

Efectores de oomycetes fitopatogénicos: en la primera línea de ataque

Effectors phytopathogenic oomycetes: the first line of attack

Javier Martínez Pacheco

Instituto de Investigaciones del Tabaco, Carretera al Tumbadero Km 8½, San Antonio de los Baños, Artemisa, Cuba, biologia1@iitabaco.co.cu

RESUMEN

Los oomycetes son un grupo filogenéticamente distinto de microorganismos eucariotas que incluyen a algunos de los patógenos de plantas más dañinos. Los oomycetes logran la colonización de los tejidos vegetales modulando las defensas de las células del hospedero a través de un conjunto de proteínas efectoras o efectores. Se identifican dos clases generales de efectores de oomycetes fitopatogénicos: los efectores apoplásticos secretados en el espacio extracelular de las células vegetales y los citoplasmáticos, translocados hacia el interior de las células del hospedero. Comprender realmente cómo funcionan estos efectores y cuáles son sus roles precisos en los mecanismos de infección de los patógenos son desafíos importantes para los próximos años.

Palabras claves: Efectores, oomycetes fitopatogénicos.

ABSTRACT

The oomycetes form a phylogenetically distinct group of eukaryotic microorganisms that includes some of the most damaging pathogens of plants. Oomycetes accomplish the colonization of the host tissues modulating the host cell defences through an array of effectors. Two classes of plant pathogen oomycetes effectors are identified: the apoplastic effectors secreted into the plant extracellular space and the cytoplasmic effectors, translocated inside the plant cell. Understanding how really these effectors work and their precise roles in the pathogen infection mechanisms, are important challenges for the coming years.

Key words: effectors, phytopathogenic oomycetes.

INTRODUCCIÓN

Los oomycetes son un grupo diverso de protistas filamentosos que morfológicamente se asemejan a los hongos; sin embargo, son miembros del reino Chromista, que incluye a la gran mayoría de las algas cuyos cloroplastos contienen clorofilas *a* y *c*, así como varias especies sin colorear íntimamente relacionadas con ellas [Kamoun, 2003; 2006]. Los oomycetes están cercanamente relacionados con organismos claves en ambientes acuáticos como las algas pardas, pardo-doradas y diatomeas; también incluyen a patógenos de plantas, algas, insectos, peces, crustáceos, mamíferos y varios microbios, incluyendo hongos [Kamoun, 2003; 2006; Hein *et al.*, 2009].

Los oomycetes patogénicos de plantas causan devastadoras enfermedades a cultivos, especies nativas y

ornamentales, y son los patógenos más importantes de las plantas dicotiledóneas. Entre los grupos que causan daños serios están los que comprenden más de 80 especies de *Phytophthora* [Blair *et al.*, 2008], varios géneros de mildiú, siendo los más importantes *Peronospora*, *Plasmopora* y *Bremia* [Göker *et al.*, 2007] y más de 110 especies de *Pythium* [Levesque y de Cock, 2004].

Entre los oomycetes fitopatogénicos existe una gran diversidad de estrategias de infección; pero todos pasan a través de una serie de etapas de desarrollo durante un ciclo de infección exitoso. Las etapas incluyen la formación de esporangios, liberación de zoosporas móviles, el enquistamiento de estas zoosporas y su germinación para formar hifas y apresorias, la pro-

ducción de hifas de infección primaria y secundaria, haustorios y finalmente esporangióforos [Hardham, 2007]. Estos varios procesos facilitan la dispersión, el reconocimiento del hospedero, adhesión, penetración y colonización, abarcando las fases biotróficas y/o necrotróficas de la infección, y finalmente llevando de nuevo a la dispersión [Hein *et al.*, 2009].

Durante el proceso de infección los oomycetes fitopatógenos deben ser capaces de superar las defensas preformadas e inducibles del hospedero, así como invadir los tejidos vegetales en una forma tal que les permita adquirir nutrientes suficientes para sustentarse en el ambiente dinámico y potencialmente hostil del hospedero. La liberación de proteínas efectoras o efectores durante el proceso de infección constituye una estrategia clave para lograr la exitosa colonización de los tejidos vegetales.

Los efectores son moléculas capaces de manipular la estructura y función del hospedero, facilitando la infección (factores de virulencia o toxinas) y/o desencadenando respuestas de defensa (factores de avirulencia o elicitores o proteínas AVR). Una vez que los efectores son reconocidos por los mecanismos de defensa del hospedero, se les denomina como factores de avirulencia, desarrollándose una respuesta de defensa hacia un efector particular [Kamoun, 2006; De Jonge *et al.*, 2011].

Dos amplias clases de efectores de oomycetes fitopatógenos se identifican: los efectores apoplásticos que actúan extracelularmente, son secretados en el espacio extracelular de la planta, o sea, en el apoplasto, e interactúan con las proteínas secretadas relacionadas con la defensa y receptores en la superficie vegetal [Kamoun, 2006; Hardham, 2007]. Los efectores citoplasmáticos que actúan intracelularmente, al ser translocados hacia el citoplasma a través de estructuras especializadas como vesículas de infección y haustorios que se invaginan hacia el interior de las células vivas del hospedero, suprimiendo la transducción de las señales relacionadas con la defensa, así como la regulación y el tráfico de moléculas que lleven a la inmunidad del hospedero [Birch *et al.*, 2006, 2008].

Todos los microbios desencadenan respuestas inmunes en plantas vía el reconocimiento de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP, del inglés *pathogen-associated molecular patterns*) por receptores específicos en el hospedero. Los patógenos que tienen éxito y logran la infección en el hospedero suprimen o

manipulan la inmunidad desencadenada por el reconocimiento de los PAMP (PTI, del inglés *PAMP-triggered immunity*). Esto lo logra a través de la secreción de los efectores, que como se mencionó previamente actúan en el exterior o interior de las células del hospedero y se conoce, en muchos casos, que interactúan directa o indirectamente con proteínas asociadas con la defensa en el hospedero. Esta supresión desencadenada por los efectores (ETS, del inglés *effector-triggered suppression*) de la PTI es la principal línea de ataque de los oomycetes en el intento de sobrepasar las defensas de la planta [Jones y Dangl, 2006].

Las plantas poseen una línea de defensa en la forma de genes de resistencia (genes R), cuyos productos génicos (proteínas R) son los que directa o indirectamente detectan a los efectores y confieren inmunidad contra los patógenos que son exitosos en la supresión de la PTI. La detección directa puede ocurrir a través de la percepción de alteraciones provocadas por los efectores en proteínas diana del hospedero [Birch *et al.*, 2008]. Las proteínas R subsecuentemente activan las respuestas de resistencia (inmunidad desencadenada por efectores, ETI, del inglés *effector-triggered immunity*) que se solapan con la PTI, pero son más rápidas e incluyen respuestas adicionales, como muerte celular programada durante la respuesta hipersensible (HR, en inglés *hypersensitive response*) [Jones y Dangl, 2006].

Una pregunta significativa importante es cómo los oomycetes manipulan el metabolismo y las defensas de los hospederos durante el establecimiento de la enfermedad. Las bacterias fitopatógenas, por ejemplo, utilizan un sistema especializado de secreción tipo 3 (T3SS, del inglés *type III secretion system*) para entregar a los efectores en el interior de las células del hospedero donde estos interactúan con las proteínas diana involucradas en la inmunidad. La identificación de los efectores bacterianos ha provisto una visión sin paralelo sobre la evolución de la patogénesis bacteriana y sobre el mimetismo al hospedero.

En contraste a las bacterias fitopatógenas, se conoce muy poco sobre las funciones de los efectores en oomycetes; sin embargo, las proteínas AVR de oomycetes se han detectado intracelularmente en el hospedero, lo que indica que, similar a las bacterias fitopatógenas, los oomycetes fitopatógenos entregan efectores al interior de las células, presumiblemente mediante la manipulación de las defensas de la planta [Catanzariti *et al.*, 2006]. Esta reseña considera algunas de las

funciones bioquímicas y diversidad de los efectores de oomycetes fitopatogénicos.

Efectores extracelulares o apoplásticos

• Inhibidores de proteasas

La acumulación de proteínas PR (del inglés *pathogenesis related*), como las enzimas hidrolítica –glucanasas, quitinasas y proteasas–, constituye uno de los mecanismos de defensa de las plantas ante el ataque de patógenos. Los oomycetes fitopatogénicos, como los del género *Phytophthora*, han desarrollado mecanismos para escapar de la actividad enzimática de las proteínas PR. Los oomycetes contienen poca quitina en sus paredes celulares, y por tanto son resistentes a las quitinasas de las plantas [Kamoun, 2003]; pero *Phytophthora* además presenta mecanismos de contradefensa basados en la secreción de inhibidores proteicos que tienen como objetivo las glucanasas y proteasas del hospedero [Kamoun, 2006].

Los inhibidores de glucanasas GIP1 y GIP2 (del inglés *glucanase inhibitor protein 1*; *glucanase inhibitor protein 2*) son secretados por *Phytophthora sojae* e inhiben la endo- β -1,3 glucanasa Egasa A de soya [Rose *et al.*, 2002]. Se cree que estos inhibidores funcionan como moléculas contradefensivas que inhiben la degradación de los glucanos β -1,3/1,6 en la pared celular del patógeno y/o la liberación de oligosacáridos elicitores de respuesta de defensa por las β -1,3 endoglucanasas del hospedero [Kamoun, 2006]. Cuatro genes similares a los genes de los GIP de *P. sojae* han sido identificados en el genoma de *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary. El análisis de hojas de tomate inoculadas con *P. infestans* mostró que los GIP de *P. infestans* y las endoglucanasas de tomate están presentes en el apoplasto y forman complejos estables *in planta* [Damasceno *et al.*, 2008]. Estos inhibidores comparten una similitud estructural significativa con las tripsinas, pero contienen residuos catalíticos mutados y son proteolíticamente no funcionales [Kamoun, 2006].

Por otra parte, 18 genes de inhibidores de proteasas extracelulares han sido identificados en *P. infestans* [Hein *et al.*, 2009]. EPI1 y EPI10 (del inglés *extracellular protease inhibitor 1* y *extracellular protease inhibitor 10*) son dos inhibidores de serino-proteasas que actúan como efectores, inhiben e interactúan con la proteína PR, P69B, una serino-proteasa de tomate con una actividad similar a la proteasa subtilisina, que se piensa tiene una función en la respuesta de defensa [Tian *et al.*, 2004; 2005]. Los genes *epi1*,

epi10 y *P69B* se expresan de forma conjunta y su expresión aumenta durante la infección de plantas de tomate por *P. infestans*, lo que indica su participación conjunta en el proceso de defensa e infección respectivamente [Kamoun, 2006]. La secreción de inhibidores de serino-proteasas parece ser parte de una estrategia de infección común en la especie *Phytophthora*, porque *Phytophthora nicotianae* Breda de Haan expresa un gen similar al *epi1* [Panabieres *et al.*, 2005]. Estos inhibidores pertenecen a una clase estructural de inhibidores de serino-proteasas conocida como inhibidores de serino-proteasas de la clase Kazal. Las proteínas secretadas del tipo Kazal forman una diversa familia en diferentes organismos. Para el caso de los oomycetes, al menos 35 miembros de estas proteínas están presentes en cinco oomycetes fitopatogénicos [Tian *et al.*, 2004; Kamoun, 2006, Hein *et al.*, 2009].

En adición, EPIC1 y EPIC2 (del inglés *extracellular cystatin-like protease inhibitor 1* y *extracellular cystatin-like protease inhibitor 2*) son dos inhibidores de cisteíno-proteasas secretados igualmente por *P. infestans*, que tienen como sustrato a PIP1 (del inglés *proline iminopeptidase 1*) y otras cisteíno proteasas con actividad similar a la papaína, que se encuentra en el apoplasto de las células de tomate [Tian *et al.*, 2007]. PIP1 está cercanamente relacionada con la proteína Rcr3, otra cisteíno proteasa que se requiere para la resistencia mediada por la proteína Cf-2 de plantas de tomate al hongo *Cladosporium fulvum* Cooke y que es inhibida por la proteína fúngica Avr2 [Kamoun, 2007].

• Enzimas que degradan la pared celular vegetal (CWDE)

Las CWDE (del inglés *cell wall-degrading enzymes*) se expresan fundamentalmente en tubos de germinación y en hifas de infección, lo que sugiere que se emplean en cierta forma para «aflojar» la pared celular vegetal, facilitando la posterior penetración del patógeno. Un elevado número de genes de CWDE de oomycetes que codifican para poligalacturonasas (PG), pectino-liasas, pectinasas, celulasas, xilanasas y glucanasas han sido clonados [Latijnhouwers *et al.*, 2003]. La disrupción de estos genes en sitios específicos demuestra claramente su participación en la patogenicidad de los oomycetes; sin embargo, existen varios ejemplos donde la disrupción o el remplazo de genes que codifican para CWDE no alteran la patogenicidad o la agresividad, posiblemente porque estos genes son

redundantes, y otras isoenzimas codificadas por genes parálogos son capaces de hacerse cargo de la función de la enzima afectada [De Jonge *et al.*, 2011].

Las especies de oomycetes del género *Phytophthora* y *Pythium* son conocidas por producir y secretar CWDE en medios de cultivo líquidos y en medio sólido. El gen *Pipgl*, que se expresa en quistes en germinación de *P. infestans*, codifica para una PG que se sugiere juega un rol importante en la etapa inicial de la infección; sin embargo, este gen también se expresa durante todas las etapas de crecimiento del patógeno en plantas de tomate, por tanto la misma enzima puede estar involucrada en la inducción o el mantenimiento del crecimiento necrotrófico típico de *P. infestans* [Lati-houwers *et al.*, 2003].

Proteínas pequeñas ricas en cisteína (SCR)

Un número de proteínas pequeñas ricas en cisteína (del inglés *small cysteine rich*) que producen necrosis y respuestas de defensa en las plantas son secretadas por los oomycetes y algunas de ellas funcionan como efectores [Kamoun, 2006]. Aunque las SCR son bastante divergentes en sus estructura primaria, pueden ser divididas en diferentes clases de efectores de oomycetes fitopatogénicos, como elicitinias, miembros de la familia de la toxina o péptido PcF (péptido PcF y proteínas SCR91, SCR74 y SCR74), entre otros [Kamoun, 2006, Hein *et al.*, 2009]. En este trabajo solo se hará referencia a las clases ya mencionadas.

Elicitinas: Las elicitinias son una familia de proteínas extracelulares relacionadas estructuralmente que inducen una respuesta hipersensible (HR) y otros cambios bioquímicos asociados con las respuestas de defensa en el género *Nicotiana*. Son proteínas de unos 10 kDa secretadas por la mayoría de las especies de *Phytophthora* y *Pythium* [Kamoun *et al.*, 1997; 2006]. Las elicitinias de la clase I pueden unir esteroides, como el ergosterol, y funcionan como proteínas transportadoras de esteroides [Vauthrin *et al.*, 1999]. Esto es de importancia potencial porque la especie *Phytophthora* (y los oomycetes en general) carecen de las enzimas escualeno epoxidasa y 14 α -demetilasa que se requieren para convertir los precursores de los esteroides. Consecuentemente, no pueden sintetizar esteroides y deben adquirirlos de fuentes externas [Kamoun *et al.*, 2006]. Se ha demostrado que la carga de esteroides por las elicitinias es importante para su unión específica a un receptor de la membrana en tabaco y en la activación de la HR [Osman *et al.*, 2001].

Algunos aislados de *P. nicotianae*, a pesar de tener genes que codifican para elicitinias y de liberar grandes cantidades de estas *in vitro*, son capaces de disminuir la expresión de estos genes durante la interacción compatible con diferentes genotipos de tabaco. Esta cualidad parece restringirse a solo los aislados patogénicos en tabaco porque un aislado de *P. nicotianae* colectado de tomate y altamente virulento para este hospedero y avirulento para tabaco continúa expresando elicitinias durante la interacción compatible.

Péptido PcF: PcF es un péptido de 52 aminoácidos secretado por *Phytophthora cactorum* (Lebert y Cohn) J. Schröt, que se comporta como un factor inductor de necrosis, o sea, es capaz de desencadenar síntomas de repuesta hipersensible mediante la muerte celular localizada cuando se aplica en hojas de tomate y fresa, este último un hospedero económicamente importante de este patógeno [Orsomando *et al.*, 2003; 2011]. Además, PcF provoca la inducción intracelular de la enzima fosfo-amino liasa (PAL) y de otros genes PR, así como el flujo de electrolitos en tomate [Orsomando *et al.*, 2011]. Se ha propuesto que PcF puede actuar además como fitotoxina, considerando que desencadena respuestas en los hospederos similares a los síntomas de la enfermedad [Orsomando *et al.*, 2001]; sin embargo, su modo de acción aún permanece poco claro.

Otros miembros de la familia de la toxina PcF: Estos miembros han sido relacionados con PcF sobre la base de sus secuencias conservadas, patrones de cisteína y señales de secreción en su extremo amino. Se encuentran codificados por genes polimórficos e identificados por el acrónimo SCR seguido de su número de residuos. Hasta 2011 han sido anotados en la base del NCBI (National Center for Biotechnological Information, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) tres productos del gen SCR91, 17 isoformas de SCR74 y una de SCR70, todos de *P. infestans* [Orsomando *et al.*, 2011]. La expresión del gen *scr74* ocurre de dos a cuatro días después de la inoculación de tomate, y es también significativamente inducida durante las etapas tempranas de la colonización de los tejidos de papa [Bos *et al.*, 2003; Liu *et al.*, 2005]. Este gen es altamente polimórfico como resultado de fuerzas evolutivas de selección diversificadora relacionadas con la coevolución hospedero-patógeno [Liu *et al.*, 2005; Orsomando *et al.*, 2011].

Efectores citoplasmáticos

Las actividades bioquímicas de los efectores citoplasmáticos de oomycetes son pobremente comprendidas; sin embargo, se espera que compartan algunas características comunes con las funciones bioquímicas de los efectores T3SS de bacterias fitopatogénicas, que a menudo mimetizan o inhiben las funciones celulares una vez que penetran al citoplasma del hospedero [Block *et al.*, 2008]. En años recientes, siete efectores citoplasmáticos de oomycetes han sido identificados a través de su actividad de avirulencia que desencadena una HR en hospederos con los correspondientes genes R de resistencia. Estos son: de *P. infestans*, *Avr3a*, *AVR-bbl1* (*IpiO*), *Avr4*, *PexRD2* [Vleeshouwers *et al.*, 2008; van Poppel *et al.*, 2008; Boutemy *et al.*, 2011; King *et al.*, 2014]; de *Hyaloperonospora arabidopsidis* (Gäum.) Göker, Riethm., Voglmayr, Weiß y Oberw, *ATR1* y *ATR13* [Rehmany *et al.*, 2005] y finalmente de *P. sojae*, *AVR1b-1* [Shan *et al.*, 2004].

Los siete efectores contienen, dentro de su extremo N-terminal de aproximadamente unos 60 aminoácidos, un péptido señal para la secreción seguido de un dominio conservado con el motivo RXLR (arginina-x representa cualquier aminoácido-leucina-arginina), seguido por una alta frecuencia de residuos ácidos (D/E) y un dominio C-terminal asociado con la función de virulencia [Birch *et al.*, 2006; 2008]. El motivo RXLR de oomycetes es similar en secuencia y posición al motivo (HT)/PEXEL (RXLXE/D/Q) (del inglés *host targeting/Plasmodium export element* (arginina-x-leucina-x-ácido glutámico/ácido aspártico/glutamina), que se requiere como señal para la translocación de proteínas desde los parásitos del género *Plasmodium*, causantes de la malaria, hacia los glóbulos rojos de mamíferos hospederos [Birch *et al.*, 2008].

El efector *PexRD2* de *P. infestans* es una proteína de 121 aminoácidos que es miembro de la Tribu 6, una familia de efectores RXLR que comprende al menos 18 miembros en *P. infestans*. *PexRD2* no comparte una similitud de secuencia significativa con ninguna otra proteína de función conocida, una característica común de los efectores RXLR [King *et al.*, 2014]. La expresión de *PexRD2* (sin el péptido señal) en plantas de *Nicotiana benthamiana* desencadena una respuesta de muerte celular dosis-dependiente, débil y retrasada, además de una respuesta de muerte celular no específica en varias especies del género *Solanum* [Vleeshouwers *et al.*, 2008].

Whisson *et al.* (2007) y Dou *et al.* (2008) demostraron que el motivo RXLR se requiere para la translocación del efector *Avr3a* de *P. infestans* y del efector *AVR1b-1* de *P. sojae* hacia el interior de las células del hospedero. Se ha propuesto que el motivo RXLR permite a los efectores de oomycetes unirse al fosfatidil-inositol-3-fosfato (PI3P en inglés *phosphatidylinositol-3-phosphate*), fosfolípido presente en la superficie de las células vegetales, y de esta forma entran a las células a través de un proceso de endocitosis [Kale *et al.*, 2010; De Jonge *et al.*, 2011].

Familia de genes CRN

La familia de genes de «arrugamiento y necrosis» (CRN) (del inglés *crinkling and necrosis gene family*) producen necrosis cuando se expresan en el interior de las células vegetales [Torto *et al.*, 2003; Kamoun, 2007]. Los genes CRN son numerosos en el genoma de los oomycetes y codifican para proteínas con un extremo N-terminal altamente conservado que contiene el motivo LXLFLAK (leucina-x-leucina-fenilalanina-leucina-alanina-lisina) que se ha postulado actúa en la translocación de estas proteínas hacia el citoplasma de las células del hospedero [Kamoun, 2007]. La búsqueda en bases de datos revela que los CRN forman una familia compleja de proteínas relativamente grandes (alrededor de 400-850 aminoácidos) en el género *Phytophthora*.

La expresión de dos de estos genes, CRN1 y CRN2, en *Nicotiana* y en tomate resulta en un arrugamiento de la hoja y en la aparición de un fenotipo de muerte celular acompañado por una inducción de genes relacionados con la defensa [Kamoun, 2006]. Torto *et al.* (2003) propusieron que CRN1 y CRN2 funcionan como efectores que perturban los procesos celulares del hospedero, hecho basado en analogías con los efectores bacterianos que típicamente provocan la aparición de fenotipos macroscópicos como muerte celular, clorosis y los tejidos se tornan pardos, cuando se expresan en las células del hospedero. Ambos genes se expresan de manera constitutiva en *P. infestans* durante la colonización de la planta de tomate [Kamoun, 2006]. En adición, CRN2 es capaz de inducir de forma significativa en tomate, la expresión de dos genes involucrados en respuestas de defensa como *PR1a* (del inglés *pathogenesis related 1a*) y *hsr201* (del inglés *hypersensitive response gene 201*) [Torto *et al.*, 2003].

Desde 2014, Martínez *et al.* (resultados sin publicar) en el Instituto de Investigaciones del Tabaco de Cuba,

reúnen esfuerzos para identificar nuevos efectores, nuevas proteínas y genes R en la interacción *P. nicotianae*-tabaco. Aún no se ha logrado identificar nuevos efectores o sus actividades durante el proceso de infección de plantas de tabaco por el patógeno. Basados en evidencias reunidas sobre similitud de secuencias génicas y posibles actividades biológicas de efectores de *P. nicotianae*, se puede deducir de manera probable que la mayoría de los nuevos efectores que se logren identificar en *P. nicotianae* pertenezcan al grupo de las elicinas, CWDE y efectores RXLR.

Perspectivas futuras

El conocimiento de la biología de los efectores es incompleto, a pesar del gran progreso hecho en años recientes. El conocimiento comprensivo de la estructura y función de los efectores de patógenos y de las perturbaciones que causan en plantas es una condición previa para entender la base molecular de la patogénesis y la enfermedad.

Los efectores secretados emergen como las principales armas de los oomycetes y también como objetivos para el reconocimiento e inmunidad del hospedero. De esta forma, el enfoque actual del estudio de los efectores promete revelar visiones fascinantes sobre la base molecular del estilo de vida necrotrófico, biotrófico y/o hemibiotrófico de los oomycetes, y sobre el proceso de coevolución planta-patógeno, lo que probablemente llevará al desarrollo de medidas innovativas para el control de las enfermedades. Será intrigante aprender si los efectores son capaces de modificar el metabolismo de los hospederos, o si el flujo de nutrientes hacia el patógeno durante la infección es una consecuencia indirecta de la manipulación de las células del hospedero.

También será importante comparar los efectores en especies de oomycetes cercanamente relacionados para averiguar si y cómo la diversidad de efectores contribuyen a la restricción del rango de hospederos y a la especiación de los patógenos.

Varias estrategias biotecnológicas de resistencia pueden desarrollarse, las cuales incluyen el bloqueo de los mecanismos de entrega de los efectores, la modificación de las moléculas dianas en el hospedero con el objetivo de eludir la función del efector, además del diseño racional de receptores inmunes sintéticos en plantas para detectar efectores aún no reconocidos por el hospedero. Los efectores de oomycetes fitopatogéni-

cos pueden ser una fuente potencial para comprender los mecanismos de infección.

REFERENCIAS

- Birch, P.R.; A.P. Rehmany; L. Pritchard; S. Kamoun y J.L. Beynon: «Trafficking arms: oomycete effectors enter host plant cells», *TRENDS in Microbiology* 14 (1):8-11, Reino Unido, 2006.
- Birch, P.R.; P.C. Boevink; E. M. Gilroy; I. Hein; L. Pritchard; S. C. Whisson: «Oomycete RXLR effectors: delivery, functional redundancy and durable disease resistance», *Current Opinion in Plant Biology*, 11 (4):373-379, Reino Unido, 2008.
- Blair, J.E.; M.D. Coffey; S.-Y. Park; D.M. Geiser; S. Kang: «A multi-locus phylogeny for *Phytophthora* utilizing markers from complete genome sequences», *Fungal Genet. Biol.* 45 (3):266-277, Holanda, 2008.
- Block, A.; G. Li; Z.Q. Fu; J.R. Alfano: «Phytopathogen type III effector weaponry and their plant targets», *Curr. Opin. Plant Biol.* 11 (4):396-403, Reino Unido, 2008.
- Bos, J.I.; M. Armstrong; S.C. Whisson; T. Torto; M. Ochwo; P.R. Birch; S. Kamoun: «Intraspecific comparative genomics to identify avirulence genes from *Phytophthora*», *New Phytol.* 159 (1):63-72, EE.UU, 2003.
- Boutemy, L.S.; S.R. King; J. Win; R.K. Hughes; T.A. Clarke; T.M. Blumenschein; S. Kamoun; M.J. Banfield: «Structures of *Phytophthora* RXLR effector proteins: A conserved but adaptable fold underpins functional diversity», *J. Biol. Chem.* 286 (41):35834-35842, EE.UU, 2011.
- Catanzariti, A.M.; P.N. Dodds; G.J. Lawrence; M.A. Ayliffe; J.G. Ellis: «Haustorially expressed secreted proteins from flax rust are highly enriched for avirulence elicitors», *Plant Cell*, 18 (1):243-256, EE.UU, 2006.
- Damasceno, C.M.; J.G. Bishop; D.R. Ripoll; J. Win; S. Kamoun; J.K. Rose: «Structure of the glucanase inhibitor protein (GIP) family from *Phytophthora* species suggests coevolution with plant endo β -1, 3-glucanases», *Mol. Plant-Microbe Interact.* 21 (7):820-830, EE.UU, 2008.
- De Jonge, R.; M. D. Bolton; B.P. Thomma: «How filamentous pathogens co-opt plants: the ins and outs of fungal effectors», *Current Opinion in Plant Biology*, 14 (4):400-406, Reino Unido, 2011.
- Dou, D.; S.D. Kale; X. Wang; R.H. Jiang; N.A. Bruce; F.D. Arredondo; X. Zhang; B.M. Tyler: «RXLR-mediated entry of *Phytophthora sojae* effector Avr1b into soybean cells does not require pathogen-encoded machinery», *Plant Cell*, 20 (7):1930-1947, EE.UU, 2008.
- Göker, M.; H. Voglmayer; A. Riethmüller; F. Oberwinkler: «How do obligate parasites evolve? A multi-gene phylogenetic analysis of downy mildews», *Fungal Genet. Biol.* 44 (2):105-122, Holanda, 2007.
- Hardham, A.R.: «Cell biology of plant-oomycete interactions», *Cellular Microbiology*, 9 (1):31-39, EE.UU, 2007.
- Hein, I.; E.M. Gilroy; M.R. Armstrong; P.R. Birch: «The zig-zag-zig in oomycete-plant interactions», *Molecular Plant Pathology* 10(4):547-562, EE.UU, 2009.
- Jones, J.D.; J.L. Dangl: «The plant immune system», *Nature*, 444 (7117):323-329, Reino Unido, 2006.
- Kamoun, S.; P. van West; A.J. de Jonge; K. de Groot; V. Vleeshouwers; F. Govers: «A gene encoding a protein elicitor of *Phytophthora infestans* is down-regulated during infection of potato», *Mol. Plant Microbe Interact.* 10 (1):13-20, EE.UU, 1997.
- Kamoun, S.: «Molecular genetics of phytopathogenic oomycetes», *Eukaryotic Cell*, 2 (2):191-199, EE.UU, 2003.
- Kamoun, S.: «A catalogue of the effector secretome of plant pathogenic oomycetes», *Annu. Rev. Phytopathol.* 44:41-60, EE.UU, 2006.
- Kamoun, S.: «Groovy times: filamentous pathogen effectors revealed», *Curr. Opin. Plant Biol.* 10 (4):358-365, Reino Unido, 2007.

- Kale, S.D.; B. Gu; D.G. Capelluto; D. Dou; E. Feldman; A. Rumore; F.D. Arredondo; R. Hanlon; I. Fudal; T. Rouxel: «External lipid PI3P mediates entry of eukaryotic pathogen effectors into plant and animal host cells», *Cell*, 142 (6):981-983, EE.UU, 2010.
- King, S.R.; H. McLellan; P.C. Boevink; M.R. Armstrong; T. Bukharova; O. Sukarta; J. Win; S. Kamoun; P.R.J. Birch; M.J. Banfield: «*Phytophthora infestans* RXLR effector PexRD2 interacts with host MAPKKKε to suppress plant immune signaling», *The Plant Cell*, 26 (3):1345-1359, EE.UU, 2014.
- Latijnhouwers, M.; P. J. de Wit; F. Govers: «Oomycetes and fungi: similar weaponry to attack plants», *TRENDS in Microbiology*, 11(10):462-469, Reino Unido, 2003.
- Levesque, C.A.; W.A.M. de Cock: «Molecular phylogeny and taxonomy of the genus *Pythium*», *Mycol. Res.* 108 (12):1363-1383, Reino Unido, 2004.
- Liu, Z.; J.I. Bos; M. Armstrong; S.C. Whisson; L. da Cunha; T. Torto-Alibo; J. Win; A. Avrova; F. Wright; P. Birch; S. Kamoun: «Patterns of diversifying selection in the phytotoxin-like scr74 gene family of *Phytophthora infestans*», *Mol. Biol. Evol.* 22 (3):659-672, Reino Unido, 2005.
- Orsomando, G.; M. Lorenzi; N. Raffaelli; M. Dalla Rizza; B. Mezzetti; S. Ruggieri: «Phytotoxic protein PcF, purification, characterization, and cDNA sequencing of a novel hydroxyproline-containing factor secreted by the strawberry pathogen *Phytophthora cactorum*», *J. Biol. Chem.* 276 (3):21578-84, EE.UU, 2001.
- Orsomando, G.; M. Lorenzi; E. Ferrari; C. de Chiara; A. Spisni; S. Ruggieri: «PcF protein from *Phytophthora cactorum* and its recombinant homologue elicit phenylalanine ammonia lyase activation in tomato», *Cell. Mol. Life Sci.* 60 (7):1470-76, Suiza, 2003.
- Orsomando, G.; L. Brunetti; K. Pucci; B. Ruggieri; S. Ruggieri: «Comparative structural and functional characterization of putative effectors belonging to the PcF toxin family from *Phytophthora* spp.», *Protein Science*, 20 (12):2047-59, EE.UU, 2011.
- Osman, H.; S. Vauthrin; V. Mikes; M.L. Milat; F. Panabieres; A. Marais; S. Brunie; B. Maume; M. Ponchet; J.-P. Blein: «Mediation of elicitor activity on tobacco is assumed by elicitor-sterol complexes», *Mol. Biol. Cell*, 12 (9):2825-34, EE.UU, 2001.
- Panabieres, F.; J. Amselem; E. Galiana; J.Y. Le Berre: «Gene identification in the oomycete pathogen *Phytophthora parasitica* during in vitro vegetative growth through expressed sequence tags», *Fungal Genet. Biol.* 42 (7):611-623, Holanda, 2005.
- Rehmany, A.P.; A. Gordon; L.E. Rose; R.L. Allen; M.R. Armstrong; S.C. Whisson; S. Kamoun; B.M. Tyler; P.R. Birch; J.L. Beynon: «Differential recognition of highly divergent downy mildew avirulence gene alleles by RPP1 resistance genes from two Arabidopsis lines», *Plant Cell*, 17 (6):1839-1850, EE.UU, 2005.
- Rose, J.K.; K.S. Ham; A.G. Darvill; P. Albersheim: «Molecular cloning and characterization of glucanase inhibitor proteins: coevolution of a counterdefense mechanism by plant pathogens», *Plant Cell*, 14 (4):1329-45, EE.UU, 2002.
- Shan, W.; M. Cao; D. Leung; B.M. Tyler: «The Avr1b locus of *Phytophthora sojae* encodes an elicitor and a regulator required for avirulence on soybean plants carrying resistance gene Rps1b», *Mol. Plant-Microbe Interact.* 17(4):394-403, EE.UU, 2004.
- Tian, M.; E. Huitema; L. da Cunha; T. Torto-Alalibo; S. Kamoun: «A Kazal like extracellular serine protease inhibitor from *Phytophthora infestans* targets the tomato pathogenesis-related protease P69B», *J. Biol. Chem.* 279 (4):26370-77, EE.UU, 2004.
- Tian, M.; B. Benedetti; S. Kamoun: «A second Kazal-like protease inhibitor from *Phytophthora infestans* inhibits and interacts with the apoplastic pathogenesis-related protease P69B of tomato», *Plant Physiol.* 138 (3):1785-93, EE.UU, 2005.
- Tian, M.; J. Win; J. Song; R. van der Hoorn; E. van der Knaap; S. Kamoun: «A *Phytophthora infestans* cystatin-like protein targets a novel tomato papain-like apoplastic protease», *Plant Physiol.* 143 (1):364-377, EE.UU, 2007.
- Torto, T.A.; S. Li; A. Styer; E. Huitema; A. Testa; N.A. Gow; P. van West; S. Kamoun: «EST mining and functional expression assays identify extracellular effector proteins from the plant pathogen *Phytophthora*», *Genome Res.* 13 (7):1675-1685, EE.UU, 2003.
- Van Poppel, P.M.; J. Guo; P.J. van de Vondervoort; M.W. Jung; P.R. Birch; S.C. Whisson; F. Govers: «The *Phytophthora infestans* avirulence gene Avr4 encodes an RXLR-dEER effector», *Mol. Plant-Microbe Interact.* 21 (11):1460-1470, EE.UU, 2008.
- Vauthrin, S.; V. Mikes; M.L. Milat; M. Ponchet; B. Maume; H. Osman; J.P. Blein: «Elicitins trap and transfer sterols from micelles, liposomes and plant plasma membranes», *Biochim. Biophys. Acta*, 1419 (2):335-342, Holanda, 1999.
- Vleeshouwers, V.G.; J.P. Rietman; P. Krenek; N. Champouret; C. Young; S.K. Oh; M. Wang; K. Bouwmeester; B. Vosman; R.G. Visser; E. Jacobsen; F. Govers; S. Kamoun; E.A. Van der Vossen: «Effector genomics accelerates discovery and functional profiling of potato disease resistance and *Phytophthora infestans* avirulence genes», *PLoS ONE* 3 (8):e2875, EE.UU, 2008.
- Whisson, S.C.; P.C. Boevink; L. Moleleki; A.O. Avrova; J.G. Morales; E.M. Gilroy; M.R. Armstrong; S. Grouffaud; P. van West; S. Chapman; I. Hein; I.K. Toth; L. Pritchard; P.R. Birch: «A translocation signal for delivery of oomycete effector proteins into host plant cells», *Nature*, 450 (7166):115-119, Reino Unido, 2007.