

# Effectors: key actors in phytopathology

## Efectores: actores claves en la fitopatología

Jewel Nicole Anna Todd, Karla Gisel Carreón-Anguiano, Osvaldo Jhosimar Couoh-Dzul, Cesar de los Santos-Briones, Blondy Canto-Canché\*. Unidad de Biotecnología, Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., Mérida, Yucatán, México, C.P. 97205.

\*Corresponding autor: cantocanche@cicy.mx

Received: October 30, 2022.

Accepted: March 22, 2023.

Todd JNA, Carreón-Anguiano KG, Couoh-Dzul OJ, de los Santos-Briones C and Blondy Canto-Canché. 2023. Effectors: key actors in phytopathology. Mexican Journal of Phytopathology 41(2).

DOI: <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2210-4>

First DOI publication: April 10, 2023.

Primera publicación DOI: 10 de Abril, 2023.

**Abstract.** Effectors are small molecules, mostly proteins, produced by microorganisms that use them to interact with their hosts. Regarding plant hosts, effectors suppress plant immunity by interfering with microorganism perception, signaling, and biosynthesis of phytohormones, among other processes. In recent years, interest in effectors in phytopathology has grown due to their contribution to phytopathogen virulence and, by extension, their impact on agricultural production. However, effector molecules are complex. On one hand, these molecules are secreted for the benefit of the phytopathogen and often trigger disease susceptibility. However, plants have evolved receptors that recognize some effectors, and this recognition can trigger

**Resumen.** Los efectores son moléculas pequeñas, mayormente proteínas, producidas por los microorganismos que las utilizan para interactuar con sus hospederos. En el caso de los hospederos vegetales, los efectores suprimen la inmunidad vegetal interfiriendo en la percepción del microorganismo, la señalización y la biosíntesis de fitohormonas, entre otros procesos. En los últimos años ha crecido el interés de los efectores en la fitopatología debido a su contribución en la virulencia de los fitopatógenos y, por ende, en el impacto de éstos en la producción agrícola. Sin embargo, los efectores son complejos. Por un lado, estas moléculas son secretadas para el beneficio del fitopatógeno y suelen desencadenar susceptibilidad a la enfermedad. Sin embargo, las plantas han desarrollado receptores que reconocen a algunos efectores y este reconocimiento desencadena resistencia a la enfermedad. Es decir, algunos efectores resultan en salud vegetal, mientras otros determinan el desarrollo de la enfermedad. Esta revisión se enfoca en los efectores de los fitopatógenos y sus funciones, así como los mecanismos que muchos usan para vencer la inmunidad innata vegetal, por lo que son actores claves en la fitopatología. Por último, se describen los potenciales usos de los efectores en el sector agrícola y los retos asociados con su aplicación.

disease resistance. Essentially, some effectors safeguard plant health, while others promote disease development. This review focuses on the effectors of phytopathogens and their functions, as well as the mechanisms that many of them use to overcome plant innate immunity, making them key players in phytopathology. Finally, the potential uses of effectors in the agricultural sector and the challenges associated with their application are described.

**Key words:** Protein effectors, effectoromics, plant-pathogen interaction, R proteins, cognates, crop protection, phytopathology

All plants, including those of the highest agricultural importance in the world such as rice, maize, soybeans and wheat, are affected by severe infections caused by pathogens such as bacteria, fungi, oomycetes and viruses (Nazarov *et al.*, 2020; Velásquez *et al.*, 2018). Infections caused by *Magnaporthe oryzae* in rice, *Puccinia* spp. in wheat and *Fusarium* spp. in all cereals, for example, contribute to losses in yield and quality of harvests globally (Almeida *et al.*, 2019). Agronomic losses caused by pests and diseases are estimated to cover up to 40% of the world's annual production (FAO, 2017). Incidences of plant diseases reduce food production and increase production costs, making them less accessible to the consumer (Ristaino *et al.*, 2021; Savary *et al.*, 2019). In addition, they reduce the diversity of species of, for example, beneficial insects and microbes (Gupta *et al.*, 2022; van der Sluijs, 2020) and pose a risk to human health due to the indiscriminate use of pesticides for the control of plant pathogen populations (Rani *et al.*, 2021).

The study of key factors that hinder or determine the development of plant diseases may help develop

**Palabras claves:** Efectores proteicos, efectorómica, interacción planta-patógeno, proteínas R, cognados, protección vegetal, fitopatología

Todas las plantas, incluyendo las de mayor importancia agrícola en el mundo, como el arroz, el maíz, la soya y el trigo se ven afectados por severas infecciones causadas por fitopatógenos como bacterias, hongos, oomicetos y virus (Nazarov *et al.*, 2020; Velásquez *et al.*, 2018). Las infecciones causadas por *Magnaporthe oryzae* en arroz, *Puccinia* spp. en trigo y *Fusarium* spp. en todos los cereales, por ejemplo, contribuyen a las pérdidas en rendimiento y calidad de la cosecha de manera global (Almeida *et al.*, 2019). Se estiman que las pérdidas agronómicas causadas por plagas y enfermedades abarcan hasta 40% de la producción global anual (FAO, 2017). Las incidencias de las enfermedades vegetales reducen la producción de alimentos y aumentan el costo de producción, haciéndoles menos accesibles al consumidor (Ristaino *et al.*, 2021; Savary *et al.*, 2019) Además, reducen la diversidad de las especies, por ejemplo, de insectos y microbios benéficos (Gupta *et al.*, 2022; van der Sluijs, 2020), y presentan un riesgo a la salud humana debido al uso indiscriminado de pesticidas para controlar las poblaciones de los fitopatógenos (Rani *et al.*, 2021).

Centrar esfuerzos en el estudio de factores claves que impiden o determinan el desarrollo de la enfermedad vegetal puede permitir el desarrollo de métodos de control eco-amigables que reduzcan el control químico (Thakur *et al.*, 2020; Baker *et al.*, 2020). El objetivo de esta revisión es mostrar la importancia de los effectores en la fitopatología y proponer sus potenciales usos para la protección vegetal. Para esta revisión se buscaron artículos con palabras clave como “efectores proteicos”, “efectores en interacciones planta-patógeno”, “aplicaciones

eco-friendly control methods that reduce chemical control (Thakur *et al.*, 2020; Baker *et al.*, 2020). The aim of this revision is to show the importance of effectors in phytopathology and to propose potential uses for the protection of plants. For this revision, we searched for articles with key words such as “protein effectors”, “effectors in plant-pathogen interactions”, “applications of effectors” and “effectoromics in pathogenic fungi” in the Google Scholar and PubMed databases. Articles from the past 15 years were selected, with a greater emphasis on the last 5 years, along with some older articles which are important references in the area of effectors.

Many effectors play roles in the suppression of immune responses in host plants; some effectors are hydrolytic enzymes, others are enzyme inhibitors, others modulate the microbiome of the host or protect the pathogen physically against enzymatic lysis (Rocafort *et al.*, 2020; Schreiber *et al.*, 2021; Snelders *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2022).

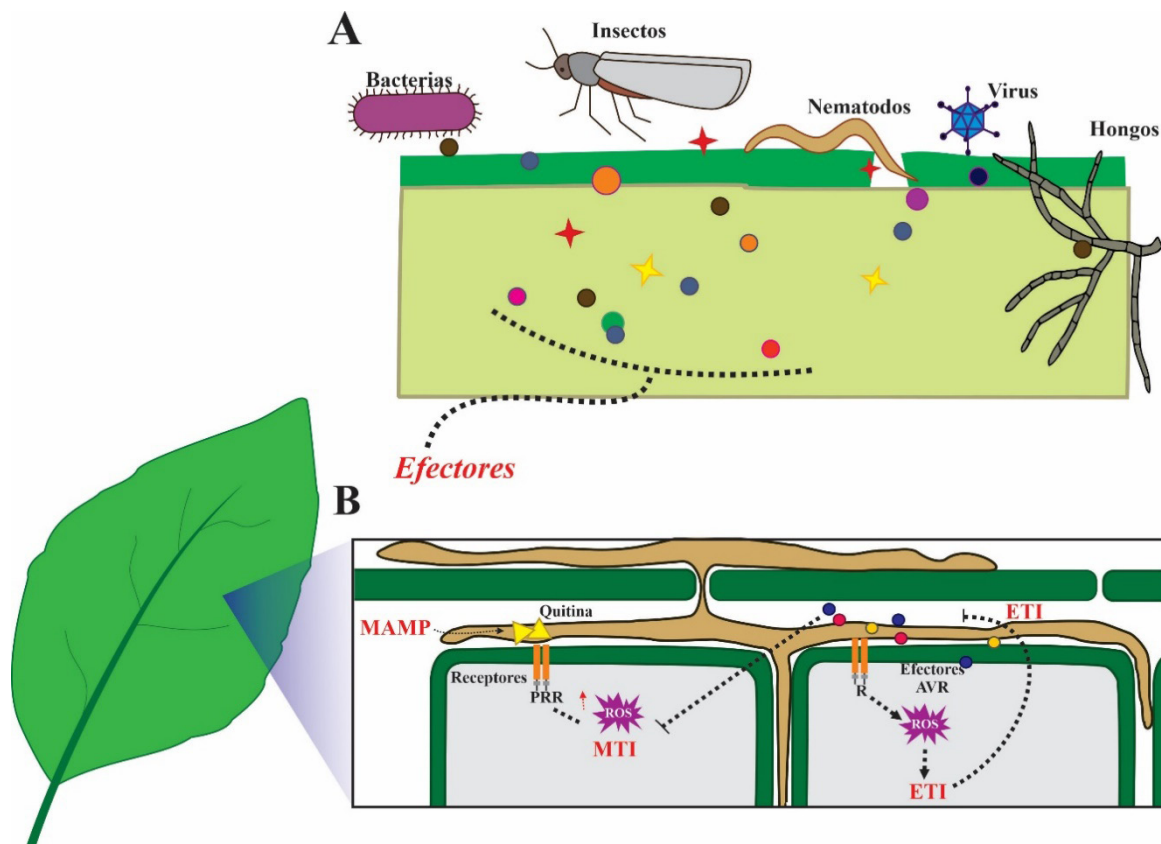
The effectors are part of the molecular arsenal of microorganisms, both beneficial and pathogenic, that interact with the host plant or with other microorganisms (Castillo-Sanmiguel *et al.*, 2020; Todd *et al.*, 2022a). However, these molecules have been studied mostly in the context of plant pathogens, since they are key tools used by the phytopathogen to cause an infection and thereby obtain necessary nutrients from the host. They have been found in fungal (Carreón-Anguiano *et al.*, 2020; Sperschneider *et al.*, 2018), bacterial (Rufián *et al.* 2021), viral phytopathogens (Huang, 2021) and even larger organisms such as insects (Chen *et al.* 2019; Ray and Casteel, 2022) and nematodes (Figure 1A) (Verhoeven *et al.*, 2023; Vieira and Gleason, 2019). The development of the omic technologies (genomics, transcriptomics and proteomics), as well as bioinformatics, has helped identify wide catalogues of effectors contained in

de efectores” y “efectorómica en hongos patógenicos” en las bases de datos de Google Scholar y PubMed. Se seleccionaron artículos de los últimos 15 años, con mayor énfasis en los últimos cinco años; también se incluyeron algunos artículos más antiguos que son referentes en el área de los efectores.

Muchos efectores desempeñan un papel en la supresión de las respuestas inmunitarias de la planta hospedera; algunos efectores son enzimas hidrolíticas, otros son inhibidores de enzimas, otros juegan un papel en modular el microbioma del hospedero o protegen físicamente al patógeno contra lisis enzimática (Rocafort *et al.*, 2020; Schreiber *et al.*, 2021; Snelders *et al.*, 2022; Zhang *et al.*, 2022).

Los efectores forman parte del arsenal molecular de los microorganismos, tanto benéficos como patógenicos, que interactúan con la planta hospedera o con otros microorganismos (Castillo-Sanmiguel *et al.*, 2020; Todd *et al.*, 2022a). Sin embargo, estas moléculas se han estudiado mayormente en el contexto de los fitopatógenos, ya que son herramientas clave empleadas por el fitopatógeno para lograr una infección y obtener los nutrientes del hospedero. Se han encontrado en fitopatógenos fúngicos (Carreón-Anguiano *et al.*, 2020; Sperschneider *et al.*, 2018), bacterianos (Rufián *et al.* 2021), virales (Huang, 2021) hasta organismos más grandes como los insectos (Chen *et al.* 2019; Ray y Casteel, 2022) y nematodos (Figura 1A) (Verhoeven *et al.*, 2023; Vieira y Gleason, 2019). El desarrollo de las tecnologías ómicas (genómica, transcriptómica y proteómica) así como de programas bioinformáticos, han permitido la identificación e investigación de amplios catálogos de efectores contenidos en los genomas de los organismos (Carreón-Anguiano *et al.*, 2022; Chen *et al.*, 2021; Huang *et al.*, 2022).

La identificación y caracterización de los efectores son actividades sumamente importantes, porque dan la pauta para comprender mejor cómo los



**Figure 1.** The pathogen-plant molecular interaction. A) Effectors, the molecular weapons of phytopathogens and pests. Bacteria, fungi, oomycetes, viruses, insects and nematodes secrete a plethora of effectors targeting the plant host, preventing their recognition by said host and blocking the host immune response to favor colonization. B.) On the other hand, the plants, in the first line of defense, recognize conserved molecules known as MAMPs (e.g., fungal chitin) that activate the defense mechanism called MTI. In the second line of plant defense, resistance proteins (R) recognize Avr effectors of the pathogen. This induces the hypersensitive response and localized cell death to prevent further infection (ETI). When R proteins are incapable of recognizing the Avr effector, effector-triggered susceptibility (ETS) ensues, and the disease is established.

**Figura 1.** Interacción patógeno-hospedero. A) Efectores, las armas moleculares de fitopatógenos y plagas. Las bacterias, hongos, oomicetos, virus, insectos y nematodos son capaces de secretar una plétora de efectores hacia el hospedero, que les permiten impedir su reconocimiento por la planta, bloquear la respuesta inmune y favorecer su propio desarrollo. B) Por su parte, las plantas, en la primera línea de defensa, reconocen “patrones moleculares asociados a microorganismos” (MAMP, por sus siglas en inglés), que son moléculas conservadas, como la quitina de los hongos y activa el mecanismo de defensa MTI. En otra línea de defensa vegetal, las proteínas de resistencia (R) reconocen los efectores Avr del patógeno, lo que induce la respuesta de hipersensibilidad y la muerte localizada de las células del hospedero para contener la infección (ETI). Cuando las proteínas R son incapaces de reconocer al efector, se desarrolla la susceptibilidad mediada por el efector y se establece la enfermedad.

the genomes of organisms (Carreón-Anguiano *et al.*, 2022; Chen *et al.*, 2021; Huang *et al.*, 2022).

The identification and characterization of effectors are extremely important activities, since they provide clues as to how phytopathogens infect

fitopatógenos infectan a sus hospederos, causando reducciones masivas en el rendimiento de los cultivos y amenazando la seguridad alimentaria a nivel mundial. El estudio de los efectores está abriendo un camino para su aplicación en el sector agrícola,

their hosts, causing massive reductions in crop yields, threatening food security worldwide. The study of effectors is paving the way for their use in agriculture, providing an opportunity for the creation of new methods to control phytopathogens within integrated management systems.

### Effectors and their characteristics

Effectors are defined as small molecules, generally secreted, which manipulate the structure and the function of the host cell, allowing the microorganism to establish an interaction with the host (Fabro, 2022; Langin *et al.*, 2020). These molecules produce physical and physiological changes in the target organisms (the organisms upon which they act) and in some cases, on the same microorganisms that produce them (Cai *et al.*, 2023; Figueroa *et al.*, 2021; He *et al.*, 2020). Most of the effectors known today are proteins (Carreón-Anguiano *et al.*, 2020; Kanja and Hammond-Kosack, 2020; Sperschneider and Dodds, 2022), although secondary metabolites (Rangel and Bolton, 2022), and small RNAs have also been described (Yamankurt *et al.*, 2020).

Most of the known effectors are not conserved among different organisms, therefore the *in silico* predicative identification approaches have been based on relatively wide structural criteria, mainly (a) the number of amino acids (usually less than 400 amino acids); b) the presence of a signal peptide, which increases the probability of the protein exiting the phytopathogen cells (Carreón-Anguiano *et al.*, 2020; Sperschneider *et al.*, 2018; Sperschneider and Dodds, 2022); c) the number or percentage of the amino acid cysteine, as many apoplast effectors are rich in this amino acid; and (d) candidates are also selected based on the absence of transmembrane domains (Carreón-Anguiano *et al.*, 2020). Other characteristics help

lo cual involucra la creación de nuevos métodos para controlar las poblaciones de fitopatógenos en los sistemas de manejo integrado.

### Los efectores y sus características

Los efectores se definen como pequeñas moléculas, generalmente secretadas, que manipulan la estructura y función de la célula hospedera, permitiendo que el microorganismo establezca una interacción con el hospedero (Fabro, 2022; Langin *et al.*, 2020). Estas moléculas producen cambios físicos y fisiológicos en los organismos diana (los organismos sobre los cuales actúan) y, en algunos casos, en los propios microorganismos que los producen (Cai *et al.*, 2023; Figueroa *et al.*, 2021; He *et al.*, 2020). La mayoría de los efectores conocidos hoy en día son de naturaleza proteica (Carreón-Anguiano *et al.*, 2020; Kanja y Hammond-Kosack, 2020; Sperschneider y Dodds, 2022), aunque también se han descrito metabolitos secundarios (Rangel y Bolton, 2022) y ARN pequeños (Yamankurt *et al.*, 2020).

La mayoría de los efectores conocidos no están conservados entre diferentes organismos, por lo que los enfoques de identificación *in silico* (predicción) se han basado en: a) criterios estructurales relativamente amplios, principalmente la longitud del número de aminoácidos (usualmente menos de 400 aminoácidos); b) presencia de señal de secreción, que aumenta la probabilidad de la salida de la proteína de las células del fitopatógeno (Carreón-Anguiano *et al.*, 2020; Sperschneider *et al.*, 2018; Sperschneider y Dodds, 2022); c) el número o porcentaje del aminoácido cisteína, ya que los efectores son ricos en este aminoácido; d) y también se seleccionan candidatos basados en la ausencia de dominios transmembranales (Carreón-Anguiano *et al.*, 2020). Existen otras características que ayudan a refinar su identificación, como es el incremento

refine their identification, such as the increase in their expression during the interaction of the phytopathogen with its host (Tao *et al.*, 2020; Toruño *et al.*, 2016). Likewise, in the amino acid sequences of the protein effectors, small conserved regions called motifs can be identified, such as RxLR, CHXC or LFLAK, common in oomycete effectors (Fabro *et al.*, 2022).

Some effectors are codified by genes found in dispensable chromosomes (named as such because these chromosomes are not present in all the microorganism strains, unlike the indispensable ones) or in chromosomal regions rich in repetitions and with a scarce gene density (Peng *et al.*, 2019). Noar and Daub (2016) analyzed the distribution of genes related to virulence in the fungus *Pseudocercospora fijiensis* and found that most are located in “dispensable” genomic regions, and using transcriptomic analysis, they found that these genes are expressed during the *P. fijiensis* infection of banana (*Musa acuminata*). Using EffHunter, an algorithm that integrates the canonical characteristics of the effectors (Carreón-Anguiano *et al.*, 2020), 136 effectors were predicted for *P. fijiensis*; these effectors are distributed in dispensable genomic regions, as well as in the genomic regions found in all strains, known as the “core” genome.

The genes that codify effector proteins are under high evolutionary pressure, which results in a higher mutation rate in these genes than in other gene families. Consequently, polymorphisms are commonly found in the sequences of effectors shared among strains of the same species; such changes are related to the adaptation and virulence on the host (Kanja and Hammond-Kosack, 2020; Padilla-Ramos *et al.*, 2018). Regarding the level of conservation, some effectors are found in related microorganisms, and others, in phylogenetically distant organisms. In these cases, orthologous

de su expresión durante la interacción del fitopatógeno con su hospedero (Tao *et al.*, 2020; Toruño *et al.*, 2016). Asimismo, en las secuencias de aminoácidos de los efectores proteicos se pueden identificar pequeñas regiones conservadas llamadas motivos, por ejemplo, los motivos RxLR, CHXC, o LFLAK, frecuentes en los efectores de los oomicetos (Fabro *et al.*, 2022).

Algunos efectores están codificados por genes que se encuentran en cromosomas dispensables (llamados así porque no están presentes en todas las cepas de un microorganismo; contrario de los indispensables) o en regiones cromosómicas ricas en repeticiones y con escasa densidad de genes (Peng *et al.*, 2019). Noar y Daub (2016) analizaron en el hongo *Pseudocercospora fijiensis* la distribución de los genes relacionados con la virulencia, encontrando que la mayoría se localiza en regiones genómicas “dispensables”, y mediante análisis transcriptómico se observó que estos genes se expresan durante la infección del banano (*Musa acuminata*). Mediante el empleo de EffHunter, un algoritmo que integra las características canónicas de los efectores (Carreón-Anguiano *et al.*, 2020) se predijeron 136 efectores en *P. fijiensis*, y éstos se distribuyen tanto en las regiones genómicas dispensables como también en las regiones genómicas presentes en todas las cepas, conocido como genoma “core”.

Los genes que codifican proteínas efectoras están bajo alta presión evolutiva, lo que lleva a una tasa de mutación más elevada que en otras familias de genes. En consecuencia, es común observar polimorfismos en las secuencias de efectores entre los aislados de una especie, cambios asociados con la adaptación y virulencia sobre el hospedero (Kanja y Hammond-Kosack 2020; Padilla-Ramos *et al.*, 2018). Con respecto al nivel de conservación, algunos efectores están presentes en microorganismos relacionados, y algunos entre organismos

proteins (proteins that are homologous proteins in sequence, having the same function in different organisms and originating from one the same ancestor) display little sequence similarity. A clear example is the effector Avr4, which is shared between species of the same class of Dothidiomycetes; Avr4 in *P. fijiensis* only displays 50.5% identity with its orthologous protein in the fungus *Cladosporium fulvum* (Hurlburt *et al.*, 2018).

Even though the percentage of identity between the members of an effector family tends to be low, the current omic analyses show the presence of conserved domains and motifs in effector proteins. Some of the most frequently identified domains include LysM, ceratoplatanin, RNAase, necrosis inducing protein domains (NPP1 or NEP), CFEM, among others (Carreón-Anguiano *et al.*, 2022; Outram *et al.*, 2021; Zhao *et al.*, 2020). Recent investigations reveal that a microorganism can contain hundreds of effectors (Carreón-Anguiano *et al.*, 2020; Noar and Daub, 2016; Sperschneider *et al.*, 2018), with different functions that are expressed in different moments (Noar and Daub, 2016; Toruño *et al.*, 2016). Most of them interfere with signaling functions in the plant, the synthesis of phyto regulators or in plant defense mechanisms (Fabro 2022; Han yand Kahmann, 2019; Padilla-Ramos *et al.*, 2018; Plett *et al.*, 2020).

### **Effectors and plant immunity (disease or health)**

Plants have an innate immune system that responds to the presence of phytopathogens (Chang *et al.*, 2022; Jones and Dangl 2006; Thordal-Christensen, 2020). Plants recognize conserved molecules called microbial-associated molecular patterns, or MAMP, and the recognition triggers the primary immune response (basal defense). The immunity activated by these MAMP involves the participation of receptors in the plant that

filogenéticamente distantes. En estos casos, las proteínas ortólogas (es decir proteínas homólogas en secuencia, que tienen la misma función en organismos diferentes y provienen de un ancestro común) presentan poca similitud de secuencia. Un claro ejemplo es el efector Avr4, ya que es un efector compartido entre especies de la misma clase de Dotidiomicetos; el Avr4 de *P. fijiensis* solo presenta 50.5% de identidad con su proteína ortóloga en el hongo *Cladosporium fulvum* (Hurlburt *et al.*, 2018).

A pesar de que el porcentaje de identidad entre los miembros de una familia de efectores suele ser baja, los análisis ómicos realizados actualmente evidencian en los efectores la presencia de dominios y motivos proteicos conservados. Entre los dominios más frecuentemente identificados están LysM, ceratoplatanina, ARNasa, inductor de necrosis (NPP1 o NEP), CFEM, entre otros (Carreón-Anguiano *et al.*, 2022; Outram *et al.*, 2021; Zhao *et al.*, 2020). Investigaciones recientes revelan que cada microorganismo puede poseer cientos de efectores (Carreón-Anguiano *et al.*, 2020; Noar y Daub, 2016; Sperschneider *et al.*, 2018), con diferentes funciones, que se expresan en diferentes momentos (Noar y Daub, 2016; Toruño *et al.*, 2016). La mayoría interfiere con funciones de señalización en la planta, la síntesis de fitorreguladores o en los mecanismos de defensa (Fabro 2022; Han y Kahmann, 2019; Padilla-Ramos *et al.*, 2018; Plett *et al.*, 2020).

### **Efectores y la inmunidad vegetal (enfermedad o salud)**

Las plantas tienen un sistema inmunológico innato que responde a la presencia de los fitopatógenos (Chang *et al.*, 2022; Jones y Dangl 2006; Thordal-Christensen, 2020). Las plantas reconocen moléculas conservadas llamadas “patrones

recognize these molecular patterns (PRR) and trigger the MAMP-triggered Immunity (MTI). MAMP molecules include chitin and glucan in fungi, bacterial flagellin, among others (Alhoraibi *et al.*, 2019; Zhou y Zhang, 2020). This detection takes place in the apoplast of plant cells and the plant defends itself by producing reactive oxygen species (ROS), antimicrobial compounds and hydrolytic enzymes. Phytopathogens respond by secreting effectors, which allow it to deactivate the immunity response or overcome the effects of the host's defense mechanism. In their coevolution, plants have developed a second line of defense, the effector-triggered immunity (ETI), which involves the detection of avirulence effectors (Avr effectors) (Figure 1B). The proteins that recognize the Avr effectors are intracellular receptors known as resistance proteins (R), or cognates, and they play a very important part in genetic breeding programs (Ghislain *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2020; Thordal-Christensen, 2020). All plants have a wide family of resistance genes; for example, in the genome of *Arabidopsis thaliana*, over 200 genes are predicted which codify leucine-rich repeat receptor-like protein kinases (LRR-RLK), one type of R gene family (Wu *et al.*, 2016).

The interaction between the avirulence factors and the R proteins is a ubiquitous one in nature, but it was first described in the interaction between the biotrophic fungus *Melampsora lini* and the plant *Linum usitatissimum* (Flor, 1942). In the absence of the protein R or cognate, or in the presence of a protein R incapable of recognizing the effector, the ETI defense mechanism is not induced and instead, the effector promotes phytopathogen virulence (Jones and Dangl 2006; Todd *et al.*, 2022a). This leads to effector-triggered susceptibility (ETS) and the expression of the Avr effector genes typically reaches its peak in the first stages of the infection. Conversely, when the Avr protein

moleculares asociados a microorganismos” (MAMP, por sus siglas en inglés), y el reconocimiento desencadena la respuesta inmune primaria (defensa basal). La inmunidad activada por estos MAMP involucra la participación en la planta de receptores que reconocen esos patrones moleculares (PRR), y disparan la respuesta de inmunidad (MTI, por “MAMP-Triggered Immunity”). Entre las moléculas MAMP se encuentran la quitina y el glucano de los hongos, la flagelina bacteriana, entre otros (Alhoraibi *et al.*, 2019; Zhou y Zhang, 2020). Esta detección ocurre en el apoplasto de las células vegetales y la planta se defiende produciendo especies reactivas de oxígeno (ROS), compuestos antimicrobianos y enzimas hidrolíticas. Los fitopatógenos responden secretando efectores, que le permiten inactivar la respuesta de inmunidad o superar los efectos de los mecanismos de defensa del hospedero. En su coevolución, las plantas han desarrollado una segunda línea de defensa, la inmunidad desencadenada por efectores (ETI, por sus siglas en inglés), que involucra la detección de los efectores de avirulencia (efectores Avr) (Figura 1B). Las proteínas que reconocen a los efectores Avr son receptores intracelulares conocidas como proteínas de resistencia (R), también llamados cognados, y juegan un papel muy importante en los programas de mejoramiento genético (Ghislain *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2020; Thordal-Christensen, 2020). Todas las plantas tienen una amplia familia de genes de resistencia; por ejemplo, en el genoma de *Arabidopsis thaliana* se predicen más de 200 genes que codifican receptores tipo quinasa con motivos repetidos ricos en leucina (LRR-RLK), una clase de genes R (Wu *et al.*, 2016).

La relación entre los factores de avirulencia con la proteína R, es una interacción ubicua en la naturaleza, pero fue descrita primero en la interacción entre el hongo biótrofo *Melampsora lini* y la planta *Linum usitatissimum* (Flor, 1942). En ausencia de



of the phytopathogen is recognized, an important phenomenon of ETI called the hypersensitive response (HR) is triggered. The HR is unfavorable for the phytopathogen since it produces localized cell death in the host at the site of infection; this prevents further pathogen invasion, keeping the plant healthy. This molecular interaction is key to the incompatible plant-pathogen interaction, which involves a resistant host and an avirulent phytopathogen that is unable to counteract the defense of the plant. On the contrary, the association of the phytopathogen with the susceptible host results in a compatible interaction through the ETS (He *et al.*, 2020; Thordal-Christensen, 2020; Todd *et al.*, 2022a).

### Characterization of effectors

*In silico* identification of effectors in microbial genomes has resulted in tens or hundreds of effector candidates (Carreón-Anguiano *et al.*, 2022; Sperschneider *et al.*, 2018) which must be experimentally validated to determine if they are indeed true effectors.

*Nicotiana benthamiana* has been widely used as a model plant to transiently express the effectors and study the phenotype that results from this expression; its success as a model plant is due to its small size, fast growth and its ease of genetic manipulation. The most widely used method for functional analysis is “agroinfiltration”, which involves the transformation of *Agrobacterium tumefaciens* with an expression vector that contains the complete codifying region of the effector; later, the transformed bacteria is infiltrated in the *N. benthamiana* leaves (Figure 2). True effectors are identified because they generate a particular phenotype as a result of the HR. Most produce characteristic lesions on the leaf, between chlorotic and necrotic, due to their presence activating

la proteína R o cognado, o en presencia de una proteína R incapaz de reconocer al efector, no se enciende el mecanismo ETI de protección y defensa y el efector promueve la virulencia del fitopatógeno (Jones y Dangl 2006; Todd *et al.*, 2022a). Esto conlleva a la susceptibilidad desencadenada por efectores (ETS, por sus siglas en inglés); la expresión de los genes efectores Avr típicamente alcanza su punto máximo en las primeras etapas de la infección. Cuando la proteína Avr del fitopatógeno es reconocida, se desencadena la respuesta de hipersensibilidad (RH), un fenómeno importante de la ETI. La RH es desfavorable para el fitopatógeno debido a la muerte celular localizada del hospedero, que se produce en el sitio de infección y evita la invasión, manteniendo a la planta sana. Esta interacción molecular es clave en la interacción incompatible, que involucra un hospedero resistente y un fitopatógeno cuya virulencia no es suficiente para contrarrestar la defensa vegetal. Por el contrario, la asociación del fitopatógeno con el hospedante susceptible resulta en una interacción compatible a través del ETS (He *et al.*, 2020; Thordal-Christensen, 2020; Todd *et al.*, 2022a).

### Caracterización de los efectores

La búsqueda *in silico* de efectores en los genomas microbianos resulta en decenas o cientos de candidatos a efectores (Carreón-Anguiano *et al.*, 2022; Sperschneider *et al.*, 2018); los cuales se deben validar experimentalmente para comprobar si son efectores verdaderos y en consecuencia estudiar su función.

*Nicotiana benthamiana* se ha utilizado ampliamente como planta modelo para expresar a los efectores de manera transitoria y estudiar el fenotipo que resulta de dicha expresión; su éxito como planta modelo es debido a su tamaño pequeño, crecimiento rápido y facilidad de manipulación

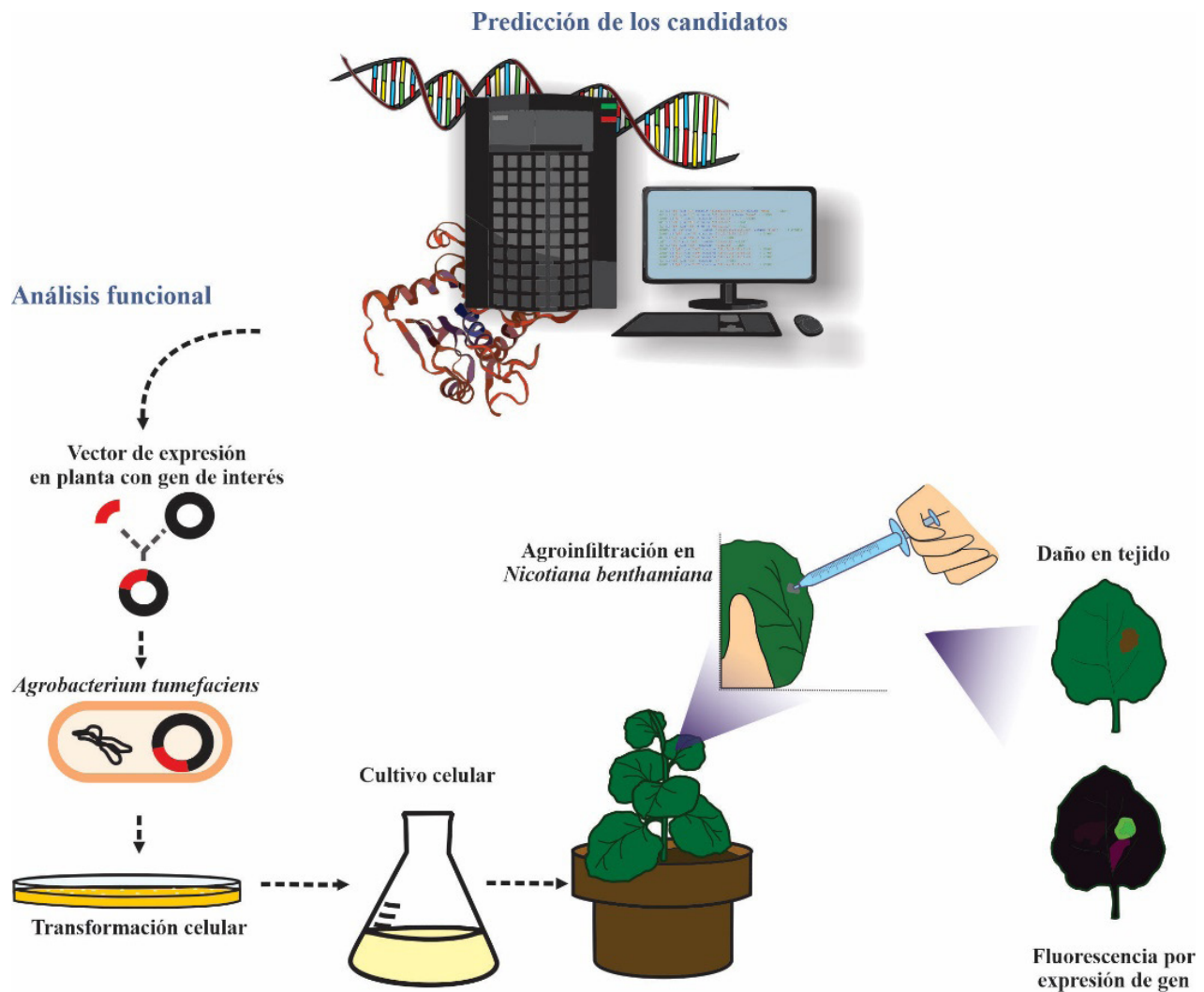


Figure 2. Effector functional analysis workflow. Effectors are first identified through bioinformatics, and some are later selected for functional analysis. The full-length coding sequence is cloned in *Agrobacterium tumefaciens*, then inoculated in leaves of the model plant, *Nicotiana benthamiana*. Effectors can be recognized by the plant receptors resulting in lesions on the leaves produced by the hypersensitive response. However, biotrophic effectors are identified because they can suppress the hypersensitive response in plants that have been made to express a particular R protein; for their characterization, the effector recognized by this R protein is co-agroinfiltrated with the putative biotrophic-associated effector.

Figura 2. Flujo de investigación en la efectorómica. Los efectores son identificados primero *in silico* mediante bioinformática y aquellos seleccionados son evaluados mediante análisis funcional. La secuencia completa de la región codificante es clonada en *Agrobacterium tumefaciens*, y luego inoculada en las hojas de la planta modelo *Nicotiana benthamiana*. Los efectores que son reconocidos por alguno de los receptores de la planta generan lesiones en las hojas o, por el contrario, en el caso de los efectores biotróficos éstos se reconocen porque pueden suprimir la respuesta hipersensible en plantas en las que se haya clonado una proteína R determinada y se co-agroinfiltra el effector que reconoce esa proteína cognada, junto con el candidato en evaluación que se sospecha es effector asociado a un organismo biotrófico.

systemic acquired resistance (Jones and Dangl, 2006; Porras *et al.*, 2022). In turn, other effectors, such as those from biotrophic phytopathogens, characteristically hinder the activation systemic acquired resistance and HR (Zhang *et al.*, 2022). The success of *N. benthamiana* or *Arabidopsis thaliana* as model plants to identify phytopathogen effectors that do not infect them naturally has been described as non-host resistance (NHR). This form of resistance refers to the resistance displayed by a plant species against all the genetic variants of a non-adapted phytopathogen species (Wu *et al.*, 2023).

Several techniques are currently in use to explain the function of effectors. The most common techniques interfere with their expression, such as the generation of “knock out” mutants, which eliminates the gene from the pathogen’s genome, “knock down” or gene silencing using RNA interference (RNAi), which does not eliminate the gene, but interferes post-transcriptionally on the mRNA, preventing its correct translation, and finally, gene editing with CRISPR/Cas9 (Kanja and Hammond-Kosack, 2020). By interrupting the gene’s function, the evaluation determines whether the virulence in a susceptible host is lost (or reduced) to prove that the candidate is a true effector, and a possible protein of interest in phytopathology (Kanja and Hammond-Kosack, 2020).

Other analysis to characterize the effector involves cloning it as a chimeric protein, fusing the codifying region of the effector with a fluorescent protein. This helps determine its subcellular location, that is, whether it is apoplastic or if the protein localizes to intracellular organelles, which helps later locate their target proteins (Camborde *et al.*, 2022; Tang *et al.*, 2022). Identifying and characterizing effectors continue to be challenging tasks. Despite their studies having started 80 years ago (Flor, 1942), by 2020, the functions of only

genética. El método más empleado para el análisis funcional es el de “agroinfiltración”, el cual involucra la transformación de *Agrobacterium tumefaciens* con un vector de expresión que contenga la región codificante completa del efector de interés; posteriormente la bacteria transformada se infiltra en hojas de *N. benthamiana* (Figura 2). Los efectores verdaderos son identificados porque generan un fenotipo particular como resultado de la RH. La mayoría produce lesiones características entre cloróticas y necróticas en la hoja, debido a que su presencia activa la reacción sistémica adquirida (Jones y Dangl 2006; Porras *et al.*, 2022). En cambio, otros efectores, por ejemplo, de fitopatógenos biotróficos, se identifican por impedir la activación de la reacción sistémica adquirida y la RH (Zhang *et al.*, 2022). El éxito de *N. benthamiana* o de *Arabidopsis thaliana* como plantas modelo para identificar efectores de los fitopatógenos que no la infectan naturalmente se ha descrito como resistencia inespecífica (NHR, “non-host resistance”). Esta forma de resistencia se refiere a la resistencia exhibida por una especie vegetal contra todas las variantes genéticas de una especie de fitopatógeno no adaptado (Wu *et al.*, 2023).

Actualmente, existen varias técnicas para elucidar la función de los efectores. Las técnicas más comunes interfieren con su expresión, como la generación de mutantes “knock out” en la que se elimina el gen del genoma del patógeno, el “knock down” o silenciamiento génico utilizando ARN de interferencia (ARNi) que no elimina el gen, pero interfiere pos-transcripcionalmente sobre el ARNm, impidiendo su correcta traducción, y la edición génica con CRISPR/Cas9 (Kanja y Hammond-Kosack, 2020). Al interrumpir la función del gen, se evalúa si la virulencia sobre un hospedero susceptible se pierde (o se reduce) para comprobar que el candidato es un effector verdadero, y una posible proteína de interés en la fitopatología (Kanja y Hammond-Kosack, 2020).

150 true fungal effectors were known (Carreón-Anguiano *et al.*, 2020), although the number has increased significantly and to date, more than 300 effectors have been discovered (Nur *et al.*, 2021; Sperschneider and Dodds, 2022).

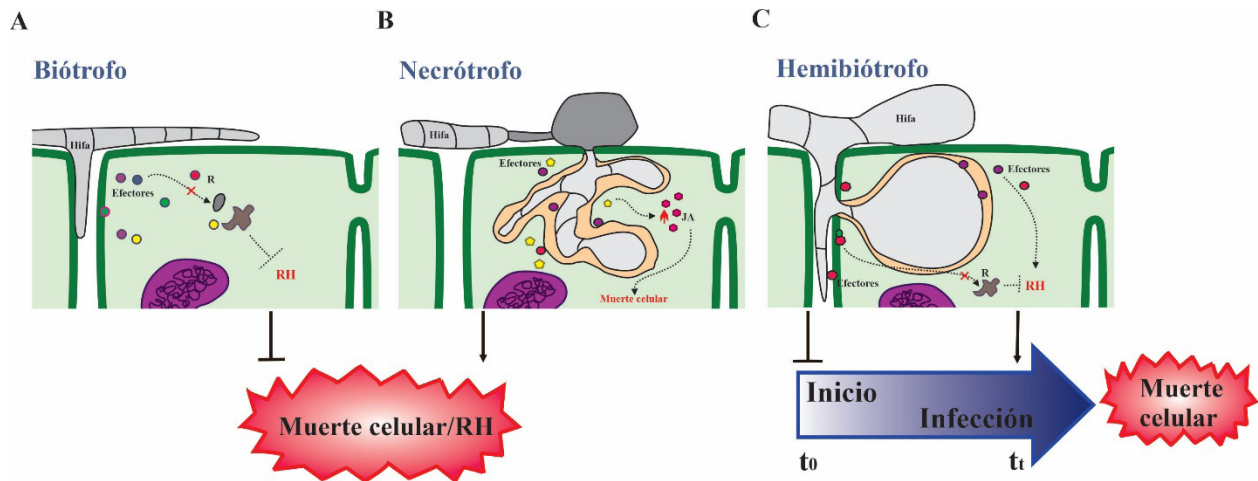
### Functions of the effectors

Effectors participate in all plant-microbe interactions; in negative interactions with phytopathogens as well as in interactions between plants and beneficial microorganisms, such as mycorrhizae (Plett *et al.*, 2020; Kang *et al.*, 2020), and recently, they were also discovered in microbe-microbe interactions (Snelders *et al.*, 2020; Snelders *et al.*, 2021). Regarding phytopathogens, the effector functions reflect their lifestyles; for example, biotrophic phytopathogens require a live host to complete their infection cycle, whereas necrotrophic phytopathogens require dead tissue to obtain their nutrients. On the other hand, hemibiotrophic phytopathogens are a combination of the previous two; they obtain their nutrients from live tissue first and from dead tissue at the end of their infection cycle. While the effectors of biotrophic organisms usually work by blocking the host's immune response; the effectors from necrotrophs trigger the host's defense mechanism, but in an uncontrolled manner that is intense and not localized, inducing host cell death. Hemibiotrophic phytopathogens initially produce effectors that suppress the immune response and cell death, but later, in the necrotrophic phase, they secrete effectors that induce host cell death (Castillo-Sanmiguel *et al.*, 2022; Jones and Dangl, 2006; Thordal-Christensen, 2020; Todd *et al.*, 2022a) (Figure 3). For example, in *Botrytis cinerea*, the effector BcNEP1 shows strong expression at the initial phase of the infection, whereas effectors BcSSP2 and BcNEP2 are expressed later on (Zhu *et al.*, 2022). Similarly, in *Colletotrichum* spp., a

Otros análisis para caracterizar al efector es su clonación como quimera, fusionando la región codificante del efector con una proteína fluorescente. Esto permite definir su localización subcelular, es decir, si es apoplástica o si la proteína se dirige a los organelos intracelulares, lo que ayuda a buscar posteriormente sus proteínas diana (Camborde *et al.*, 2022; Tang *et al.*, 2022). Identificar y caracterizar efectores continúan siendo tareas desafiantes. A pesar de que comenzaron a estudiarse hace 80 años (Flor, 1942), en 2020 sólo se conocían las funciones de 150 efectores verdaderos fúngicos (Carreón-Anguiano *et al.*, 2020), pero el número se ha incrementado significativamente y hoy se conocen más de 300 efectores (Nur *et al.*, 2021; Sperschneider y Dodds, 2022).

### Funciones de los efectores

Los efectores participan en todas las interacciones planta-microbio, tanto en las interacciones negativas con los fitopatógenos, como en las interacciones entre plantas y microorganismos benéficos, como las micorrizas (Plett *et al.*, 2020; Kang *et al.*, 2020), y recientemente fueron descubiertos en las interacciones microbio-microbio (Snelders *et al.*, 2020; Snelders *et al.*, 2021). Con respecto a los fitopatógenos, las funciones de los efectores reflejan su estilo de vida; por ejemplo, los fitopatógenos biotróficos requieren un hospedero vivo para completar su ciclo de infección mientras que los fitopatógenos necrotróficos requieren tejido muerto. Por otro lado, los fitopatógenos hemibiotróficos son una combinación de los dos anteriores, obteniendo su nutrición primero de tejido vivo y al final de su ciclo, de tejido muerto. Mientras que los efectores de los organismos biotróficos a menudo funcionan bloqueando la inmunidad del hospedero, los efectores asociados a necrotófitos encienden las respuestas de defensa del hospedero, pero de una manera descontrolada, intensa y no localizada, in-



**Figure 3.** The biological function of effectors according to the trophic lifestyles of different kinds of phytopathogens. A) In biotrophs, the effectors prevent the hypersensitive response and suppress plant defense, keeping the plant host alive. Examples of biotrophs are the fungi *Ustilago maydis*, *Blumeria graminis* and *Puccinia triticina*. B) Necrotrophs release effectors that induce cell death through necrosis, phagocytosis, etc. Examples of necrotrophs are the fungi *Botrytis cinerea* and *Alternaria brassicicola*, and the bacterium *Rhizobium radiobacter*. C) Hemibiotrophs have both kinds of effectors; initially they use effectors expressed in the biotrophic stage which prevent cell death by HR; but towards the end of their life cycle, they use necrotrophic-associated effectors that induce the host cell death. Examples of hemibiotrophs are the fungi *Colletotrichum graminicola*, *Cladosporium fulvum*, the oomycete *Phytophthora infestans*, and the bacterium *Pseudomonas syringae*.

**Figura 3.** Funcionalidad biológica de efectores según los hábitos tróficos de los diferentes tipos de fitopatógenos. A) en los biótrofos, los efectores bloquean la respuesta hipersensible y suprimen la respuesta de defensa vegetal. Los efectores biotróficos mantienen vivas las células del hospedero. Ejemplos de organismos biotróficos son los hongos *Ustilago maydis*, *Blumeria graminis* y *Puccinia triticina*. B) los necrótrofos liberan efectores que causan la muerte celular a través de necrosis, fagocitosis, etc. Ejemplos de organismos necrotróficos son los hongos *Botrytis cinerea* y *Alternaria brassicicola*, y la bacteria *Rhizobium radiobacter*. C) Los hemibiótrofos poseen ambos tipos de efectores. En el inicio de la interacción emplean efectores expresados en la fase biotrófica que evitan la muerte celular por RH; al final de su ciclo de vida, emplean los efectores asociados a la fase necrotrófica, que provocan la muerte de su hospedero. Ejemplos de organismos hemibiótroficos son los hongos *Colletotrichum graminicola*, *Cladosporium fulvum*, el oomiceto, *Phytophthora infestans* y la bacteria *Pseudomonas syringae*.

genus of hemibiotrophic fungi, there are effectors that participate specifically in the stage of biotrophy, whereas others facilitate necrotrophy, inducing cell death (Ono *et al.*, 2020; Tsushima *et al.*, 2021).

The most widely studied effectors are apoplastic (extracellular) and until the last decade, “extracellular” was part of the definition of effectors (Carreón-Anguiano *et al.*, 2020), since it was believed that all effectors were extracellular. However, intracellular effectors that act in the cytoplasm and organelles have been described in recent times and are gaining ground in effectoromics

duciendo la muerte del hospedero. Los fitopatógenos hemibiótroficos inicialmente producen efectores que suprimen la respuesta inmune y la muerte celular, pero luego, en la fase necrotrófica, secretan efectores que causan la muerte de la célula hospedera (Castillo-Sanmiguel *et al.*, 2022; Jones y Dangl 2006; Thordal-Christensen, 2020; Todd *et al.*, 2022a) (Figura 3). Por ejemplo, en *Botrytis cinerea* el efector BcNEP1 se expresa fuertemente al inicio de la infección, mientras que los efectores BcSSP2 y BcNEP2 se expresan de manera tardía (Zhu *et al.*, 2022). Similarmente, en *Colletotrichum* spp., género

(Sperschneider and Dodds, 2022; Tariqjaveed *et al.*, 2021; Todd *et al.*, 2022b). Apoplastic effectors tend to be small proteins with enzymatic activity that degrade cell walls, or expansins, that relax them; others are protease inhibitors or inhibitors of the recognition of the phytopathogen by the plant (Fabro, 2022; He *et al.*, 2020; Langin *et al.*, 2020), among other functions. Inside the host cells, the intracellular effectors vary in their location and biological functions; most of their targets in the host are proteins with important functions in plant immunity (Thordal-Christensen, 2020). The targets in the host are usually proteases, components of the ubiquitin-proteasome system, proteins involved in transcription, receptors and proteins involved in biosynthesis pathways and signaling mediated by phytohormones that regulate plant defense (Fabro 2022; Han and Kahmann, 2019). Table 1 shows

de hongos hemibiótrofos, hay efectores que participan de manera específica en la etapa de biotrofia, mientras otros facilitan la necrotrofia, induciendo la muerte celular (Ono *et al.*, 2020; Tsushima *et al.*, 2021).

Los efectores ampliamente estudiados son los conocidos como apoplásticos (extracelulares); hasta la última década era parte de la definición de los efectores (Carreón-Anguiano *et al.*, 2020) pues se creía que todos los efectores eran extracelulares; no obstante, se han descrito efectores intracelulares que actúan en el citoplasma y en los organelos y van ganando terreno en la efectorómica (Sperschneider y Dodds, 2022; Tariqjaveed *et al.*, 2021; Todd *et al.*, 2022b). Los efectores apoplásticos suelen ser proteínas pequeñas con actividad enzimática que degradan la pared celular, o expansinas que la relajan; otros son inhibidores de proteasas o inhi-

**Table 1. Examples of characterized effectors and their functions in the host.**  
**Cuadro 1. Ejemplos de efectores caracterizados y sus funciones en el hospedero.**

Efector	Organismo	Actividad Biológica	Localización de la proteína	Rol de virulencia/ Patogenicidad	Diana vegetal	Referencia
AVR 2	<i>Cladosporium fulvum</i>	Induce RH; inhibidor de proteasa	Apoplasto	Inhibe Rcr3 y otras proteasas	<i>Cf-2</i>	Ali y Bakkeren 2011 <sup>y</sup> Selin <i>et al.</i> , 2016 <sup>z</sup>
AVR 4	<i>C. fulvum</i>	Induce RH; Unión a quitina	Apoplasto; célula fúngica, pared de quitina	Protege contra quitinasas	<i>Cf-4</i>	Ali y Bakkeren 2011 <sup>y</sup> Selin <i>et al.</i> , 2016 <sup>z</sup>
AVR 9	<i>C. fulvum</i>	Induce RH; Inhibidor de carboxypeptidasa	Apoplasto	Desconocido	<i>Cf.9</i>	Ali y Bakkeren 2011 <sup>y</sup> Selin <i>et al.</i> , 2016 <sup>z</sup>
BcSSP2	<i>Botrytis cinerea</i>	Efector citotóxico; Induce muerte celular	Apoplasto	No esencial para la patogenicidad	Desconocido	Zhu <i>et al.</i> , 2022
PaMissP10b	<i>Pisolithus albus</i>	Interactúa con la S-adenosylmetionina Descarboxilasa	Citoplasma	Modifica la ruta de biosíntesis de poliaminas	Desconocido	Plett <i>et al.</i> , 2020
PWL 1	<i>Magnaporthe oryzae</i>	Proteína hidrofílica rica en glicina	Complejo interfacial biotrófico	Desconocido	Desconocido	Ali y Bakkeren 2011 <sup>y</sup> Selin <i>et al.</i> , 2016 <sup>z</sup>
PWL 2	<i>M. oryzae</i>	Proteína hidrofílica rica en glicina	Citoplasma	Desconocido	Desconocido	Ali y Bakkeren 2011 <sup>y</sup> Selin <i>et al.</i> , 2016 <sup>z</sup>
PWL 3	<i>M. oryzae</i>	Proteína hidrofílica rica en glicina	Probablemente apoplasto	No funcional	Desconocido	Ali y Bakkeren 2011 <sup>y</sup>
AVR 3 (SIX 1)	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	Desconocido	Xilema	Requerido para la total virulencia	<i>I-3</i>	Ali y Bakkeren 2011 <sup>y</sup> Selin <i>et al.</i> , 2016 <sup>z</sup>
AVR 4 (SIX2)	<i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	Desconocido	Xilema	Requerido para la total virulencia	<i>Desconocido</i>	Ali y Bakkeren 2011 <sup>y</sup> Selin <i>et al.</i> , 2016 <sup>z</sup>

Table 1. Continue  
Cuadro 1. Continúa

Efector	Organismo	Actividad Biológica	Localización de la proteína	Rol de virulencia/ Patogenicidad	Diana vegetal	Referencia
MfAVR4	<i>Pseudocercospora fijiensis</i>	Peritrofina-A con unión a quitina, inducción de RH	Probablemente apoplasto	Protección del hongo contra quitinasas	<i>Cf-4</i> y <i>Hcr9</i>	Ali y Bakkeren 2011 <sup>y</sup> Selin <i>et al.</i> , 2016 <sup>z</sup>
RxLR30	<i>Phytophthora brassicae</i>	Efector de la familia RXLR	Probablemente apoplasto	Inhibe la secreción de antimicrobianos mediado por vesículas	<i>RABA GTPase</i>	Tomczynska <i>et al.</i> , 2018
MoCDIP6	<i>M. oryzae</i>	Induce Muerte Celular	No reportado	Induce necrosis en hojas	Relacionados con Patogénesis (PR): <i>OsCHT1</i> , <i>OsCHT3</i> , <i>OsNac4</i> , <i>OsPR1B</i>	Guo <i>et al.</i> , 2019
PstCEP1	<i>Puccinia striiformis</i>	Induce HR / muerte celular programada	Citoplasma	Responde a altas temperaturas	<i>Desconocido</i>	Tao <i>et al.</i> , 2020
PTTG08198 (CFEM)	<i>P. triticina</i>	Aumenta muerte celular	No reportado	Promueve acumulación de ROS	<i>Desconocido</i>	Zhao <i>et al.</i> , 2020
BLN08	<i>Bremia lactucae</i>	Efector de la familia WY	Mitocondria	Induce muerte celular en lechuga	<i>Desconocido</i>	Wood <i>et al.</i> , 2020
VdAMP3	<i>Verticillium dahliae</i>	Suprime la respuesta inmune / Induce necrosis y senescencia	Xilema	Manipulación del microbioma	<i>Desconocido</i>	Snelders <i>et al.</i> , 2021
XopL	<i>Xanthomonas oryzae</i>	Contrarresta la autofagia en el hospedero	Citoplasma	Se une y degrada al componente SH3P2 de la vía de autofagia	SH3P2	Leong <i>et al.</i> , 2022
MeTCTP	<i>Meloidogyne enterolobii</i>	Suprime la inmunidad vegetal	Citoplasma	Se une al calico e impide su aumento en el citosol	Unión directa al calcio	Guo <i>et al.</i> , 2022
MiMSP32	<i>M. incognita</i>	Interactúa con una enzima involucrada en la síntesis de jasmonato; suprime la inmunidad vegetal	Citoplasma	Promueve la susceptibilidad, contribuye a la virulencia	12-oxofitodienoato reductasa 2 (OPR2)	Verhoeven <i>et al.</i> , 2022
Al6	<i>Apolygus lucorum</i>	Suprime la inmunidad vegetal y permite que el insecto se alimente	Apoplasto, citoplasma	Usa la glutatión peroxidasa para evitar acumulación de especies reactivas de oxígeno	Glutatión peroxidasa	Dong <i>et al.</i> , 2023
βC1	<i>Virus del rizado amarillo de la hoja del tomate</i>	Reduce la actividad de terpeno sintasa.	Núcleo	Disminuye producción de volátiles, provoca mayor atracción a la planta del insecto <i>Bemisia tabaci</i> y mejora el desempeño de éste	PIF y MYC2	Ray y Casteel, 2022

<sup>y,z</sup> review / trabajo de revisión.

some examples of characterized effectors. The reader may expand this catalogue of effectors by consulting the revisions by Kanja and Hammond-Kosack (2020), Todd *et al.*, (2022a, 2022b) and

bidores del reconocimiento del fitopatógeno por la planta (Fabro, 2022; He *et al.*, 2020; Langin *et al.*, 2020), entre otras funciones. Dentro de las células hospederas, los efectores intracelulares varían en

Zhang and collaborators (2022), among others.

Through their effectors, microorganisms can manipulate the synthesis of the phytohormones: jasmonate (JA), salicylate (SA) and ethylene (ET) to their benefit (Alhoraibi *et al.*, 2019; Chini *et al.*, 2018; Langin *et al.*, 2020). For example, the effector Cmu of the fungus *Erysiphe quercicola* chorismate mutase activity, an enzyme that inhibits the synthesis of salicylic acid in the host (He *et al.*, 2021). The effector VdIsc1, of *Verticillium dahliae*, isochorismatase activity, which also interferes in the synthesis of salicylic acid (Zhu *et al.*, 2017), whereas the effector RipAB, of *Ralstonia solanacearum*, interferes with the signaling regulated by salicylic acid (Qi *et al.*, 2022). These examples highlight the importance of inhibiting the synthesis of this phytohormone, which participates in signaling and the defense of the plant. In the mycorrhiza *Laccaria bicolor*, the effector MiSSP7 interacts with the repressor proteins PtJAZ5 and PtJAZ6 of the jasmonic acid signaling pathway, preventing the degradation of these repressor proteins, thus blocking the transcription of defense genes regulated by jasmonic acid, which helps establish a mutualism between the mycorrhiza and the host (Plett *et al.*, 2014). Other effectors affect the physiology of the host to create an ideal environment for colonization; the effector AvrE, from *Pseudomonas syringae* regulates the levels of abscisic acid in the cells to induce stomatal closure, thus increasing water levels in the plant tissue (Hu *et al.*, 2022).

Microorganisms also secrete effectors that promote the synthesis or mimic phytohormones. For example, the necrotic phytopathogen *Lasioidiplodia mediterranea* produces an analog of jasmonic acid, the ester lasiojasmonate A (LasA). LasA can be converted to jasmonyl-isoleucine (JA-Ile), a powerful activator of jasmonic acid signaling and inducer of cell death, facilitating the

localización y funciones biológicas; la mayoría de sus dianas en el hospedero son proteínas con funciones importantes en la inmunidad vegetal (Thordal-Christensen, 2020). Las dianas en el hospedero suelen ser proteasas, componentes del sistema ubiquitina-proteasoma, proteínas involucradas en la transcripción, receptores y las proteínas de las vías de biosíntesis y señalización de los fitohormones que regulan la defensa vegetal (Fabro 2022; Han y Kahmann, 2019). El Cuadro 1, presenta algunos ejemplos de efectores caracterizados. El lector puede ampliar el catálogo de efectores en las revisiones de Kanja y Hammond-Kosack, (2020), Todd *et al.*, (2022a, 2022b) y Zhang y colaboradores (2022), entre otros.

A través de sus efectores, los microorganismos suelen manipular en su beneficio la síntesis de los fitohormones jasmonato (JA), salicilato (SA) y etileno (ET) (Alhoraibi *et al.*, 2019; Chini *et al.*, 2018; Langin *et al.*, 2020). Por ejemplo, el effector Cmu del hongo *Erysiphe quercicola* tiene actividad de corismato mutasa, enzima que inhibe la síntesis del ácido salicílico en el hospedero (He *et al.*, 2021). El effector VdIsc1, de *Verticillium dahliae* tiene actividad de isocorismatasa que también interfiere en la síntesis del ácido salicílico (Zhu *et al.*, 2017), mientras el effector RipAB de *Ralstonia solanacearum* interfiere con la señalización regulada por el ácido salicílico (Qi *et al.*, 2022). Estos ejemplos destacan la importancia de inhibir la síntesis de este fitohormone, el cual participa en la señalización y en la defensa vegetal. En la micorriza *Laccaria bicolor*, el effector MiSSP7 interactúa con las proteínas represoras PtJAZ5 y PtJAZ6 de la ruta de señalización del ácido jasmónico, evitando la degradación de estas proteínas represoras y en consecuencia evita la transcripción de genes de defensa regulados por el ácido jasmónico, lo que permite que se establezca el mutualismo entre la micorriza y el hospedero (Plett *et al.*, 2014). Otros



necrotrophy phase of this pathogen (Chini *et al.*, 2018).

### Perspectives of effectormics in agriculture

The interest in effectormics and its importance in agrobiotechnology have grown considerably in the last decade, and it is currently a priority area of investigations surrounding phytopathogen-host interactions. Some reports have shown that some effectors may, in the future, be used as bioproducts to induce plant defense responses. For example, the effector MSP1 of the hemibiotrophic fungus *Magnaporthe oryzae* was expressed in the bacteria *Escherichia coli* and when 0.1 µM of the recombinant protein was applied on rice seedling leaves, the plant's defense response was boosted and infection was avoided (Wang *et al.*, 2016). Recently, the effectors MoCDIP6 and MoCDIP7 were reported in this same fungus; following a similar process, the treated plants displayed no symptoms of necrosis or wilting, and they began to express genes related to resistance. When a virulent strain of *M. oryzae* was inoculated, plants developed less and smaller lesions in comparison with the control plants (Guo *et al.*, 2019). In *Fusarium oxysporum* in interaction with tobacco plants, the effector FocCPI induced the expression of genes related to salicylic acid signaling. When FocCPI was applied on tobacco plants followed by inoculation with the tobacco mosaic virus, the treated plants developed less symptoms than the control (Li *et al.*, 2019). This is a promising line of investigation, since it offers an eco-friendly approach to disease control in comparison with commercial pesticides, although there are currently few investigations that aim to explore the agrobiotechnological use of effectors. The majority of investigations focus on elemental aspects such as their structure, function or cell location.

efectores afectan la fisiología del hospedero para crear un ambiente propicio para la colonización; el efector AvrE de *Pseudomonas syringae* regula los niveles del ácido abscísico en las células para inducir el cierre estomático y así aumentar los niveles de agua en el tejido vegetal (Hu *et al.*, 2022).

En otras ocasiones, los microorganismos secretan efectores que promueven la síntesis o mimetizan a los fitorreguladores. Por ejemplo, el fitopatógeno necrotrófico *Lasiodiplodia mediterranea* produce un análogo del ácido jasmónico, el éster lasiojasmonato A (LasA). LasA se puede convertir en jasmonil-isoleucina (JA-Ile), un potente activador de la señalización del ácido jasmónico e inductor de la muerte celular, facilitando la necrotrofia de este patógeno (Chini *et al.*, 2018).

### Perspectivas de la efectorómica en la agricultura

El interés en la efectorómica y su importancia en la agrobiotecnología ha crecido de manera importante en la última década, y actualmente es un área prioritaria en las investigaciones de las interacciones fitopatógeno-hospedero. Algunos reportes han mostrado que algunos efectores pudieran en el futuro ser utilizados como bioproductos por sí mismos, para inducir respuestas de defensa vegetal. Por ejemplo, el efector MSP1 del hongo hemibiótrofo *Magnaporthe oryzae* se expresó de manera heteróloga en la bacteria *Escherichia coli* y se aplicó 0.1 µM de la proteína recombinante en las hojas de plántulas de arroz, lo que potenció la respuesta de defensa y evitó su infección (Wang *et al.*, 2016). Recientemente, de este mismo hongo, se reportaron los efectores MoCDIP6 y MoCDIP7; siguiendo un proceso similar, se observó que las plantas tratadas no mostraron síntomas de necrosis o marchitez, y comenzaron a expresar genes relacionados a la resistencia; cuando se inoculó una cepa virulenta de *M. oryzae*, las plantas desarrollaron menos

Vleeshouwers and collaborators (2011) pioneered the use of effectors in potato crops for the selection of resistant germplasm in genetic breeding programs. *Phytophthora infestans* effectors have been used to select potato germplasm, in which resistance genes were identified that were useful in the development of improved varieties. Nowadays, introducing resistance genes into susceptible germplasm is one of the most promising applications in genetic breeding programs (Chen *et al.*, 2022; Ji *et al.*, 2022; Ochola *et al.*, 2020). Recombinant effector proteins have also been used to identify susceptible plants. The hypothesis is that when susceptibility genes are mutated, plants will have a more durable resistance in comparison with that mediated by resistance genes (R) (Campos *et al.*, 2021; Garcia-Ruiz *et al.*, 2021; Koseoglou *et al.*, 2022; Ribeiro *et al.*, 2022).

Due to the lack of effector conservation, the development of effectoromics has been slow and difficult. However, with the progress made in high throughput analyses, effectoromics is currently under development and has lots to offer agriculture (Li *et al.*, 2021; Van de Wouw and Idnurm, 2019). Consequently, it is necessary to have robust prediction methods, as well as large-scale effector characterization protocols that help identify effectors with crucial functions to infections and that can protect the plant, at least against the phytopathogen that produces it, or preferably protect the plant against several phytopathogens at a time.

### Current landscape of effectoromics in Mexico

Effectoromics is an emerging field in Mexico. The first investigations in which Mexican scientists participated focused on the identification of effectors in the oomycetes *P. infestans* during the infection of tomato and *Phytophthora capsici* in

lesiones y más pequeñas en comparación con las plantas control (Guo *et al.*, 2019). En *Fusarium oxysporum*, en interacción con la planta de tabaco, el efector FocCP1 indujo la expresión de genes relacionados con la señalización por ácido salicílico. Cuando se aplicó FocCP1 en plantas de tabaco y se inoculó con el virus del mosaico del tabaco, las plantas tratadas desarrollaron menos síntomas que en el control (Li *et al.*, 2019). Esta es una prometedora línea de investigación, ya que ofrece una perspectiva eco-amigable en comparación a los pesticidas comerciales, pero actualmente hay pocos trabajos dirigidos a explorar el aprovechamiento agrobiotecnológico de los efectores. La inmensa mayoría de los trabajos se enfocan a aspectos básicos de su estructura, función o localización celular.

En otra línea de aplicación, Vleeshouwers y colaboradores (2011) impulsaron el uso de los efectores para seleccionar germoplasma resistente para programas de mejoramiento genético. Se han empleado efectores de *Phytophthora infestans* para seleccionar plantas de papa, donde se identificaron un conjunto de genes de resistencia que fueron útiles para desarrollar variedades mejoradas. Hoy en día, introducir genes de resistencia en germoplasma susceptible, es una de las aplicaciones más promisorias en programas de mejoramiento genético (Chen *et al.*, 2022; Ji *et al.*, 2022; Ochola *et al.*, 2020). También se han usado proteínas efectoras recombinantes para la identificación de plantas susceptibles. Se hipotetiza que, al mutar los genes de susceptibilidad, las plantas tendrán resistencia más duradera en comparación con la resistencia mediada por genes de resistencia (R) (Campos *et al.*, 2021; Garcia-Ruiz *et al.*, 2021; Koseoglou *et al.*, 2022; Ribeiro *et al.*, 2022).

Debido a la falta de conservación de los efectores, el desarrollo de la efectorómica ha sido lenta y difícil; sin embargo, con los avances en análisis masivos, actualmente la efectorómica está en pleno

a non-host interaction in *Nicotiana* spp. (Zuluaga *et al.*, 2015; Vega-Arreguín *et al.*, 2017). These investigations identified a diversity of effectors, including IpiO and SNE1 during the biotrophic phase of infection, as well as PiNPP1.1 during the necrotrophic phase. The RXLR, CRN and NPP effector families, common in oomycetes, were also identified (Zuluaga *et al.*, 2015). In turn, the *Nicotiana* species displayed resistance against *P. capsici*. The analysis identified that resistance is mediated by the gene *I2R*, which recognizes the protein effector PcAvr3a1 in the phytopathogen (Vega-Arreguín *et al.*, 2017).

In phytopathogenic fungi, the identification of effectors in *P. fijiensis*, the fungus that causes black Sigatoka in banana and plantains, is being addressed. Initial analysis identified 136 canonical effectors, that is, they display all the classic characteristics of effectors (secreted, small size, high cysteine content) (Carreón-Anguiano *et al.*, 2020). In order to contribute to world fungal effectoromics, Carreón-Anguiano *et al.* (2022) created an algorithm, WideEffHunter, which can identify non-canonical effectors, and found that the canonical effectors compose approximately 10% of the effectoromes of fungi and oomycetes. The identification of global effectoromes is expected to help identify new effector families, a greater number of effectors that share homology in different organisms, and new motifs and domains in protein effectors (Carreón-Anguiano *et al.*, 2022; Todd *et al.*, 2022b).

Other Mexican investigations have focused on non-phytopathogenic organisms. Guzmán-Guzmán *et al.* (2017) bioinformatically identified 233 effectors in *Trichoderma virens*, *T. atroviride* and *T. reesei* proteomes, where 16 effectors from *T. virens* and *T. atroviride* were selected for characterization. They found that some effectors are expressed during fungal colonization of *A. thaliana*,

desarrollo y tiene mucho que ofrecer a la agricultura (Li *et al.*, 2021; Van de Wouw y Idnurm, 2019). En consecuencia, es necesario contar con métodos robustos de predicción, así como protocolos de caracterización masiva de efectores, que permitan identificar efectores con funciones indispensables en la infección y que sean capaces de conferir protección a la planta al menos contra el fitopatógeno que lo produce, o preferentemente protegerla contra múltiples fitopatógenos a la vez.

### Panorama actual de la efectorómica en México

La efectorómica es un campo de desarrollo incipiente en México. Los primeros trabajos en los que participaron investigadores mexicanos se enfocaron a la identificación de efectores de los oomicetos *P. infestans* durante la infección de jitomate y de *Phytophthora capsici* en interacción de tipo no-hospedera en *Nicotiana* spp. (Zuluaga *et al.*, 2015; Vega-Arreguín *et al.*, 2017). En estos trabajos identificaron diversidad de efectores, entre ellos, encontraron a los efectores IpiO y SNE1 durante la fase biotrófica, y a PiNPP1.1 durante la fase necrotrófica. Las familias de efectores RXLR, CRN, y NPP, comunes en oomicetos, fueron identificadas también (Zuluaga *et al.*, 2015). Por su parte, las especies de *Nicotiana* mostraron resistencia contra *P. capsici*. El análisis identificó que la resistencia es mediada por el gen *I2R* que reconoce en el fitopatógeno al efector proteico PcAvr3a1 (Vega-Arreguín *et al.*, 2017).

En hongos fitopatógenos, se está abordando la identificación de efectores en *P. fijiensis*, el hongo causante de la Sigatoka negra en bananos y plátanos. En ese primer análisis se identificaron 136 efectores canónicos, es decir, que cumplen con todas las características clásicas de los efectores (secretados, pequeño tamaño, alto contenido de cisteínas) (Carreón-Anguiano *et al.*, 2020). Con el

whereas others are expressed when they confront the phytopathogenic fungus *Rhizoctonia solani*. Among the *Trichoderma* effectors, hydrolases have been found along with hydrophobins, cerato-platanins, and effectors with CFEM or LysM domains (Ramírez-Valdespino *et al.*, 2019; Romero-Contreras *et al.*, 2019). Interestingly, a class II hydrophobin, tvhydii1, is overexpressed in *T. virens* in the presence of the phytopathogen *R. solani*; the mutants that lose their tvhydii1 function lose part of their ability to colonize plant roots, whereas its overexpression increases colonization (Guzmán *et al.*, 2017).

Recently, Báez-Astorga *et al.* (2022) reported the action mechanism of the biocontrol agent *Bacillus cereus*, which is able to inhibit *in vitro* *Fusarium verticillioides*, a phytopathogen that causes ear and root rot in maize. *F. verticillioides* secretes the effector Fv-cmp which has protease activity and digests types A and B chitinases of the plant. On the other hand, *B. cereus* secretes the effectors ChiA and ChiB with chitinase activity which, *in vitro*, act upon the *F. verticillioides* conidia and prevent them from germinating and developing into hyphae. This is due, in particular, to effector ChiB with the domain CBM 2, which helps it adhere strongly to the fungal cell wall, displaying greater activity than ChiA.

Although there are very few investigations in Mexico in the area of effectoromics, these investigations show promising results in the realm of biotechnological applications. Research on effectors in Mexico may expand to study phytopathogenic bacteria, as well as insect pests and nematodes. It is worth mentioning that the interest in these areas has grown in recent years worldwide, but the number of investigation groups is still limited, thus representing an opportunity for Mexican research to contribute to this niche in effectoromics.

objetivo de contribuir a la efectorómica fúngica en el mundo, Carreón-Anguiano *et al.* (2022) crearon un algoritmo, WideEffHunter, que es capaz de identificar efectores no-canónicos, encontrando que los efectores canónicos comprenden aproximadamente 10% de los efectoromas en hongos y en oomicetos. Se espera que la identificación de efectoromas globales permita identificar nuevas familias de efectores, mayor número de efectores que en diferentes organismos comparten homología, y nuevos motivos y dominios en los efectores proteicos (Carreón-Anguiano *et al.*, 2022; Todd *et al.*, 2022b).

Otros trabajos mexicanos se han enfocado en organismos no fitopatógenos. Guzmán-Guzmán *et al.* (2017) identificaron bioinformáticamente 233 efectores al unir los proteomas de *Trichoderma virens*, *T. atroviride* y *T. reesei*, donde seleccionaron 16 efectores de *T. virens* y *T. atroviride* y los caracterizaron, encontrando que unos se expresan cuando estos hongos colonizan *A. thaliana*, mientras otros se expresan cuando se enfrentan al hongo fitopatógeno *Rhizoctonia solani*. Entre los efectores de *Trichoderma* se han encontrado hidrolasas, hidrofobinas, cerato-plataninas, y efectores con dominios CFEM, o dominios LysM (Ramírez-Valdespino *et al.*, 2019; Romero-Contreras *et al.*, 2019). Interesantemente, una hidrofobina de clase II, tvhydii1, se sobre-expresa en *T. virens* en presencia del fitopatógeno *R. solani*; las mutantes que pierden la función de tvhydii1 pierden parte de su capacidad de colonizar las raíces de las plantas, mientras que su sobre-expresión la incrementa (Guzmán *et al.*, 2017).

Recientemente, Báez-Astorga *et al.* (2022) reportaron el mecanismo de acción del agente de biocontrol *Bacillus cereus*, que es capaz de inhibir *in vitro* a *Fusarium verticillioides*, un fitopatógeno que causa pudrición de la mazorca y las raíces del maíz. *F. verticillioides* secreta el effector Fv-cmp con ac-

## CONCLUSIONS

Effectors are extremely important for the establishment of biological interactions; within the range of interactions in which they are found, the plant-pathogen interaction is the most studied. The first study was in the *L. usitatissimum*-*M. lini* interaction in the 1940s, and although currently there are great advances in effectoromics, knowledge is still limited. Consequently, it has become necessary to expedite the prioritization of effectors for their characterization, since hundreds of them are identified for each organism during *in silico* analysis.

The identification and characterization of effectors crucial to phytopathogen virulence could be key to the development of new methods to manage diseases in agriculture, based on effectors. The identification of target proteins in the host is incipient; among these target proteins, there are possible resistance proteins with genes that can be used for plant protection. Undoubtedly, the effectors of microorganisms represent opportunity niches that must be understood in order to use them for the benefit of society and world food security.

## ACKNOWLEDGEMENTS

This work was funded by the National Science and Technology Council (Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACyT-México), with Project FOP16-2021-01 No. 320993, and scholarships No. 291236 by JNA Todd, No. 644399 by OJ Couoh-Dzul and No. 700673 by KGCA.

## LITERATURE CITED

Alhoraibi H, Bigeard J, Rayapuram N, Colcombet J and Hirt H. 2019. Plant Immunity: The MTI-ETI Model and Beyond. *Current issues in molecular biology* 30: 39–58. <https://doi.org/10.21775/cimb.030.039>

tividad de proteasa que digiere las quitinasas tipo A y B de la planta. Por su parte, *B. cereus* secreta los efectores ChiAy ChiB con actividad quitinasa que *in vitro* actúan sobre los conidios de *F. verticillioides* e impiden que germinen y se desarrollen en hifas, particularmente ChiB que posee el dominio CBM 2, el cual le permite unirse con más fuerza a la pared del hongo y tener mayor actividad que ChiA. Aunque aún son muy pocos los trabajos desarrollados en México en el área de la efectorómica, estas investigaciones muestran resultados prometedores en cuanto a aplicaciones biotecnológicas. Es deseable que en México se impulse también el estudio de los efectores en las bacterias fitopatógenas, e insectos y nematodos plagas. Cabe mencionar que el interés en estas áreas ha crecido en los últimos años a nivel mundial, pero el número de grupos de investigación aún es limitado por lo que representa un nicho de oportunidad para contribuir con investigaciones mexicanas.

## CONCLUSIONES

Los efectores son sumamente importantes para el establecimiento de interacciones biológicas; dentro del rango de interacciones en que se encuentran, la interacción planta-patógeno es la más estudiada. El primer acercamiento hacia los efectores fue en la interacción *L. usitatissimum*-*M. lini* en los años 40 y aunque en la actualidad se tiene grandes avances en la efectorómica, el conocimiento es aún limitado. En consecuencia, es necesario agilizar la priorización de efectores para su caracterización pues se identifican cientos de ellos para cada organismo durante el análisis *in silico*.

La identificación y caracterización de los efectores indispensables para la virulencia de los fitopatógenos podría ser clave para el desarrollo de nuevos métodos de manejo de enfermedades en

- Ali S and Bakkeren, G. 2011. Fungal and oomycete effectors – strategies to subdue a host. *Canadian Journal of Plant Pathology* 33(4): 425–446. <https://doi.org/10.1080/07060661.2011.625448>
- Almeida F, Rodrigues ML and Coelho C. 2019. The Still Underestimated Problem of Fungal Diseases Worldwide. *Frontiers in Microbiology* 10: 214. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00214>
- Báez-Astorga PA, Cázares-Álvarez JE, Cruz-Mendivil A, Quiroz-Figueroa FR, Sánchez-Valle VI and Maldonado-Mendoza IM. 2022. Molecular and biochemical characterisation of antagonistic mechanisms of the biocontrol agent *Bacillus cereus* B25 inhibiting the growth of the phytopathogen *Fusarium verticillioides* P03 during their direct interaction in vitro, *Biocontrol Science and Technology* 32(9): 1074–1094. <https://doi.org/10.1080/09583157.2022.2085662>
- Baker BP, Green TA and Loker AJ. 2020. Biological control and integrated pest management in organic and conventional systems. *Biological Control* 140: 104095. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2019.104095>
- Cai J, Jiang Y, Ritchie ES, Macho AP, Yu F and Wu D. 2023. Manipulation of plant metabolism by pathogen effectors: More than just food. *FEMS Microbiology Reviews* fuad007. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuad007>
- Camborde L, Kiselev A, Pel MJC, Le Ru A, Jauneau A, Pouzet C, Dumas B and Gaulin E. 2022. An oomycete effector targets a plant RNA helicase involved in root development and defense. *New Phytologist* 233(5): 2232–2248. <https://doi.org/10.1111/nph.17918>
- Campos MD, Félix MDR, Patanita M, Materatski P and Varanda C. 2021. High throughput sequencing unravels tomato-pathogen interactions towards a sustainable plant breeding. *Horticulture Research* 8(1): 171. <https://doi.org/10.1038/s41438-021-00607-x>
- Carreón-Anguiano KG, Todd JNA, Chi-Manzanero BH, Couoh-Dzul OJ, Islas-Flores I, and Canto-Canché B. 2022. WideEffHunter: An Algorithm to Predict Canonical and Non-Canonical Effectors in Fungi and Oomycetes. *International journal of molecular sciences* 23(21): 13567. <https://doi.org/10.3390/ijms232113567>
- Carreón-Anguiano KG, Islas-Flores I, Vega-Arreguín J, Sáenz-Carbonell L and Canto-Canché B. 2020. EffHunter: A Tool for Prediction of Effector Protein Candidates in Fungal Proteomic Databases. *Biomolecules* 10(5): 712. <https://doi.org/10.3390/biom10050712>
- Castillo-Sanmiguel PA, Cortés-Sánchez LR and Acero-Godoy J. 2022. Molecular aspects of tomato (*Solanum lycopersicum*) vascular wilt by *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and antagonism by *Trichoderma* spp. *Mexican Journal of Phytopathology* 40(1): 82–102. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2106-1>
- Chang M, Chen H, Liu F and Fu ZQ. 2022. PTI and ETI: Convergent pathways with diverse elicitors. *Trends in Plant Science* 27(2): 113–115. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2021.11.013>

la agricultura, basado en los efectores. La identificación de las proteínas dianas en el hospedero se encuentra rezagada; dentro de estas dianas hay posibles proteínas de resistencia cuyos genes pueden ser utilizados para la protección vegetal. Indudablemente, los efectores de los microorganismos representan nichos de oportunidad que se requieren comprender para poder aprovecharlos para el bien de la población y la seguridad alimentaria mundial.

#### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología-México (CONACyT-México), con el Proyecto FOP16-2021-01 No. 320993, y las becas No. 291236 de JNA Todd, No. 644399 de OJ Couoh-Dzul y No. 700673 de KGCA.

~~~~~ Fin de la versión en Español ~~~~~

- Chen CY, Liu YQ, Song WM, Chen DY, Chen FY, Chen XY, Chen ZW, Ge SX, Wang CZ, Zhan S, Chen XY and Mao YB. 2019. An effector from cotton bollworm oral secretion impairs host plant defense signaling. *Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America* 116(28): 14331–14338. <https://doi.org/10.1073/pnas.1905471116>
- Chen L, Wang H, Yang J, Yang X, Zhang M, Zhao Z, Fan Y, Wang C and Wang J. 2021. Bioinformatics and Transcriptome Analysis of CFEM Proteins in *Fusarium graminearum*. *Journal of Fungi* 7(10): 871. <https://doi.org/10.3390/jof7100871>
- Chini, A., Cimmino, A., Masi, M., Reveglia, P., Nocera, P., Solano, R., & Evidente, A. (2018). The fungal phytotoxin lasiojasmonate A activates the plant jasmonic acid pathway. *Journal of experimental botany* 69(12): 3095–3102. <https://doi.org/10.1093/jxb/ery114>
- Dong Y, Zhang W, Jin Y, Shen D and Xia A. 2023. *Apolygus lucorum* effector Al6 promotes insect feeding performance on soybean plants: RNAi analysis and feeding behaviour study with electrical penetration graph. *Insect molecular biology*, 32(1): 1–10. <https://doi.org/10.1111/imb.12808>
- Fabro G. 2022. Oomycete intracellular effectors: specialised weapons targeting strategic plant processes. *The New Phytologist* 233(3): 1074–1082. <https://doi.org/10.1111/nph.17828>

- FAO, 2017. The future of food and agriculture – trends and challenges. Recuperado en 12 de marzo de 2023, de <http://www.fao.org/3/a-i6583e.pdf>
- Figueroa M, Ortiz D and Henningsen EC. 2021. Tactics of host manipulation by intracellular effectors from plant pathogenic fungi. *Current Opinion in Plant Biology* 62: 102054. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2021.102054>
- Flor HH. 1942. Inheritance of pathogenicity in *Melampsora lini*. *Phytopathology* 32: 653–669
- García-Ruiz H, Szurek B and Van den Ackerveken G. 2021. Stop helping pathogens: engineering plant susceptibility genes for durable resistance. *Current Opinion in Biotechnology* 70: 187-195. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2021.05.005>
- Ghislain M, Byarugaba AA, Magembe E, Njoroge A, Rivera C, Román ML, Tovar JC, Gamboa S, Forbes GA, Kreuzer JF, Barekye A and Kiggundu A. 2019. Stacking three late blight resistance genes from wild species directly into African highland potato varieties confers complete field resistance to local blight races. *Plant Biotechnology Journal* 17(6): 1119–1129. <https://doi.org/10.1111/pbi.13042>
- Guo B, Lin B, Huang Q, Li Z, Zhuo K and Liao J. 2022. A nematode effector inhibits plant immunity by preventing cytosolic free Ca<sup>2+</sup> rise. *Plant Cell Environment* 45 (10): 3070-3085. <https://doi.org/10.1111/pce.14406>
- Guo X, Zhong D, Xie W, He Y, Zheng Y, Lin Y, Chen Z, Han Y, Tian D, Liu W, Wang F, Wang Z and Chen S. 2019. Functional identification of novel cell death-inducing effector proteins from *Magnaporthe oryzae*. *Rice* 12(1): 59. <https://doi.org/10.1186/s12284-019-0312-z>
- Gupta A, Singh UB, Sahu PK, Paul S, Kumar A, Malviya D, Singh S, Kuppasamy P, Singh P, Paul D, Rai JP, Singh HV, Manna MC, Crusberg TC, Kumar, A and Saxena AK. 2022. Linking Soil Microbial Diversity to Modern Agriculture Practices: A Review. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 19(5): 3141. <https://doi.org/10.3390/ijerph19053141>
- Guzmán-Guzmán P, Porras-Troncoso MD, Olmedo-Monfil V and Herrera-Estrella A. 2019. Trichoderma Species: Versatile Plant Symbionts. *Phytopathology* 109(1): 6–16. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-18-0218-RVW>
- Han X and Kahmann R. 2019. Manipulation of phytohormone pathways by effectors of filamentous plant pathogens. *Frontiers in Plant Science* 10: 822. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00822>
- He Q, Liu Y, Liang P, Liao X, Li X, Li X, Shi D, Liu W, Lin C, Zheng F and Miao W. 2021. A novel chorismate mutase from *Erysiphe quercicola* performs dual functions of synthesizing amino acids and inhibiting plant salicylic acid synthesis. *Microbiological Research* 242: 126599. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2020.126599>
- He Q, McLellan H, Boevink PC and Birch P. 2020. All roads lead to susceptibility: the many modes of action of fungal and oomycete intracellular effectors. *Plant communications* 1(4): 100050. <https://doi.org/10.1016/j.xplc.2020.100050>
- Hu Y, Ding Y, Cai B, Qin X, Wu J, Yuan M, Wan S, Zhao Y and Xin XF. 2022. Bacterial effectors manipulate plant abscisic acid signaling for creation of an aqueous apoplast. *Cell Host & Microbe* 30(4): 518-529.e6. <https://doi.org/10.1016/j.chom.2022.02.002>
- Huang C. 2021. From Player to Pawn: Viral Avirulence Factors Involved in Plant Immunity. *Viruses* 13(4): 688. <https://doi.org/10.3390/v13040688>
- Huang Z, Li H, Zhou Y, Bao Y, Duan Z, Wang C, Powell CA., Chen B, Zhang M and Yao W. 2022. Predication of the Effector Proteins Secreted by *Fusarium sacchari* Using Genomic Analysis and Heterogenous Expression. *Journal of Fungi* 8(1): 59. <https://doi.org/10.3390/jof8010059>
- Hurlburt NK, Chen LH, Stergiopoulos I and Fisher AJ. 2018. Structure of the *Cladosporium fulvum* Avr4 effector in complex with (GlcNAc)<sub>6</sub> reveals the ligand-binding mechanism and uncouples its intrinsic function from recognition by the Cf-4 resistance protein. *PLoS Pathogens* 14(8):e1007263. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007263>
- Ji Z, Guo W, Chen X, Wang C and Zhao K. 2022. Plant executor genes. *International Journal of Molecular Sciences* 23(3):1524. <https://doi.org/10.3390/ijms23031524>
- Jones JD and Dangl JL. 2006. The plant immune system. *Nature* 444(7117):323-329. <https://doi.org/10.1038/nature05286>
- Kang H, Chen X, Kempainen M, Pardo AG, Veneault-Fourrey C, Kohler A and Martin FM. (2020). The small secreted effector protein MiSSP7.6 of *Laccaria bicolor* is required for the establishment of ectomycorrhizal symbiosis. *Environmental Microbiology* 22(4): 1435–1446. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14959>
- Kanja C and Hammond-Kosack KE. 2020. Proteinaceous effector discovery and characterization in filamentous plant pathogens. *Molecular Plant Pathology* 21(10):1353-1376. <https://doi.org/10.1111/mpp.12980>
- Koseoglou E, van der Wolf JM, Visser RGF and Bai Y. 2022. Susceptibility reversed: modified plant susceptibility genes for resistance to bacteria. *Trends in Plant Science* 27(1):69-79. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2021.07.018>
- Langin G, Gouguet P and Üstün S. 2020. Microbial effector proteins - a journey through the proteolytic landscape. *Trends in Microbiology* 28(7): 523-535. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2020.02.010>
- Leong JX, Raffener M, Spinti D, Langin G, Franz-Wachtel M, Guzman AR, Kim JG, Pandey P, Minina AE, Macek B, Hafrén A, Bozkurt TO, Mudgett MB, Börnke F, Hofius D and Üstün S. 2022. A bacterial effector counteracts host autophagy by promoting degradation of an autophagy component. *The EMBO Journal* 41(13):e110352. <https://doi.org/10.15252/embj.2021110352>
- Li Q, Wang B, Yu J and Dou D. 2021. Pathogen-informed breeding for crop disease resistance. *Journal of Integrative Plant Biology*, 63(2): 305–311. <https://doi.org/10.1111/jipb.13029>

- Li S, Dong Y, Li L, Zhang Y, Yang X, Zeng H, Shi M, Pei X, Qiu D and Yuan Q. 2019. The Novel Cerato-Platanin-Like Protein FocCP1 from *Fusarium oxysporum* Triggers an Immune Response in Plants. *International Journal of Molecular Sciences* 20(11):2849. <https://doi.org/10.3390/ijms20112849>
- Li W, Deng Y, Ning Y, He Z and Wang GL. 2020. Exploiting Broad-Spectrum Disease Resistance in Crops: From Molecular Dissection to Breeding. *Annual Review of Plant Biology*, 71(1): 575–603. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-010720-022215>
- Nazarov PA, Baleev DN, Ivanova MI, Sokolova LM and Karakozova MV. (2020). Infectious Plant Diseases: Etiology, Current Status, Problems and Prospects in Plant Protection. *Acta Naturae* 12(3): 46–59. <https://doi.org/10.32607/actanaturae.11026>
- Noar RD and Daub ME. 2016. Transcriptome sequencing of *Mycosphaerella fijiensis* during association with *Musa acuminata* reveals candidate pathogenicity genes. *BMC Genomics* 17(1):690. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-3031-5>
- Nur M, Wood K and Michelmore R. 2021. EffectorO: motif-independent prediction of effectors in oomycete genomes using machine learning and lineage specificity. Preprint. [bioRxiv. https://doi.org/10.1101/2021.03.19.436227](https://doi.org/10.1101/2021.03.19.436227)
- Ochola S, Huang J, Ali H, Shu H, Shen D, Qiu M, Wang L, Li X, Chen H, Kange A, Qutob D and Dong S. 2020. Editing of an effector gene promoter sequence impacts plant-*Phytophthora* interaction. *Journal Integrative Plant Biology* 62(3):378-392. <https://doi.org/10.1111/jipb.12883>
- Ono E, Mise K and Takano Y. 2020. RLP23 is required for *Arabidopsis* immunity against the grey mould pathogen *Botrytis cinerea*. *Scientific Reports* 10(1):13798. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-70485-1>
- Outram MA, Solomon PS and Williams SJ. 2021. Pro-domain processing of fungal effector proteins from plant pathogens. *PLoS Pathogen* 17(10):e1010000. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1010000>
- Padilla-Ramos R, Salas-Muñoz S, Velásquez-Valle R and Reveles-Torres LR. 2018. A novel molecular approach in the study of parasite-host interaction. *Revista Mexicana de Fitopatología* 37(1): 95-114. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1808-6>
- Peng Z, Oliveira-Garcia E, Lin G, Hu Y, Dalby M, Migeon P, Tang H, Farman M, Cook D, White FF, Valent B and Liu S. 2019. Effector gene reshuffling involves dispensable mini-chromosomes in the wheat blast fungus. *PLoS Genetics* 15(9):e1008272. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1008272>
- Plett JM, Plett KL, Wong-Bajracharya J, de Freitas Pereira M, Costa MD, Kohler A, Martin F and Anderson IC. 2020. Mycorrhizal effector PaMiSSP10b alters polyamine biosynthesis in Eucalyptus root cells and promotes root colonization. *New Phytologist* 228(2):712-727. <https://doi.org/10.1111/nph.16759>
- Plett JM, Daguerre Y, Wittulsky S, Vayssières A, Deveau A, Melton S J, Kohler A, Morrell-Falvey J L, Brun A, Veneault-Fourrey C and Martin F. 2014. Effector MiSSP7 of the mutualistic fungus *Laccaria bicolor* stabilizes the Populus JAZ6 protein and represses jasmonic acid (JA) responsive genes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111(22): 8299–8304. <https://doi.org/10.1073/pnas.1322671111>
- Porras R, Miguel-Rojas C, Pérez-de-Luque A and Sillero JC. 2022. Macro- and Microscopic Characterization of Components of Resistance against *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in a Collection of Spanish Bread Wheat Cultivars. *Agronomy* 12(5):1239. <https://doi.org/10.3390/agronomy12051239>
- Qi P, Huang M, Hu X, Zhang Y, Wang Y, Li P, Chen S, Zhang D, Cao S, Zhu W, Xie J, Cheng J, Fu Y, Jiang D, Yu X and Li B. 2022. A *Ralstonia solanacearum* effector targets TGA transcription factors to subvert salicylic acid signaling. *The Plant Cell* 34(5): 1666–1683. <https://doi.org/10.1093/plcell/koac015>
- Ramírez-Valdespino CA, Casas-Flores S and Olmedo-Monfil V. 2019. *Trichoderma* as a Model to Study Effector-Like Molecules. *Frontiers in Microbiology* 10:1030. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01030>
- Rangel LI and Bolton MD. 2022. The unsung roles of microbial secondary metabolite effectors in the plant disease cacophony. *Current Opinion in Plant Biology* 68:102233. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2022.102233>
- Rani L, Thapa K, Kanojia N, Sharma N, Singh S, Grewal AS, Srivastav A Land Kaushal J. 2021. An extensive review on the consequences of chemical pesticides on human health and environment. *Journal of Cleaner Production* 283: 124657. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.124657>
- Romero-Contreras YJ, Ramírez-Valdespino CA, Guzmán-Guzmán P, Macías-Segoviano JI, Villagómez-Castro JC and Olmedo-Monfil V. (2019). Tal6 From *Trichoderma atroviride* Is a LysM Effector Involved in Mycoparasitism and Plant Association. *Frontiers in Microbiology* 10: 2231. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02231>
- Ray S and Casteel CL. 2022. Effector-mediated plant-virus-vector interactions. *Plant Cell* 34(5):1514-1531. <https://doi.org/10.1093/plcell/koac058>
- Ribeiro JA, Albuquerque A Materatski P, Patanita M, Varanda CMR, Félix MDR and Campos MD. 2022. Tomato response to *Fusarium* spp. infection under field conditions: study of potential genes involved. *Horticulturae* 8: 433. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8050433>
- Ristaino JB, Anderson PK, Beber DP, Brauman KA, Cunniffe NJ, Fedoroff NV, Finegold C, Garrett KA, Gilligan CA, Jones CM, Martin MD, MacDonald GK, Neenan P, Records A, Schmale D G, Tateosian L and Wei Q. 2021. The persistent threat of emerging plant disease pandemics to global food security. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 118(23): e2022239118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2022239118>



- Rocafort M, Fudal I and Mesarich C H. 2020. Apoplastic effector proteins of plant-associated fungi and oomycetes. *Current Opinion in Plant Biology* 56: 9–19. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2020.02.004>
- Rufián JS, Rueda-Blanco J, López-Márquez D, Macho AP, Beuzón CR and Ruiz-Albert J. 2021. The bacterial effector HopZ1a acetylates MKK7 to suppress plant immunity. *New Phytologist* 231(3):1138–1156. <https://doi.org/10.1111/nph.17442>
- Savary S, Willocquet L, Pethybridge SJ, Esker P, McRoberts N and Nelson A. 2019. The global burden of pathogens and pests on major food crops. *Nature Ecology & Evolution* 3(3): 430–439. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0793-y>
- Schreiber KJ, Chau-Ly IJ and Lewis JD. 2021. What the Wild Things Do: Mechanisms of Plant Host Manipulation by Bacterial Type III-Secreted Effector Proteins. *Microorganisms* 9(5): 1029. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9051029>
- Selin C, de Kievit TR, Belmonte MF and Fernando WG. 2016. Elucidating the role of effectors in plant-fungal interactions: progress and challenges. *Frontiers in Microbiology* 7:600. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00600>
- Snelders NC, Petti GC, van den Berg GCM, Seidl MF and Thomma BPHJ. 2021. An ancient antimicrobial protein co-opted by a fungal plant pathogen for in planta mycobiome manipulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 118(49):e2110968118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2110968118>
- Snelders NC, Rovenich H, Petti GC, Rocafort M, van den Berg GCM, Vorholt JA, Mesters JR, Seidl MF, Nijland R and Thomma BPHJ. 2020. Microbiome manipulation by a soil-borne fungal plant pathogen using effector proteins. *Natural Plants* 6(11):1365–1374. <https://doi.org/10.1038/s41477-020-00799-5>
- Snelders NC, Rovenich H and Thomma BPHJ. 2022. Microbiota manipulation through the secretion of effector proteins is fundamental to the wealth of lifestyles in the fungal kingdom. *FEMS Microbiology Reviews* 46(5): fuac022. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuac022>
- Sperschneider J, Dodds PN, Gardiner DM, Singh KB and Taylor JM. 2018. Improved prediction of fungal effector proteins from secretomes with EffectorP 2.0. *Molecular Plant Pathology* 19(9):2094–2110. <https://doi.org/10.1111/mpp.12682>
- Sperschneider J and Dodds PN. 2022. EffectorP 3.0: prediction of apoplastic and cytoplasmic effectors in fungi and oomycetes. *Molecular plant-microbe interactions* 35(2): 146–156. <https://doi.org/10.1094/MPMI-08-21-0201-R>
- Tang Z, Bernards MA and Wang A. 2022. Simultaneous determination and subcellular localization of protein-protein interactions in plant cells using bimolecular fluorescence complementation assay. *Methods in Molecular Biology* 2400:75–85. [https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1835-6\\_8](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-1835-6_8)
- Tao F, Hu Y, Su C, Li J, Guo L, Xu X, Chen X, Shang H and Hu X. 2020. Revealing differentially expressed genes and identifying effector proteins of *Puccinia striiformis* f. sp. *tritici* in response to high-temperature seedling plant resistance of wheat based on transcriptome sequencing. *mSphere*. 5(3):e00096-20. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00096-20>
- Tariqjaveed M, Mateen A, Wang S, Qiu S, Zheng X, Zhang J, Bhaduria V and Sun W. 2021. Versatile effectors of phytopathogenic fungi target host immunity. *Journal of Integrative Plant Biology*, 63(11): 1856–1873. <https://doi.org/10.1111/jipb.13162>
- Thakur N, Kaur S, Tomar P, Thakur S and Yadav AN. 2020. Chapter 15 - Microbial biopesticides: Current status and advancement for sustainable agriculture and environment. In A. A. Rastegari, A. N. Yadav, & N. Yadav (Eds.), *New and Future Developments in Microbial Biotechnology and Bioengineering* (pp. 243–282). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820526-6.00016-6>
- Thordal-Christensen H. A 2020. Holistic view on plant effector-triggered immunity presented as an iceberg model. *Cell Molecular Life Science* 77(20): 3963–3976. <https://doi.org/10.1007/s00018-020-03515-w>
- Todd JNA, Carreón-Anguiano KG, Islas-Flores I and Canto-Canché B. (2022a). Microbial Effectors: Key Determinants in Plant Health and Disease. *Microorganisms* 10(10): 1980. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10101980>
- Todd JNA, Carreón-Anguiano KG, Islas-Flores I and Canto-Canché B. (2022b). Fungal Effectoromics: A World in Constant Evolution. *International journal of molecular sciences* 23(21): 13433. <https://doi.org/10.3390/ijms232113433>
- Tomczynska I, Stumpe M and Mauch F. 2018. A conserved RxLR effector interacts with host RABA-type GTPases to inhibit vesicle-mediated secretion of antimicrobial proteins. *The Plant journal: for cell and molecular biology* 95(2):187–203. <https://doi.org/10.1111/tpj.13928>
- Toruño TY, Stergiopoulos I and Coaker G. 2016. Plant-pathogen effectors: cellular probes interfering with plant defenses in spatial and temporal manners. *Annual Review in Phytopathology* 54: 419–41. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-100204>
- Tsushima A, Narusaka M, Gan P, Kumakura N, Hiroshima R, Kato N, Takahashi S, Takano Y, Narusaka Y and Shirasu K. 2021. The Conserved *Colletotrichum* spp. Effector Candidate CEC3 Induces Nuclear Expansion and Cell Death in Plants. *Frontiers in Microbiology*, 12: 682155. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.682155>
- van der Sluijs JP. 2020. Insect decline, an emerging global environmental risk. *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 46: 39–42. <https://doi.org/10.1016/j.cosust.2020.08.012>
- Van de Wouw AP and Idnurm A. 2019. Biotechnological potential of engineering pathogen effector proteins for use in plant disease management. *Biotechnology Advances*, 37(6): 107387. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.04.009>

- Vega-Arreguín JC, Shimada-Beltrán H, Sevillano-Serrano J and Moffett P. 2017. Non-host Plant Resistance against *Phytophthora capsici* Is Mediated in Part by Members of the I2 R Gene Family in *Nicotiana* spp. *Frontiers in plant science* 8: 205. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00205>
- Velásquez AC, Castroverde CDM and He SY. 2018. Plant-Pathogen Warfare under Changing Climate Conditions. *Current Biology* 28(10): R619–R634. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.03.054>
- Verhoeven A, Finkers-Tomczak A, Prins P, Valkenburg-van Raaij DR, van Schaik CC, Overmars H, van Steenbrugge JJM, Tacke W, Varossieau K, Slootweg EJ, Kappers IF, Quentin M, Govere A, Sterken MG and Smant G. 2023. The root-knot nematode effector MiMSP32 targets host 12-oxophytodienoate reductase 2 to regulate plant susceptibility. *New Phytologist* 237(6), 2360–2374. <https://doi.org/10.1111/nph.18653>
- Vieira P and Gleason C. 2019. Plant-parasitic nematode effectors - insights into their diversity and new tools for their identification. *Current Opinion in Plant Biology* 50:37-43. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2019.02.007>
- Vleeshouwers VG, Raffaele S, Vossen JH, Champouret N, Oliva R, Segretin ME, Rietman H, Cano LM, Lokossou A, Kessel G, Pel MA and Kamoun S. 2011. Understanding and exploiting late blight resistance in the age of effectors. *Annual Review in Phytopathology* 49:507-531. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-072910-095326>
- Wang Y, Wu J, Kim SG, Tsuda K, Gupta R, Park SY, Kim ST and Kang KY. 2016. *Magnaporthe oryzae*-Secreted Protein MSP1 Induces Cell Death and Elicits Defense Responses in Rice. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 29(4), 299–312. <https://doi.org/10.1094/MPMI-12-15-0266-R>
- Wood KJ, Nur M, Gil J, Fletcher K, Lakeman K, Gann D, Gothberg A, Khuu T, Kopetzky J, Naqvi S, Pandya A, Zhang C, Maisonneuve B, Pel M and Michelmore R. 2020. Effector prediction and characterization in the oomycete pathogen *Bremia lactucae* reveal host-recognized WY domain proteins that lack the canonical RXLR motif. *PLoS Pathogens* 16(10):e1009012. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1009012>
- Wu Y, Sexton W, Yang B and Xiao S. 2023. Genetic approaches to dissect plant nonhost resistance mechanisms. *Molecular Plant Pathology* 24(3), 272–283. <https://doi.org/10.1111/mpp.13290>
- Wu Y, Xun Q, Guo Y, Zhang J, Cheng K, Shi T, He K, Hou S, Gou X and Li J. 2016. Genome-Wide Expression Pattern Analyses of the Arabidopsis Leucine-Rich Repeat Receptor-Like Kinases. *Molecular Plant* 9(2): 289–300. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2015.12.011>
- Yamankurt G, Stawicki RJ, Posadas DM, Nguyen JQ, Carthew RW and Mirkin CA. 2020. The effector mechanism of siRNA spherical nucleic acids. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 117(3):1312-1320. <https://doi.org/10.1073/pnas.1915907117>
- Zhang S, Li C, Si J, Han Z and Chen D. 2022. Action Mechanisms of effectors in plant-pathogen interaction. *International Journal of Molecular Science* 23(12):6758. <https://doi.org/10.3390/ijms23126758>
- Zhao S, Shang X, Bi W, Yu X, Liu D, Kang Z, Wang X and Wang X. 2020. Genome-wide identification of effector candidates with conserved motifs from the wheat leaf rust fungus *Puccinia triticina* *Frontiers in Microbiology* 11:1188. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01188>
- Zhou JM and Zhang Y. (2020). Plant Immunity: Danger Perception and Signaling. *Cell*, 181(5), 978–989. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.028>
- Zhu W, Yu M, Xu R, Bi K, Yu S, Xiong C, Liu Z, Sharon A, Jiang D, Wu M, Gu Q, Gong L, Chen W and Wei W. (2022). *Botrytis cinerea* BcSSP2 protein is a late infection phase, cytotoxic effector. *Environmental Microbiology* 24(8): 3420–3435. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15919>
- Zhu X, Soliman A, Islam MR, Adam LR and Daayf F. 2017. *Verticillium dahliae*'s isochorismatase hydrolase is a virulence factor that contributes to interference with potato's salicylate and jasmonate defense signaling. *Frontiers in Plant Science* 8:399. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00399>
- Zuluaga AP, Vega-Arreguín JC, Fei Z, Ponnala L, Lee SJ, Matas AJ, Patev S, Fry WE and Rose JK. 2016. Transcriptional dynamics of *Phytophthora infestans* during sequential stages of hemibiotrophic infection of tomato. *Molecular plant pathology* 17(1): 29–41. <https://doi.org/10.1111/mpp.122630>