

УДК 577:632.938

ПРАЙМИНГ ЗАЩИТНЫХ РЕАКЦИЙ В РАСТЕНИЯХ ПРИ ПАТОГЕНЕЗЕ: ПРИОБРЕТЕННЫЙ ИММУНИТЕТ

Л. Ф. КАБАШНИКОВА¹⁾

¹⁾Институт биофизики и клеточной инженерии Национальной академии наук Беларусь,
ул. Академическая, 27, 220072, Минск, Беларусь

Изложены современные представления о молекулярно-клеточных основах системной приобретенной устойчивости (systemic acquired resistance, SAR) и индуцированной системной устойчивости (induced systemic resistance, ISR) растений – двух форм индуцированной устойчивости, в которых защитные свойства растений обусловлены предшествующей инфекцией или обработкой иммуномодуляторами. Охарактеризованы основные механизмы прайминга защитных реакций при патологическом процессе с участием природных индукторов устойчивости и пути их реализации в растениях.

Ключевые слова: фитопатогены; приобретенный иммунитет; системная приобретенная устойчивость (SAR); индуцированная системная устойчивость (ISR); природные индукторы устойчивости растений; метаболические пути; прайминг.

PRIMING OF DEFENSE REACTION IN PLANTS UNDER PATHOGENESIS: INDUCED IMMUNITY

L. F. KABASHNIKAVA^a

Institute of Biophysics and Cell Engineering, National Academy of Sciences of Belarus
27 Akademichnaja Street, Minsk 220072, Belarus

The article presents modern ideas about the molecular and cellular bases of systemic acquired resistance (SAR) and induced systemic resistance (ISR) of plants – two forms of induced resistance in which the protective properties of plants are caused by a previous infection or treatment by immunomodulators. The main mechanisms of priming of protective reactions under the pathological process with the participation of natural resistance inducers and ways of their implementation in plants are characterized.

Keywords: phytopathogens; induced immunity; systemic acquired resistance (SAR); induced systemic resistance (ISR); plant resistance inducers; metabolic pathway; priming.

Образец цитирования:

Кабашникова Л.Ф. Прайминг защитных реакций в растениях при патогенезе: приобретенный иммунитет. *Журнал Белорусского государственного университета. Экология*. 2020;4:19–29.
<https://doi.org/10.46646/2521-683X/2020-4-19-29>

For citation:

Kabashnikava LF. Priming of defense reaction in plants under pathogenesis: Induced immunity. *Journal of the Belarusian State University. Ecology*. 2020;4:19–29. Russian.
<https://doi.org/10.46646/2521-683X/2020-4-19-29>

Автор:

Людмила Федоровна Кабашникова – член-корреспондент НАН Беларуси, доктор биологических наук, доцент, заведующий лабораторией прикладной биофизики и биохимии.

Author:

Liudmila F. Kabashnikova, corresponding member of National Academy of Sciences of Belarus; doctor of science (biology), docent; head of the laboratory of applied biophysics and biochemistry.
kabashnikova@mail.ru

Введение

Рост среднемировой урожайности основных сельскохозяйственных культур, продолжавшийся всю вторую половину XX в., в начале нового тысячелетия практически прекратился, несмотря на то, что с 1980 г. объем применения химических пестицидов увеличился более чем в 2 раза и продолжает расти [1]. Примерно 2 млн т пестицидов ежегодно используется во всем мире, где Китай является основной страной-поставщиком, а затем следуют США и Аргентина, и это количество быстро растет. Темпы роста глобального рынка химических средств защиты растений в краткосрочной перспективе оцениваются в 3–5 % ежегодно [2]. По прогнозам специалистов, к 2020 г. глобальное использование пестицидов может составить до 3,5 млн т в год [3]. Они важны для растениеводства, однако их широкое использование может иметь серьезные последствия из-за биомагнификации и неприродного происхождения. Различные пестициды прямо или косвенно загрязняют воздух, воду, почву и общую экосистему, что создает серьезную угрозу для здоровья и жизни людей. Кроме того, их существенный недостаток – это неспособность защитить растения от абиотических стрессов. Между тем, потери от стрессовых факторов на таких культурах, как пшеница, ячмень, кукуруза, соя, сорго, овес, картофель, сахарная свекла оцениваются в 51–82 %, что значительно превосходит потери, вызванные болезнями и вредителями [4].

Решение проблемы защиты сельскохозяйственных растений от комплексного действия стрессовых факторов разной природы особенно актуально для Республики Беларусь с ее неустойчивым климатом. Это вызывает насущную необходимость изменения общей стратегии фитосанитарных технологий в сельскохозяйственном производстве, а именно, усиления их экологической направленности при постоянном повышении адаптивных возможностей самих растений. Одним из наиболее перспективных направлений защиты сельскохозяйственных культур является индукция устойчивости к фитопатогенам и неблагоприятным факторам внешней среды с использованием индукторов [5]. Помимо низкой токсичности, такие иммуномодуляторы характеризуются полифункциональным эффектом, широким спектром действия в отношении различных растений и патогенов, низкой стоимостью.

Индукторами устойчивости может выступать широкий круг веществ из большой группы структурно несходных соединений органической и неорганической природы: вторичные метаболиты микроорганизмов (бактерий р. *Bacillus*, грибов р. *Fusarium*, симбиотрофных грибов-эндофитов, трутовых грибов и др.) и растений (брассиностероиды, флавоноиды, стероидные гликозиды, тритерпеновые и гидроксикоричные кислоты и др.), гетерополисахариды клеточной стенки грибов, гуматы торфа, микроэлементы, фенолы, системные фунгициды и др. [6]. Важный вклад в решение этой проблемы вносят белорусские ученые-биофизики, изучающие молекулярные механизмы индукции защитных реакций в растительных клетках при патогенезе и разрабатывающие новые методы защиты растений от фитопатогенов [7–9].

Системная и индуцированная приобретенная устойчивость растений

Растения, являясь неподвижными организмами, постоянно подвергаются воздействию множества патогенов, которые на основе их инфекционного образа жизни могут быть в целом разделены на биотрофы и некротрофы [10].

Биотрофные патогены используют питательные вещества из живых клеток растений-хозяев, тогда как некротрофные – питаются мертвыми клетками. Растения используют различные механизмы иммунных ответов для борьбы с этими патогенными микроорганизмами. Первый уровень защиты растений включает этап распознавания ассоциированных с патогенами молекулярных структур (или PAMPs / MAMPs), таких как бактериальный флагеллин, липополисахариды и пептидогликаны. PAMPs распознаются специализированными трансмембранными белками растений, которые являются паттерн-распознающими рецепторами (PRR). PRR-опосредованное распознавание PAMP-сигналов вызывает сигнальный каскад, который приводит к активации врожденного иммунитета, называемого паттерн-активируемым иммунитетом (pattern-triggered immunity, PTI). Однако эта линия защиты растений может быть подавлена с помощью кодируемых в геноме патогена эффекторных белков, широко известных как факторы ацирулентности (avr). Факторы avr, в свою очередь, распознаются белками, кодируемыми в растительной клетке генами резистентности (R), которые формируют более сильную и надежную устойчивость, известную как эффектор-активированный иммунитет (effector-triggered immunity, ETI). ETI обычно ассоциируется с за-программированной гибелью клеток (programmed cell death, PCD) в месте заражения, и это явление называется гиперчувствительным ответом (hypersensitive response, HR). Индукция локальных ответов связана с переносом защитных сигналов по всему растению, что приводит к формированию неспецифической устойчивости против повторных инфекций [11].

Индукрованная устойчивость является физиологическим отражением адаптивного потенциала растений и индуцируется специфическими внешними стимулами, посредством чего врожденный иммунитет растений

противостоит многочисленным биотическим факторам. Это состояние повышенной устойчивости весьма эффективно против широкого спектра патогенов и вредителей, включая грибы, бактерии, вирусы, нематоды паразитические растения и даже травоядных насекомых. Индуцированная устойчивость растений к болезням имеет системный характер, проявляется при контакте с патогенами на протяжении всего или большей части онтогенеза и по своей природе близка к естественным иммунным реакциям. Известно две наиболее четко различимые формы индуцированной устойчивости [12] – системная приобретенная устойчивость (systemic acquired resistance, SAR) и индуцированная системная устойчивость (induced systemic resistance, ISR), которые различаются по природе задействованных элиситоров и регуляторных путей, продемонстрированных в модельных растительных системах, но приводят к аналогичным фенотипическим ответам (рис. 1).

Системная приобретенная устойчивость (SAR), вызванная воздействием абиотических или биотических элиситоров на ткани корней и листьев, зависит от фитогормона салицилата (salicylic acid, SA) и связана с накоплением связанных с патогенезом (pathogenesis-related, PR) белков (см. рис. 1). Индуцированная системная устойчивость (ISR), вызванная воздействием на корни специфических штаммов ростостимулирующих ризобактерий, зависит от фитогормонов этилена и жасмоната (жасмоновой кислоты), но не от салицилата, и не связана с накоплением PR-белков (или транскриптов). Однако оба ответа взаимосвязаны на молекулярно-генетическом уровне, о чем свидетельствует их зависимость от функциональной активности гена *NON EXPRESSER OF PATHOGENESIS RELATED 1* (*NPR1*) у *Arabidopsis thaliana*.

В последние 20 лет исследования SAR и ISR с использованием модельных систем [12] продвинули наши представления о молекулярных механизмах индуцированной устойчивости растений и послужили основой для создания синтетических элиситоров и новых штаммов ризобактерий, содействующих росту растений (plant growth-promoting rhizobacteria, PGPR) для использования в сельском хозяйстве. Классическая форма SAR может быть индуцирована при воздействии на растение вирулентных, авирulentных и не-патогенных микроорганизмов, или искусственно с помощью таких химических агентов, как салициловая кислота, 2,6-дихлоро-изоникотиновая кислота (INA) или *S*-метиловый эфир бензо(1,2,3)-тиадиазол-7-карботионовой кислоты (BNH).

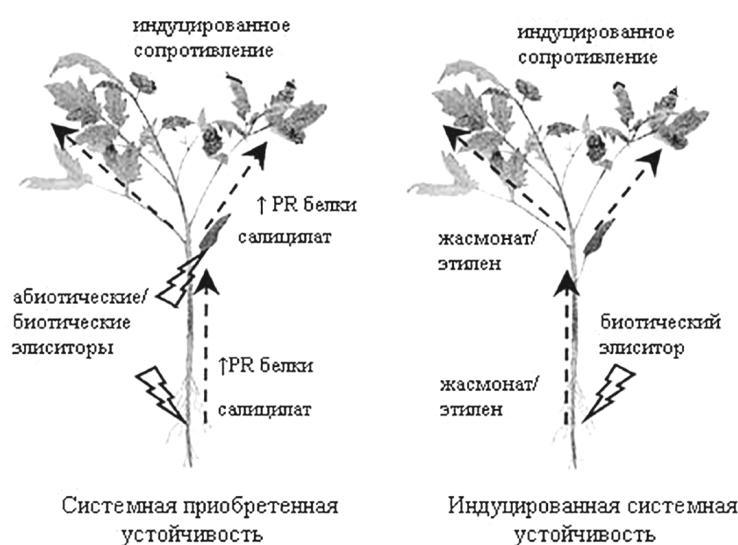


Рис. 1. Сравнительное изображение двух форм индуцированной устойчивости в растениях (SAR и ISR) [адаптировано по 12]

Fig. 1. A pictorial comparison of the two forms of induced resistance in plants (SAR and ISR) [adapted by 12]

В настоящее время установлено, что индукция SAR включает в себя генерацию и передачу сигналов через флоэму в неинфицированные отдаленные ткани. Среди сигналов, способствующих SAR выделяют SA и несколько компонентов пути SA, включая метилированное производное SA (метил SA, MeSA). Кроме того, на основе полученных экспериментальных данных в качестве SAR-сигналов был предложен целый ряд химических соединений: дитерпеноидный дегидроабиетин (DA), девяти углеродная (C9) ди-карбоновая азелаиновая кислота (AzA), аминокислотное производное пипеколиновой кислоты (Pip), ауксин, глицерин-3-фосфат (G₃P), активные формы кислорода и азота (ROS, NO), галактолипиды, факторы, способствующие образованию кутикулы, и белки-переносчики липидов (lipid transfer proteins, LTP) DIR1 (defective ion induce resistance) и AZI1 (AzA insensitive) [10].

Несмотря на то что в ряде исследований продемонстрирована критическая потребность растительной клетки в SA при формировании SAR, особая потребность в накоплении SA сверх базальных уровней не

была установлена. Например, растения томата, лишенные функционального R-белка RPS2, накапливают нормальные уровни SA в своих дистальных тканях в ответ на инфекцию *Pseudomonas syringae* pv., экспрессирующего avrRpt2, однако эти растения не способны формировать SAR [10]. Кроме того, экзогенное применение G₃P или AzA, которые вызывают SAR у растений дикого типа, не индуцируют накопление SA. Однако ни G₃P, ни AzA не могут вызывать SAR, индуцируемую базальными и патогенными микроорганизмами, у растений-мутантов *ics1* (*sid2*), имеющих значительно сниженное количество SA. Таким образом, хотя SA явно важна для SAR, накопление только SA недостаточно для установления SAR. Кроме того, хотя было показано, что SA накапливается до различных уровней в дистальных тканях SAR-индуцированных растений (табл. 1) нет никаких доказательств того, что это накопление является существенным для SAR [10].

По сравнению с локальными тканями, в дистальных тканях SAR-индуцированных растений было показано, что они накапливают широкий диапазон SA от 10 нг / г сырой массы до ~ 2,6 мкг / г сырой массы (табл. 1). Предполагают [13], что неспособность накапливать SA в дистальных тканях связана с нарушением SAR у мутантов арабидопсиса *ald1* (*agd2-Like Defence Response Protein 1*) и *fmo1* (*Flavin Monooxygenase 1*), оба из которых накапливают нормальные SA в локальной ткани. ALD1 кодирует аминотрансферазу, которая катализирует биосинтез Pip как индуктора SAR и авторами было высказано предположение, что FMO1 функционирует после Pip [13]. Флавин-зависимые монооксигеназы растений, животных или грибов окисляют азотсодержащие или серосодержащие субстраты. Таким образом, можно предположить, что FMO1 мог бы преобразовать Pip или производное Pip в окисленную форму и тем самым преобразовать сигнал Pip. Эта гипотеза представлена в виде схемы на рис. 2, которая включает индуцированные патогеном изменения содержания свободных аминокислот в 1-ом листе, активацию катаболизма лизина (Lys) и формирование Pip, участие Pip в защитном усилении и праймировании, а также предполагаемый цикл усиления обратной связи во 2-ом листе, способствующий формированию SAR через метаболический цикл с участием ALD1, Pip, FMO1, ICS1 (изохоризмат синтаза 1, Isochorismate synthase 1) и SA. Возможную роль Pip в передаче сигналов на расстоянии от 1-го до 2-го листа еще предстоит выяснить.

Таким образом, другие факторы, помимо SA, могут вносить вклад в неспособность мутантов арабидопсиса *ald1* и *fmo1* к формированию SAR. Следовательно, SAR можно индуцировать с помощью факторов, не зависящих от SA, при условии поддержания ее минимального базального уровня. Альтернативно, накопление SA в дистальных тканях может способствовать процессу праймирования, что приводит к активации более сильных защитных реакций при вторичных инфекциях [13].

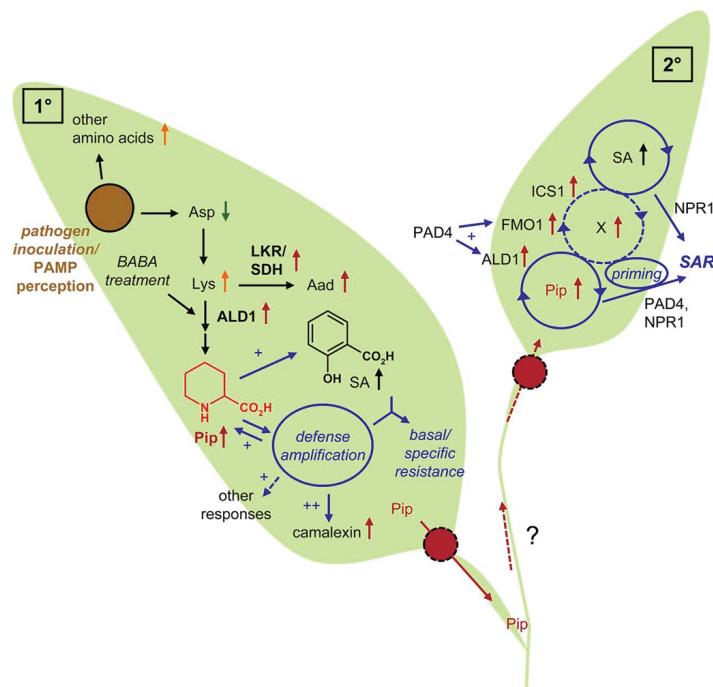


Рис. 2. Предлагаемая модель участия Pip в активации локальной устойчивости (SAR) и прайминга защитных реакций: 1 – инокулированный патогеном лист; 2 – дистальный лист; ALD1, Pip, FMO1, ICS1, and SA – цикл усиления обратной связи во 2-ом листе. Пунктирные линии представляют все еще гипотетические события [13]

Fig. 2. Proposed model for the role of Pip during activation of local resistance (SAR) and Defense Priming: 1- pathogen-inoculated leaf; 2- distal leaf; ALD1, Pip, FMO1, ICS1, and SA – feedback amplification cycle in 2° leaves. Dotted lines represent still hypothetical events [13].

Таблица 1

Уровни свободной и связанный салициловой кислоты (SA), обнаруженные в дистальных тканях контрольных и патоген-инфицированных растений [адаптировано по 10]

Table 1

Free and bound salicylic acid (SA) levels reported in distal tissues of mock-and pathogen-inoculated plants [adapted by 10]

Свободная СК, нг/г с. м.	Связанная СК, нг/г с. м.	Используемый возбудитель и его количество	Хозяин	Количество часов после заражения	Используемая аналитическая процедура		
1	2	3	4	5	6	7	8
~80	~1250	Не выявлена	Не выявлена	Psm ¹ ES4326 экспрессирующий Avr-Rpm1, OD ₆₀₀ =0,01	Арабидопсис	48	Газовая хроматография, масс-спектрометрия
~200	~2600	Не выявлена	Не выявлена	Pst ² DC3000 экспрессирующий AvrRpt2, 1*10 ⁷ CFU ³ /ml	Арабидопсис	48	Высокоэффективная жидкостная хроматография
~50-150	~370-1200	~100-250	~300-1000	Вирус табачной мозаики	Табак	144	Высокоэффективная жидкостная хроматография
~30-70	~30-300	Не выявлена	Не выявлена	Psm DC3000 AvrRpm1, 5*10 ⁷ , CFU ³ /ml	Арабидопсис	48	Высокоэффективная жидкостная хроматография
~100	~450	Не выявлена	Не выявлена	Psm ES4326 экспрессирующий AvrRpm1, OD ₆₀₀ =0,02	Арабидопсис	48	Газовая хроматография, масс-спектрометрия
~5.1	~21.3	Не выявлена	~287.3	Pseudomonas lachrymans, 4*10 ⁸ CFU ³ /ml	Огурец	120	Высокоэффективная жидкостная хроматография
~70	~200	~130	~400	Pst ² DC3000 экспрессирующий AvrRpt2, 10 ⁷ CFU ³ /ml	Арабидопсис	48	Высокоэффективная жидкостная хроматография
~160	~400	~1300	~1800	Pst ² DC3000 экспрессирующий AvrRpt2	Арабидопсис	48	Высокоэффективная жидкостная хроматография
~420	~500	~500	~1600	AvrRpt2, 10 ⁶ CFU ³ /ml	Арабидопсис	48	Высокоэффективная жидкостная хроматография
~80	~100	~470	~700	Pst ² DC3000 экспрессирующий AvrRpt2 AvrRpt2, 10 ⁶ CFU ³ /ml	Арабидопсис	48	Высокоэффективная жидкостная хроматография
~220	~300	~210	~1200	Коронатин-дефицитный Psm	Арабидопсис	60	Высокоэффективная жидкостная хроматография
~40	~60	~450	~800	Pst ² DC3000 экспрессирующий AvrRpt2, 10 ⁶ CFU ³ /ml	Арабидопсис	48	Высокоэффективная жидкостная хроматография
~40	~65	~600	~1600	Pst ² DC3000 экспрессирующий AvrRpt2, 10 ⁶ CFU ³ /ml	Арабидопсис	48	Высокоэффективная жидкостная хроматография
~32-52	~51-83	~70-164	~82-196	Вирус табачной мозаики	Табак	168	Высокоэффективная жидкостная хроматография
~40	~90	~20	~85	Вирус табачной мозаики	Огурец	53	Высокоэффективная жидкостная хроматография

Примечание.¹ – Psm (*P. syringae* pv *maculicola*); ² – Pst (*P. syringae* pv *tomato*); ³ – CFU (colony-forming unit, колониеобразующие единицы)

ISR активизируется ростостимулирующими ризобактериями (*plant growth promoting rhizobacteria*, PGPR) и наиболее хорошо охарактеризована для некоторых видов бактерий рода *Pseudomonas*, которые обитают в ризосфере растений. В противоположность SAR, при ISR не наблюдается накопление PR-белков или салициловой кислоты, но активируются метаболические пути с участием этилена и жасмоновой кислоты (см. рис. 1). Однако эти сведения получены на небольшом количестве модельных растительных систем. Другие примеры ISR связаны с продукцией сидерофоров – особых молекулярных соединений, выделяемых бактериальными клетками для получения железа из среды обитания, и SA под воздействием PGPR, что имеет общие черты с SAR. В настоящее время ни природа элиситора, ни сайт его воздействия на растение, ни биохимический ответ растений не являются критериями для классификации индуцированной устойчивости. Итак, SAR широко распространена в природе и наблюдается у многих видов растений, тогда как PGPR проявляют специфичность в индукции ISR у определенных видов растений и генотипов.

Отдельные штаммы ризобактерий (PGPR) подавляют болезни путем антагонизма между бактериями и почвенными патогенами, а также индуцируя системную устойчивость растений как к корневым, так и листевенным патогенам. ISR, опосредованная ризобактериями, напоминает таковую SAR, вызванную патогенами, в том, что оба типа индуцированной устойчивости делают неинфицированные части растений более устойчивыми к широкому спектру фитопатогенов. Некоторые ризобактерии запускают зависимый от SA путь SAR, продуцируя SA на поверхности корня, тогда как другие ризобактерии запускают сигнальный путь, независимый от SA.

Существование SA-независимого пути ISR было изучено у *Arabidopsis thaliana*, который зависит от передачи сигналов жасмоновой кислоты (JA) и этилена. Конкретные штаммы *Pseudomonas* вызывают системную резистентность, а именно, у растений гвоздики, огурца, редьки, табака и арабидопсиса, о чем свидетельствует усиленная устойчивость к инфицированию фитопатогенами после инокуляции бактериями корневой системы этих растений. Комбинация ISR и SAR может повысить защиту от патогенных микроорганизмов, которым противостоят оба пути, помимо расширения устойчивости для более широкого спектра патогенных микроорганизмов, чем только ISR или SAR. Помимо штаммов *Pseudomonas*, ISR может вызывать *Bacillus spp.* поскольку опубликованные результаты показывают, что некоторые конкретные штаммы видов *B. amyloliquifaciens*, *B. subtilis*, *B. pasteurii*, *B. cereus*, *B. pumilus*, *B. mycoides* и *B. sphaericus* вызывают значительное снижение частоты или тяжести различных заболеваний при широком разнообразии растений-хозяев.

Дальнейшее использование SAR и ISR для контроля урожайности растений как альтернативы пестицидам представляется весьма перспективным. Хотя синтетические элиситоры и PGPR не обладают прямой антимикробной активностью, в отличие от традиционных пестицидов, они предоставляют возможность контролировать болезнь без селективного воздействия на популяцию патогенов и являются экологически более безопасными. Эти характеристики делают SAR и ISR привлекательными для защиты культурных растений в рамках устойчивого сельскохозяйственного производства.

Природные индукторы устойчивости растений

К числу природных индукторов базовой устойчивости относится группа молекул растительного происхождения, которые растения «узнают» как сигналы, свидетельствующие о присутствии патогенов в растениях, в том числе фрагменты пектина, кутина, целлюлозы, ксилоэзы и других собственных защитных полимеров, высвобождаемых при действии гидролитических ферментов (целлюлаз, кутиназ, пектиназ) патогенов или самого растения. Рецепторы растений способны узнавать собственные (эндогенные) молекулы, образующиеся в результате активности ферментов микроорганизмов. Ассоциированные с повреждением молекулы появляются, прежде всего, в апопласте и служат, как и неспецифические элиситоры микроорганизмов, индукторами базовой устойчивости. Образование таких эндогенных сигнальных молекул позволяет разрушенным или поврежденным клеткам передавать сигнал другим клеткам и тканям (или даже системно – всем органам растения) о своем повреждении. Следует отметить, что в настоящее время природные индукторы устойчивости растений являются предметом активных исследований в области борьбы с вредителями и болезнями растений из-за их универсальности, способности усиливать SAR, общей низкой токсичности (табл. 2), что обеспечивает лучшую переносимость сельскохозяйственных культур и меньшее количество проблем со здоровьем человека, обычно связанных с традиционными стратегиями защиты.

Одна группа недавно успешно протестированных природных индукторов у *Arabidopsis thaliana* состоит из активных соединений с окислительно-восстановительными свойствами. Среди них тиамин (витамин B₁), рибофлавин (витамин B₂) и кверцетин. Они способны вызывать резистентность путем усиления чувствительности *Arabidopsis* к *Pseudomonas syringae* elicitors [цит. по 14]. Это приводит к активации различных защитных свойств растений, таких как гиперчувствительный ответ, отложение каллозы и экспрессия

защитных генов. В этих процессах взрыв H_2O_2 , по-видимому, играет критическую роль, поскольку он действует как сигнал, запускающий весь отклик. Хотя NPR1 также необходим для праймирования этими соединениями, механизм взаимодействия растений и патогенов, по-видимому, действует независимо от классических путей защиты и, возможно, похож на реакцию в ответ на окислительный стресс. Недавно было продемонстрировано, что тиамин может модулировать окислительно-восстановительный статус клеток для защиты *Arabidopsis* от *Sclerotinia sclerotiorum* на ранних стадиях инфекции [15]. Показано, что экзогенное применение рибофлавина на растениях фасоли ускоряет образование H_2O_2 после заражения *Botrytis cinerea*. H_2O_2 является сигнальной молекулой, участвующей в модификации клеточной стенки, регуляции экспрессии генов и перекрестных связях с различными сигнальными путями защиты [16].

Таблица 2

Природные индукторы и их эффекты на защитные механизмы растений [адаптировано по 14]

Table 2

Natural inducers and their effects on plant defensive mechanisms [adapted by 14]

Индуктор	Растение	Вредитель	SA*	JA*	ET*	SAR	Защитные факторы	Укрепление клеточной стенки	Окислительный баланс
Гексановая кислота	Томат	<i>Botrytis cinerea</i>	+	+	+	H/O	+	+	+
	Арабидопсис	<i>Botrytis cinerea</i>	H/O	+	H/O	H/O	+	+	H/O
	Томат	<i>P. syringae</i>	H/O	+	H/O	H/O	+	+	H/O
Тиамин	Рис, арабидопсис	Грибные, бактериальные вирусные инфекции	+	-	-	+	-	+	+
Рибофлавин	Арабидопсис	<i>P. syringae</i>	-	-	-	+	+	+	+
	Томат	<i>Botrytis cinerea</i>	H/O	+	-	+	H/O	H/O	-
РАВА (параамино-бензойная кислота)	Перец	CMV, <i>Xanthomonas</i>	+	-	H/O	+	+	H/O	H/O
Менадион (натрия бисульфит, MSB K3)	Арабидопсис	<i>P. syringae</i>	H/O	H/O	H/O	-	+	H/O	+
VOGs (летучие органические соединения)	Кукуруза, бобы, арабидопсис	Насекомые	H/O	+	+	H/O	+	+	+
OGs (олигогалактурониды)	Арабидопсис	<i>Botrytis cinerea</i>	-	-	-	-	+	H/O	+
Азелаиновая кислота	Арабидопсис	<i>P. syringae</i>	+	-	-	+	+	H/O	H/O
Пипеколиновая кислота	Арабидопсис	<i>P. syringae</i>	+	H/O	H/O	+	+	H/O	H/O
Хитозан	Соя, томат, кукуруза	Грибные, бактериальные вирусные инфекции	H/O	+	H/O	H/O	+	+	+
		<i>Colletotrichum sp</i>	H/O	+	H/O	H/O	+	+	+
		<i>Xanthomonas</i>	H/O	+	H/O	H/O	+	+	+
	Брокколи	<i>P. fluorescens</i>	H/O	+	H/O	H/O	+	+	+

Примечание. (+) – активирует; (-) не активирует; H/O не определено. SA*, JA*, ET* – образуются в зависимости от сигнального пути (+) или не образуются (-).

Фенолы играют важнейшую роль в укреплении клеточной стенки, а также проявляют антимикробную и антиоксидантную активность. Парааминобензойная кислота (para-aminobenzoic acid, PABA) представляет собой циклическую аминокислоту, принадлежащую к группе витаминов В. В полевых экспериментах было доказано, что PABA способна повышать устойчивость растений огурца к вирусу мозаики и *Xanthomonas axonopodis*, вызывая развитие SAR, одновременно улучшая урожай растений [цит. по 14].

Менадион бисульфит натрия (MSB) является производным витамина K₃, который, как известно, является регулятором роста. Borges, et al. обнаружили, что MSB защищает растения рапса (*Brassica napus*) от гриба *Leptosphaeria maculans*, стимулируя выработку АФК, но не вызывая экспрессии защитных белков семейства PR1. Обнаружено, что MSB обладает системным эффектом [цит. по 14] и индуцирует продукцию H₂O₂ посредством активации защитных генов. Borges, et al. продемонстрировали, что MSB индуцирует устойчивость арабидопсиса против *P. syringae* посредством механизма праймирования, поскольку MSB индуцирует только накопление АФК и PR1 в день после инокуляции. Примечательно, что производное менадиона (Param-A) было запущено в коммерческое использование для стимулирования устойчивости бананов к панамской болезни, вызываемой *Fusarium oxysporum*.

Хитозан является полимерным деацетилированным производным хитина, который естественным образом присутствует в клеточных стенках некоторых грибов и имеет различные степени деацетилирования и молекулярные массы. Были изучены различные механизмы действия хитозана, которые включают в себя нейтрализацию АФК и антиоксидантную активность, а также активацию октадеканоидного пути. Тем не менее, несмотря на эти исследования, эксперименты, в которых конкретно рассматривается роль праймирования в сложной структуре взаимодействия хитозан-растение, все еще редки.

Олигогалактурониды (OGs) представляют собой олигосахариды, полученные из пектина клеточной стенки растений, и состоят из линейных цепей α-(1-4)-связанной D-галактуроновой кислоты со степенью полимеризации от 10 до 25, которая может быть метилэтерифицированной или ацетилированной в зависимости от исходного состояния в растении. OGs считаются эндогенными элиситорами, причем степень их метилирования и ацетилирования влияет на активацию защитных реакций. Использование OGs вызывает ряд защитных реакций, таких как накопление фитоалексинов, β-1,3-глюканазы и хитиназы или образование АФК, вызывая выработку оксида азота. Интересно, что некоторые данные указывают на участие передачи сигналов OGs в пути октадеканоидов, в результате чего активность липоксигеназ (lipoxygenases, LOX) усиливается. У *Arabidopsis* OGs повышают устойчивость к *Botrytis cinerea* независимо от передачи сигналов, опосредованных JA-, SA- и этиленом. Анализ микрочипов показал, что около 50 % генов, регулируемых OGs, демонстрируют сходное изменение экспрессии во время инфекции *Botrytis cinerea*.

Предполагается, что азелаиновая кислота (azelaic acid, AzA) является подвижным флюэмным сигналом, который праймирует SA-индуцированную защиту. Путь биосинтеза AzA в основном неизвестен, хотя последние данные указывают на то, что она является производным олеиновой кислоты или ее ненасыщенных производных, линоловой и линоленовой кислот. Полагают, что перекисное окисление липидов является ответственным за образование AzA и может протекать под действием LOX или путем фрагментации, запускаемым АФК. AzA стимулирует растения к более быстрому накоплению SA, индуцируя биосинтез глицерол-3-фосфата (G3P) [14].

Пипеколиновая кислота (L-Pip), небелковая аминокислота, производная лизина (Lys), наряду с AzA и G3P недавно была предложена в качестве основного регулятора SAR и, возможно, в качестве сигнального соединения для SAR на дальнем расстоянии от флюэмы [14]. Метаболизм аминокислот в последнее время играет все более широкий спектр ролей в иммунитете растений. Например, метаболизм пролина был связан с окислительным взрывом и созданием гиперчувствительного ответа; разветвленная цепь катаболизма аминокислот опосредует перекрестную связь между SA- и JA-защитой. Помимо этого, L-Pip был идентифицирован как центральный элемент в SAR. Установлено, что L-Pip активирует биосинтез SA и его собственный биосинтез через петлю положительной обратной связи, чтобы таким образом запустить весь ответ SAR. Интересно, что экзогенное применение L-Pip вызывает прайминг растений *Arabidopsis* для более быстрого биосинтеза SA, фитоалексина, камалексина и экспрессии генов защиты. Он также был использован на растениях табака в качестве индуктора накопления SA и никотина.

Другой карбоновой кислотой с продемонстрированной индукторной активностью является гексановая кислота (hexanoic acid, Hx), которая является 6С монокарбоновой кислотой [14]. Корневая обработка 4-недельных растений томата Hx в концентрациях ниже 1 мМ в течение 48 ч до заражения значительно снижала заболеваемость, как это было показано в случае хорошо известных естественных (SA) и неприродных (BABA) индукторов. При этих концентрациях Hx не оказывала антимикробного действия на *Botrytis cinerea*, что указывает на индуктивный эффект этой обработки. Использование Hx вызывало накопление

каллозы при инфекции *Botrytis cinerea*, что является ключевым компонентом устойчивости, индуцированной химическими индукторами, такими как BABA или BTH. Апликация Hx также повышала уровень кофеиновой кислоты после грибной инфекции, что также подтверждает роль укрепленной клеточной стенки в Hx-индуцированной устойчивости. Биоактивный сигнал жасмоил-изолейцин (JA-Ile) резко возрастал в растениях томата, праймированных Hx, после инокуляции *Botrytis*. Анализ активности генов в растениях томата, индуцированных в ответ на инфицирование *Botrytis*, показал, что в соответствии с метаболическими изменениями, предварительная обработка Hx запускает LoxD, LOX, участвующих в пути биосинтеза оксилипинов, ведущем к синтезу оксилипин12-оксо-фитодиеновой кислоты (oxylipin12-oxo-phytodienoic acid, OPDA) и JA.

Летучие органические соединения (volatile organic compounds, VOCs) играют ключевую роль в коммуникации между растениями, поскольку они действуют как переносимые по воздуху сигналы, повышая устойчивость к болезням как самих растений, так и соседних, а также привлекая паразитических или хищных насекомых, которые являются врагами атакующих травоядных животных. Эта многофункциональная роль VOCs делает их весьма перспективными для разработки устойчивых стратегий борьбы с вредителями сельскохозяйственных растений. VOCs обычно образуются из линоленовой и линоловой кислот в виде одной из ветвей оксилипинового пути. В соответствии с их биосинтетическим происхождением и химической структурой летучие вещества растений могут быть сгруппированы в изопреноиды или терпеноиды, а также в такие кислородсодержащие VOCs (OVOC), как метанол (CH_4O), ацетон ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$), ацетальдегид ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$), метилэтилкетон (MEK, $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}$) и метилвинилкетон (MVK, $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}$).

В некоторых случаях также обнаруживаются соединения серы (например, в семействе *Brassicaceae*) и фуранокумарины и их производные (например, в семействах *Apiaceae*, *Asteraceae*, *Fabaceae*, *Rosaceae*) [17]. Они вызывают широкий спектр защитных реакций, вероятно, почти полностью основанных на праймировании, а также проявляют антибактериальную и противогрибковую активность. Защитные реакции, связанные с действием VOCs, включают усиление секреции фитоалексинов, включение сложных эфиров гидроксициннаминовой кислоты и «клигнинподобных» соединений в клеточную стенку, окислительный взрыв, индукцию защитных генов, выброс ароматических соединений и более быстрое производство ингибиторов трипсина. По-видимому, они также повышают чувствительность к метиловому эфиру JA-метилжасмонату (MeJA). Цис-жасмон (CJ) представляет собой высоколетучий составной продукт дальнейшего катаболизма JA, который, как известно, вызывает высвобождение защитных VOCs, привлекающих хищных (или паразитических) насекомых. Транскриптомный анализ показал, что использование цис-жасмона запускает активацию уникального набора генов, включая членов семейства цитохрома P450.

Следует подчеркнуть, что здесь приведен далеко не полный перечень природных индукторов устойчивости растений, который постоянно расширяется в результате применения новых высокочувствительных методов анализа и кооперации ученых из разных областей естествознания. Интересно, что в ряде случаев индукторы устойчивости, которые ранее считались неприродными соединениями, в настоящее время обнаруживаются в растительных тканях как природные метаболиты растений. Ярким примером является β -аминомасляная кислота (β -aminobutyric acid, BABA), высокая праймирующая активность которой при патологическом процессе была показана на многих видах культурных растений [18]. В настоящее время BABA найдена в растениях арабидопсиса с помощью комбинации метода количественного определения стабильных изотопов с методом жидкостной хроматографии сверхвысокого давления в тандеме с масс-спектрометрией (UHPLC-MS / MS) и рассматривается как природный компонент стрессового ответа при инфицировании фитопатогенами и солевом стрессе [19].

Заключение

В современном сельском хозяйстве до сих пор использовались две основные стратегии борьбы с болезнетворными микроорганизмами: селекция сортов на устойчивость и применение химических пестицидов. Однако селекционное направление требует много времени, и поскольку многие патогены быстро адаптируются, многочисленные примеры показали, что такого рода устойчивость быстро преодолевается, если не является комбинированной. Подобным же образом, использование пестицидов, препятствующих росту возбудителя, вызывает проблемы, связанные с увеличением резистентности патогенов.

Третий способ заключается в том, чтобы повысить собственный врожденный иммунитет растений с помощью индукторов устойчивости растений (plant resistance inducers, PRIs), что имеет целый ряд привлекательных аспектов. Поскольку PRIs действуют косвенно на патоген через врожденный иммунитет растения, они не являются токсичными для живых организмов, как это имеет место в случае пестицидов. Кроме того, многие PRIs обладают широким спектром действия, что, в свою очередь, уменьшает вероятность развития устойчивости патогенов в противовес развитию их устойчивости к пестицидам. Кроме

того, PRIs могут дополнять существующие методы обработки пестицидами и тем самым уменьшать количество пестицидов, необходимых для эффективного контроля заболеваний.

Таким образом, расширение сферы применения PRIs может сформировать будущую важную часть устойчивого развития сельскохозяйственного производства и обеспечить снижение химической нагрузки на агроэкосистемы.

Библиографические ссылки

1. World Food and Agriculture – Statistical pocketbook 2019. Rome: FAO; 2019. 254 p.
2. Лыжин ДН. Современные тенденции мирового рынка минеральных удобрений и средств защиты растений: конкурентные позиции России. *Проблемы национальной стратегии*. 2016;3(36):123–142.
3. Anket Sharma, Vinod Kumar, Babar Shahzad, et al. Worldwide pesticide usage and its impacts on ecosystem. *SN Applied Sciences*. 2019;1:14–46. DOI: 10.1007/s42452-019-1485-1.
4. Злотников АК. *Разработка и комплексная характеристика полифункционального препарата Альбит для защиты растений от болезней и стрессов* [автореферат докторской диссертации]. Москва: [б. н.]; 2012. 47 с.
5. Монастырский ОА. Задачи и перспективы биологической защиты сельскохозяйственных растений. *АГРО XXI*. 2010;(4–6):3–5.
6. Поликсенова ВД. Индуцированная устойчивость растений к патогенам и абиотическим стрессовым факторам (на примере томата). *Вестник БГУ. Серия 2*. 2009;1:48–60.
7. Пашкевич ЛВ, Кабашникова ЛФ. Роль салициловой кислоты в формировании системной приобретенной устойчивости растений при патогенезе. *Вестник Харьковского национального аграрного университета: Серия Биология*. 2018;3(45):31–48.
8. Кабашникова ЛФ, Савченко ГЕ, Абрамчик ЛМ, и др. Действие иммуномодулирующего препарата на основе б-аминомасляной кислоты на структурно-функциональное состояние растений ярового ячменя (*Hordeum vulgare L.*). В: *Ботаника (исследования)*. Сборник научных трудов. Минск: Колонград; 2016:45:309–323.
9. Шпилевский СН, Кабашникова ЛФ, Савченко ГЕ, и др. Влияние β-1,3-глюканы на окислительный и пигментный статус растений томата при фузариозном увядании. В: *Ботаника (исследования)*. Сборник научных трудов. Минск Колонград; 2017;46:264–274.
10. Gao Q-M, Zhu S, Kachroo P, et al. Signal regulators of systemic acquired resistance. *Frontiers Plant Science*. 2015;6:228. DOI: 10.3389/fpls.2015.00228.
11. Wendehenne D, Gao QM, Kachroo A, et al. Free radical-mediated systemic immunity in plants. *Current Opinion in Plant Biology*. 2014;20:127–134. DOI: 10.1016/j.pbi.2014.05.012.
12. Gary E Vallad and Robert M. Goodman. Systemic acquired resistance and induced systemic resistance in conventional agriculture. *Crop Science*. 2004;44:1920–1934. DOI: 10.2135/cropsci2004.1920.
13. Návarová H, Bernsdorff F, Döring AC, et al. Pipecolic acid, an endogenous mediator of defense amplification and priming, is a critical regulator of inducible plant immunity. *Plant Cell*. 2012;24:5123–5141. DOI: 10.1105/tpc.112.103564
14. Paz Aranega-Bou, Maria de la O Leyva, Ivan Finiti, et al. Priming of plant resistance by natural compounds. Hexanoic acid as a model. *Frontiers Plant Science*. 2014;5:1–12. DOI: 10.3389/fpls.2014.00488.
15. Zhou J, Sun AZ, Xing D. Modulation of cellular redox status by thiamine-activated NADPH oxidase confers *Arabidopsis* resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. *Journal Experimental Botany*. 2013;64:3261–3272. DOI: 10.1093/jxb/ert166.
16. Azami-Sardooei Z, Franca SC, De Vleesschauwer D, et al. Riboflavin induces resistance against *Botrytis cinerea* in bean, but not in tomato, by priming for a hydrogen peroxide-fueled resistance response. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 2010;75:23–29. DOI: 10.1016/j.pmp.2010.08.001.
17. Vivaldo G, Masi E, Taiti C, et al. The network of plants volatile organic compounds. *Scientific Reports*. 2017;7:1–18. DOI: 10.1038/s41598-017-10975-x.
18. Yigal Cohen, Moshe Vaknin, Brigitte Mauch-Mani. BABA-induced resistance: milestones along a 55-year journey. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/309381840> BABA-induced resistance milestones along a 55-year journey. *Phytoparasitica*. 2016. p. 1–17. DOI: 10.1007/s12600-016-0546-x.
19. Damien Thevenet, Victoria Pastor, Ivan Baccelli, et al. The priming molecule β-aminobutyric acid is naturally present in plants and is induced by stress. *New Phytologist*. 2017;213:552–559. DOI: 10.1111/nph.14298.

References

1. World Food and Agriculture – Statistical pocketbook 2019. Rome: FAO, 2019. 254 p.
2. Lyzhin DN. Sovremennye tendencii mirovogo rynka mineralnykh udobreniy i sredstv zashchity rasteniy: konkurentnye pozitsii Rossii [Current trends in the global market of mineral fertilizers and plant protection products: Russia's competitive positions]. National Strategy Challenges. 2016;3:36:123–142. Russian.
3. Anket Sharma, Vinod Kumar, Babar Shahzad, et al. Worldwide pesticide usage and its impacts on ecosystem. *SN Applied Sciences*. 2019;1:14–46. DOI: 10.1007/s42452-019-1485-1.
4. Zlotnikov AK. Razrabotka i kompleksnaya kharakteristika polifunktionalnogo preparata Albit dla zashchity rasteniy ot bolezney i stressov [Development and comprehensive characterization of the multifunctional drug Albit to protect plants from disease and stress]. [PhD thesis]. Moscow: [publisher unknown]; 2012. 47 p. Russian.
5. Monastyrs'kiy OA. Zadachi i perspektivi biologicheskoy zashchity selskokhoziaystvennykh rasteniy [Tasks and prospects of biological protection of agricultural plants]. *AGRO XXI*. 2010;(4–6):3–5. Russian.
6. Poliksenova VD. Inducirovannaya ustoychivost rasteniy patogennym i abioticheskim stressovym faktorom (na primere tomata) [Induced resistance of plants to pathogens and abiotic stress factors (for example, tomato)]. *Vestnik BGU. Serija 2*. 2009;1:48–60. Russian.
7. Pashkevich LV, Kabashnikova LF. Rol salitsilovoy kislotoy v formirovani sistemoi priobretennoi ustoychivosti rasteniy pri patogeneze [The role of salicylic acid in the formation of systemic acquired resistance of plants during pathogenesis]. *Vestnik Kharkovskogo natsionalnogo agrarnogo universiteta. Serija Biologiya*. 2018;3(45):31–48. Russian.

8. Kabashnikova LF, Savchenko GE, Abramchik LM, et al. The effect of an immunomodulating drug based on β -aminobutyric acid on the structural and functional state of spring barley plants (*Hordeum vulgare* L.). V: *Botanika (issledovanija). Sbornik nauchnykh trudov* [In: Botany (research). Collection of scientific papers]. Minsk: Kolograd; 2016. Volume 45. p. 309–323. Russian.
9. Shpilevsky SN, Kabashnikova LF, Savchenko GE, et al. The effect of β -1,3-glucan on the oxidative and pigment status of tomato plants with fusarium wilt. V: *Botanika (issledovanija). Sbornik nauchnykh trudov* [In: Botany (research). Collection of scientific papers]. Minsk: Kolograd; 2017. Issue 46. p. 264–274. (in Russ.).
10. Gao Q-M, Zhu S, Kachroo P, et al. Signal regulators of systemic acquired resistance. *Frontiers Plant Science*. 2015;6:228. DOI: 10.3389/fpls.2015.00228.
11. Wendehenne D, Gao QM, Kachroo A, et al. Free radical-mediated systemic immunity in plants. *Current Opinion in Plant Biology*. 2014;20:127–134. DOI: 10.1016/j.pbi.2014.05.012.
12. Gary E Vallad and Robert M. Goodman. Systemic acquired resistance and induced systemic resistance in conventional agriculture. *Crop Science*. 2004;44:1920–1934. DOI: 10.2135/cropsci2004.1920.
13. Návarová H, Bernsdorff F, Döring AC, et al. Pipecolic acid, an endogenous mediator of defense amplification and priming, is a critical regulator of inducible plant immunity. *Plant Cell*. 2012;24:5123–5141. DOI: 10.1105/tpc.112.103564
14. Paz Aranega-Bou, María de la O Leyva, Ivan Finiti, et al. Priming of plant resistance by natural compounds. Hexanoic acid as a model. *Frontiers Plant Science*. 2014;5:1–12. DOI: 10.3389/fpls.2014.00488.
15. Zhou J, Sun AZ, Xing D. Modulation of cellular redox status by thiamine-activated NADPH oxidase confers *Arabidopsis* resistance to *Sclerotinia sclerotiorum*. *Journal Experimental Botany*. 2013;64:3261–3272. DOI: 10.1093/jxb/ert166.
16. Azami-Sardooei Z, Franca SC, De Vleesschauwer D, et al. Riboflavin induces resistance against *Botrytis cinerea* in bean, but not in tomato, by priming for a hydrogen peroxide-fueled resistance response. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 2010;75:23–29. DOI: 10.1016/j.pmpp.2010.08.001.
17. Vivaldo G, Masi E, Taiti C, et al. The network of plants volatile organic compounds. *Scientific Reports*. 2017;7:1–18. DOI: 10.1038/s41598-017-10975-x.
18. Yigal Cohen, Moshe Vaknin, Brigitte Mauch-Mani. BABA-induced resistance: milestones along a 55-year journey. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/309381840> BABA-induced resistance milestones along a 55-year journey. *Phytoparasitica*. 2016. p. 1–17. DOI: 10.1007/s12600-016-0546-x.
19. Damien Thevenet, Victoria Pastor, Ivan Baccelli, et al. The priming molecule β -aminobutyric acid is naturally present in plants and is induced by stress. *New Phytologist*. 2017;213:552–559. DOI: 10.1111/nph.14298.

Статья поступила в редакцию 22.07.2020.
Received by editorial board 22.07.2020.