют с рецепторами посредством G-белков [66]. Фосфорилированные киназы транспортируются в ядро и активируют факторы транскрипции [67]. Такие киназы идентифицированы у разных растений, а анализ геномной ДНК выявил их высокую степень гомологии [68].

В клетках эукариот G-белки стимулируют фосфолипазы С и D. Фосфолипаза С гидролизует фосфатидил-4,5-бифосфат с образованием диацилглицерола и инозитол-1,4,5-трифосфата. Последний освобождает  $Ca^{2+}$  из связанного состояния. Повышение содержания кальция приводит к активации  $Ca^{2+}$ -зависимых протеинкиназ. Диацилглицерол после фосфорилирования киназой превращается в фосфатидную кислоту, которая является сигнальной молекулой в клетках животных. Фосфолипаза D катализирует образование фосфатидной кислоты из липидов (фосфатидилхолин, фосфатидилэтанолламин) мембран [68]. Показано, что

активация G-белков и фосфолипаз C и D одинаковы у растений и животных [69]. По-видимому, в растениях также происходит образование фосфатидной кислоты, которая активирует протеинкиназы с последующим фосфорилированием белков, в том числе факторов транскрипции [70]. В клетках растений при действии патогенов обнаружили увеличение содержания фосфатидной кислоты [71].

Взаимодействие патогена с рецептором растительной клетки активирует мембраносвязанную фосфолипазу A2, которая катализирует выделение ненасыщенных жирных кислот из мембранных фосфолипидов [72]. Они активируют протеинкиназы и являются субстратами для липоксигеназ. Активность липоксигеназ повышалась при заражении растений ВТМ и вирусом огуречной мозаики [73]. Продукты липоксигеназного метаболизма жирных кислот обладают бактерицидными, фунгицидными свойствами и могут активировать протеинкиназы, НАДФ•Н-оксидазу и NO-синтазу [74].

В растительных клетках кальций участвует в контроле процессов акклиматизации, морфогенеза, экспрессии генов и др. [75]. Имеются сведения об участии ионов кальция в защитных реакциях растений против патогенов. Патогены приводили к повышению содержания ионов кальция в цитоплазме и к активации  $Ca^{2+}$ -зависимых протеинкиназ. Идентифицированы восемь растворимых и мембраносвязанных  $Ca^{2+}$ -зависимых протеинкиназ у *A. thaliana* [76]. Они участвуют в контроле генов устойчивости. Регулирующее действие кальция на метаболизм зависит от его взаимодействия с кальмодулином (16.7 кДа), обладающим высоким сродством к кальцию. Его комплекс с кальцием активирует протеинкиназы, фосфоэстеразы, Са-АТФазу и другие ферменты, а также накопление реактивных форм кислорода и окиси азота, описана патогензависимая изоформа кальмодулина [77].

В клетках растений оксид азота (NO) участвует в защитных реакциях, включая патогенез [78]. Заражение ВТМ индуцировало повышение активности NO-синтазы в устойчивых растениях, но не влияло на активность NO-синтазы в чувствительных растениях [79]. Установлена активация синтеза NO в верхних незараженных листьях растений томатов, чувствительных к ВТМ через 12 ч после инокуляции вирусом нижних листьев [80]. Увеличение концентрации NO активирует гуанилатциклазу, которая катализирует синтез циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ), что ведет к активации Са-зависимых протеинкиназ и вызывает экспрессию гена устойчивости *PR-1* [79].

Патогены могут влиять на состояние ионных каналов и вызывать изменение концентрации ионов кальция и водорода в цитоплазме, в результате чего происходит подкисление цитоплазмы [81]. Изменения концентрации протонов в цитоплазме приводят к индукции защитных реакций растений: окислительному стрессу, сверхчувствительным некрозам, активация MAP-киназ, накоплению PR-белков [82]. Экспрессия в растениях гена, кодирующего белок с функцией протонной помпы, приводила к индукции спонтанной сверхчувствительной реакции [83].

Циклоаденилатная система основана на накоплении в клетках растений цАМФ, который способен активировать протеинкиназы. Фосфорилированные протеинкиназы участвуют в регуляции ядерных факторов транскрипции [84]. В растениях цАМФ стимулирует  $K^+/Ca^{2+}$ -ионные каналы, что ведет к запуску

Са-сигнальной системы и цАМФ-зависимых протеинкиназ, способствуя активации белков-регуляторов экспрессии *R*-генов устойчивости [85].

Таким образом, при инфицировании у растений происходит координированное взаимодействие регуляторных сигнальных путей, что приводит к экспрессии генов устойчивости и повышению защиты растений от патогенов.

### РНК-интерференция

Механизмом защиты растений является РНК-интерференция – подавление экспрессии гена при помощи малых молекул РНК. Описаны три механизма подавления экспрессии генов у растений: сайленсинг вирусных РНК, сайленсинг мРНК, транскрипционный сайленсинг.

Сайленсинг вирусной РНК приводит к инактивации вирусов, инфицирующих растение. Установлено, что низкая экспрессия РНК-зависимой РНК-полимеразы, обнаруженная у многих растений, приводила к накоплению  $\gamma$ -вируса картофеля в растениях табака [86]. При заражении растений РНК-содержащими вирусами РНК-зависимая РНК-полимераза участвует в образовании репликативной вирусной двуцепочечной РНК (дцРНК). ДцРНК индуцирует специфическую дегградацию РНК путем активации Dicer-белка, участвующего в ее расщеплении. Двухцепочечные молекулы РНК являются обязательным этапом жизненного цикла вирусов. Dicer-белок, чувствительный к дцРНК, расщепляет её на небольшие фрагменты. Антисмысловая цепь такого фрагмента, короткая интерферирующая РНК (siRNA – small interference RNA), связывается с комплексом белков RISC (RNA-induced silencing complex), среди которых есть эндонуклеаза (Ago) семейства Argonaute. Связывание с siРНК активирует RISC-комплекс и запускает поиск ДНК и РНК, комплементарных siРНК. Такие молекулы инактивируются комплексом RISC. Так, короткие чужеродные двухцепочечные siРНК служат для поиска и расщепления комплементарных мРНК, что приводит к подавлению экспрессии соответствующего гена. Этот путь является основным способом иммунной защиты растений против инфекций. Геномы человека, мыши и нематоды содержат по одному гену Dicer-белка, у насекомых и грибов – по два гена, у растений таких генов больше: геном растений арабидопсиса *A. Thaliana* содержит четыре гена, тополь – пять, рис – шесть [87]. У арабидопсиса Dicer-1 участвует в образовании miРНК, Dicer-2 – в образовании siРНК, Dicer-3 ответственен за модификацию хроматина, Dicer-4 участвует в образовании трансдействующих siРНК. МикроРНК (miРНК) – это фрагменты dsРНК длиной 21–25 п.о., которые образуются при расщеплении клеточных шпилечных РНК. Короткие интерферирующие РНК (siРНК) – dsРНК длиной 21–25 п.о. – образуются при расщеплении вирусных dsРНК. Транс-действующие siРНК, подобно miРНК, комплементарно взаимодействуют с иРНК другого локуса. При взаимодействии dsРНК с Dicer-2 происходят двойные ступенчатые разрывы с образованием siРНК. На следующем этапе siРНК расплетаются АТФ-зависимой хеликазой и одна цепь включается в RISC-комплекс (RNA-induced silencing complex), где комплементарно связывается с вирусной РНК-мишенью. Нуклеаза Ago, основной компонент RISC-комплекса, расщепляет РНК-мишень в участке комплементарного взаимодействия с siРНК. Белки Ago выявлены в составе RISC у всех изученных организмов. В настоящее время в растениях идентифицировано 10 белков Ago.

**Сайленсинг miРНК.** Это механизм регуляции экспрессии генов растений помощью miРНК. У растений miРНК образуются в три этапа при участии белка Dicer-1. Сначала синтезированная РНК-полимеразой РНК превращается в предшественник pre-miРНК, которая преобразуется в более короткие предшественники, процессинг которых позволяет получить зрелые miРНК [88]. У растений *A. thaliana* обнаружен белок для переноса miРНК (либо комплекса miРНК-Dicer-1) из ядра в цитоплазму [89]. На всех этапах созревания miРНК участвует dsРНК-связывающий белок, способный входить в комплекс с Dicer-1 и Ago [90]. Затем miРНК, подобно siРНК, взаимодействует с RISC, где комплементарно связывается с мРНК, и белок Ago разрезает РНК-мишень. Количество идентифицированных растительных мРНК, у которых есть специфические miРНК-партнеры, постоянно увеличивается.

**Транскрипционный сайленсинг.** Механизм обнаружен у трансгенных растений табака со встроенной кДНК вирида веретеновидности клубней картофеля, которая метилировалась после заражения. При репликации РНК происходило специфичное метилирование гомологичных последовательностей в растительном геноме [91]. Феномен известен как РНК-зависимое метилирование ДНК. Промоторные последовательности dsРНК метилировались и становились транскрипционно не активными [92]. В этом участвовали специфические siРНК и модифицированные гистоны [93]. В РНК-зависимом метилировании ДНК *de novo* участвуют метилтрансферазы 1 и 2, их активность усиливалась гистонацетилазой, что приводило к эпигенетическому изменению гетерохроматина [94].

Состояние сайленсинга распространяется по растению [95]. Сайленсинг генов транспортируется вверх и вниз по растению, но вверх более активно. Природа распространения сайленсинга генов пока не ясна. Показано, что распространение сайленсинга происходит с участием dsРНК либо siРНК [96]. Во флоэмном соке растений обнаружены как короткие, так и длинные молекулы РНК [97]. В соке обнаружен низкомолекулярный белок, способный связывать 25-нуклеотидные ssРНК, и показано, что он может содействовать транспорту этих РНК, но не dsРНК [98].

**Супрессия сайленсинга.** Несмотря на разнообразие механизмов защиты, многие вирусы инфицируют растения. Некоторые из них содержат гены, кодирующие супрессоры сайленсинга генов, например специфичная протеиназа HC-Pro (**H**elper **C**omponent-**p**roteinase), кодируемая потивирусами. В трансгенных растениях табака встроенный ген *HC-Pro* приводил к увеличению накопления ВТМ и вируса огуречной мозаики [99]. Протеиназа HC-Pro подавляет сайленсинг генов [100]. В настоящее время супрессоры идентифицированы у 30 вирусов растений, они ингибируют накопление коротких РНК, а также некоторые из них способны связываться с siРНК и miРНК [101, 102]. Мутанты PVX-вируса картофеля, утратившие способность подавлять сайленсинг генов, не могли распространяться в организме [103]. Вирусные супрессоры влияют на развитие растений и формирование симптомов заболевания [104–107]. Разработан метод вирус-индуцированного подавления генов, основанный на использовании механизма сайленсинга под влиянием вирусного вектора, несущего последовательность гена растения-хозяина. Метод используется для подавления генов растений с целью изучения их функций [108].

Система РНК-интерференции является важной частью иммунного ответа к вирусам и другому чужеродному генетическому материалу. У растений система РНК-интерференции предотвращает распространение транспозонов [105]. Растительные Dicer белки направлены против различных типов вирусов [106]. Показано, что индуцированный сайленсинг генов у растений может передаваться от подвоя к прививаемому растению [107]. Эта особенность адаптивной иммунной системы растений позволяет после первоначального локального проникновения вируса отвечать на повторные проникновения вируса всему организму [108]. В ответ многие вирусы в ходе эволюции приобрели механизмы, подавляющие систему РНК-интерференции в клетках растений [109]. Описаны вирусные белки, связывающие короткие двуцепочечные фрагменты РНК с одноцепочечными выступами, которые образуются в результате действия белка Dicer [110]. Некоторые растения экспрессируют эндогенные малые интерферирующие РНК в ответ на заражение некоторыми бактериями [111]. Все эти эффекты могут быть частью общего ответа на патогены.

РНК-интерференция в настоящее время применяется для создания растений, которые способны к синтезу природных токсичных соединений в низких количествах. Для этого разработаны методы получения растений, экспрессирующих компоненты системы РНК-интерференции. Например, семена хлопка в норме богаты белком, пригодным для употребления в пищу, но содержат токсичный терпеноид. Методы, использующие явление РНК-интерференции, позволяют создавать линии хлопка с пониженным уровнем ключевого для синтеза терпеноида фермента – дельтакадинен синтетазы. При этом другие части растения экспрессируют данный фермент на базовом уровне, так как это соединение является важным для защиты растения от вредителей [112]. Разработаны способы снижения уровней аллергенов в растениях томата и способы снижения количества предшественников канцерогенов в растениях табака [113, 114]. Другими примерами генно-инженерных изменений растений является повышение устойчивости растений к вирусам [115], а также добавление в плоды томатов антиоксидантов [116]. Более ранние коммерческие генно-инженерные растения – томат и папайя – разработаны с использованием антисмысловых РНК, работающих по механизму РНК-интерференции [116–118].

**Фитопатогенные вирусы.** Для создания модельных систем и изучения противовирусной активности используют вирусные системы, доступные в лабораторных условиях и обеспечивающие простые механические методы заражения растений вирусами. Разработаны методы получения вирусов и серологические и биологические методы определения содержания вирусов в растениях. Для исследований патогенных вирусов растений используют модели: вирус крапчатости красного клевера RCMV (Red clover mottle virus), вирус мозаики люцерны AMV (Alalfa mosaic virus), вирус картофеля PVX (Potato virus X). Вирусы легиуминовых AMV и RCMV относятся к мультикомпонентным вирусам с фрагментированным геномом, причем каждый фрагмент генома заключен в отдельную оболочку и представляет структурно самостоятельное образование.

RCMV относится к группе комовирусов и по строению схож с вирусом CPMV (cowpea mosaic virus), который является типичным представителем этой группы вирусов [123]. Вирус RCMV состоит из 3 частиц с разными константами

седиментации: 115 S, 95 S, 55 S. Геном вируса содержит две положительно заряженных молекулы РНК с молекулярной массой  $2.0 \cdot 10^6$  и  $1.4 \cdot 10^6$  Да. Обе РНК полиаденилированы на 3'-конце. На 5'-конце обе РНК ковалентно соединены с небольшим полипептидом (5 кДа). Первичная структура РНК известна. В третьей частице РНК отсутствует. Чтобы вызвать инфекцию вирусом RCMV для полного проявления внешних симптомов заболевания, необходимы обе частицы (115 S и 95 S), которые содержат РНК. Симптомы заражения вирусом проявляются в мозаичной крапчатости, а в модели системного заражения вируса RCMV у растений гороха происходит отмирание вновь образующихся листьев.

Вирус AMV является единственным представителем монотипичной группы алмовирусов [124]. Вирус состоит из 4 нуклеопротеидов. 3 частицы имеют палочковидную форму и 1 частица – форму эллипсоида. Палочковидные частицы содержат по 1 положительно заряженной РНК с молекулярной массой  $1.1 \cdot 10^6$ ,  $0.8 \cdot 10^6$  и  $0.7 \cdot 10^6$  Да. На 5'-конце у этих частиц имеется *cap*-последовательность: На 3'-конце они не содержат поли-(А)-последовательностей. В эллипсоидной частице расположена РНК с молекулярной массой  $0.3 \cdot 10^6$  Да, которая кодирует капсидный протеин с молекулярной массой  $2.4 \cdot 10^4$  Да. Были и определены неструктурные протеины, которые образуются после инфицирования вирусом растений. Вирус AMV переносится тлей, а в экспериментальной работе инфицирование проводят путем механического заражения. Число растений-хозяев у этого вируса достаточно велико. Основные симптомы заражения – это мозаика, крапчатость и кольцевые пятна.

Вирус PVX является типичным представителем группы потексвирусов и вызывает легкую мозаичность у картофеля [125]. Вирус представляет собой вариабельные волнообразные нуклеокапсиды с длиной 470–580 нм и диаметром 13 нм. Положительно заряженная РНК идет по спирали капсидного протеина (молекулярная масса  $2.1 \cdot 10^6$  Да). 5'-конец РНК имеет *cap*-последовательность. Вирус переносится механическим путем, симптомы заражения – мозаичность, крапчатость и кольцевые пятна.

**Синтетические противовирусные соединения** можно разделить на несколько групп. Аналоги оснований, нуклеозидов и их метаболитов составляют основную часть противовирусных соединений. Они ингибируют репликацию вирусного генома. Среди них производное пуринового основания 8-азагуанин, которое ингибирует репликацию вирусов TMV, PVX, PVY. Наиболее известным является I-β-D-рибофуранозил-1,2,4, триазол-3-карбоксамид (рибавирин) [126]. Вещество имеет противовирусную активность против многочисленных вирусов растений TMV, PVX, CMV. Рибавирин тормозит развитие вирусной инфекции в зараженных листьях растений, во вторично инфицированных листьях ингибиторный эффект незначителен. Представители пиримидиноподобных соединений – это 2-тиоурацил и 5-азадигидроурацил [127]. Оба ингибируют репродукцию вирусов TMV, PVX, PVY, CMV путем торможения биосинтеза уридин-5-фосфата из оротидин-5-фосфата ингибированием декарбоксилазы. Преимущество 5-азадигидроурацила в его нетоксичности для растения, человека и животных, препарат легко метаболизируется, и для эффективного применения проводят повторные обработки растений этим веществом. Применяют гранулированный 5-азадигидроурацил сразу после посадки растений. Гранулат медленно растворяется и проявляет

антивирусное действие постепенно. Таким образом, можно тормозить размножение вируса на протяжении трех месяцев. Установлено, что эффект антивирусного действия препарата повышался при применении в комбинации с другими соединениями, например рибавирином.

К группе гетероциклических соединений относят производные бензимидазолов, которые имеют противовирусную активность против TMV- и PVX-вирусов. Недостатком соединений этой группы является их фитотоксичность [128].

Среди изоциклических соединений отметим салицилальдоксин (против TMV- и PVY-вирусов) и ацетилсалициловую кислоту, то есть аспирин (против AMV- и TMV-вирусов) [129].

В группу нециклических соединений входят замещенные тиомочевины и соединения с азидной структурой, которые успешно ингибируют репродукцию PVX- и TMV-вирусов [126].

Полианионы и поликатионы обладают противовирусной активностью в отношении фитопатогенных вирусов [130]. Они действуют как индукторы резистентности против инфекции TMV-вирусом или другими некрозообразующими вирусами. Однако действие распространяется только на сверхчувствительные растения-хозяева. По другим данным, противовирусное действие обусловлено прямым взаимодействием с вирусными рецепторами на поверхности клеток.

Особый интерес представляет изучение противовирусной активности производных мембранных липидов [131]. Например, синтетические изолецитины и их производные ингибируют размножение PVX- и RCMV-вирусов в системно инфицированных растениях. Активно изучают антивирусные эффекты хитозана [132].

**Биопрепараты на основе бактерий.** В создании противовирусных препаратов для растений большие надежды связаны с пробиотиками. Явление «микробного антагонизма» лежит в основе создания биопрепаратов – пробиотиков. В настоящее время основным средством повышения урожая сельскохозяйственной продукции является использование пестицидов. При этом не учитывают негативные последствия их применения: возникновение резистентных форм фитовирусов и фитопатогенов и, как следствие, усиление пестицидного давления, нарушение биологического равновесия в агроценозах, что приводит к вспышкам массового размножения фитопатогенов, не только доминирующих, но и второстепенных видов, а также общее ухудшение экологии. Приоритетным в выборе средств защиты растений от инфекций должно быть здоровье человека и состояние биосферы, что определяет выбор в пользу разработки новых пробиотических биопрепаратов.

Биопрепараты-антагонисты – это природные штаммы сапрофитных бактерий, обладающие выраженной биологической активностью и безопасные для всех экологических ниш (почва, растения, насекомые, животные, человек). Такие бактерии, попадая в природную среду, выделяют большое количество ферментов и других биологически активных веществ, подавляющих развитие фитопатогенных вирусов, бактерий и грибов. За счет высокой скорости размножения и биологической активности бактерии, входящие в состав биопрепаратов, быстро осваивают почвенный субстрат, активно участвуют в разложении органических соединений, процессах аммонификации и нитрификации, усилении мобилизации фосфора и калия, обогащая почву подвижными формами питательных веществ.

Выделяемые ими биологически активные вещества стимулируют рост и развитие растений, повышая устойчивость к заражению.

Среди биопрепаратов, используемых в сельском хозяйстве, можно выделить большую группу биофунгицидов, основу которых составляют бактерии сенной палочки, например: фитоспорин, баксис, алирин, бактофит, гамаир и др. Биопрепараты применяются для защиты растений от фитопатогенов в течение всего вегетационного периода и для обработки плодов перед закладкой на хранение. Биопрепараты из бацилл помимо защитной функции растений от фитопатогенов обладают дополнительно свойствами пробиотиков для сельскохозяйственных животных и птицы, что позволяет расширить сферу их практического применения и повысить степень их безопасности для животных и человека при получении кормов и продуктов питания из сельскохозяйственных растений. Бактериальная обработка растений при замачивании семян и в течение всего вегетационного периода приводит к накоплению бацилл в вегетирующих частях растения. При заготовке кормов такая «бактериальная добавка» является консервантом для сена, так как препятствует росту плесневых грибов, способствует сохранению качества сена и уменьшает количество выделяющегося тепла. Биопрепараты из бацилл добавляют также на стадии заготовки кормов в виде кормовых добавок. Кормовые добавки – микробные пробиотики, состоящие из живых микроорганизмов рода *Bacillus*, препятствуют их заражению фитопатогенами и накоплению фитотоксинов.

Таким образом, биофунгициды из бактерий рода *Bacillus* выполняют одновременно две функции: собственно биофунгицида (защищают растение от заражения фитопатогенами бактериальной, вирусной или грибковой природы) и пробиотика – микробной добавки к кормам для сельскохозяйственных животных. Применение биопрепаратов обеспечивает прирост биомассы животных и более эффективное использование кормов. Стимуляция роста и развития сельскохозяйственных животных под влиянием бацилл, содержащихся в кормах, происходит вследствие многофакторного положительного лечебно-профилактического действия метаболитов бацилл на все системы органов животных. Так, бациллы штамма *B. subtilis* 26Д обладают широким спектром антагонистической активности в отношении фитопатогенных вирусов, бактерий и грибов. Кроме того, бактерии штамма *B. subtilis* 26Д обладают выраженной эндофитностью, то есть способностью проникать во внутренние ткани растения. Обработка семян обеспечивает присутствие бактерий во взрослом растении в течение всего вегетационного периода.

**Использование бактериальных ферментов как противовирусных агентов.** Перспективы в поиске противовирусных веществ связывают с бактериальными ферментами. Они менее токсичны, чем химические соединения, легко утилизируются растениями и разлагаются без накопления в окружающей среде вредных веществ. Получают их из биологического сырья, в то время как химические соединения являются продуктами продолжительного и трудоемкого химического синтеза. Применение ферментов стало доступным после разработки генно-инженерных методов получения штаммов-продуцентов и эффективных методов очистки. Пополнение арсенала ферментов новыми эффективными и доступными препаратами является важной задачей для микробных технологий.

Противовирусное действие рибонуклеаз на РНК-содержащие вирусы известно давно. Различные штаммы ВТМ- и PVX-вируса картофеля *in vitro* теряют инфекционность после обработки РНКазой [133]. Аналогичные данные получены в отношении вируса  $\alpha$ -мозаики и некротической крапчатости огурцов [134]. РНКаза *B. cereus* ZH14 на 94.2% ингибировала вирусную активность, когда фильтрат культуральной жидкости и экстракты ВТМ смешивали в соотношении 1 : 1 [135–137]. По-видимому, нельзя исключать возможность прямого воздействия РНКаз на некоторые вирусы.

С развитием техники геномного секвенирования разработан новый способ защиты растений от вирусных патогенов с помощью *трансгенных растений*. В ДНК растений встраивают чужеродные гены, продукты которых индуцируют устойчивость растений либо участвуют в нарушении цикла развития вирусов. В трансгенных растениях картофеля экспрессировали ген бактериальной рибонуклеазы *B. amyloliquefaciens* под контролем промотора индуцибельного гена картофеля *prp-1*, ответственного за индукцию гена устойчивости [138]. Трансгенные растения, экспрессирующие кДНК белков оболочки вируса, проявляют устойчивость к инфекции гомологичными или близкородственными вирусами [139, 140]. С этой целью используют также другие элементы вирусного генома: кДНК вирусных сателлитных РНК, дефектных генов вирусных репликаз, генов межклеточного транспорта вирусных частиц [2, 141–143]. Для защиты растений от вирусов используют собственные растительные гены устойчивости [144]. Трансгенные растения томата с *N*-геном устойчивости табака проявляли высокую устойчивость в ВТМ [145].

Почвенные бактерии, бациллы, обладают высоким метаболическим потенциалом. Скрининг микробных экстрактов показал широкий спектр биологических активностей этих микроорганизмов. Так, эти бактерии синтезируют высокоактивную пурин-нуклеозид-фосфорилазу, которая применяется для энзиматического синтеза противовирусного препарата – рибавирина [146, 147]. Так, антивирусным эффектом обладает новый экзополисахарид, впервые изолированный из термотолерантных бактерий *B. licheniformis* [148]. Кроме практической значимости эти характеристики помогут объяснить роль *Bacillus* spp. в формировании почвенных экосистем [149].

Поиск и создание биопрепаратов на основе бактерий *B. subtilis* – продуцентов различных белков и ферментов для защиты растений от инфекционных агентов – является эффективным и экологически обоснованным. Такие препараты не только защищают растения от болезней, повышают урожайность сельскохозяйственных культур, но и позволяют получать экологически безопасную продукцию с пробиотическими свойствами для животных и человека.

Таким образом, в обзорной работе предпринята попытка рассмотреть механизмы защиты растений от вирусных инфекций путем формирования устойчивости растений к патогенным организмам, включая синтез растениями PR-белков. Особое внимание уделено использованию пробиотиков и бактериальных ферментов в противовирусной терапии как альтернативе химических способов защиты, что свидетельствует о перспективе применения микробных технологий в защите растений.

## Литература

1. Soosaar J.L., Burch-Smith T.M., Dinesh-Kumar S.P. Mechanisms of plant resistance to viruses // *Nat. Rev. Microbiol.* – 2005. – V. 3, No 10. – P. 789–798.
2. Prins M., Laimer M., Noris E., Schubert J., Wassenegger M., Tepfer M. Strategies for antiviral resistance in transgenic plants // *Mol. Plant Pathol.* – 2008. – V. 9, No 1. – P. 73–83.
3. Кузнецов В.В., Дмитриева Г.А. Физиология растений. – М.: Высш. шк., 2006. – 774 с.
4. Orhan D.D., Ozçelik B., Ozgen S., Ergun F. Antibacterial, antifungal, and antiviral activities of some flavonoids // *Microbiol. Res.* – 2010. – V. 165, No 6. – P. 496–504.
5. Валуева Т.А., Мосолов В.В. Роль ингибиторов протеолитических ферментов в защите растений // *Усп. биол. химии.* – 2002 – Т. 42. – С. 193–216.
6. Kim Y., Narayanan S., Chang K.O. Inhibition of influenza virus replication by plant-derived isoquercetin // *Antiviral. Res.* – 2010. – V. 88, No 2. – P. 227–235.
7. Castilla V., Ramírez J., Coto C.E. Plant and animal steroids a new hope to search for antiviral agents // *Curr. Med. Chem.* – 2010. – V. 17, No 18. – P. 1858–1873.
8. Kang K.D., Cho Y.S., Song J.H., Park Y.S., Lee J.Y., Hwang K.Y., Rhee S.K., Chung J.H., Kwon O., Seong S.I. Identification of the genes involved in 1-deoxyxojirimycin synthesis in *Bacillus subtilis* MORI 3K-85 // *J. Microbiol.* – 2011. – V. 49, No 3. – P. 431–440. – doi: 10.1007/s12275-011-1238-3.
9. Hernández I., Portieles R., Chacón O., Borrás-Hidalgo O. Proteins and peptides for the control of phytopathogenic fungi // *Biotechnol. Aplicada.* – 2005. – V. 22, No 4. – P. 256–260.
10. Okinaka Y., Mimori K., Takeo S., Yoshikawa M. A structural model for the mechanisms of elicitor release from fungal cell walls by plant  $\beta$ -1,3-endoglucanase // *Plant Physiol.* – 1995. – V. 109, No 3. – P. 839–845.
11. Shinshi H., Neuhaus J.-M., Ryals J., Meins F. Structure of a tobacco endochitinase gene: evidence that different chitinase genes can arise by transposition of sequences encoding a cysteine-rich domain // *Plant Mol. Biol.* – 1990. – V. 14, No 3. – P. 357–368.
12. Pan S.Q., Ye X.S., Kuc J. Induction of chitinases in tobacco plants systemically protected against blue mold by peronospora-tabacina or tobacco mosaic-virus // *Phytopathology.* – 1992. – V. 82, No 1. – P. 119–123.
13. Velazhahan R., Datta S.K., Muthukrishnan S. The PR-5 family: thaumatin-like proteins // *Pathogenesis-related proteins in plants* / Ed. S.K. Datta, S. Muthukrishnan. – Boca Raton: CRC Press, 1999. – P. 107–129.
14. Kauffman S., Legrand M., Fritig B. Isolation and characterization of six pathogenesis-related (PR) proteins of Samsun NN tobacco // *Plant Mol. Biol.* – 1990. – V. 14, No 3. – P. 381–390.
15. Sehgal O.P., Rieger R., Mohammed F. Induction of bean PR-4d-type protein in divergent plant species after infection with tobacco ring spot virus and its relationship with tobacco PR-5 // *Phytopathology.* – 1991. – V. 81, No 2. – P. 215–219.
16. Dempsey D.M., Wobbe K., Klessig D.F. Resistance and susceptible responses of *Arabidopsis thaliana* to turnip crinkle virus // *Phytopathology.* – 1993. – V. 83, No 10. – P. 1021–1029.
17. Ruiz-Medrano R., Jimenez-Moraila B., Herrera-Estrella L., Rivera-Bustamante R.F. Nucleotide sequence of an osmotin-like cDNA induced in tomato during viroid infection // *Plant Mol. Biol.* – 1992. – V. 20, No 6. – P. 1199–1202.
18. Kim M.J., Ham B.-K., Kim H.R., Lee I.-J., Kim Y.J., Ryu K.H., Park Y.I., Paek K.-H. *In vitro* and *in planta* interaction evidence between *Nicotiana tabacum* thaumatin-like protein 1 (TLP1) and *Cucumber mosaic virus* proteins // *Plant Mol. Biol.* – 2005. – V. 59, No 6. – P. 981–994.

19. Ревина Т.А., Парфенов И.А., Гвоздева Е.Л., Герасимова Н.Г., Валужева Т.А. Ингибитор химотрипсина и трипсина из клубней картофеля // Прикл. биохимия и микробиология. – 2011. – Т. 47, № 3. – С. 265–272.
20. Pernas M., Sánchez-Monge R., Salcedo G. Biotic and abiotic stress can induce cystatin expression in chestnut // FEBS Lett. – 2000. – V. 467, No 2–3. – P. 206–210.
21. Abdeen A., Virgós A., Olivella E., Villanueva J., Avilés X., Gabarra R., Prat S. Multiple insect resistance in transgenic tomato plants overexpressing two families of plant proteinase inhibitors // Plant Mol. Biol. – 2005. – V. 57, No 2. – P. 189–202.
22. Park K.-S., Cheong J.-J., Lee S.-J., Suh M.-C., Choi D. A novel proteinase inhibitor gene transiently induced by tobacco mosaic virus infection // Biochim. Biophys. Acta. – 2000. – V. 1492, No 2–3. – P. 509–512.
23. Ebner C., Hoffmann-Sommergruber K., Breiteneder H. Plant food allergens homologous to pathogenesis-related proteins // Allergy. – 2001. – V. 56, Suppl. 67. – P. 43–44.
24. Vera P., Conejero V. Pathogenesis-related proteins of tomato. P-69 as an alkaline endoproteinase // Plant Physiol. – 1988. – V. 87, No 1. – P. 58–63.
25. Rodrigo I., Vera P., Conejero V. Degradation of tomato pathogenesis-related proteins by an endogenous 37-kDa aspartyl endoproteinase // Eur. J. Biochem. – 1989. – V. 184, No 3. – P. 663–669.
26. Lusso M., Kuć J. Increased activities of ribonuclease and protease after challenge in tobacco plants with induced systemic resistance // Physiol. Mol. Plant Pathol. – 1995. – V. 47, No 6. – P. 419–428.
27. Park J., Gu Y., Lee Yu., Yang Z., Lee Yo. Phosphatidic acid induces leaf cell death in *Arabidopsis* by activating the Pho-related small G protein GTPase-mediated pathway of reactive oxygen species generation // Plant Physiol. – 2004. – V. 134, No 1. – P. 129–136.
28. Eulgem T., Rushton P.J., Schmelzer E., Hahlbrock R., Somssich I.E. Early nuclear events in plant defence signalling: rapid gene activation by WRKY transcription factors // EMBO J. – 1999. – V. 18, No 17. – P. 4689–4699. – doi: 10.1093/emboj/18.17.4689.
29. Трифонова Е.А., Кочетов А.В., Шумный В.К. Молекулярные механизмы системной устойчивости растений к вирусным инфекциям и способы повышения вирусостойчивости путем трансгенеза // Усп. соврем. биол. – 2007. – Т. 127, № 1. – С. 13–24.
30. Fant F., Vranken W., Broekaert W.F., Borremans F. Determination of the three-dimensional solution structure of *Raphanus sativus* antifungal protein 1 by 1 H NMR // J. Mol. Biol. – 1998. – V. 279, No 1. – P. 257–270.
31. Da Silva Conceição A., Broekaert W.F. Plant defensins // Pathogenesis-related proteins in plants / Ed. S.K. Datta, S. Muthukrishnan. – Boca Raton: CRC Press, 1999. – P. 247–260.
32. Terras F.R.G., Eggermont K., Kovaleva V., Raikhel N.V., Osborn R.W., Kester A., Rees S.B., Torrekens S., Van Leuven F., Vanderleyden J., Cammue B.P.A., Broekaert W.F. Small cysteine-rich antifungal proteins from radish: their role in host defense // Plant Cell. – 1995. – V. 7, No 5. – P. 573–588.
33. Bohlmann H. The role of thionins in the resistance of plants // Pathogenesis-related proteins in plants / Ed. S.K. Datta, S. Muthukrishnan. – Boca Raton: CRC Press, 1999. – P. 207–234.
34. Thevissen K., Ghazi A., De Samblanx G.W., Brownlee C., Osborn R.W., Broekaert W.F. Fungal membrane responses induced by plant defensins and thionins // J. Biol. Chem. – 1996. – V. 271, No 25. – P. 15018–15025.
35. Arondel V., Vergnolle C., Cantrel C., Kader J.-C. Lipid transfer proteins are encoded by a small multigene family in *Arabidopsis thaliana* // Plant Sci. – 2000. – V. 157, No 1. – P. 1–12.

36. Nieuwland J., Feron R., Huisman B.A., Fasolino A., Hilbers C.W., Derksen J., Mariani C. Lipid transfer proteins enhance cell wall extension in tobacco // *Plant Cell*. – 2005. – V. 17, No 7. – P. 2009–2019.
37. Gaudet D.A., Laroche A., Frick M., Huel R., Puchalski B. Cold induced expression of plant defensin and lipid transfer protein transcripts in winter wheat // *Physiol. Plantarum*. – 2003. – V. 117, No 2. – P. 195–205.
38. Ge X., Chen J., Li N., Lin Y., Sun C., Cao K. Resistance function of rice lipid transfer protein LTP110 // *J. Biochem. Mol. Biol.* – 2003. – V. 36, No 6. – P. 603–607.
39. Regente M.C., Giudici A.M., Villalain J., de la Canal L. The cytotoxic properties of a plant lipid transfer protein involve membrane permeabilization of target cells // *Lett. Appl. Microbiol.* – 2005. – V. 40, No 3. – P. 183–189.
40. Park C.J., Shin R., Park J.M., Lee G.J., You J.S., Paek K.-H. Induction of pepper cDNA encoding a lipid transfer protein during the resistance response to tobacco mosaic virus // *Plant Mol. Biol.* – 2002. – V. 48, No 3. – P. 243–254.
41. Grunwald I., Rupperecht I., Schuster G., Kloppstech K. Identification of guttation fluid proteins: the presence of pathogenesis-related proteins in non-infected barley plants // *Physiol. Plantarum*. – 2003. – V. 119, No 2. – P. 192–202.
42. Bernier F., Berna A. Germins and germin-like proteins: plant do-all proteins. But what do they do exactly? // *Plant Physiol. Biochem.* – 2001. – V. 39, No 7–8. – P. 545–554.
43. Donaldson P.A., Anderson T., Lane B.G., Davidson A.L., Simmonds D.H. Soybean plants expressing an active oligomeric oxalate oxidase from the wheat *gf-2.8* (germin) gene are resistant to the oxalate-secreting pathogen *Sclerotinia sclerotiorum* // *Physiol. Mol. Plant Pathol.* – 2001. – V. 59, No 6. – P. 297–307.
44. Christensen A.B., Thordal-Christensen H., Zimmermann G., Gjetting T., Lyngkjer M.F., Dudler R., Schweizer P. The germin-like protein GLP4 exhibits superoxide dismutase activity and is an important component of quantitative resistance in wheat and barley // *Mol. Plant Microbe Interact.* – 2004. – V. 17, No 1. – P. 109–117.
45. Lou Y., Baldwin I.T. Silencing of a germin-like gene in *Nicotiana attenuata* improves performance of native herbivores // *Plant Physiol.* – 2006. – V. 140, No 3. – P. 1126–1136.
46. Okushima Y., Koizumi N., Kusano T., Sano H. Secreted proteins of tobacco cultured BY2 cells: identification of a new member of pathogenesis-related proteins // *Plant Mol. Biol.* – 2000. – V. 42, No 3. – P. 479–488.
47. Görlach J., Volrath S., Knauf-Beiter G., Hengy G., Beckhove U., Kogel K.-H., Oostendorp M., Staub T., Ward E., Kessmann H., Ryals J. Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat // *Plant Cell*. – 1996. – V. 8, No 4. – P. 629–643.
48. Christensen A.B., Cho B.H., Næsby M., Gregersen P.L., Brandt J., Madriz-Ordeñana K., Collinge D.B., Thordal-Christensen H. The molecular characterization of two barley proteins establishes the novel PR-17 family of pathogenesis-related proteins // *Mol. Plant Pathol.* – 2002. – V. 3, No 3. – P. 135–144. – doi: 10.1046/j.1364-3703.2002.00105.x.
49. van Loon L.C., Rep M., Pieterse C.M. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants // *Annu. Rev. Phytopathol.* – 2006. – V. 44. – P. 135–162.
50. Custers J.H.H.V., Harrison S.J., Sela-Buurlage M.B., van Deventer E., Lageweg W., Howe P.W., van der Meijs P.J., Ponstein A.S., Simons B.H., Melchers L.S., Stuiver M.H. Isolation and characterization of a class of carbohydrate oxidases from higher plants, with a role in active defence // *Plant J.* – 2004. – V. 39, No 2. – P. 147–160.
51. Ozeki J., Takahashi S., Komatsu K., Kagiwada S., Yamashita K., Mori T., Hirata H., Yamaji Y., Ugaki M., Namba S. A single amino acid in the RNA-dependent RNA poly-

- merase of *Plantago asiatica* mosaic virus contributes to systemic necrosis // *Arch. Virol.* – 2006. – V. 151, No 10. – P. 2067–2075.
52. *Padmanabhan M.S., Shiferaw H., Culver J.N.* The Tobacco mosaic virus replicase protein disrupts the localization and function of interacting Aux/IAA proteins // *Mol. Plant Microbe Interact.* – 2006. – V. 19, No 8. – P. 864–873.
53. *Carr A.S., Cardwell C.R., McCarron P.O., McConville J.* A systematic review of population based epidemiological studies in Myasthenia Gravis // *BMC Neurology.* – 2010. – V. 10. – Art. 46, P. 1–9. – doi: 10.1186/1471-2377-10-46.
54. *Robaglia C., Caranta C.* Translation initiation factors: a weak link in plant RNA virus infection // *Trends Plant Sci.* – 2006. – V. 11, No 1. – P. 40–45.
55. *Truniger V., Aranda M.A.* Recessive resistance to plant viruses // *Adv. Virus Res.* – 2009. – V. 75. – P. 119–159. – doi: 10.1016/S0065-3527(09)07504-6.
56. *Bendahmane A., Farnham G., Moffett P., Baulcombe D.C.* Constitutive gain-of-function mutants in a nucleotide binding site-leucine rich repeat protein encoded at the *Rx* locus of potato // *Plant J.* – 2002. – V. 32, No 2. – P. 195–204.
57. *Lanfermeijer F.C., Dijkhuis J., Sturre M.J., de Haan P., Hille J.* Cloning and characterization of the durable tomato mosaic virus resistance gene *Tm-2<sup>2</sup>* from *Lycopersicon esculentum* // *Plant Mol. Biol.* – 2003. – V. 52, No 5. – P. 1037–1049.
58. *van Ooijen G., Mayr G., Kasiem M.M.A., Albrecht M., Cornelissen B.J.C., Takken F.L.W.* Structure–function analysis of the NB-ARC domain of plant disease resistance proteins // *J. Exp. Bot.* – 2008. – V. 59, No 6. – P. 1383–1397. – doi: 10.1093/jxb/ern045.
59. *Burch-Smith T.M., Schiff M., Caplan J.L., Tsao J., Czymmek K., Dinesh-Kumar S.P.* A novel role for the TIR domain in association with pathogen-derived elicitors // *PLoS Biol.* – 2007. – V. 5, No 3. – Art. e68, P. 0501–0514. – doi: 10.1371/journal.pbio.0050068.
60. *Caplan J.L., Mamillapalli P., Burch-Smith T.M., Czymmek K., Dinesh-Kumar S.P.* Chloroplastic protein NRIP1 mediates innate immune receptor recognition of a viral effector // *Cell.* – 2008. – V. 132, No 3. – P. 449–462.
61. *Komatsu K., Hashimoto M., Ozeki J., Yamaji Y., Maejima K., Senshu H., Himeno M., Okano Y., Kagiwada S., Namba S.* Viral-induced systemic necrosis in plants involves both programmed cell death and the inhibition of viral multiplication, which are regulated by independent pathways // *Mol. Plant Microbe Interact.* – 2010. – V. 23, No 3. – P. 283–293.
62. *Lyapina S., Cope G., Shevchenko A., Serino G., Tsuge T., Zhou C., Wolf D.A., Wei N., Shevchenko A., Deshaies R.J.* Promotion of NEDD8-CUL1 conjugate cleavage by COP9 signalosome // *Science.* – 2001. – V. 292. – P. 1382–1385.
63. *Liu Y., Schiff M., Serino G., Deng X.-W., Dinesh-Kumar S.P.* Role of SCF ubiquitin-ligase and the COP9 signalosome in the *N* gene-mediated resistance response to tobacco mosaic virus // *Plant Cell.* – 2002. – V. 14, No 7. – P. 1483–1496.
64. *Botër M., Amigues B., Peart J., Breuer C., Kadota Y., Casais C., Moore G., Kleanthous C., Ochsenbein F., Shirasu K., Guerois R.* Structural and functional analysis of SGT1 reveals that its interaction with HSP90 is required for the accumulation of Rx, an R protein involved in plant immunity // *Plant Cell.* – 2007. – V. 19, No 11. – P. 3791–3804.
65. *Hubert D.A., Tornero P., Belkhadir Y., Krishna P., Takahashi A., Shirasu K., Dangl J.L.* Cytosolic HSP90 associates with and modulates the Arabidopsis RPM1 disease resistance protein // *EMBO J.* – 2003. – V. 22, No 21. – P. 5679–5689.
66. *Холл М.А., Новикова Г.В., Мошков И.Е., Мур Л.А.Дж., Смит А.Р.* Протеинкиназы растений в трансдукции абиотических и биотических сигналов // *Физиология растений.* – 2002. – Т. 49, № 1. – С. 121–135.

67. Treisman R. Regulation of transcription by MAP kinase cascades // *Curr. Opin. Cell Biol.* – 1996. – V. 8, No 2. – P. 205–215.
68. Neer E.J. Heterotrimeric G proteins: organizers of transmembrane signals // *Cell.* – 1995. – V. 80, No 2. – P. 249–257.
69. Котельникова И.М., Некрасов Э.В., Крылов А.В. Влияние вируса табачной мозаики на содержание фосфолипидов и активность фосфолипазы D в листьях табака // *Физиология растений.* – 2004. – Т. 51, № 1. – С. 73–79.
70. Ritchie S., Gilroy S. Abscisic acid signal transduction in the barley aleurone is mediated by phospholipase D activity // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1998. – V. 95, No 5. – P. 2697–2702.
71. van der Luit A.H., Piatti T., van Doorn A., Musgrave A., Felix G., Boller T., Munnik T. Elicitation of suspension-cultured tomato cells triggers the formation of phosphatidic acid and diacylglycerol pyrophosphate // *Plant Physiol.* – 2000. – V. 123, No 4. – P. 1507–1516.
72. Conconi A.M., Browse J.A., Ryan C.A. Intracellular levels of free linolenic and linoleic acids increase in tomato leaves in response of wounding // *Plant Physiol.* – 1996. – V. 111, No 3. – P. 797–803.
73. Künstler A., Király L., Pogány M., Tóbiás I., Gullner G. Lipoxygenase and glutathione peroxidase activity in tobacco leaves inoculated with tobacco mosaic virus // *Acta Phytopathol. Entomol. Hung.* – 2007. – V. 42, No 2. – P. 197–207.
74. Тарчевский И.А. Элиситор-индуцируемые сигнальные системы и их взаимодействие // *Физиология растений.* – 2000. – Т. 47, № 2. – С. 321–331.
75. Sanders R.A., Hiatt W. Tomato transgene structure and silencing // *Nat. Biotechnol.* – 2005. – V. 23, No 3. – P. 287–289. – doi:10.1038/nbt0305-287b.
76. Romeis T., Piedras P., Jones J.D.G. Resistance gene-dependent activation of a calcium-dependent protein kinase in the plant defense response // *Plant Cell.* – 2000. – V. 12, No 5. – P. 803–816.
77. Choi H.W., Lee D.H., Hwang B.K. The pepper calmodulin gene *CaCaMI* is involved in reactive oxygen species and nitric oxide generation required for cell death and the defense response // *Mol. Plant Microbe Interact.* – 2009. – V. 22, No 11. – P. 1389–1400.
78. Delledonne M. NO news is good news for plants // *Curr. Opin. Plant Biol.* – 2005. – V. 8, No 4. – P. 390–396.
79. Durner J., Wendehenne D., Klessig D.F. Defense gene induction in tobacco by nitric oxide, cyclic GMP and cyclic ADP-Ribose // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1998. – V. 95, No 17. – P. 10328–10333.
80. Fu L.-J., Shi K., Gu M., Zhou Y.-H., Dong D.-K., Liang W.-S., Song F.-M., Yu J.-Q. Systemic induction and role of mitochondrial alternative oxidase and nitric oxide in a compatible tomato-tobacco mosaic virus interaction // *Mol. Plant Microbe Interact.* – 2010. – V. 23, No 1. – P. 39–48.
81. Kadota Y., Goh T., Tomatsu H., Tamauchi R., Higashi K., Muto S., Kuchitsu K. Cryptogein-induced initial events in tobacco BY-2 cells: pharmacological characterization of molecular relationship among cytosolic Ca<sup>2+</sup> transients, anion efflux and production of reactive oxygen species // *Plant Cell Physiol.* – 2004. – V. 45, No 2. – P. 160–170. – doi: 10.1093/pcp/pch020.
82. Roos W., Viehweger K., Dordschbal B., Schumann B., Evers S., Steighardt J., Schwartze W. Intracellular pH signals in the induction of secondary pathways – The case of *Eschscholzia californica* // *J. Plant Physiol.* – 2006. – V. 163, No 3. – P. 369–381.
83. Pontier D., Mittler R., Lam E. Mechanism of cell death and disease resistance induction by transgenic expression of bacterio-opsin // *Plant J.* – 2002. – V. 30, No 5. – P. 499–509.

84. Gold S.E., Brogdon S.M., Mayorga M.E., Kronstad J.W. The *Ustilago maydis* regulatory subunit of a cAMP-dependent protein kinase is required for gall formation in maize // *Plant Cell*. – 1997. – V. 9, No 9. – P. 1585–1594.
85. Volotovskii I.D., Sokolovsky S.G., Molchan O.V., Knight M.R. Second messengers mediate increases in cytosolic calcium in tobacco protoplasts // *Plant Physiol*. – 1998. – V. 117, No 3. – P. 1023–1030.
86. Rakhshandehroo F., Takeshita M., Squires J., Palukaitis P. The influence of RNA-dependent RNA polymerase 1 on potato virus Y infection and on other antiviral response genes // *Mol. Plant Microbe Interact*. – 2009. – V. 22, No 10. – P. 1312–1318.
87. Margis R., Fusaro A.F., Smith N.A., Curtin S.J., Watson J.M., Finnegan E.J., Waterhouse P.M. The evolution and diversification of Dicers in plants // *FEBS Lett*. – 2006. – V. 580, No 10. – P. 2442–2450.
88. Kurihara Y., Watanabe Y. *Arabidopsis* micro-RNA biogenesis through Dicer-like 1 protein functions // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2004. – V. 101, No 34. – P. 12753–12758.
89. Park M.Y., Wu G., Gonzalez-Sulser A., Vaucheret H., Poethig R.S. Nuclear processing and export of microRNAs in *Arabidopsis* // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. – 2005. – V. 102, No 10. – P. 3691–3696.
90. Kurihara Y., Takashi Y., Watanabe Y. The interaction between DCL1 and HYL1 is important for efficient and precise processing of pri-miRNA in plant microRNA biogenesis // *RNA*. – 2006. – V. 12, No 2. – P. 206–212.
91. Wassenegger M., Heimes S., Riedel L., Sanger H.L. RNA-directed de novo methylation of genomic sequences in plants // *Cell*. – 1994. – V. 76, No 3. – P. 567–576.
92. Mette M.F., Aufsatz W., van der Winden J., Matzke M.A., Matzke A.J. Transcriptional silencing and promoter methylation triggered by double-stranded RNA // *EMBO J*. – 2000. – V. 19, No 19. – P. 5194–5201.
93. Zilberman D., Cao X., Jacobsen S.E. Argonaute control of locus-specific siRNA accumulation and DNA and histone methylation // *Science*. – 2003. – V. 299. – P. 716–719.
94. Matzke M., Aufsatz W., Kanno T., Daxinger L., Papp I., Mette M. F., Matzke A. J. Genetic analysis of RNA-mediated transcriptional gene silencing // *Biochim. Biophys. Acta*. – 2004. – V. 1677, No 1–3. – P. 129–141.
95. Tournier B., Tabler M., Kalantidis K. Phloem flow strongly influences the systemic spread of silencing in GFP *Nicotiana benthamiana* plants // *Plant J*. – 2006. – V. 47, No 3. – P. 383–391.
96. Dunoyer P., Himber C., Voinnet O. DICER-LIKE 4 is required for RNA interference and produces the 21-nucleotide small interfering RNA component of the plant cell-to-cell silencing signal // *Nat. Genet*. – 2005. – V. 37, No 12. – P. 1356–1360.
97. Haywood V., Yu T.S., Huang N.C., Lucas W.J. Phloem long-distance trafficking of gibberellic acid-insensitive RNA regulates leaf development // *Plant J*. – 2005. – V. 42, No 1. – P. 49–68.
98. Yoo B.-C., Kragler F., Varkonyi-Gasic E., Haywood V., Archer-Evans S., Lee Y.M., Lough T.J., Lucas W.J. A systemic small RNA signaling system in plants // *Plant Cell*. – 2004. – V. 16, No 8. – P. 1979–2000.
99. Shams-Bakhsh M., Canto T., Palukaitis P. Enhanced resistance and neutralization of defense responses by suppressors of RNA silencing // *Virus Res*. – 2007. – V. 130, No 1–2. – P. 103–109.
100. Wu H.-W., Lin S.-S., Chen K.-C., Yeh S.-D., Chua N.-H. Discriminating mutations of HC-Pro of *Zucchini yellow mosaic virus* with differential effects on small RNA pathways involved in viral pathogenicity and symptom development // *Mol. Plant Microbe Interact*. – 2010. – V. 23, No 1. – P. 17–28. – doi: 10.1094/MPMI-23-1-0017.

101. *Bucher E., Prins M.* RNA silencing: a natural resistance mechanism in plants // *Natural Resistance Mechanisms of Plants to Viruses* / Ed. G. Loebeinstein, J. Carr. – Springer, 2006. – P. 45–72.
102. *Дорохов Ю.Л.* «Умолкание» генов у растений // *Мол. биол.* – 2007. – Т. 41, № 4. – С. 579–592.
103. *Bayne E.H., Rakitina D.V., Morozov S.Y., Baulcombe D.C.* Cell-to-cell movement of potato potyvirus X is dependent on suppression of RNA silencing // *Plant J.* – 2005. – V. 44, No 3. – P. 471–482.
104. *Bartel D.P.* MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function // *Cell.* – 2004. – V. 116, No 2. – P. 281–297.
105. *Chapman E.J., Prokhnevsky A.I., Gopinath K., Dolja V.V., Carrington J.C.* Viral RNA silencing suppressors inhibit the microRNA pathway at an intermediate step // *Genes Dev.* – 2004. – V. 18, No 10. – P. 1179–1186.
106. *Jones-Rhoades M.W., Bartel D.P., Bartel B.* MicroRNAs and their regulatory roles in plants // *Annu. Rev. Plant Biol.* – 2006. – V. 57. – P. 19–53.
107. *Zhang B., Pan X., Cobb G.P., Anderson T.A.* Plant microRNA: a small regulatory molecule with big impact // *Dev. Biol.* – 2006. – V. 289, No 1. – P. 3–16.
108. *Шiao И., Жу Ж.Л., Тянь Х.К., Вань К.Г., Лин К.Д., Жу Б.З., Кси И.Х., Люо И.В.* Вирус-индуцируемое умолкание генов растений // *Физиология растений.* – 2008. – Т. 55, № 2. – С. 184–191.
109. *Stram Y., Kuzntzova L.* Inhibition of viruses by RNA interference // *Virus Genes.* – 2006. – V. 32, No 3. – P. 299–306. – doi: 10.1007/s11262-005-6914-0.
110. *Blevins T., Rajeswaran R., Shivaprasad P.V., Beknazariants D., Si-Ammour A., Park H.S., Vazquez F., Robertson D., Meins F. Jr., Hohn T., Pooggin M.M.* Four plant Dicers mediate viral small RNA biogenesis and DNA virus induced silencing // *Nucleic Acids Res.* – 2006. – V. 34, No 21. – P. 6233–6246. – doi:10.1093/nar/gkl886.
111. *Palauqui J., Elmayan T., Pollien J., Vaucheret H.* Systemic acquired silencing: transgene-specific post-transcriptional silencing is transmitted by grafting from silenced stocks to non-silenced scions // *EMBO J.* – 1996. – V. 16, No 15. – P. 4738–4745. – doi: 10.1093/emboj/16.15.4738.
112. *Voinnet O.* RNA silencing as a plant immune system against viruses // *Trends Genet.* – 2001. – V. 17, No 8. – P. 449–459. – doi: 10.1016/S0168-9525(01)02367-8.
113. *Lucy A., Guo H., Li W., Ding S.* Suppression of post-transcriptional gene silencing by a plant viral protein localized in the nucleus // *EMBO J.* – 2000. – V. 19, No 7. – P. 1672–1680. – doi: 10.1093/emboj/19.7.1672.
114. *Mérai Z., Kerényi Z., Kertész S., Magna M., Lakatos L., Silhavy D.* Double-stranded RNA binding may be a general plant RNA viral strategy to suppress RNA silencing // *J Virol.* – 2006. – V. 80, No 12. – P. 5747–5756. – doi: 10.1128/JVI.01963-05.
115. *Katiyar-Agarwal S., Morgan R., Dahlbeck D., Borsani O., Villegas A., Zhu J., Staskawicz B., Jin H.* A pathogen-inducible endogenous siRNA in plant immunity // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2006. – V. 103, No 47. – P. 18002–18007. – doi: 10.1073/pnas.0608258103.
116. *Sunilkumar G., Campbell L., Puckhaber L., Stipanovic R., Rathore K.* Engineering cottonseed for use in human nutrition by tissue-specific reduction of toxic gossypol // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 2006. – V. 103, No 48. – P. 18054–18059. – doi: 10.1073/pnas.0605389103.
117. *Le L.Q., Lorenz Y., Scheurer S., Fötisch K., Enrique E., Bartra J., Biemelt S., Vieths S., Sonnewald U.* Design of tomato fruits with reduced allergenicity by dsRNAi-mediated inhibition of ns-LTP (Lyc e 3) expression // *Plant Biotechnol. J.* – 2006. – V. 4, No 2. – P. 231–242. – doi: 10.1111/j.1467-7652.2005.00175.x.

118. *Gavilano L., Coleman N., Burnley L., Bowman M., Kalengamaliro N., Hayes A., Bush L., Siminszky B.* Genetic engineering of *Nicotiana tabacum* for reduced nicotine content // *J. Agric. Food Chem.* – 2006. – V. 54, No 24. – P. 9071–9078. – doi: 10.1021/jf0610458.
119. *Zadeh A.H., Foster G.D.* Transgenic resistance to tobacco ringspot virus // *Acta Virol.* – 2004. – V. 48, No 3. – P. 145–152.
120. *Niggeweg R., Michael A., Martin C.* Engineering plants with increased levels of the antioxidant chlorogenic acid // *Nat. Biotechnol.* – 2004. – V. 22, No 6. – P. 746–754. – doi: 10.1038/nbt966.
121. *Sanders R., Hiatt W.* Tomato transgene structure and silencing // *Nat. Biotechnol.* – 2005. – V. 23, No 3. – P. 287–289. – doi: 10.1038/nbt0305-287b.
122. *Chiang C., Wang J., Jan F., Yeh S., Gonsalves D.* Comparative reactions of recombinant papaya ringspot viruses with chimeric coat protein (CP) genes and wild-type viruses on CP-transgenic papaya // *J. Gen. Virol.* – 2001. – V. 82, Pt. 11. – P. 2827–2836.
123. *Lin T., Clark A.J., Chen Z., Shanks M., Dai J.B., Li Y., Schmidt T., Oxelfelt P., Lomonosoff G.P., Johnson J.E.* Structural fingerprinting: subgrouping of comoviruses by structural studies of red clover mottle virus to 2.4-Å resolution and comparisons with other comoviruses // *J. Virol.* – 2000. – V. 74, No 1. – P. 493–504.
124. *Reichert V.L., Choi M., Petrillo J.E., Gehrke L.* Alfalfa mosaic virus coat protein bridges RNA and RNA-dependent RNA polymerase in vitro // *Virology.* – 2007. – V. 364, No 1. – P. 214–226.
125. *Verchot-Lubicz J., Ye Ch.-M., Bamunusinghe D.* Molecular biology of potexviruses: recent advances // *J. Gen. Virol.* – 2007. – V. 88, Pt. 6. – P. 1643–1655.
126. *Келдыш М.А., Помазков Ю.И.* Вирусы, вириды и микоплазмы растений. – М.: Изд-во Рос. ун-та дружбы народов, 2003. – 99 с.
127. *Kumar R., Sharma N., Nath M., Saffran H.A., Tyrrell L.J.D.* Synthesis and antiviral activity of novel acyclic nucleoside analogues of 5-(1-azido-2-haloethyl)uracils // *J. Med. Chem.* – 2001. – V. 44, No 24. – P. 4225–4229.
128. *Cheng J., Xie J., Luo X.* Synthesis and antiviral activity against Coxsackie virus B3 of some novel benzimidazole derivatives // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 2005. – V. 15, No 2. – P. 267–269.
129. *Alamillo J.M., Saénz P., García J.A.* Salicylic acid-mediated and RNA-silencing defense mechanisms cooperate in the restriction of systemic spread of plum pox virus in tobacco // *Plant J.* – 2006. – V. 48, No 2. – P. 217–227.
130. *Zingarelli L., Marre M.T., Massardi F., Lado P.* Effects of hyper-osmotic stress on K<sup>+</sup> fluxes, H<sup>+</sup> extrusion, transmembrane electric potential difference and comparison with the effects of fusicoccin // *Physiol. Plantarum.* – 1999. – V. 106, No 3. – P. 287–295.
131. *Ozçelik B., Aslan M., Orhan I., Karaoglu T.* Antibacterial, antifungal, and antiviral activities of the lipophylic extracts of *Pistacia vera* // *Microbiol Res.* – 2005. – V. 160, No 2. – P. 159–164.
132. *Чирков С.Н.* Противовирусная активность хитозана (Обзор) // *Прикл. биохимия и микробиол.* – 2002. – Т. 38, № 1. – С. 5–13.
133. *Рейфман Г.В.* Энзиматическая активность в листьях растений под влиянием вирусов и терапевтическое действие рибонуклеазы // *Сельскохозяйственная биология.* – 1979. – Т. 14, Вып. 2. – С. 217–219.
134. *Diener T.O.* Viral infection and other factors affecting ribonuclease activity of plant leaves // *Virology.* – 1961. – V. 14, No 2. – P. 177–189.
135. *Zhou W.W., Zhang L.X., Zhang B., Wang F., Liang Z.H., Niu T.G.* Isolation and characterization of ZH14 with antiviral activity against *Tobacco mosaic virus* // *Can. J Microbiol.* – 2008. – V. 54, No 6. – P. 441–449. – doi: 10.1139/w08-026.

136. Zhou W.W., Niu T.G. Purification and some properties of an extracellular ribonuclease with antiviral activity against tobacco mosaic virus from *Bacillus cereus* // *Biotechnol. Lett.* – 2009. – V. 31, No 1. – P. 101–105.
137. Zhou W.W., He Y.L., Niu T.G., Zhong J.J. Optimization of fermentation conditions for production of anti-TMV extracellular ribonuclease by *Bacillus cereus* using response surface methodology // *Bioprocess Biosyst. Eng.* – 2010. – V. 33, No 6. – P. 657–663. – doi: 10.1007/s00449-009-0330-0.
138. Strittmatter G., Goethals K., Van Montagu M. Strategies to engineer plants resistant to bacterial and fungal diseases // *Subcell. Biochem.* – 1998. – V. 29. – P. 191–213.
139. Tripathi S., Suzuki J., Gonsalves D. Development of genetically engineered resistant papaya for papaya ringspot virus in a timely manner: a comprehensive and successful approach // *Methods Mol. Biol.* – 2007. – V. 354. – P. 197–240.
140. Fan M.J., Chen S., Kung Y.J., Cheng Y.H., Bau H.J., Su T.T., Yeh S.D. Transgene-specific and event-specific molecular markers for characterization of transgenic papaya lines resistant to *Papaya ringspot virus* // *Transgenic Res.* – 2009. – V. 18, No 6. – P. 971–986. – doi: 10.1007/s11248-009-9287-7.
141. Thomas P.E., Lawson E.C., Zalewski J.C., Reed G.L., Kaniewski W.K. Extreme resistance to *Potato leafroll virus* in potato cv. Russet Burbank mediated by the viral replicase gene // *Virus Res.* – 2000. – V. 71, No 1–2. – P. 49–62.
142. Ehrenfeld N., Romano E., Serrano C., Arce-Johnson P. Replicase mediated resistance against potato leafroll virus in potato Désirée plants // *Biol. Res.* – 2004. – V. 37, No 1. – P. 71–82.
143. Solovyev A.G., Zelenina D.A., Savenkov E.I., Grdzlishvili V.Z., Morozov S.Y., Maiss E., Casper R., Atabekov J.G. Host-controlled cell-to-cell movement of a hybrid barley stripe mosaic virus expressing a dianthovirus movement protein // *Intervirology.* – 1997. – V. 40, No 1. – P. 1–6.
144. Sudarshana M.R., Roy G., Falk B.W. Methods for engineering resistance to plant viruses // *Methods Mol. Biol.* – 2007. – V. 354. – P. 183–195.
145. Whitham S., McCormick S., Baker B. The *N* gene of tobacco confers resistance to tobacco mosaic virus in transgenic tomato // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1996. – V. 93, No 16. – P. 8776–8781.
146. Xie X., Xia J., He K., Lu L., Xu Q., Chen N. Low-molecular-mass purine nucleoside phosphorylase: characterization and application in enzymatic synthesis of nucleoside antiviral drugs // *Biotechnol. Lett.* – 2011. – V. 33, No 6. – P. 1107–1112.
147. Martins N.H., Meza A.N., Santos C.R., de Giuseppe P.O., Murakami M.T. Molecular cloning, overexpression, purification, crystallization and preliminary X-ray diffraction analysis of a purine nucleoside phosphorylase from *Bacillus subtilis* strain 168 // *Acta Crystallogr. Sect. F. Struct. Biol. Cryst. Commun.* – 2011. – V. 67, Pt. 5. – P. 618–622.
148. Arena A., Maugeri T.L., Pavone B., Iannello D., Gugliandolo C., Bisignano G. Antiviral and immunoregulatory effect of a novel exopolysaccharide from a marine thermotolerant *Bacillus licheniformis* // *Int. Immunopharmacol.* – 2006. – V. 6, No 1. – P. 8–13.
149. Sansinenea E., Ortiz A. Secondary metabolites of soil *Bacillus* spp. // *Biotechnol. Lett.* – 2011. – V. 33, No 8. – P. 1523–1538.

**Шарипова Маргарита Рашидовна** – доктор биологических наук, профессор кафедры микробиологии, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия.

E-mail: *marsharipova@gmail.com*

**Балабан Нэлли Павловна** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник кафедры микробиологии, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия.

E-mail: *nellybalaban@yandex.ru*

**Марданова Айслу Миркасымовна** – кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия.

E-mail: *mardanovaayslu@mail.ru*

**Нямсүрэн Чулуунцэцэг** – аспирант кафедры микробиологии, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия.

E-mail: *chuka\_ch@mail.ru*

**Валеева Лия Рашитовна** – студент кафедры микробиологии, Казанский (Приволжский) федеральный университет, г. Казань, Россия.

E-mail: *lia2107@yandex.ru*

\* \* \*

## MECHANISMS OF PLANT RESISTANCE TO INFECTIONS

*M.R. Sharipova, N.P. Balaban, A.M. Mardanova, Ch. Nyamsuren, L.R. Valeeva*

### Abstract

This paper deals with the ways of protecting plants against viral infections. The mechanisms of formation of plant resistance to pathogens are described. An attempt is made to estimate the role of PR-proteins induced in plant cells under pathogenesis. The application of chemicals, probiotics and bacterial enzymes in antiviral therapy is discussed. The importance of using microbial technologies in plant protection is emphasized.

**Keywords:** phytopathogenic viruses, plant resistance, RNA interference, phytotherapy, PR-proteins, antiviral phytotherapy.

### References

1. Soosaar J.L., Burch-Smith T.M., Dinesh-Kumar S.P. Mechanisms of plant resistance to viruses. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2005, vol. 3, no. 10, pp. 789–798.
2. Prins M., Laimer M., Noris E., Schubert J., Wassenegger M., Tepfer M. Strategies for antiviral resistance in transgenic plants. *Mol. Plant Pathol.*, 2008, vol. 9, no. 1, pp. 73–83.
3. Kuznetsov V.B., Dmitrieva G.A. Plant Physiology. Moscow, Vyssh. shkola, 2006. 774 p. (In Russian)
4. Orhan D.D., Ozçelik B., Ozgen S., Ergun F. Antibacterial, antifungal, and antiviral activities of some flavonoids. *Microbiol. Res.*, 2010, vol. 165, no. 6, pp. 496–504.
5. Valueva T.A., Mosolov V.V. The role of inhibitors of proteolytic enzymes in plant protection. *Usp. Biol. Khim.*, 2002, vol. 42, pp. 193–216. (In Russian)
6. Kim Y., Narayanan S., Chang K.O. Inhibition of influenza virus replication by plant-derived isoquercetin. *Antiviral. Res.*, 2010, vol. 88, no. 2, pp. 227–235.
7. Castilla V., Ramirez J., Coto C.E. Plant and animal steroids a new hope to search for antiviral agents. *Curr. Med. Chem.*, 2010, vol. 17, no. 18, pp. 1858–1873.
8. Kang K.D., Cho Y.S., Song J.H., Park Y.S., Lee J.Y., Hwang K.Y., Rhee S.K., Chung J.H., Kwon O., Seong S.I. Identification of the genes involved in 1-deoxynojirimycin synthesis in *Bacillus subtilis* MORI 3K-85. *J. Microbiol.*, 2011, vol. 49, no. 3, pp. 431–440. doi: 10.1007/s12275-011-1238-3.

9. Hernández I., Portieles R., Chacón O., Borrás-Hidalgo O. Proteins and peptides for the control of phytopathogenic fungi. *Biotechnol. Aplicada*, 2005, vol. 22, no. 4, pp. 256–260.
10. Okinaka Y., Mimori K., Takeo S., Yoshikawa M. A structural model for the mechanisms of elicitor release from fungal cell walls by plant  $\beta$ -1,3-endoglucanase. *Plant Physiol.*, 1995, vol. 109, no. 3, pp. 839–845.
11. Shinshi H., Neuhaus J.-M., Ryals J., Meins F. Structure of a tobacco endochitinase gene: evidence that different chitinase genes can arise by transposition of sequences encoding a cysteine-rich domain. *Plant Mol. Biol.*, 1990, vol. 14, no. 3, pp. 357–368.
12. Pan S.Q., Ye X.S., Kuc J. Induction of chitinases in tobacco plants systemically protected against blue mold by peronospora-tabacina or tobacco mosaic-virus. *Phytopathology*, 1992, vol. 82, no. 1, pp. 119–123.
13. Velazhahan R., Datta S.K., Muthukrishnan S. The PR-5 family: thaumatin-like proteins. *Pathogenesis-Related Proteins in Plants* (Ed. S.K. Datta, S. Muthukrishnan). Boca Raton, CRC Press, 1999, pp. 107–129.
14. Kauffman S., Legrand M., Fritig B. Isolation and characterization of six pathogenesis-related (PR) proteins of Samsun NN tobacco. *Plant Mol. Biol.*, 1990, vol. 14, no. 3, pp. 381–390.
15. Sehgal O.P., Rieger R., Mohammed F. Induction of bean PR-4d-type protein in divergent plant species after infection with tobacco ring spot virus and its relationship with tobacco PR-5. *Phytopathology*, 1991, vol. 81, no. 2, pp. 215–219.
16. Dempsey D.M., Wobbe K., Klessig D.F. Resistance and susceptible responses of *Arabidopsis thaliana* to turnip crinkle virus. *Phytopathology*, 1993, vol. 83, no. 10, pp. 1021–1029.
17. Ruiz-Medrano R., Jimenez-Moraila B., Herrera-Estrella L., Rivera-Bustamante R.F. Nucleotide sequence of an osmotin-like cDNA induced in tomato during viroid infection. *Plant Mol. Biol.*, 1992, vol. 20, no. 6, pp. 1199–1202.
18. Kim M.J., Ham B.-K., Kim H.R., Lee I.-J., Kim Y.J., Ryu K.H., Park Y.I., Paek K.-H. In vitro and in planta interaction evidence between *Nicotiana tabacum* thaumatin-like protein 1 (TLPI) and *Cucumber mosaic virus* proteins. *Plant Mol. Biol.*, 2005, vol. 59, no. 6, pp. 981–994.
19. Revina T.A., Parfenov I.A., Gvozdeva E.L., Gerasimova N.G., Valueva T.A. A Chymotrypsin and trypsin inhibitor from potato tubers. *Prikl. Biokhim. Mikrobiol.*, 2011, vol. 47, no. 3, pp. 265–272.
20. Pernas M., Sánchez-Monge R., Salcedo G. Biotic and abiotic stress can induce cystatin expression in chestnut. *FEBS Lett.*, 2000, vol. 467, no. 2–3, pp. 206–210.
21. Abdeen A., Virgós A., Olivella E., Villanueva J., Avilés X., Gabarra R., Prat S. Multiple insect resistance in transgenic tomato plants overexpressing two families of plant proteinase inhibitors. *Plant Mol. Biol.*, 2005, vol. 57, no. 2, pp. 189–202.
22. Park K.-S., Cheong J.-J., Lee S.-J., Suh M.-C., Choi D. A novel proteinase inhibitor gene transiently induced by tobacco mosaic virus infection. *Biochim. Biophys. Acta*, 2000, vol. 1492, no. 2–3, pp. 509–512.
23. Ebner C., Hoffmann-Sommergruber K., Breiteneder H. Plant food allergens homologous to pathogenesis-related proteins. *Allergy*, 2001, vol. 56, Suppl. 67, pp. 43–44.
24. Vera P., Conejero V. Pathogenesis-related proteins of tomato. P-69 as an alkaline endoproteinase. *Plant Physiol.*, 1988, vol. 87, no. 1, pp. 58–63.
25. Rodrigo I., Vera P., Conejero V. Degradation of tomato pathogenesis-related proteins by an endogenous 37-kDa aspartyl endoproteinase. *Eur. J. Biochem.*, 1989, vol. 184, no. 3, pp. 663–669.
26. Lusso M., Kuć J. Increased activities of ribonuclease and protease after challenge in tobacco plants with induced systemic resistance. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 1995, vol. 47, no. 6, pp. 419–428.
27. Park J., Gu Y., Lee Yu., Yang Z., Lee Yo. Phosphatidic acid induces leaf cell death in *Arabidopsis* by activating the Pho-related small G protein GTPase-mediated pathway of reactive oxygen species generation. *Plant Physiol.*, 2004, vol. 134, no. 1, pp. 129–136.
28. Eulgem T., Rushton P.J., Schmelzer E., Hahlbrock R., Somssich I.E. Early nuclear events in plant defence signalling: rapid gene activation by WRKY transcription factors. *EMBO J.*, 1999, vol. 18, no. 17, pp. 4689–4699. doi: 10.1093/emboj/18.17.4689.

29. Trifonova E.A., Kochetov A.V., Shumnyi V.K. Molecular mechanisms of plants' systemic resistance to viral infections and the methods for improving virus-resistance by transgenesis. *Usp. Sovrem. Biol.*, 2007, vol. 127, no. 1, pp. 13–24. (In Russian)
30. Fant F., Vranken W., Broekaert W.F., Borremans F. Determination of the three-dimensional solution structure of *Raphanus sativus* antifungal protein 1 by 1 H NMR. *J. Mol. Biol.*, 1998, vol. 279, no. 1, pp. 257–270.
31. Da Silva Conceição A., Broekaert W.F. Plant defensins. *Pathogenesis-related proteins in plants* (Ed. S.K. Datta, S. Muthukrishnan). Boca Raton, CRC Press, 1999, pp. 247–260.
32. Terras F.R.G., Eggemont K., Kovaleva V., Raikhel N.V., Osborn R.W., Kester A., Rees S.B., Torrekens S., Van Leuven F., Vanderleyden J., Cammue B.P.A., Broekaert W.F. Small cysteine-rich antifungal proteins from radish: their role in host defense. *Plant Cell*, 1995, vol. 7, no. 5, pp. 573–588.
33. Bohlmann H. The role of thionins in the resistance of plants. *Pathogenesis-related proteins in plants* (Ed. S.K. Datta, S. Muthukrishnan). Boca Raton, CRC Press, 1999, pp. 207–234.
34. Thevissen K., Ghazi A., De Samblanx G.W., Brownlee C., Osborn R.W., Broekaert W.F. Fungal membrane responses induced by plant defensins and thionins. *J. Biol. Chem.*, 1996, vol. 271, no. 25, pp. 15018–15025.
35. Arondel V., Vergnolle C., Cantrel C., Kader J.-C. Lipid transfer proteins are encoded by a small multigene family in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Sci.*, 2000, vol. 157, no. 1, pp. 1–12.
36. Nieuwland J., Feron R., Huisman B.A., Fasolino A., Hilbers C.W., Derksen J., Mariani C. Lipid transfer proteins enhance cell wall extension in tobacco. *Plant Cell*, 2005, vol. 17, no. 7, pp. 2009–2019.
37. Gaudet D.A., Laroche A., Frick M., Huel R., Puchalski B. Cold induced expression of plant defensin and lipid transfer protein transcripts in winter wheat. *Physiol. Plantarum*, 2003, vol. 117, no. 2, pp. 195–205.
38. Ge X., Chen J., Li N., Lin Y., Sun C., Cao K. Resistance function of rice lipid transfer protein LTP110. *J. Biochem. Mol. Biol.*, 2003, vol. 36, no. 6, pp. 603–607.
39. Regente M.C., Giudici A.M., Villalain J., de la Canal L. The cytotoxic properties of a plant lipid transfer protein involve membrane permeabilization of target cells. *Lett. Appl. Microbiol.*, 2005, vol. 40, no. 3, pp. 183–189.
40. Park C.J., Shin R., Park J.M., Lee G.J., You J.S., Paek K.-H. Induction of pepper cDNA encoding a lipid transfer protein during the resistance response to tobacco mosaic virus. *Plant Mol. Biol.*, 2002, vol. 48, no. 3, pp. 243–254.
41. Grunwald I., Rupprecht I., Schuster G., Kloppstech K. Identification of guttation fluid proteins: the presence of pathogenesis-related proteins in non-infected barley plants. *Physiol. Plantarum*, 2003, vol. 119, no. 2, pp. 192–202.
42. Bernier F., Berna A. Germins and germin-like proteins: plant do-all proteins. But what do they do exactly? *Plant Physiol. Biochem.*, 2001, vol. 39, no. 7–8, pp. 545–554.
43. Donaldson P.A., Anderson T., Lane B.G., Davidson A.L., Simmonds D.H. Soybean plants expressing an active oligomeric oxalate oxidase from the wheat *gf-2.8* (germin) gene are resistant to the oxalate-secreting pathogen *Sclerotinia sclerotiorum*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 2001, vol. 59, no. 6, pp. 297–307.
44. Christensen A.B., Thordal-Christensen H., Zimmermann G., Gjetting T., Lyngkjer M.F., Dudler R., Schweizer P. The germin-like protein GLP4 exhibits superoxide dismutase activity and is an important component of quantitative resistance in wheat and barley. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 2004, vol. 17, no. 1, pp. 109–117.
45. Lou Y., Baldwin I.T. Silencing of a germin-like gene in *Nicotiana attenuata* improves performance of native herbivores. *Plant Physiol.*, 2006, vol. 140, no. 3, pp. 1126–1136.
46. Okushima Y., Koizumi N., Kusano T., Sano H. Secreted proteins of tobacco cultured BY2 cells: identification of a new member of pathogenesis-related proteins. *Plant Mol. Biol.*, 2000, vol. 42, no. 3, pp. 479–488.
47. Görlach J., Volrath S., Knauf-Beiter G., Hengy G., Beckhove U., Kogel K.-H., Oostendorp M., Staub T., Ward E., Kessmann H., Ryals J. Benzothiadiazole, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. *Plant Cell*, 1996, vol. 8, no. 4, pp. 629–643.

48. Christensen A.B., Cho B.H., Næsby M., Gregersen P.L., Brandt J., Madriz-Ordeñana K., Collinge D.B., Thordal-Christensen H. The molecular characterization of two barley proteins establishes the novel PR-17 family of pathogenesis-related proteins. *Mol. Plant Pathol.*, 2002, vol. 3, no. 3, pp. 135–144. doi: 10.1046/j.1364-3703.2002.00105.x.
49. van Loon L.C., Rep M., Pieterse C.M. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 2006, vol. 44, pp. 135–162.
50. Custers J.H.H.V., Harrison S.J., Sela-Buurlage M.B., van Deventer E., Lageweg W., Howe P.W., van der Meijs P.J., Ponstein A.S., Simons B.H., Melchers L.S., Stuijver M.H. Isolation and characterization of a class of carbohydrate oxidases from higher plants, with a role in active defence. *Plant J.*, 2004, vol. 39, no. 2, pp. 147–160.
51. Ozeki J., Takahashi S., Komatsu K., Kagiwada S., Yamashita K., Mori T., Hirata H., Yamaji Y., Ugaki M., Namba S. A single amino acid in the RNA-dependent RNA polymerase of *Plantago asiatica* mosaic virus contributes to systemic necrosis. *Arch. Virol.*, 2006, vol. 151, no. 10, pp. 2067–2075.
52. Padmanabhan M.S., Shiferaw H., Culver J.N. The Tobacco mosaic virus replicase protein disrupts the localization and function of interacting Aux/IAA proteins. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 2006, vol. 19, no. 8, pp. 864–873.
53. Carr A.S., Cardwell C.R., McCarron P.O., McConville J. A systematic review of population based epidemiological studies in Myasthenia Gravis. *BMC Neurology*, 2010, vol. 10, Art. 46, pp. 1–9, doi: 10.1186/1471-2377-10-46.
54. Robaglia C., Caranta C. Translation initiation factors: a weak link in plant RNA virus infection. *Trends Plant Sci.*, 2006, vol. 11, no. 1, pp. 40–45.
55. Truniger V., Aranda M.A. Recessive resistance to plant viruses. *Adv. Virus Res.*, 2009, vol. 75, pp. 119–159. doi: 10.1016/S0065-3527(09)07504-6.
56. Bendahmane A., Farnham G., Moffett P., Baulcombe D.C. Constitutive gain-of-function mutants in a nucleotide binding site-leucine rich repeat protein encoded at the Rx locus of potato. *Plant J.*, 2002, vol. 32, no. 2, pp. 195–204.
57. Lanfermeijer F.C., Dijkhuis J., Sturre M.J., de Haan P., Hille J. Cloning and characterization of the durable tomato mosaic virus resistance gene Tm-2<sup>2</sup> from *Lycopersicon esculentum*. *Plant Mol. Biol.*, 2003, vol. 52, no. 5, pp. 1037–1049.
58. van Ooijen G., Mayr G., Kasiem M.M.A., Albrecht M., Cornelissen B.J.C., Takken F.L.W. Structure–function analysis of the NB-ARC domain of plant disease resistance proteins. *J. Exp. Bot.*, 2008, vol. 59, no. 6, pp. 1383–1397. doi: 10.1093/jxb/ern045.
59. Burch-Smith T.M., Schiff M., Caplan J.L., Tsao J., Czymmek K., Dinesh-Kumar S.P. A novel role for the TIR domain in association with pathogen-derived elicitors. *PLoS Biol.*, 2007, vol. 5, no. 3, Art. e68, pp. 0501–0514. doi: 10.1371/journal.pbio.0050068.
60. Caplan J.L., Mamillapalli P., Burch-Smith T.M., Czymmek K., Dinesh-Kumar S.P. Chloroplastic protein NRIP1 mediates innate immune receptor recognition of a viral effector. *Cell*, 2008, vol. 132, no. 3, pp. 449–462.
61. Komatsu K., Hashimoto M., Ozeki J., Yamaji Y., Maejima K., Senshu H., Himeno M., Okano Y., Kagiwada S., Namba S. Viral-induced systemic necrosis in plants involves both programmed cell death and the inhibition of viral multiplication, which are regulated by independent pathways. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 2010, vol. 23, no. 3, pp. 283–293.
62. Lyapina S., Cope G., Shevchenko A., Serino G., Tsuge T., Zhou C., Wolf D.A., Wei N., Shevchenko A., Deshaies R.J. Promotion of NEDD8-CUL1 conjugate cleavage by COP9 signalosome. *Science*, 2001, vol. 292, pp. 1382–1385.
63. Liu Y., Schiff M., Serino G., Deng X.-W., Dinesh-Kumar S.P. Role of SCF ubiquitin-ligase and the COP9 signalosome in the N gene-mediated resistance response to tobacco mosaic virus. *Plant Cell*, 2002, vol. 14, no. 7, pp. 1483–1496.
64. Botër M., Amigues B., Peart J., Breuer C., Kadota Y., Casais C., Moore G., Kleanthous C., Ochsenbein F., Shirasu K., Guerois R. Structural and functional analysis of SGT1 reveals that its interaction with HSP90 is required for the accumulation of Rx, an R protein involved in plant immunity. *Plant Cell*, 2007, vol. 19, no. 11, pp. 3791–3804.

65. Hubert D.A., Tornero P., Belkhadir Y., Krishna P., Takahashi A., Shirasu K., Dangl J.L. Cytosolic HSP90 associates with and modulates the Arabidopsis RPM1 disease resistance protein. *EMBO J.*, 2003, vol. 22, no. 21, pp. 5679–5689.
66. Hall M.A., Novikova G.V., Moshkov I.E., Mur L.A.J., Smith A.R. Plant protein kinases in transduction of abiotic and biotic signals. *Fiziologiya Rastenii*, 2002, vol. 49, no. 1, pp. 121–135. (In Russian)
67. Treisman R. Regulation of transcription by MAP kinase cascades. *Curr. Opin. Cell Biol.*, 1996, vol. 8, no. 2, pp. 205–215.
68. Neer E.J. Heterotrimeric G proteins: organizers of transmembrane signals. *Cell*, 1995, vol. 80, no. 2, pp. 249–257.
69. Kotelnikova I.M., Nekrasov E.V., Krylov A.V. Effect of tobacco mosaic virus on phospholipid content and phospholipase D activity in tobacco leaves. *Fiziologiya Rastenii*, 2004, vol. 51, no. 1, pp. 73–79. (In Russian)
70. Ritchie S., Gilroy S. Abscisic acid signal transduction in the barley aleurone is mediated by phospholipase D activity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998, vol. 95, no. 5, pp. 2697–2702.
71. van der Luit A.H., Piatti T., van Doorn A., Musgrave A., Felix G., Boller T., Munnik T. Elicitation of suspension-cultured tomato cells triggers the formation of phosphatidic acid and diacylglycerol pyrophosphate. *Plant Physiol.*, 2000, vol. 123, no. 4, pp. 1507–1516.
72. Conconi A.M., Browse J.A., Ryan C.A. Intracellular levels of free linolenic and linoleic acids increase in tomato leaves in response of wounding. *Plant Physiol.*, 1996, vol. 111, no. 3, pp. 797–803.
73. Künstler A., Király L., Pogány M., Tóbiás I., Gullner G. Lipoxygenase and glutathione peroxidase activity in tobacco leaves inoculated with tobacco mosaic virus. *Acta Phytopathol. Entomol. Hung.*, 2007, vol. 42, no. 2, pp. 197–207.
74. Tarchevskii I.A. Elicitor-induced signal systems and their interaction. *Fiziologiya rastenii*, 2000, vol. 47, no. 2, pp. 321–331. (In Russian)
75. Sanders R.A., Hiatt W. Tomato transgene structure and silencing. *Nat. Biotechnol.*, 2005, vol. 23, no. 3, pp. 287–289. doi:10.1038/nbt0305-287b.
76. Romeis T., Piedras P., Jones J.D.G. Resistance gene-dependent activation of a calcium-dependent protein kinase in the plant defense response. *Plant Cell*, 2000, vol. 12, no. 5, pp. 803–816.
77. Choi H.W., Lee D.H., Hwang B.K. The pepper calmodulin gene CaCaM1 is involved in reactive oxygen species and nitric oxide generation required for cell death and the defense response. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 2009, vol. 22, no. 11, pp. 1389–1400.
78. Delledonne M. NO news is good news for plants. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 2005, vol. 8, no. 4, pp. 390–396.
79. Durner J., Wendehenne D., Klessig D.F. Defense gene induction in tobacco by nitric oxide, cyclic GMP and cyclic ADP-Ribose. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998, vol. 95, no. 17, pp. 10328–10333.
80. Fu L.-J., Shi K., Gu M., Zhou Y.-H., Dong D.-K., Liang W.-S., Song F.-M., Yu J.-Q. Systemic induction and role of mitochondrial alternative oxidase and nitric oxide in a compatible tomato-tobacco mosaic virus interaction. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 2010, vol. 23, no. 1, pp. 39–48.
81. Kadota Y., Goh T., Tomatsu H., Tamauchi R., Higashi K., Muto S., Kuchitsu K. Cryptogein-induced initial events in tobacco BY-2 cells: pharmacological characterization of molecular relationship among cytosolic Ca<sup>2+</sup> transients, anion efflux and production of reactive oxygen species. *Plant Cell Physiol.*, 2004, vol. 45, no. 2, pp. 160–170. doi: 10.1093/pcp/pch020.
82. Roos W., Viehweger K., Dordschbal B., Schumann B., Evers S., Steighardt J., Schwartze W. Intracellular pH signals in the induction of secondary pathways – The case of *Eschscholzia californica*. *J. Plant Physiol.*, 2006, vol. 163, no. 3, pp. 369–381.
83. Pontier D., Mittler R., Lam E. Mechanism of cell death and disease resistance induction by transgenic expression of bacterio-opsin. *Plant J.*, 2002, vol. 30, no. 5, pp. 499–509.
84. Gold S.E., Brogdon S.M., Mayorga M.E., Kronstad J.W. The *Ustilago maydis* regulatory subunit of a cAMP-dependent protein kinase is required for gall formation in maize. *Plant Cell*, 1997, vol. 9, no. 9, pp. 1585–1594.
85. Volotovskii I.D., Sokolovskiy S.G., Molchan O.V., Knight M.R. Second messengers mediate increases in cytosolic calcium in tobacco protoplasts. *Plant Physiol.*, 1998, vol. 117, no. 3, pp. 1023–1030.

86. Rakhshandehroo F., Takeshita M., Squires J., Palukaitis P. The influence of RNA-dependent RNA polymerase 1 on potato virus Y infection and on other antiviral response genes. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 2009, vol. 22, no. 10, pp. 1312–1318.
87. Margis R., Fusaro A.F., Smith N.A., Curtin S.J., Watson J.M., Finnegan E.J., Waterhouse P.M. The evolution and diversification of Dicers in plants. *FEBS Lett.*, 2006, vol. 580, no. 10, pp. 2442–2450.
88. Kurihara Y., Watanabe Y. *Arabidopsis* micro-RNA biogenesis through Dicer-like 1 protein functions. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004, vol. 101, no. 34, pp. 12753–12758.
89. Park M.Y., Wu G., Gonzalez-Sulser A., Vaucheret H., Poethig R.S. Nuclear processing and export of microRNAs in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005, vol. 102, no. 10, pp. 3691–3696.
90. Kurihara Y., Takashi Y., Watanabe Y. The interaction between DCL1 and HYL1 is important for efficient and precise processing of pri-miRNA in plant microRNA biogenesis. *RNA*, 2006, vol. 12, no. 2, pp. 206–212.
91. Wassenegger M., Heimes S., Riedel L., Sanger H.L. RNA-directed de novo methylation of genomic sequences in plants. *Cell*, 1994, vol. 76, no. 3, pp. 567–576.
92. Mette M.F., Aufsatz W., van der Winden J., Matzke M.A., Matzke A.J. Transcriptional silencing and promoter methylation triggered by double-stranded RNA. *EMBO J.*, 2000, vol. 19, no. 19, pp. 5194–5201.
93. Zilberman D., Cao X., Jacobsen S.E. Argonaute control of locus-specific siRNA accumulation and DNA and histone methylation. *Science*, 2003, vol. 299, pp. 716–719.
94. Matzke M., Aufsatz W., Kanno T., Daxinger L., Papp I., Mette M. F., Matzke A. J. Genetic analysis of RNA-mediated transcriptional gene silencing. *Biochim. Biophys. Acta*, 2004, vol. 1677, no. 1–3, pp. 129–141.
95. Tournier B., Tabler M., Kalantidis K. Phloem flow strongly influences the systemic spread of silencing in GFP *Nicotiana benthamiana* plants. *Plant J.*, 2006, vol. 47, no. 3, pp. 383–391.
96. Dunoyer P., Himber C., Voinnet O. DICER-LIKE 4 is required for RNA interference and produces the 21-nucleotide small interfering RNA component of the plant cell-to-cell silencing signal. *Nat. Genet.*, 2005, vol. 37, no. 12, pp. 1356–1360.
97. Haywood V., Yu T.S., Huang N.C., Lucas W.J. Phloem long-distance trafficking of gibberellic acid-insensitive RNA regulates leaf development. *Plant J.*, 2005, vol. 42, no. 1, pp. 49–68.
98. Yoo B.-C., Kragler F., Varkonyi-Gasic E., Haywood V., Archer-Evans S., Lee Y.M., Lough T.J., Lucas W.J. A systemic small RNA signaling system in plants. *Plant Cell*, 2004, vol. 16, no. 8, pp. 1979–2000.
99. Shams-Bakhsh M., Canto T., Palukaitis P. Enhanced resistance and neutralization of defense responses by suppressors of RNA silencing. *Virus Res.*, 2007, vol. 130, no. 1–2, pp. 103–109.
100. Wu H.-W., Lin S.-S., Chen K.-C., Yeh S.-D., Chua N.-H. Discriminating mutations of HC-Pro of *Zucchini yellow mosaic virus* with differential effects on small RNA pathways involved in viral pathogenicity and symptom development. *Mol. Plant Microbe Interact.*, 2010, vol. 23, no. 1, pp. 17–28. doi: 10.1094/MPMI-23-1-0017.
101. Bucher E., Prins M. RNA silencing: a natural resistance mechanism in plants. *Natural Resistance Mechanisms of Plants to Viruses* (Ed. G. Loebenstein, J. Carr). Springer, 2006, pp. 45–72.
102. Dorokhov Yu.L. Gene silencing in plants. *Mol. Biol.*, 2007, vol. 41, no. 4, pp. 579–592. (In Russian)
103. Bayne E.H., Rakitina D.V., Morozov S.Y., Baulcombe D.C. Cell-to-cell movement of potato potexvirus X is dependent on suppression of RNA silencing. *Plant J.*, 2005, vol. 44, no. 3, pp. 471–482.
104. Bartel D.P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*, 2004, vol. 116, no. 2, pp. 281–297.
105. Chapman E.J., Prokhnovsky A.I., Gopinath K., Dolja V.V., Carrington J.C. Viral RNA silencing suppressors inhibit the microRNA pathway at an intermediate step. *Genes Dev.*, 2004, vol. 18, no. 10, pp. 1179–1186.
106. Jones-Rhoades M.W., Bartel D.P., Bartel B. MicroRNAs and their regulatory roles in plants. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 2006, vol. 57, pp. 19–53.

107. Zhang B., Pan X., Cobb G.P., Anderson T.A. Plant microRNA: a small regulatory molecule with big impact. *Dev. Biol.*, 2006, vol. 289, no. 1, pp. 3–16.
108. Shao Y., Zhu H.L., Tian H.Q., Wang X.G., Lin X.J., Xie Y.H., Zhu B.Z., Luo Y.B. Virus-induced gene silencing in plants. *Fiziologiya Rastenii*, 2008, vol. 55, no. 2, pp. 184–191. (In Russian)
109. Stram Y., Kuzntzova L. Inhibition of viruses by RNA interference. *Virus Genes*, 2006, vol. 32, no. 3, pp. 299–306. doi: 10.1007/s11262-005-6914-0.
110. Blevins T., Rajeswaran R., Shivaprasad P.V., Beknazariants D., Si-Ammour A., Park H.S., Vazquez F., Robertson D., Meins F. Jr., Hohn T., Pooggin M.M. Four plant Dicers mediate viral small RNA biogenesis and DNA virus induced silencing. *Nucleic Acids Res.*, 2006, vol. 34, no. 21, pp. 6233–6246. doi:10.1093/nar/gkl886.
111. Palauqui J., Elmayan T., Pollien J., Vaucheret H. Systemic acquired silencing: transgene-specific post-transcriptional silencing is transmitted by grafting from silenced stocks to non-silenced scions. *EMBO J.*, 1996, vol. 16, no. 15, pp. 4738–4745. doi: 10.1093/emboj/16.15.4738.
112. Voinnet O. RNA silencing as a plant immune system against viruses. *Trends Genet.*, 2001, vol. 17, no. 8, pp. 449–459. doi: 10.1016/S0168-9525(01)02367-8.
113. Lucy A., Guo H., Li W., Ding S. Suppression of post-transcriptional gene silencing by a plant viral protein localized in the nucleus. *EMBO J.*, 2000, vol. 19, no. 7, pp. 1672–1680. doi: 10.1093/emboj/19.7.1672.
114. Mérai Z., Kerényi Z., Kertész S., Magna M., Lakatos L., Silhavy D. Double-stranded RNA binding may be a general plant RNA viral strategy to suppress RNA silencing. *J. Virol.*, 2006, vol. 80, no. 12, pp. 5747–5756. doi: 10.1128/JVI.01963-05.
115. Katiyar-Agarwal S., Morgan R., Dahlbeck D., Borsani O., Villegas A., Zhu J., Staskawicz B., Jin H. A pathogen-inducible endogenous siRNA in plant immunity. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006, vol. 103, no. 47, pp. 18002–18007. doi: 10.1073/pnas.0608258103.
116. Sunilkumar G., Campbell L., Puckhaber L., Stipanovic R., Rathore K. Engineering cottonseed for use in human nutrition by tissue-specific reduction of toxic gossypol. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006, vol. 103, no. 48, pp. 18054–18059. doi: 10.1073/pnas.0605389103.
117. Le L.Q., Lorenz Y., Scheurer S., Fötisch K., Enrique E., Bartra J., Biemelt S., Vieths S., Sonnewald U. Design of tomato fruits with reduced allergenicity by dsRNAi-mediated inhibition of ns-LTP (Lyc e 3) expression. *Plant Biotechnol. J.*, 2006, vol. 4, no. 2, pp. 231–242. doi: 10.1111/j.1467-7652.2005.00175.x.
118. Gavilano L., Coleman N., Burnley L., Bowman M., Kalengamaliro N., Hayes A., Bush L., Simin-szky B. Genetic engineering of *Nicotiana tabacum* for reduced normicotine content. *J. Agric. Food Chem.*, 2006, vol. 54, no. 24, pp. 9071–9078. doi: 10.1021/jf0610458.
119. Zadeh A.H., Foster G.D. Transgenic resistance to tobacco ringspot virus. *Acta Virol.*, 2004, vol. 48, no. 3, pp. 145–152.
120. Niggeweg R., Michael A., Martin C. Engineering plants with increased levels of the antioxidant chlorogenic acid. *Nat. Biotechnol.*, 2004, vol. 22, no. 6, pp. 746–754. doi: 10.1038/nbt966.
121. Sanders R., Hiatt W. Tomato transgene structure and silencing. *Nat. Biotechnol.*, 2005, vol. 23, no. 3, pp. 287–289. doi: 10.1038/nbt0305-287b.
122. Chiang C., Wang J., Jan F., Yeh S., Gonsalves D. Comparative reactions of recombinant papaya ringspot viruses with chimeric coat protein (CP) genes and wild-type viruses on CP-transgenic papaya. *J. Gen. Virol.*, 2001, vol. 82, Pt. 11, pp. 2827–2836.
123. Lin T., Clark A.J., Chen Z., Shanks M., Dai J.B., Li Y., Schmidt T., Oxelfelt P., Lomonosoff G.P., Johnson J.E. Structural fingerprinting: subgrouping of comoviruses by structural studies of red clover mottle virus to 2.4-Å resolution and comparisons with other comoviruses. *J. Virol.*, 2000, vol. 74, no. 1, pp. 493–504.
124. Reichert V.L., Choi M., Petrillo J.E., Gehrke L. Alfalfa mosaic virus coat protein bridges RNA and RNA-dependent RNA polymerase in vitro. *Virology*, 2007, vol. 364, no. 1, pp. 214–226.
125. Verchot-Lubicz J., Ye Ch.-M., Bamunusinghe D. Molecular biology of potexviruses: recent advances. *J. Gen. Virol.*, 2007, vol. 88, Pt. 6, pp. 1643–1655.
126. Keldysh M.A., Pomazkov Yu.I. Plant Viruses, Viroids and Mycoplasmas. Moscow, Izd. Ros. Univ. Druzhby Narodov, 2003. 99 p. (In Russian)

127. Kumar R., Sharma N., Nath M., Saffran H.A., Tyrrell L.J.D. Synthesis and antiviral activity of novel acyclic nucleoside analogues of 5-(1-azido-2-haloethyl)uracils. *J. Med. Chem.*, 2001, vol. 44, no. 24, pp. 4225–4229.
128. Cheng J., Xie J., Luo X. Synthesis and antiviral activity against Coxsackie virus B3 of some novel benzimidazole derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 2005, vol. 15, no. 2, pp. 267–269.
129. Alamillo J.M., Saénz P., García J.A. Salicylic acid-mediated and RNA-silencing defense mechanisms cooperate in the restriction of systemic spread of plum pox virus in tobacco. *Plant J.*, 2006, vol. 48, no. 2, pp. 217–227.
130. Zingarelli L., Marre M.T., Massardi F., Lado P. Effects of hyper-osmotic stress on K<sup>+</sup> fluxes, H<sup>+</sup> extrusion, transmembrane electric potential difference and comparison with the effects of fusicoccin. *Physiol. Plantarum*, 1999, vol. 106, no. 3, pp. 287–295.
131. Özçelik B., Aslan M., Orhan I., Karaoglu T. Antibacterial, antifungal, and antiviral activities of the lipophylic extracts of *Pistacia vera*. *Microbiol Res.*, 2005, vol. 160, no. 2, pp. 159–164.
132. Chirkov S.N. The antiviral activity of chitosan (review). *Appl. Biochem. Microbiol.*, 2002, vol. 38, no. 1, pp. 1–8. (In Russian)
133. Reifman G.V. The enzymatic activity in the leaves of plants affected by viruses and the therapeutic action ribonuclease. *Selskokhozyaistvennaya Biol.*, 1979, vol. 14, no. 2, pp. 217–219. (in Russian)
134. Diener T.O. Viral infection and other factors affecting ribonuclease activity of plant leaves. *Virology*, 1961, vol. 14, no. 2, pp. 177–189.
135. Zhou W.W., Zhang L.X., Zhang B., Wang F., Liang Z.H., Niu T.G. Isolation and characterization of ZH14 with antiviral activity against *Tobacco mosaic virus*. *Can. J Microbiol.*, 2008, vol. 54, no. 6, pp. 441–449. doi: 10.1139/w08-026.
136. Zhou W.W., Niu T.G. Purification and some properties of an extracellular ribonuclease with antiviral activity against tobacco mosaic virus from *Bacillus cereus*. *Biotechnol. Lett.*, 2009, vol. 31, no. 1, pp. 101–105.
137. Zhou W.W., He Y.L., Niu T.G., Zhong J.J. Optimization of fermentation conditions for production of anti-TMV extracellular ribonuclease by *Bacillus cereus* using response surface methodology. *Bioprocess Biosyst. Eng.*, 2010, vol. 33, no. 6, pp. 657–663. doi: 10.1007/s00449-009-0330-0.
138. Strittmatter G., Goethals K., Van Montagu M. Strategies to engineer plants resistant to bacterial and fungal diseases. *Subcell. Biochem.*, 1998, vol. 29, pp. 191–213.
139. Tripathi S., Suzuki J., Gonsalves D. Development of genetically engineered resistant papaya for papaya ringspot virus in a timely manner: a comprehensive and successful approach. *Methods Mol. Biol.*, 2007, vol. 354, pp. 197–240.
140. Fan M.J., Chen S., Kung Y.J., Cheng Y.H., Bau H.J., Su T.T., Yeh S.D. Transgene-specific and event-specific molecular markers for characterization of transgenic papaya lines resistant to Papaya ringspot virus. *Transgenic Res.*, 2009, vol. 18, no. 6, pp. 971–986. doi: 10.1007/s11248-009-9287-7.
141. Thomas P.E., Lawson E.C., Zalewski J.C., Reed G.L., Kaniewski W.K. Extreme resistance to *Potato leafroll virus* in potato cv. Russet Burbank mediated by the viral replicase gene. *Virus Res.*, 2000, vol. 71, no. 1–2, pp. 49–62.
142. Ehrenfeld N., Romano E., Serrano C., Arce-Johnson P. Replicase mediated resistance against potato leafroll virus in potato Désirée plants. *Biol. Res.*, 2004, vol. 37, no. 1, pp. 71–82.
143. Solovyev A.G., Zelenina D.A., Savenkov E.I., Grdzlishvili V.Z., Morozov S.Y., Maiss E., Casper R., Atabekov J.G. Host-controlled cell-to-cell movement of a hybrid barley stripe mosaic virus expressing a dianthovirus movement protein. *Intervirology*, 1997, vol. 40, no. 1, pp. 1–6.
144. Sudarshana M.R., Roy G., Falk B.W. Methods for engineering resistance to plant viruses. *Methods Mol. Biol.*, 2007, vol. 354, pp. 183–195.
145. Whitham S., McCormick S., Baker B. The N gene of tobacco confers resistance to tobacco mosaic virus in transgenic tomato. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996, vol. 93, no. 16, pp. 8776–8781.
146. Xie X., Xia J., He K., Lu L., Xu Q., Chen N. Low-molecular-mass purine nucleoside phosphorylase: characterization and application in enzymatic synthesis of nucleoside antiviral drugs. *Biotechnol. Lett.*, 2011, vol. 33, no. 6, pp. 1107–1112.

147. Martins N.H., Meza A.N., Santos C.R., de Giuseppe P.O., Murakami M.T. Molecular cloning, overexpression, purification, crystallization and preliminary X-ray diffraction analysis of a purine nucleoside phosphorylase from *Bacillus subtilis* strain 168. *Acta Crystallogr. Sect. F. Struct. Biol. Cryst. Commun.*, 2011, vol. 67, Pt. 5, pp. 618–622.
148. Arena A., Maugeri T.L., Pavone B., Iannello D., Gugliandolo C., Bisignano G. Antiviral and immunoregulatory effect of a novel exopolysaccharide from a marine thermotolerant *Bacillus licheniformis*. *Int. Immunopharmacol.*, 2006, vol. 6, no. 1, pp. 8–13.
149. Sansinenea E., Ortiz A. Secondary metabolites of soil *Bacillus* spp. *Biotechnol. Lett.*, 2011, vol. 33, no. 8, pp. 1523–1538.

Received  
September 3, 2013

---

**Sharipova Margarita Rashidovna** – Doctor of Biology, Professor, Department of Microbiology, Kazan Federal University, Kazan, Russia.

E-mail: [marsharipova@gmail.com](mailto:marsharipova@gmail.com)

**Balaban Nelli Pavlovna** – PhD in Biology, Senior Research Fellow, Department of Microbiology, Kazan Federal University, Kazan, Russia.

E-mail: [nellybalaban@yandex.ru](mailto:nellybalaban@yandex.ru)

**Mardanov Aislu Mirkasymovna** – PhD in Biology, Associate Professor, Department of Microbiology, Kazan Federal University, Kazan, Russia.

E-mail: [mardanovaislu@mail.ru](mailto:mardanovaislu@mail.ru)

**Nyamsuren Chuluuntsetseg** – PhD Student, Department of Microbiology, Kazan Federal University, Kazan, Russia.

E-mail: [chuka\\_ch@mail.ru](mailto:chuka_ch@mail.ru)

**Valeeva Liya Rashitovna** – Student, Department of Microbiology, Kazan Federal University, Kazan, Russia.

E-mail: [lia2107@yandex.ru](mailto:lia2107@yandex.ru)