

УДК 581.1

ИНДУЦИРОВАННАЯ НЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ (SAR): ИСТОРИЯ И СОВРЕМЕННОСТЬ

А.Ю. Акулов, Д.В. Леонтьев

Харьковский Национальный университет им. В.Н.Каразина,

кафедра микологии и фитоиммунологии, пл. Свободы, 4, 61077, г. Харьков; Украина

e-mail: alex_fungi@yahoo.com

Индукцированная неспецифическая устойчивость является одним из важнейших механизмов, обеспечивающих защиту растительного организма от различного рода деструктивных воздействий. История исследований этого явления охватывает более ста лет, однако до сих пор является предметом острых дискуссий. Настоящая работа является обзором истории изучения, основных заблуждений и современных знаний в этой области. В работе рассматривается ряд концепций, объясняющих феномен индуцированной устойчивости: концепция фитоалексинов, концепция стресса, концепция элиситора. Особое внимание уделяется молекулярным механизмам индуцирования устойчивости в растениях: салицилат-зависимой и системин-зависимой системам, а также системе распознавания биогенных элиситоров.

Ключевые слова: индуцированная устойчивость, растения, стресс, механизмы

ВВЕДЕНИЕ

В 2001г. исполнилось 100 лет с момента выхода в свет первой печатной работы, посвящённой индуцированию устойчивости у растений. За свою вековую историю эта область знаний выросла в масштабную научную дисциплину с развитым терминологическим аппаратом и специфической методологией, дисциплину, колоссальное практическое значение которой уже давно не вызывает сомнений. Но, как показало время, именно прагматичность исследований индуцированной устойчивости стала для них настоящим бичом, десятилетиями вынуждавшим ученых гнаться за быстрым и эффективным результатом в ущерб научной корректности. Особые масштабы эта проблема приобрела в постсоветском пространстве, где многие области физиологии растений до сих пор несут на себе мичуринско-лысенковскую печать, и где большинство вопросов защиты растений остаются сферой деятельности ретроградных «научных школ» и объектом околونا-

учных спекуляций. В этих условиях представляется актуальным составление развернутого обзора истории изучения, основных заблуждений и современных знаний об индуцированной устойчивости растений, обзора, ориентированного именно на отечественного читателя и разъясняющего ему терминологические и концептуальные проблемы, накопившиеся в этой области. В настоящей работе мы представляем попытку составления именно такого обзора.

ИСТОРИЯ ИЗУЧЕНИЯ

ЭТАП 1-й: «ИММУНИЗАЦИЯ»

Проблема устойчивости растений к неблагоприятным факторам внешней среды на протяжении тысячелетий оставалась одной из важнейших проблем человечества. В силу своей физиологической специфики, культурные растения, наш основной пищевой ресурс, издавна были мишенью разрушительной деятельности паразитов, вредителей и различных абиотических факторов. Но знания о том, как растения сопротивляются этому влиянию, и, главное, как мы можем усилить это сопротивление, практически отсутствовали в течение веков [12].

Лишь в конце XIX в., в связи с серьезными успехами в области иммунологии человека и животных, стали появляться первые догадки о том, какие механизмы обеспечивают устойчивость растений. Создание П.Эрлихом и И.И.Мечниковым теорий иммунитета (гуморальной и клеточной) подтолкнуло ботаников того времени к поиску подобных явлений в растительном организме. Разработка же Л.Пастером научных основ вакцинации заставила изыскивать методы проведения подобных процедур с растениями [6, 7, 15].

Вскоре поиски увенчались успехом. В 1901г. физиологи Дж.Бовери и Дж.Рай. добились резкого повышения устойчивости целого ряда видов растений после проведения применительно к ним процедур «**иммунизации**», разработанных по аналогии с вакцинацией людей и животных (инфицирование растения ослабленными культурами патогенных организмов, его обработка экстрактами из патогенов и т. п.). На основании полученных данных ученые сделали вывод о том, что растение приобретает устойчивость к паразиту путем «знакомства» с ним и последующего его узнавания. Вскоре, в 1909г. Н.Бернар подтвердил результаты Бовери и Рая, опубликовав данные о приобретении ор-

хидеями устойчивости к ризоктониозу после первичного («ознакомительного») заражения возбудителем этого заболевания [7, 15, 34].

Первые успехи в области «иммунизации» растений и очевидная практическая польза подобных работ вскоре сделали их крайне популярными, и способствовали притоку в это научное направление множества молодых специалистов. В итоге, до середины 1930-х гг. «иммунизация» была продемонстрирована на сотнях видов растений и её эффективность уже не вызывала сомнения. Опираясь на эти данные, русский учёный Н.И.Вавилов предложил выделить исследования устойчивости растений в самостоятельную научную дисциплину – фитоиммунологию (от. греч. *φυτον*, *phyton* – растение, и лат. *immunitas* – свобода от чего-либо) [6, 7, 31, 40, 80, 84].

После многократного подтверждения возможности «иммунизации», внимание исследователей, наконец, сосредоточилось на раскрытии механизмов этого явления. Развивая аналогию с животными, естественным казалось искать в растительном организме некие аналоги антител. Однако, уже имевшиеся в начале XX в. сведения о внутренней организации растений (наличие жестких клеточных стенок, неподвижность клеток в пределах организма, ограниченные возможности внутренней секреции) убеждали в невозможности полноценного существования у растений «животного» иммунитета, а, стало быть, и антител также. Эту точку зрения стал отстаивать известный английский физиолог В.Блэкман (1922г.), полностью отрицавший как существование антител в растениях, так и возможности применения к ним метода вакцинации. В.Блекмана поддержал и С.Овенс (1928г.) в своей книге «Принципы растительной патологии» [7, 36, 87]. Разгорелась острая дискуссия.

В разгар полемики, в 1929г., Д.Костов объявил о сенсационном открытии. Он сообщил, что ему удалось обнаружить растительные антитела. Костов занимался межвидовой и межродовой прививкой растений из семейства паслёновых. В ходе работы он отметил, что первые прививки между испытуемыми растениями всегда оказываются удачными, а при вторичной прививке наблюдается отторжение трансплантата и интенсивный синтез антител в участке отторжения [7, 15, 68].

Работы Д.Костова вызвали огромный интерес и вскоре были воспроизведены несколькими исследователями. Не прошло и двух лет, как его результаты (увы!) были опровергнуты – в начале К.Зильбершмидтом (1931,1932), а затем К.Честером и

Т.Уайтекером (1933). Эти учёные показали, что приживаемость или неприживаемость прививок при неродственной трансплантации носит сложный и непостоянный характер, не имеет традиционно иммунологической природы и не связана с синтезом антител [45, 99, 100, 114]. Те вещества, которые Д.Костов считал растительными антителами, оказались кристаллами оксалата кальция, часто образующимися у растений при повреждении тканей. К.Честер иронически назвал их «псевдоантителами». [7, 15, 45]. Несмотря на долгосрочный целенаправленный поиск, обнаружить антитела у растений не удалось и в последующие годы¹ [7, 73, 112].

С точки зрения современников, провал теории растительных антител мог означать только одно: повышение устойчивости растений под действием «иммунизации» является **неспецифичным**. В середине 1930-х гг. было признано, что в ответ на действие самых различных «иммунизирующих» факторов растение отвечает одной и той же универсальной реакцией, в результате которой и происходит общее повышение защитных свойств растительного организма и усиление его устойчивости к любым неблагоприятным воздействиям [7].

Эта неприятная с точки зрения практики новость была вскоре дополнена еще одной, не менее неприятной. Оказалось, что состояние повышенной устойчивости растения сохраняется им лишь на непродолжительный промежуток времени и затем утрачивается, так что индуцированная устойчивость является еще и **краткосрочной**. Мечты об истинной вакцинации растений растаяли, как дым [7, 15].

Но, помимо неспецифичности и краткосрочности, в тот же период была отмечена третья важная черта индуцированной устойчивости растений – **системность**. Оказалось, что, инфицируя один орган растения-хозяина можно добиться временной «иммунизации» остальных его органов, удалённых от места действия «иммунизатора» [7]. Значение этого открытия было трудно переоценить, ведь оно открывало возможность усиления устойчивости *всех* тканей и органов растения к *любым* неблагоприятным факторам путем *единичного* воздействия. К тому же, *характер* этого воздействия, вид используемого патогена, по сути, не имел значения (ведь приобретенная устойчивость оказалась

¹ – Это, конечно, не означает, что растениям вообще не свойственна специфическая устойчивость. Однако ее механизмы были раскрыты значительно позже и оказались слишком непохожими на функционирование антител у животных. В настоящей работе проблемы специфической устойчивости растений детально не рассматриваются.

неспецифичной), так что перед исследователями открывались перспективы подбора наиболее экономически выгодных «иммунизаторов». Популярность «вакцинации» растений вновь возросла, и к началу 1940-х гг. появились первые гипотезы о механизмах этого явления [24, 29].

Этап 2-й: концепция фитоалексинов

Для объяснения феномена приобретенной устойчивости растений в 1940 г. немецкие исследователи К.Мюллер и Х.Бергер предложили **гипотезу фитоалексинов**. Авторы высказали предположение, что под действием веществ, синтезируемых патогенным микроорганизмом, в клетках растения индуцируется синтез токсинов – фитоалексинов, появление которых в клетке и препятствует её вторичному инфицированию [81]. Гипотеза выглядела вполне обоснованно, ведь в те годы уже было известно о накоплении токсинов в тканях инфицированного растения. Однако, стандартные методы биохимического анализа, связанные с гомогенизацией растительных органов, не позволили выделить и охарактеризовать фитоалексины. Более двух десятилетий эти вещества оставались лишь неподтвержденной гипотезой.

Толчком для экспериментального подтверждения существования фитоалексинов и установления их химической природы послужила разработка в 1956г. К.Мюллером **метода капельных диффузатов**. Сущность этого метода состоит в том, что на поверхность активно вегетирующего органа растения наносится водная суспензия спор патогена, покрывающая орган слоем *инфекционных капель*. При этом, в ответ на внедрение патогена в зараженный орган растение начинает выделять в инфекционную каплю токсические экзометаболиты. Именно изучение химического состава инфекционных капель позволило выделять фитоалексины в чистом виде и устанавливать структуру их молекул. В результате, к началу 60-х годов XX века гипотеза фитоалексинов преобразовалась в теорию, основные положения которой были следующими [82]:

- фитоалексины являются ингибиторами развития широкого круга фитопатогенов и оказывают на них неспецифическое токсическое воздействие;
- фитоалексины отсутствуют в неиндуцированных растениях и образуются лишь в ответ на действие индуцирующего фактора;
- фитоалексины локально накапливаются в месте воздействия индуцирующего фактора и его ближайшем окружении;

- устойчивое состояние не наследуется, а каждый раз заново приобретается при действии индуцирующего фактора.

Теория фитоалексинов ответила на многие вопросы и приобрела заслуженную популярность. Однако, вскоре стало ясно, что в возникновении приобретённой устойчивости растений фитоалексины не играют основную роль. Ведь локальное накопление фитоалексинов в месте действия «иммунизатора» не могло объяснить системность повышения устойчивости растений при ее индуцировании. Пытаясь теоретически решить эту проблему, авторы того времени выдвинули предположение, что в основе явления индуцированной неспецифической устойчивости лежит целый комплекс взаимодействующих факторов [13, 16, 17].

ЭТАП 3-й: КОНЦЕПЦИЯ СТРЕССА

Параллельно с экспериментами, посвящёнными «иммунизации» растений и выяснению роли фитоалексинов в возникновении этого явления, еще в 30-е гг. XX в. начались исследования влияния на растительный организм неблагоприятных абиотических факторов. В 1936 г. знаменитый канадский учёный Г.Селье сформулировал понятие **стресса** и разработал концепцию стрессовой реакции у животных [97]. Вскоре эта концепция нашла применение и в ботанике.

Уже начиная с середины 60-х годов понятия «стресс» и «стрессор» приобрели в физиологии растений заметную популярность [10, 11, 106]. В эти годы были проведены масштабные и всесторонние исследования воздействия самых различных абиотических стрессоров (температуры, излучений, растворов солей, пестицидов и т.п.) на растения. Результатом работ стало получение фактически тех же данных, что и при действии «иммунизаторов» биотической природы² [5, 10, 22]. Стало очевидно, что любое достаточно сильное стрессовое воздействие, как биотическое, так и абиотическое, запускает в растениях последовательность одних и тех же защитных реакций, следствием которых становится неспецифическое, краткосрочное, системное повышение устойчивости к повторному действию стрессоров. Эта последовательность защитных реакций была названа **«неспецифическим адаптационным синдромом»** («гетеростазом», «суперкомпен-

² – В отечественной литературе такое явление получило название «химической иммунизации».

сацией», «энергизированным состоянием»), а временное повышение устойчивости охарактеризовано как один из симптомов этого синдрома, и получило название **«системная приобретённая устойчивость»** (system acquired resistance или **SAR**). С середины 1980-х гг. явление индуцированной устойчивости растений стало рассматриваться именно в этом контексте [5, 9, 92, 101, 112].

ЭТАП 4-й: КОНЦЕПЦИЯ ЭЛИСИТОРА

Выяснение того факта, что и микроорганизмы и абиотические воздействия вызывают в растениях по сути одну и ту же стрессовую реакцию породили сложную концептуальную проблему, основными вопросами которой были следующие: какие факторы могут стимулировать развитие адаптационного синдрома, а какие нет? Что объединяет эти факторы и заставляет организм отвечать на них столь однотипно? Какой термин использовать для наименования этих факторов?

Последний вопрос, терминологический, имел отнюдь не последнее значение, ведь наименование фактора, провоцирующего развитие индуцированной устойчивости, определяло понимание сути и этого фактора и его воздействия. Первыми названиями для таких факторов были «иммунизатор» и «вакцина», однако после установления их иммунологической и даже, иногда, абиотической природы от подобных наименований пришлось отказаться. В 1968 г. Дж.Круикшанк и Д.Перрин предложили новое название – «индуктор», которое до середины 70-х гг. широко использовалось в научной литературе [49]. В 1975г. Н.Кин, указал на то, что слово «индуктор» является общепринятым термином молекулярной генетики, и поэтому использование этого же термина в описании индуцирования устойчивости растений крайне нежелательно. Н.Кин предложил новый термин – **«элиситор»** (от англ. elicitе – выявлять, вызывать), который закрепился в литературе и широко используется вплоть до наших дней [13].

С момента создания до настоящего времени термин «элиситор» претерпел множество модификаций, результатом которых стало развитие самостоятельной концепции индуцированной устойчивости. Автор термина, Н.Кин, понимал под элиситорами вещества, индуцирующие в растениях комплекс защитных реакций. С позиций современной науки определение Кина имеет два крупных недостатка. Во-первых, индуктором устойчивости могут быть не только вещества, но и физические воздействия, например, ультрафиолетовое излучение или перепады температур. Во-вторых, выяснилось, что защит-

ные реакции растений могут носить не только неспецифический, но и высокоспецифичный характер: растения имеют высокоспецифичные рецепторы, которые распознают те или иные метаболиты фитопатогенов (продукты генов авирулентности) и запускают реакцию запрограммированного умерщвления инфицированных клеток. Но в определении Н.Кина не ясно, о каком именно типе защитных реакций растения идёт речь – неспецифическом (индуцирование устойчивости) или специфическом (запрограммированная клеточная гибель), и соответственно, его определение элиситора не может трактоваться однозначно [13, 118].

Пытаясь модифицировать определение Н.Кина, Л.И.Ильинская и О.Л.Озерцовская (1991г.) сузили понятие Н. Кина до «определённых метаболитов фитопатогенов, воздействие которых на растения приводит к ответному включению защитных реакций». [13]. В своём определении упомянутые авторы полностью исключили из понятия «элиситор» все абиотические индукторы устойчивости, например, соли тяжёлых металлов или пестициды. К тому же они не так и не решили проблему специфичности действия элиситора.

Решение этой проблемы предложили, К.Райан и Е.Фармер (1991г.), ещё в большей мере уточнив определение, данное Н.Кином. По их мнению, «элиситор – биологически активное вещество патогенного микроорганизма (гриба, бактерии, вируса), которое взаимодействует с клетками растения-хозяина и индуцирует серию метаболических процессов, приводящих к запуску синтеза и накопления фитоалексинов [91, 93, 118]. Тем самым, они исключили из списка элиситоров не только все абиотические воздействия, но и вещества, ответственные за специфические защитные реакции. К сожалению, в своём определении К.Райан и Е.Фармер учли лишь факт синтеза фитоалексинов, и не приняли во внимание другие процессы, имеющие место при неспецифическом адаптационном синдроме.

Нелогичность исключения абиотических индукторов устойчивости растений из понятия «элиситор» подтолкнула современных авторов выделить две группы элиситоров – биотические (подразделяемые, в свою очередь, на эндогенные и экзогенные) и абиотические (излучения, пестициды, соли тяжелых металлов, перепады температур и пр.) [57, 90, 91, 118].

Относительно недавно были обнаружены также «эндогенные элиситоры», которые, в отличие от традиционных, экзогенных, являются производными веществ самого растения, возникающими в ходе патологического процесса. Это, например, олигомеры пектина клеточных стенок растения, образующиеся в результате ее деструкции патогеном. Эндогенные элиситоры оказались способны индуцировать устойчивость растений в той же степени, что и экзогенные [57, 118].

Проанализировав все вышеприведенные точки зрения, мы предлагаем охарактеризовать элиситоры как *биотические или абиотические факторы, индуцирующие в растениях неспецифический комплекс защитных реакций (неспецифический адаптационный синдром), одним из проявлений которого является кратковременное индуцирование неспецифической устойчивости.*

Следует, однако, отметить, что практически одновременно с термином «элиситор», в проблеме неспецифической устойчивости растений стало широко использоваться понятие «стрессор» – неблагоприятное воздействие на организм. Это – вполне удачный термин, но область его применения не всегда совпадает с таковой для понятия «элиситор», что зачастую вызывает недоразумения [9, 20]. Следует помнить, что не всякий элиситор является стрессором (например, эндогенные элиситоры), и не всякий стрессор является элиситором (например, летальные стрессоры). Для раскрытия механизмов устойчивости растений оказалось намного более продуктивным изучение не собственно неблагоприятных факторов, а именно индукторов неспецифического адаптационного синдрома, так что в этой сфере концепция элиситора имеет явные преимущества над концепцией стресса.

Этап 5-й: Системный подход

Открытие индуцированной устойчивости растений инициировало накопление колоссального объема данных о биохимических основах этого явления. На протяжении XX в. были собраны обширные сведения об особенностях антиоксидантного статуса, фенольного обмена, биосинтеза белка, состояния пластид и митохондрий и сотнях других характеристик индуцируемого растения. Однако, из-за того, что эти эксперименты проводились с использованием различных видов растений, различных способов индукции и в различные временные промежутки после воздействия элиситора, оказалось практически невозможным критически проанализировать накопленные факты и упорядочить их в ка-

кую-либо логичную последовательность. По этому поводу известные физиологи растений Б.А.Рубин и Е.В.Арциховская ещё в 1948 г. писали: «литература, посвящённая этому разделу обширна, однако, лишь небольшая часть этих работ имеет задачей выявить причинную зависимость между особенностями обмена растения и характером его реагирования на инфекцию. В большинстве же случаев мы встречаемся с отвлеченными сопоставлениями активности какого-либо фермента или нескольких ферментов хозяина со степенью его устойчивости. К раскрытию смысла этих зависимостей исследователи стремились далеко не всегда» [26].

Пытаясь объединить эти разрозненные данные, в 1950-80-е гг. ряд авторов разработали серию умозрительных концепций, пытавшихся прояснить механизмы индуцирования устойчивости. Эти концепции строились на **«системном подходе»**, согласно которому защитные реакции у растений не могут быть объяснены как проявление какого-либо определенного физиологического механизма, и определяются взаимодействием самых различных компонентов единой системы – растительного организма. К сожалению, теории, построенные на системном подходе, не смогли в полной мере объяснить явление индуцированной устойчивости, механизмы его проявления и регуляции. По сути, они сводились к констатации существенных изменений в растительном организме в условиях стресса [11, 18, 26, 28].

В 80-е – начале 90-х гг. XX в. описанная выше ситуация усугубилась в ещё большей степени. Стало ясно, что обширные знания о тех или иных частных проявлениях стрессовых реакций ни в коей мере не приближают понимание механизмов развития устойчивости и ее регуляции. О научном кризисе в этой области знаний свидетельствовало и появление крупных обзорных работ, которые обобщали массу противоречащих друг другу фактов, однако, увы, не могли их пояснить [13, 16, 18, 19, 20].

ЭТАП 6-й: РАСКРЫТИЕ МЕХАНИЗМОВ ИНДУЦИРОВАННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ

Для выхода из возникшей кризисной ситуации в конце 80-х – начале 90-х гг. XX в. был предложен альтернативный, **редукционистский подход**. В противовес попыткам комплексного, «системного» осмысления реакции растений на действие элиситоров, целый ряд исследователей сосредоточили своё внимание на поиске первичного индуктора устойчивости. Они предположили, что, найдя ключевой фактор, запускающий цепь реакций индуцирования устойчивости, им удастся постепенно выстроить всю последова-

тельность дальнейших метаболических преобразований и, тем самым, распутать сложную и противоречивую систему возникновения приобретённой устойчивости. К решению этих проблем были привлечены новые, возникшие к этому времени методы – рекомбинантных ДНК, направленного мутагенеза, использования высокоспецифичных ингибиторов метаболизма и пр. Итогом этих работ стал поистине революционный прорыв в понимании механизмов индуцирования устойчивости [12, 47, 112]. Выяснилось, что это явление у растений контролируется несколькими ключевыми **сигнальными путями (SAR-путями): салицилат-зависимым, системин-зависимым** и гипотетической **системе распознавания биогенных элиситоров**. При действии элиситоров различной природы первичным обычно оказывается какой-то один сигнальный путь, однако, в последствии, он активирует другие. Далее, в процессе развития стрессовой реакции, SAR-пути запускают серию универсальных сигнальных каскадов: сАМР-зависимого, фосфоинозитольного, Са-кальмодулин-зависимого и пр., которые, в свою очередь и формируют системную приобретенную устойчивость [12, 47, 92, 104].

К сожалению, в настоящее время по-прежнему непросто охарактеризовать всю последовательность метаболических процессов, в результате которых формируется SAR. Поэтому в рамках данной работы мы рассмотрим современные представления лишь о вышеупомянутых ключевых сигнальных путях, запускающих индуцирование неспецифической устойчивости.

Салицилат-зависимая сигнальная система

История открытия

На роль первичного индуктора устойчивости в разные годы выдвигались различные соединения: пероксидазы, перекись водорода, Ca^{2+} . Все они обнаруживались в клетках растения при обработке элиситорами, и все они способствовали временному повышению устойчивости при искусственном введении. Однако для того, чтобы признать то или иное соединение первичным фактором индуцирования SAR, этих фактов было недостаточно [56].

Ещё в 1979 г. Р.Вайт отметил, что при формировании неспецифического адаптационного синдрома, в клетках растения многократно увеличивается содержание салициловой кислоты (SA), а обработка растений этим веществом активирует экспрессию защитных *PR*-генов (*pathogenesis related*) и индуцирует развитие SAR [113]. В ходе поиска

первичных факторов индуцирования устойчивости, в начале 90-х годов салициловая кислота вновь привлекла внимание биохимиков, которые доказали непосредственное участие этого вещества во включении защитных реакций растительного организма. Было отмечено, что накопление SA связано прямой коррелятивной зависимостью с экспрессией генов, кодирующих PR-белки. Так, при обработке растений SA наблюдалась координированная индукция синтеза как минимум 9 классов этих антистрессовых соединений [78, 108, 111].

Для доказательства центральной роли салициловой кислоты в индукции устойчивости было проведено несколько специализированных экспериментов. В частности, в лабораторных условиях были получены трансгенные растения табака, в клетки которых был внедрён ген салицилат-гидроксилазы (*nahG*) из бактерии *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*. Трансгенные растения практически не содержали салициловой кислоты, так как сразу же после образования она разрушалась в них бактериальным ферментом с образованием катехола. Для этих растений никакими из примененных способов не удавалось достичь индуцирования устойчивости [51, 60]. Было также отмечено, что обработка таких салицилат-дефицитных растений салициловой кислотой или её структурными аналогами (метил-2,6-дихлоризоникотиновой кислотой и бензотиодиазолом) приводила к запуску устойчивости, аналогичной таковой в контроле [117].

Недавно подобные результаты были получены с *nahG*-растениями *Arabidopsis thaliana*, в которых также происходит деградация салициловой кислоты, и *pad4-1*-мутантами *Arabidopsis*, в которых ослаблен синтез этого вещества [32].

Таким образом, ключевая роль салициловой кислоты в индуцировании устойчивости растений перестала вызывать сомнения [60, 56, 112].

Пути биосинтеза SA в растениях

Вплоть до недавнего времени считалось, что биосинтез SA в растениях осуществляется преимущественно из фенилаланина, посредством фермента фенилаланинаммиа-лиазы (phenylalanine ammonia-lyase или PAL). Высокоспецифичный ингибитор PAL – аминокислота 2-аминоиндан-2-фосфорная кислота (aminoindan-2-phosphoric acid или AIP) подавляла развитие приобретённой устойчивости. Добавление же экзогенной SA снимало негативный эффект ингибитора и приводило к нормальному развитию SAR [75].

Недавно было показано, что SA может синтезироваться в растениях не только из фенилаланина, но и из бензойной кислоты (BA). При этом выяснилось, что AIP не влияет на синтез SA из ^{14}C -меченой BA. Это позволило предположить наличие у растений PAL-независимого пути синтеза SA [79].

Фермент PAL является светоиндуцируемым. Поэтому в темноте накопление SA происходит медленно, а защитные реакции протекают с низкой интенсивностью [32].

Роль SA при системном индуцировании устойчивости

Ещё в начале 1980-х гг. Дж.Куч провёл серию исследований, посвящённых выяснению механизмов индуцирования устойчивости в органах растения, удалённых от места действия индуктора. Путём окольцовывания растений он доказал, что сигнал индукции распространяется по тканям и органам растения с помощью флоэмы. На основании проведенных исследований, Куч постулировал существование сигнальной молекулы, которая транспортируется по флоэме и системно индуцирует устойчивость [69]. Позже эту гипотетическую сигнальную молекулу стали называть «флоэмным мобильным сигналом» [92] или **«флоэмно-транслоцируемым сигналом»** [103].

Обнаружение SA во флоэмных эксудатах нескольких видов растений позволило предположить, что именно это вещество является флоэмно-транслоцируемым сигналом. В ряде последующих работ был отмечен факт синтеза SA *de novo*, как в месте индуцирования, так и удалённых от него участках растения [79, 103]. Было установлено, что концентрация SA во флоэмных клетках прямо коррелирует с уровнем SAR [62, 92]. Также было показано, что интенсивный синтез флоэмно-транслоцируемого сигнала в растении усиливается на свету, что дополнительно свидетельствовало в пользу SA [32, 103].

В то же время, появились и данные, противоречащие этим выводам. В 1994г. был проведен эксперимент с трансгенными растениями табака, часть органов которых состояли из SA-дефицитных клеток с бактериальным геном *nahG*. Авторы этого эксперимента проводили заражение трансгенного участка растения авирулентной расой *Pseudomonas syringae*, что приводило к запуску реакции сверхчувствительности в месте инфицирования. В результате этой реакции образовывался локальный некроз. В нормальных условиях некрозообразование служит толчком к развитию SAR. Однако, в SA-дефицитных растениях было бы естественным ожидать отсутствия такой реакции – ведь

если именно SA является флоэмно-транслоцируемым сигналом, то информация о действии индуктора на *nahG*-участок не могла бы распространяться по растению. Но, несмотря на отсутствие SA в месте образования некроза, растения сохраняли способность передавать сигнал в нетрансгенные участки, где происходило индуцирование SAR [109]. Результаты этого эксперимента позволили предположить существование нескольких альтернативных путей передачи сигнала по флоэме. Таким образом, утверждение о том, что SA является единственным флоэмно-транслоцируемым сигналом, в настоящее время стало оспариваться [56, 74].

Высвобождение SA

На сегодняшний день известно, что в неиндуцированной клетке салициловая кислота запасается в неактивном состоянии в виде β -гликозида (SA β -glucoside). Этот гликозид ассоциирован с клеточной стенкой и расщепляется специфической β -гликозидазой. В ответ на действие стрессоров *нетравматического типа* (УФ-излучение, соли тяжелых металлов, колебания температуры, токсины патогенов) растение отвечает защелачиванием внеклеточного пространства, что приводит к высвобождению слабо связанных (вероятно ионно-связанных) β -гликозидаз клеточной стенки, расщеплению гликозида салициловой кислоты и высвобождению во внеклеточное пространство свободной SA [43].

Роль SA в генерировании и регуляции окислительной вспышки

Для расшифровки механизмов индуцирования SAR с помощью SA, в первую очередь было необходимо установить мишени (рецепторы) SA в растительном организме. Исследования способности различных соединений связывать SA позволили обнаружить несколько салицилат-связывающих белков. Оказалось, что главными мишенями для внеклеточной салициловой кислоты являются внеклеточные же каталазы и пероксидазы [43]. Присоединяясь к молекулам этих ферментов, SA изменяет их каталитическую активность и запускает **окислительную вспышку** – резкое усиление синтеза активных форм кислорода. В настоящее время доказано, что именно салициловая кислота является ключевой молекулой, запускающей в растительном организме этот процесс [74].

Связываясь с каталазами в концентрации около 100 μ M, SA приводит к их инактивации, в результате чего клетка утрачивает способность разрушать внеклеточную перекись водорода, провоцируя накопление последней во внеклеточном пространстве [43,

44, 55]. Это приводит к генерированию других активных форм кислорода: супероксидного аниона-радикала, гидроксильного радикала, синглетного кислорода и пр. В результате, во внеклеточном пространстве растения происходит окислительная вспышка. Она разрушительно воздействует на патогенные микроорганизмы и является важным вторичным индуктором SAR, запуская биосинтез фитоалексинов, лигнификацию клеточных стенок и пр. [71, 74].

Но функции перекиси водорода при индуцировании устойчивости не ограничиваются генерированием окислительной вспышки. Это соединение является также одним из главных вторичных мессенджеров сигнала индуцирования устойчивости. В частности, было показано, что в ряде случаев SA запускает экспрессию *PR*-генов не непосредственно, а благодаря перекиси водорода [50, 52, 54, 85]. Так, опыты с использованием специфических супрессоров каталазы, таких как 2,6-дихлоризоникотиновая кислота, показали неспособность клетки экспрессировать ген *PR-1* [43]. Сходные результаты были также получены на трансгенных растениях табака, у которых отсутствовал ген каталазы (*Cat1AS*) [42].

Помимо этого, перекись водорода способна индуцировать активность ряда важных ферментов, таких как NADH-дегидрогеназ (NADH-DH) хлоропластов, что также играет определенную роль в генерировании SAR [41].

Второй группой салицилат-связывающих белков являются пероксидазы. Это – один из наиболее изученных, и, в то же время, наиболее загадочных ферментов растений. Он представлен десятками молекулярных форм, отличающихся по способности катализировать реакции окисления различных субстратов, активности, локализации в клетке и другим признакам. По химической природе пероксидазы являются гем-содержащими гликопротеидами, которые активно реагируют на разнообразные воздействия, меняя при этом свои свойства. Несмотря на название, для этих ферментов характерна отнюдь не только пероксидазная, но и оксидазная, и оксигеназная активность. Благодаря высокой пластичности и индуцибельности, пероксидазы в настоящее время принято рассматривать как регуляторные ферменты [2].

О повышении активности пероксидаз в клетках растений при их заражении патогенными организмами было сообщено Вудсом ещё в 1899 г. В 60-е 70-е гг. XX в. Симонс и Росс указали, что пероксидаза – один из немногих ферментов, которые повыша-

ют свою устойчивость системно (в участках, удалённых от места действия индуктора), причём повышение активности этого фермента прямо коррелирует с уровнем индуцированной устойчивости. В эти же годы стало известно, что активирование пероксидазы происходит неспецифически под действием индукторов различного происхождения. На основании этих экспериментов было предложено использовать активность пероксидазы в качестве маркера индуцирования неспецифической устойчивости у растений [2, 89, 102]. Однако впоследствии стало известно, что хотя пероксидазы выполняют в SAR очень важные функции, поведение различных молекулярных форм этого фермента при развитии устойчивости существенно отличается, так что суммарная активность пероксидаз не может служить маркером уровня SAR [74].

Из множества существующих молекулярных форм пероксидазы, изменение активности при стрессовом воздействии изучено лишь нескольких групп. В частности, показано, что кислые пероксидазы клеточных стенок способны связывать SA. При этом происходит переключение их пероксидазной функции на оксидазную и фермент начинает генерировать перекись водорода с использованием NADPH. Таким образом, вместо утилизации перекиси водорода, пероксидаза начинает генерировать это вещество. Как уже отмечалось выше, параллельно происходит инактивация внеклеточных каталаз. Совместное воздействие этих факторов приводит к интенсивнейшему накоплению перекиси водорода во внеклеточном пространстве [74].

В то же время, некоторые пероксидазы клеточных стенок сохраняют свою пероксидазную активность на прежнем уровне или даже повышают. К их числу относятся лигниназы, отвечающие за лигнификацию клеточных стенок, и усиливающие ее в условиях развития SAR [46].

Несмотря на то, что окислительная вспышка является одним из ключевых компонентов SAR, возникающие при ее развитии активные формы кислорода крайне опасны для самого растительного организма. Поэтому, в растении существуют надёжные механизмы регуляции окислительной вспышки. Так, при индуцировании устойчивости протекание окислительной вспышки допускается только во внеклеточном пространстве, в то время как внутри клеток этот процесс подавляется компонентами антиоксидантной системы [33]. Большая роль в этом процессе принадлежит, опять-таки, пероксидазам, а именно – цитоплазматической аскорбатпероксидазе (APX) [70]. В ответ на действие SA,

этот фермент, естественно, повышает свою пероксидазную активность. Помимо влияния на активность пероксидаз, SA активизирует высвобождение дополнительных порций APX из пероксидазосом [25, 61, 96, 116]. Кроме APX, при индуцировании устойчивости происходит активация цитоплазматических супероксиддисмутаз, которые также защищают внутреннее содержимое клетки от окислительной вспышки [30, 96].

В настоящий момент известно, что не все цитоплазматические пероксидазы активируются и высвобождаются непосредственно с помощью SA. Активность многих из них контролируется более сложными путями. Так, салициловая кислота приводит к усилению генерирования перекиси водорода, перекись активизирует Ca^{2+} -зависимые сигнальные пути, а те, в свою очередь, посредством Са-кальмодулина и Са-зависимых протеинкиназ регулируют изменения в пероксидазном статусе клетки [66].

Другие функции SA при индуцировании неспецифической устойчивости

Сигнал салициловой кислоты передается не только через пероксидазы и каталазы и реализуется не только через окислительную вспышку. Известны салицилат-индуцибельные протеин-киназы (SIPK), ответственные за фосфорилирование ряда белков в клетке [67].

В дополнение к сигнальной функции для салициловой кислоты была показана антиоксидантная активность. Так, эта молекула защищает каталазы от необратимого окисления в условиях вызванной ею же окислительной вспышки [55, 59].

И, наконец, как упоминалось выше, SA участвует в регуляции транскрипции ряда PR-генов, ответственных за синтез стрессовых PR-белков, что осуществляется посредством специализированных SA-зависимых или SAR-генов [67]. Как было установлено в конце 80-х - начале 90-х годов XX в., SA-зависимые PR-белки представлены как минимум 9 классами, одним из которых являются внеклеточные кислые хитиназы. (Цит. по 103). Последние вещества не характерны для нормального метаболизма растений, и поэтому их предложено использовать в качестве маркера развития SAR [39, 77].

Роль SA в регуляции специфической устойчивости растений

Следует еще раз напомнить, что защита растений от неблагоприятных для них воздействий не ограничивается неспецифическим повышением устойчивости, описанным выше. При взаимодействии растения с патогенными организмами, может иметь место и высокоспецифичный (по сути, иммунный) ответ. Он сопровождается распознаванием

чужеродных веществ (продуктов **генов авирулентности** патогена) с помощью высоко-специфичных рецепторов (продуктов **генов устойчивости** растения). Как уже упоминалось выше, в результате такого распознавания растение запускает реакцию запрограммированного умерщвления инфицированной клетки (**запрограммированной клеточной гибели** - PCD или **сверхчувствительности** - HR). При этом, вместе с клеткой растения погибает и патогенный организм. Определенную роль в этих процессах играет и SA [78, 88].

К сожалению, исследователи растительного метаболизма, не специализирующиеся в области фитопатологии, часто не обращают внимания на то, с каким типом устойчивости они имеют дело. В результате, при ознакомлении с современными публикациями, они сталкиваются с неразрешимыми, на первый взгляд, противоречиями, обусловленными тем, что в реакциях специфической и неспецифической устойчивости салициловая кислота выполняет совершенно разные, часто противоположные функции. Поэтому, несмотря на то, что специфическая устойчивость растений не является предметом рассмотрения данной работы, мы сочли необходимым кратко охарактеризовать участие SA в этом явлении [76, 78, 88].

Итак, помимо участия в индуцировании SAR-опосредованные молекулярные каскады участвуют и в регуляции специфической устойчивости растений. Более того, в запуске запрограммированной гибели клеток салициловой кислоте принадлежит одна из наиболее важных функций. В этом случае концентрация SA в клетке достигает гораздо более высоких значений, чем при индуцировании SAR (до 200 – 500мк), что приводит к запуску совершенно других реакций – неконтролируемой окислительной вспышки в месте некрозообразования, ингибированию поглощения O_2 митохондриями, ингибированию аконитазы в цикле Кребса и митохондриального электронного транспорта и т.п. [73, 76, 117].

Не меньшее участие в запуске PCD принимают и связанные с SA соединения – перекись водорода, пероксидазы и пр. [64, 73]. Однако, при экстремально высоких концентрациях SA в клетке, их функции существенно меняются. В частности, пероксидазы приобретают способность выполнять функция анаэробной $NADH_2$ -дегидрогеназы и $NADH_2$ -цитохром-С-редуктазы, что приводит к переключению окислительного фосфо-

рилирования на альтернативный путь и, вместо защиты клеток от окисления, провоцирует усиление окислительной вспышки в цитоплазме [2, 76].

Системин-зависимая сигнальная система

История открытия

Относительно недавно было установлено, что в ответ на *механическое повреждение* клеток растения (например, насекомыми-вредителями) происходит системная активация генов ингибиторов протеиназ (*PI*-генов). Продукты этих генов подавляют активность протеиназ в пищеварительных соках вредителей, что препятствует усвоению ими белковой пищи. Попытки раскрыть механизмы активации *PI*-генов привели к обнаружению сигнального пептида **системина**, который играет важную роль в межклеточной сигнализации при индуцировании устойчивости у растений. Было установлено, что системин состоит из 18 аминокислот и образуется в процессе индуцирования из пептида-предшественника **просистемина** состоящего из 200 аминокислотных остатков [35, 95].

Высвобождение системина и первые этапы индукции SAR

В настоящий момент установлено, что системин – это первая сигнальная молекула, которая образуется в травмированной клетке растений. Она отвечает за запуск синтеза вторичных сигнальных веществ - **жасмонатов**, а те, в свою очередь, осуществляют следующие защитные реакции, в том числе за активацию *IP*-генов [35, 53, 72].

Достоверно известно, что вычленение молекул системина (по всей видимости, пяти) из молекулы просистемина осуществляется так называемым «**системин-связывающим белком**», который обладает протеазной активностью и пространственно расположен на поверхности плазмалеммы растительных клеток. Так как просистемин входит в состав цитоплазмы клеток, а специфически расщепляющий его фермент находится снаружи, их контакт может произойти лишь после механического повреждения клетки. Этим и объясняется, что системин-зависимый сигнальный путь индуцирования устойчивости у растений запускается в первую очередь при механическом травмировании клеток [53, 72].

В ходе исследований суспензионных культур клеток томата было отмечено, что при обработке клеток системинном происходит лавинообразный выхода ионов K^+ из клетки и быстрое защелачивание внеклеточной среды, что практически мгновенно запускает салицилат-зависимый каскад защитных реакций. Параллельно с этим, системин активиру-

ет системный синтез этилена [58, 107], накопление перекиси водорода [86] и различных классов фосфолипаз [83, 110]. Таким образом, оказалось, что системин-зависимые молекулярные каскады не только образуют самостоятельную сигнальную систему, альтернативную салицилатной, но и являются важнейшим фактором сопряжения защитных реакций, включая и реакции SA-зависимой системы [53, 72].

Оксилипидная сигнальная система

Как уже упоминалось выше, системин является лишь первой сигнальной молекулой, индуцирующей SAR в ответ на механическое травмирование клеток. Последующие же реакции, которые, собственно, и приводят к возникновению приобретённой устойчивости, контролируются с помощью вторичных сигнальных веществ – жасмонатов. Последние являются продуктами окислительного метаболизма полиненасыщенных жирных кислот. Главным предшественником жасмонатов в растительной клетке является C₁₈-жирная кислота – линоленовая³. Жасмонаты контролируют экспрессию целого ряда генов и функционально близки к простагландинам и лейкотриенам животных, поэтому часто упоминаются под общим названием – простагландин-подобные вещества [19, 65].

По химической природе жасмонаты являются циклопентанонами и представлены двумя соединениями – жасмоновой кислотой или **жасмонатом** (JA) и (-)-метилowym эфиром жасмоновой кислоты или **метилжасмонатом** (MeJA). [48, 65, 115]. Недавние исследования показали, что в передачу сигнальной информации в клетке при запуске SAR также вовлечены некоторые промежуточные продукты окисления линоленовой кислоты, такие как **12-окси-фитодиеновая кислота** (ODPA) [65, 115].

В 90-е гг. XX в. удалось установить, что клеточные мишени для ODPA и жасмонатов различны. Жасмонаты и ODPA независимо участвуют в изменении экспрессии тех или иных генов, а окончательный эффект индуцирования устойчивости является суммарным результатом их действия [65]. Таким образом, в межклеточной сигнализации в растениях участвует несколько производных полиненасыщенных жирных кислот, которые формируют так называемую «**оксилипидную сигнальную систему**» - основной акцептор системина [65].

³ - Подобным образом, при окислении C₂₀-жирных кислот мембран фитопатогенных грибов (арахидоновой и эйкозапентаеновой) в тканях растения появляются функционально-сходные с жасмонатами сигнальные вещества - **эйкозаноиды**, также сигнализирующие о нападении на растение и запускающие защитные реакции.

Биосинтез жасмонатов и их роль в индуцировании устойчивости

Как уже упоминалось, субстратом биосинтеза жасмоновой кислоты является линоленовая кислота, которая высвобождается из мембранных липидов с помощью фосфолипазы D. Превращение линоленовой кислоты в жасмоновую осуществляется в несколько этапов, каждый из которых контролируется своим ферментом. Благодаря последовательному действию липоксигеназы (LOX), алленоксидсинтетазы (AOS) и алленоксидциклазы (AOC), линоленовая кислота метаболизируется в 12-окси-фитодиеновую кислоту (ODPA). Затем, путём 3-кратного β -окисления, ODPA превращается в JA [37, 48, 65].

Отмечено, что AOS синтезируется *de novo* именно при травмировании клеток растения, и только в этих условиях осуществляется конверсия гидропероксидов жирных кислот в алленэпоксиды, которые, в свою очередь, являются предшественниками JA [63].

За синтез метилжасмоната отвечает фермент карбоксилметилтрансфераза жасмоновой к-ты, кодируемый *JMT*-геном. В связи с тем, что характер функционирования системин-зависимой сигнальной системы во многом определяется *соотношением* JA и Me-JA, карбоксилметилтрансферазу жасмоновой к-ты считают одним из ключевых регуляторов этой системы [98].

Спектр физиологического действия жасмонатов в растительной клетке очень широк. Так, эти вещества активируют гены ингибиторов протеиназ, противогрибных белков (тионина, осмотина, PDF), рибосомо-инактивирующего белка RIP60, модулируют синтез белков клеточной стенки, активируют биосинтез фитоалексинов и PR-белков, участвуют в модификации энергетических запасов клетки [48, 65].

Важно подчеркнуть, что системная активация жасмонат-зависимых генов наблюдается даже при локальном повреждении клеток, благодаря чему происходит системное накопление жасмонатов в тканях. Вопрос о том, чем обусловлена системность накопления жасмонатов, остаётся открытым. Есть предположения, что этот эффект достигается благодаря распространению системина по флоэме. В то же время, известно, что синтез жасмонатов может активироваться в ответ на окислительную вспышку, индуцируемую салициловой кислотой. Поэтому, можно предположить, что системность накопления жасмонатов в тканях обусловлена SA-зависимыми путями, которые, предварительно активируются системинном [48, 65].

В заключение стоит подчеркнуть, что несмотря на однозначные доказательства важности жасмонатов в индуцировании устойчивости растений в ответ на механическое повреждение, не вызывает сомнения существование альтернативных, жасмонат-независимых путей индукции SAR [107]. В частности, работа с жасмонат-дефицитными мутантами растений показала возможность индуцирования устойчивости в травмированных растениях даже при отсутствии жасмоновой кислоты [105].

Система распознавания биогенных элиситоров

Рассмотренные выше салицилат-зависимый и системин-зависимый пути индуцирования SAR активируются в ответ на стрессовое воздействие (немеханическое в первом случае и механическое во втором). Это воздействие непосредственно оказывает негативное влияние на растения. Но, как упоминалось ранее, существуют элиситоры, которые безвредны по отношению к клеткам растения, и поэтому не могут рассматриваться как стрессоры. Эта группа представлена *биогенными элиситорами*.

Известно, что присутствие патогенных организмов, как правило, не может остаться для растения незаметным. В ходе патогенеза всегда образуются несвойственные здоровому растению вещества, как экзогенного происхождения (например, обломки хитиновых клеточных стенок гриба), так и эндогенного (например, фрагменты пектинов клеточной стенки растения-хозяина, образующиеся под действием ферментов патогена). Эти вещества способны «выдать» присутствие инвайдера и активизировать в растении защитные реакции, в частности SAR [90, 91].

Химическая структура многих биогенных элиситоров известна человечеству достаточно давно. Тем не менее, механизмы их распознавания и запуска ими реакций индуцирования SAR до сих пор остаются неизученными [90, 91].

В настоящее время предполагается, что биогенные элиситоры распознаются гликопротеиновыми рецепторами на поверхности плазмалеммы растения-хозяина, после чего запускается каскад реакций, приводящий к накоплению фитоалексинов, лигнификации клеточных стенок и другим защитным реакциям [91, 93, 94].

При изучении механизмов действия биогенных элиситоров, чаще всего используются фрагменты хитозана и β -глюкана, так как при обработке растворами этих веществ в растениях запускается весь комплекс реакций SAR. В 2000г. было установлено, что обработка клеток растений полисульфонирующей нафтилмочевинной, которая известна

как блокатор рецепторов цитокинов и ростовых факторов у млекопитающих, приводит к полной утрате способности хитозана и β -глюкана индуцировать устойчивость. На основании этого было высказано предположение, что структура рецепторов, распознающих углеводные биогенные элиситоры близка к структуре рецепторов ростовых факторов млекопитающих [107].

Помимо этого, недавно было доказано, что важная роль в передаче сигнала от биогенных элиситоров принадлежит системину [83]. В связи с этим, можно предположить, что вслед за распознаванием биогенных элиситоров происходит включение системин-зависимого и связанного с ним салицилат-зависимого сигнальных каскадов, однако, механизмы этой активации остаются загадкой [83, 107].

ОСНОВНЫЕ ЗАБЛУЖДЕНИЯ ОБ ИНДУЦИРОВАННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ

Как и всякая сфера научных знаний, теория и практика индуцированной устойчивости не защищена от заблуждений и ошибок. Но именно в постсоветском пространстве проблема корректности и научности в этой сфере приобрела особые масштабы. Виной этому – и драматическое прошлое отечественной физиологии растений, и связанная с ним привычка игнорировать иностранную научную литературу, и просто недостаток современной информации. Следствием же являются серьезные терминологические, концептуальные и даже фактические ошибки, постоянно допускаемые в работах отечественных специалистов. Некоторые из этих заблуждений носят настолько массовый характер, что, на наш взгляд, имеет смысл подробно остановиться на их рассмотрении.

«Иммунитет» или «устойчивость»?

Первое заблуждение касается использования постоянного использования термина «иммунитет» применительно к антистрессовым реакциям у растений [23, 24, 29]. Согласно классическому определению [14] *под иммунитетом понимается абсолютная невосприимчивость к заболеванию, проявляемая живым организмом в случае непосредственного контакта его с патогеном, способным вызывать данную болезнь*. Но, как указывалось выше, в случае индуцирования устойчивости растений имеет место лишь *непродолжительный и неспецифический* ответ клетки на действие элиситора, что едва ли можно отождествлять с понятием «иммунитет». Скорее, индуцированная устой-

чивость растений является *полностью противоположным иммунитету* типом защитных реакций [5].

Дискуссия о правомерности терминов «иммунитет» и «иммунизация» в индуцированной устойчивости растений началась ещё в 1930-40-е гг. [7, 15], и уже тогда аргументация сторонников этих терминов зиждилась на недоразумениях. Как писали об этом Б.А.Рубин и Е.В.Арциховская: «ряд авторов предлагает сохранить термин «иммунитет» для случаев приобретённой устойчивости, так как она обусловлена выработкой в тканях растения особых «псевдоантител» [26]. Но вспомним, автор понятия «псевдоантитела» К.Честер понимал под ними кристаллы оксалата кальция [45], и использовал это понятие иронически!

Справедливости ради надо отметить, что употребление устаревших понятий в ряде современных отечественных источников носит, пожалуй, неосознанный, традиционный характер. Так, в известной работе Л.И.Ильинской и О.Л.Озерецковской «Биохимические аспекты индуцированной устойчивости и восприимчивости растений» (1991г.) авторы употребляют современные, корректные понятия «индуцированная устойчивость» и «приобретённая защита», однако, изредка, в качестве абсолютно равнозначного синонима этих понятий появляется «иммунизация» [13].

Планирование эксперимента в области изучения индуцированной устойчивости

Как ни странно, но серьёзные недочёты в рассматриваемой нами области можно встретить не только в прикладных работах, посвящённых защите растений, но и в академической научной литературе. Возьмем, к примеру, журнал «Физиология растений» РАН, где только в 2001 г. вышло несколько статей на тему индуцированной устойчивости [1, 3, 4]. Как ни парадоксально, основная суть всех этих работ состоит в *констатации* неспецифического повышения устойчивости растения под действием того или иного стрессора – явления, известного более полувека. Даже названия статей, например, «Тепловой шок повышает устойчивость растений к ультрафиолетовому облучению» или «Влияние локального охлаждения проростков огурца и пшеницы на различные виды устойчивости листа и корня» наглядно демонстрирует основную смысловую нагрузку этих публикаций [1, 4]. Формулировка цели одной из вышеупомянутых работ состоит в «выявлении возможности неспецифического изменения устойчивости органов растения, пространственно удалённых от места воздействия неблагоприятной температуры», т.е. в

демонстрировании системности приобретенной устойчивости – феномена, о котором прекрасно знал еще Н.И.Вавилов [3, 7]. Остаётся спросить авторов: что нового сделано в произведённой работе? Может быть, они ожидали от огурца поведения, принципиально отличного от такового у остальных цветковых растений?

Во второй из упомянутых работ авторы удивляются, что выращивание растений в условиях теплового стресса иногда повышает устойчивость к ультрафиолету, а иногда наоборот [4]. И это при полной очевидности того факта, что адаптационная система растения не безгранична, и какой-то уровень действия стрессора лежит в пределах ее возможностей, а какой-то их превосходит, приводя к ослаблению или даже гибели растения вместо повышения устойчивости. Чтение этих работ лишний раз наводит на мысль о том, что нет ничего более нового, чем давно забытое старое.

Имеет смысл остановиться и на публикации А.П.Веселова «Математическая модель возможного триггера обратимого включения режима стресса у растений», которая также опубликована в журнале «Физиология растений» РАН в 2001 году [8]. В этой работе с помощью массивного математического аппарата конструируется модель развития стрессовой реакции у растений. При этом, список литературы к статье насчитывает всего 14 (русскоязычных и нескольких переводных) источников, и среди них ни одной ссылки, посвящённой механизмам развития стрессовых реакций. Это, безусловно, объясняет, почему автор взялся за *теоретическое* конструирование устойчивости растений: он просто не осведомлен об *экспериментальных* данных в этой области. В итоге была разработана модель, которая просто оторвана от реальных событий, и, при всей своей изящности, просто не соответствует действительности.

Разумеется, мы не хотим заявить, что в настоящее время не осталось открытых вопросов в области изучения механизмов действия стрессоров на растения. Так, весьма актуальным является исследование проблемы специфичности действия стрессоров. Ведь не секрет, что стрессоры различной природы несут в себе какие-то индивидуальные черты, поэтому, на фоне единого неспецифического ответа растительных клеток должны быть и специфические проявления влияния того или иного стрессора на растение [38]. Но, к сожалению, вышеупомянутые работы весьма далеки от решения каких-либо актуальных проблем. Приходится еще раз констатировать, что незнание истории своего на-

учного направления вместе с пренебрежением современными его результатами делают многие современные работы совершенно бессмысленными.

Индукция устойчивости и сельскохозяйственная практика

С момента получения первых положительных результатов по индукции устойчивости у растений, начались активные попытки использования этого явления в сельскохозяйственной практике. Предполагалось, что на основе этой реакции удастся разработать эффективные методы защиты растений от болезней. Однако, глубокие исследования, проведенные в данной области, открыли целый ряд неожиданных препятствий на пути внедрения знаний об устойчивости растений в сельское хозяйство.

Энергоёмкость

Индукция устойчивости растений сопровождается значительной перестройкой их метаболизма, в частности, активизацией анаболических процессов. В результате, большая часть ресурсов растения расходуется не на рост и вегетацию, а на защиту, что резко снижает интенсивность наращивания биомассы и урожайность растения. На это явление ещё в 1905 г. обратил внимание известный физиолог растений Поцци-Эскот. Он отметил, что при запуске защитных реакций в растениях происходит интенсивное сжигание энергетических запасов, что нередко приводит к их истощению [26].

Но, несмотря на это, уже в середине XX в. была разработана и широко внедрена технология индукции устойчивости культурных растений на стадии семян и проростков [Цит. по 24]. Эта технология подразумевала обработку семян или молодых растений различными элиситорами перед их высаживанием в грунт. Авторы этой технологии, как и многочисленные специалисты, ее практикующие, не задумались о том, что именно ранние стадии жизненного цикла в наибольшей степени влияют на дальнейшую жизнеспособность, устойчивость и урожайность взрослых растений. При индукции устойчивости растений на ранних этапах их развития, вместо формирования мощной корневой системы и вегетативной массы проростки расходуют свои энергетические запасы на запуск защитных реакций.

Краткосрочность

Ещё в 30-е годы XX века была продемонстрирована краткосрочность повышения устойчивости растений в ответ на действие стрессоров. В эти годы было отмечено, что че-

рез некоторое время после индуцирования, состояние повышенной устойчивости к неблагоприятным воздействиям начинает постепенно ослабевать [7, 15]. Поэтому, если обработать растение элиситором на стадии семян, то к моменту встречи с массовым развитием инфекции повзрослевшие растения часто уже утрачивают свои защитные свойства. Увы, этот факт также не учитывался при разработке технологий индукции с/х растений.

Снижение качества урожая

Процедура индуцирования устойчивости влечёт за собой включение в растительном организме комплекса защитных реакций, в результате которых активизируется лигнификация клеточных стенок, накопление фитонцидов, синтез фитоалексинов и пр. В итоге, параллельно с повышением устойчивости такие растения часто теряют свои пищевые и товарные качества, вплоть до полной невозможности их употребления в пищу. По сути, мы индуцируем таким образом устойчивость культурных растений к нам самим. Многократно показано, что для растений из семейств, в устойчивости которых особо важную роль играют фитоалексины (*Solanaceae* и *Fabaceae*), индуцирование устойчивости вовсе не желательно, поскольку оно гарантировано приводит к естественному отравлению продукции растительными токсинами [16, 17, 27]. Увы, этот фактор риска почти не учитывается отечественными специалистами при планировании мероприятий по защите растений.

Непрактичность биотического индуцирования устойчивости

Вероятно, в силу сложившихся традиций, устаревшие по своим идеям и методам процедуры индуцирования устойчивости весьма популярны и в настоящее время. Многие исследователи, работающие в области защиты растений, считают необходимым включить в свою работу раздел, посвящённый данной теме. При этом, как и сто лет тому назад, они выращивают фитопатогенные грибы в условиях чистой культуры для получения «вакцины» в виде культуральной жидкости или экстракта из мицелия [21].

Очевидно, что выращивание гриба в условиях *in vitro*, с целью наработки больших количеств «индукторов» для обработки растений, стоит немалых денег и небезопасно с позиций экологии и медицины. Кроме того, из-за значительной дороговизны эта процедура едва ли может быть применена на практике в промышленных масштабах. А ведь с 1930-х гг. известно, что тех же результатов можно добиться с помощью принципиально

более дешевых методов, например, теплового шока [5, 7, 10]. Остаётся только поражаться фанатическому упорству исследователей, раз за разом воспроизводящих эксперименты, не могущие принести никакой практической пользы.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЯВЛЕНИЯ ИНДУЦИРОВАННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ

На основании анализа трудностей, с которыми сопряжена процедура индуцирования устойчивости растений, можно предположить, что применение этого метода в сельскохозяйственной практике является бесперспективным. К счастью, это не так. Глубокое изучение молекулярных механизмов индуцирования устойчивости позволило разработать абсолютно новые, экономически и биологически эффективные процедуры индуцирования. Так, в середине 90-х гг. XX века в качестве индуктора устойчивости растений в сельскохозяйственной практике начали использовать салициловую кислоту и её структурные аналоги. При этом, в ответ на воздействие даже очень разбавленных растворов этих веществ, растения запускали весь комплекс неспецифических защитных реакций, приводящих к индуцированию устойчивости [12, 51, 92].

Важными критериями, выгодно отличающими новую процедуру индуцирования от «классической» являются: дешевизна, технологичность и своевременность. Распыление разбавленных растворов SA с помощью самолётов даёт возможность достижения устойчивого состояния растений в то самое время, когда последние сталкиваются со вспышкой развития патогенных организмов. При этом, семена и проростки не подвергаются действию стрессоров, что позволяет им сформировать сильные взрослые растения [12, 51, 92]. Разумеется, новая процедура индуцирования не решает всех проблем SAR (например, накопление растениями токсичных для человека фитоалексинов), но она, безусловно, намного прогрессивнее «классической».

Таким образом, грандиозные достижения, полученные недавно в сфере изучения SAR, столь, казалось бы, детально изученной проблемы, вселяют уверенность, что продолжение фундаментальных исследований устойчивости растений сулит массу новых открытий и перспективных технологий защиты растений.

ЛИТЕРАТУРА

1. Акимова Т.В., Балагурова Н.И. и др. Повышение теплоустойчивости листьев при локальном прогреве проростков // Физ. Раст, 2001, 48,4:584-588.
2. Андреева В.А. Фермент пероксидаза: участие в защитном механизме растений, М., Наука, 1988, 129 стр.
3. Балагурова Н.И., Акимова Т.В., Титов А.Ф. Влияние локального охлаждения проростков огурца и пшеницы на различные виды устойчивости листа и корня // Физ. Раст., 2001,48,1:113-118.
4. Борисова Т.А., Бугадже С.М. и др. Тепловой шок повышает устойчивость растений к УФ-Б облучению. 1. Рост, развитие и водообеспеченность тканей // Физ. Раст., 2001, 48,4:589-595.
5. Браун А.Д., Моженко Т.П. Неспецифический адаптационный синдром клеточной системы, Л., Наука, 1987.
6. Вавилов Н.И. Иммуитет растений к инфекционным заболеваниям // Изв. Петровской с/х академии, 1919, вып. 1-4, С.1-240.
7. Вавилов Н.И. Учение об иммунитете растений к инфекционным заболеваниям / Теоретические основы селекции растений, Москва – Ленинград, 1935, т.1, 260-362.
8. Веселов А.П. Математическая модель возможного триггера обратимого включения режима стресса у растений // Физ. Раст., 2001, 48,1:124-131.
9. Веселовский В.А., Веселова Т.В., Чернавский Д.С. Стресс растения. Биофизический подход // Физиология растений, 1993, Т.40, № 4, С. 553-557.
10. Генкель П.А., Кушниренко С.В. Холодостойкость растений и термические способы её повышения, М.: Наука, 1966, 223с.
11. Генкель П.А. Физиология жаро- и засухоустойчивости растений, М.: Наука, 1982, 280с.
12. Дьяков Ю.Т., Озерецковская О.Л. и др. Общая и молекулярная фитопатология: Уч. пособие.- М.: Изд. Общ-ва фитопатологов, 2001, 302с.
13. Ильинская Л.И., Озерецковская О.Л. Биохимические аспекты индуцированной устойчивости и восприимчивости у растений // Итоги науки и техники, Сер. Защ. Раст., 1991, т.7, С.4-102.
14. Иммунология: В 3-х т., Т.1. Пер. с англ./ Под. ред. У.Е.Пола.- М.:Мир, 1987, 476с.

15. Каляев А.В. Приобретённый иммунитет растений // Проблемы иммунитета культурных растений (труды майской сессии АН СССР, 1935г.), М.,Л.: Изд-во АН СССР, 1936, С.42-59.
16. Метлицкий Л.В., Озерецковская О.Л. и др., Биохимия иммунитета, покоя, старения растений, М.: Наука, 1984, 264с.
17. Метлицкий Л.В., Озерецковская О.Л. Фитоалексины, М.: Наука, 1973, 176с.
18. Метлицкий Л.В. Фитоиммунитет. Молекулярные механизмы, М.: Наука, 1976, 51с.
19. Озерецковская О.Л., Ильинская Л.И., Васюкова Н.И. Механизмы индуцирования элиситорами системной устойчивости растений к болезням // Физиология растений, 1994, 41, 4: 626-633.
20. Пахомова В.М., Чернов И.А. Некоторые особенности индуктивной фазы неспецифического адаптационного синдрома растений // Изв. РАН, Сер. Биол., 1996, №6, С.705-715.
21. Переверзева В.Ф. Биологическая защита овощных культур от наиболее вредоносных болезней // Овочівництво та баштанництво, 2001, 45:297-301.
22. Поляков Н.М. Химическая иммунизация растений // Защита растений, 1975, № 8, С.39-40.
23. Помазков Ю.И. Иммунитет растений к болезням и вредителям, М.: изд-во Ун-та дружбы народов, 1990, 78с.
24. Попкова К.В. Учение об иммунитете растений, М.:Колос, 1979, 272с.
25. Роговин В.В., Муравьёв Р.А. и др. Пероксидазосомы клеток растений // Физ. Раст., 1996, 7:16-22.
26. Рубин Б.А., Арциховская Е.В. Биохимическая характеристика устойчивости растений к болезням // М.- Л., АН СССР, 1948, 88с.
27. Фитонциды (под ред. Д.А. Бейли и Д.В. Мансфилда), К.: Наукова Думка, 1985, 320с.
28. Удовенко Г.В. Механизмы адаптации растений к стрессам // Физиол. и биох. культ. раст., 1979, Т.11, № 2, С.99-107.
29. Ярошенко Т.В. Краткий курс иммунитета растений к инфекционным заболеваниям, Харьков: Вища школа, 1980, 155с.
30. Apostol Y., Heinstein P.F., Low P.S. Rapid stimulation of an oxidative burst during elicitation of cultured plant cells // Plant Physiology, 1989, 90:109-116.

31. Arnaudi C. La vaccinazione delle piante // *Bullettino dell' Agricoltura*, 1932, №3, 112s.
32. Asai T., Stone J.M. et al. Fumosin B1 induced cell death in *Arabidopsis* protoplasts requires jasmonate-, ethylene-, and salicylate-dependent signaling pathways // *Plant Cell*, 2000, 12, 10:1823-1836.
33. Bartoli G.G., Simontacchi M. et al. Drought and watering-dependent oxidative stress: effect on antioxidant content in *Triticum aestivum* L. leaves // *J. Exp. Bot.*, 1999, 50, 332: 373-381.
34. Bernard N., Remarques sur l'immunité chez les plantes // *Bulletin de l'Institut Pasteur*, 1909, T.7, P.369-386.
35. Birkenmeier G., Ryan C.A. Wound signaling in tomato plants, 1998 // *Plant Physiol.* 117:687-693.
36. Blackman V.H. Discussion on some similarities and dissimilarities between plant and animal diseases, with special reference to immunity and virus diseases // *British Medical Journal*, 1922, №3225, P. 718-722.
37. Brash A.R. Lipoxigenases: Occurrence, functions, catalysis and acquisition of substrate // *J. Biol. Chem.*, 1999, 274, 34:23679-23682.
38. Burke J.J., O'Mahony P.J., Oliver M.J. Isolation of *Arabidopsis* mutants lacking components of acquired thermotolerance // *Plant Physiol.*, 2000, 123:575-588.
39. Busam G., Kassemeyer H.H., Matern U. Differential expression of chitinases in *Vitis vinifera* L. responding to systemic acquired resistance activators or fungal challenge // *Plant Phys.*, 1997, 115:1029-1038.
40. Carbone D., Arnaudi C. L'immunità nelle piante.- Con prefazione di Serafino Belfanti. Milano: Istituto Sieroterapico Milanese, 1930, XII, 274p.
41. Casano L.M., Martin M., Sabater B. Hydrogen peroxide mediates the induction of chloroplastic NADH complex under photooxidative stress in barley // *Plant Physiol.*, 2001, 125, 3:1450-1458.
42. Chamnongpol S., Willekens H. et al. Defence activation and enhanced pathogen tolerance induced by H₂O₂ in transgenic tobacco // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998, 95,5:5818-5823.
43. Chen Z., Malamy J. et al. Induction, modification and transduction of the salicylic acid signal in plant defense responses // *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1995, 92:4134-4137.

44. Chen Z., Silva H., Klessig D.F. Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid // *Science*, 1993, 162,12:1883-1886.
45. Chester K.S. The problem of acquired physiological immunity in plants // *Quarterly Review of Biology*, 1933, 8:129-154, 275-324.
46. Christensen J.H., Baum G. et al. Purification and characterization of peroxidases correlated with lignification in poplar xylem // *Plant Phys.*, 1998, 118,1:125-135.
47. Clarke J.D., Volko S.M. et al. Roles of salicylic acid, jasmonic acid and ethylene in cpr-induced resistance in *Arabidopsis* // *Plant Cell*, 2000, 12:2175-2190.
48. Creelman R.A., Mullet J.E. Biosynthesis and action of jasmonates in plants // *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant. Mol. Biol.*, 1997, 48:355-381.
49. Cruickshank J.A.M., Perrin D.R. Isolation of a phytoalexin from *Pisum sativum* L. // *Nature*, 1960, 87,4739:799-800.
50. Dat J.F., Lopez-Delgado H. et al. Parallel changes in H₂O₂ and catalase during thermotolerance induced by salicylic acid or heat acclimation in mustard seedlings // *Plant Physiol.*, 1998, 116:1351-1357.
51. Delaney T.P., Uknes S. et al. A central role of salicylic acid in plant resistance // *Science*, 1994, 266,5188:1247-1250.
52. Desican R., Maskerness S. A-H. et al. Regulation of the *Arabidopsis* transcriptome by oxidative stress // *Plant Physiol.*, 2001, 127,1:159-172.
53. Dombrowski J.E., Pearce G., Clarence A.R. Proteinase inhibitor-inducing activity of the prohormone prosystemin resides exclusively in the C-terminal systemin domain // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1999, 96, 22:12947-12952.
54. Durner J., Klessig D.F. Inhibition of ascorbate peroxidase by salicylic acid and 2,6-dichloroisonicotinic acid. Two inducers of plant defense responses // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995, 92:11312-11316.
55. Durner J., Klessig D.F. Salicylic acid is a modulator of tobacco and mammalian catalases // *J. Biol. Chem.*, 1996, 271,45:28492-28501.
56. Durner J., Shah J., Klessig D.F. Salicylic acid and disease resistance in plant // *Trends in Plant Sci.*, 1997, 2,7:266-274.
57. Ebel J., Cosio E.G. Elicitors of plant defense responses // *Inter. Rev. Cytol.*, 1994, 148:1-36.

58. Felix G., Boller T. Systemin induces rapid ion fluxes and ethylene biosynthesis in *Lycopersicum* cells // Pant J., 1995, 7:381-389.
59. Fry S.C. Oxidative scission of plant cell wall polysaccharides by ascorbate-induced hydroxyl radicals // Bioch. Journ., 1998, 32:507-515.
60. Gaffney T., Friedrich L. et al. Requirement of salicylic acid for the induction of systemic acquired resistance // Science, 1993, 261, 5122:754-756.
61. Hammerschmidt R., Nuckles E.M., Kuc J. Association of enhanced peroxidase activity with induced systemic resistance cucumber to *Colletotrichum lagenarium* // Phys. Plant Path., 1982, 20, 1:73.
62. Hammond-Kosak K.E., Jones J.D.G. Resistance gene dependent plant defense responses // Plant Cell, 1996, 8, 1773-1791.
63. Harms K., Ramirez I., Pena-Cortes H. Inhibition of wound-induced accumulation of allene oxide synthase transcripts in flax leaves by aspirin and salicylic acid // Plant Physiol., 1998, 118:1057-1065.
64. Houot V., Etienne Ph. et al. Hydrogen peroxide induces programmed cell death features in cultured tobacco BY-2 cell, in a dose-dependent manner // J. Exp. Bot., 2001, 52, 361:1721-1730.
65. Howe G.A. Cyclopentone signals for plant defense: Remodeling the jasmonic acid response // Proc. Natl. Acad. Sci., 2001, 98, 10:12317-12319.
66. Kawano T., Muto S. Mechanism of peroxidase actions for salicylic acid induced generation of active oxygen species and an increase in cytosolic calcium in tobacco cell suspension culture // J. Exp. Bot., 2000, 51, 345:685-693.
67. Klessig D.F., Durner J. et al. Nitric oxide and salicylic acid signaling in plant defense // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2000, 97, 16:8849-8855.
68. Kostoff D. Acquired immunity in plants // Genetics, 1929, 14:37-77.
69. Kuc J. Induced immunity to plant disease // Bioscience, 1982, 32:854-860.
70. Kvaratskhelia M., George S.J., Thorneley N.F. Salicylic acid is a reducing substrate and not an effective inhibitor of ascorbate peroxidase // J. Biol. Chem., 1997, 272, 34:20998-21001.
71. Lamb C.J., Lawton M.A. et al. Signals and transduction mechanism for activation of plant defense against microbial attack // Cell, 1989, 56:215-224.
72. Leon J., Rojo E. Sanchez-Serrano J.J. Wound signaling in plants // 2001, 52, 354:1-9.

73. Martin G.B. Functional analysis of plant disease resistance genes and their downstream effectors // *Curr. Opin. Plant Biol.*, 1999, 2, 4:273-279.
74. Martinez C., Baccou J-C. et al. Salicylic acid mediated by the oxidative burst is a key molecule in local and systemic responses of cotton challenged by an avirulent race of *Xanthomonas campestris* pv. *malvacearum* // *Plant Physiology*, 2000, 122,3:757-766.
75. Mauch Mani B., Slusarenko A.J. Production of salicylic acid precursors is a major function of phenylalanine ammonia-lyase in the resistance of *Arabidopsis* to *Peronospora parasitica* // *Plant Cell*, 1996, 8,2:203-212
76. Mehdy M.C. Active oxygen species in plant defense against pathogens // *Plant Physiol.*, 1994, 105:467-472.
77. Metraux J.P., Signer H. et al. Increase in salicylic-acid at the onset of systemic acquired resistance in cucumber // *Science*, 1990, 250, 4983:1004-1006.
78. Metraux J.P., Streit L., Staub T. A pathogenesis-related protein in cucumber is a chitinase // *Physiol. Mol. Plant Pathol.*, 1988, 33, 1-9.
79. Meuwly P., Molders W. et al. Local and systemic biosynthesis of salicylic-acid in infected cucumber plants // *Plant Physiology*, 1995, 109,3:1107-1114
80. Müller A. Die innere Therapie der pflanzen. Berlin. P.Parey, 1926, 206s.
81. Müller K.O., Börger H. Experimentelle Untersuchungen über die Phytophthora – Resistenz der Kartoffel / Zugleich ein Beitrag zum Problem der «erworbenen Resistenz» in pflanzenreich. Arb. biol. Reichsanst. Land-und Forstwirtschaft., Berlin-Dahlem, 1940, 23,2:189-231.
82. Müller K.O. Einige einfache Versuche zum Nachweis von Phytoalexinen // *Phytopathol. Z.*, 1956, 27:237-254.
83. Narvaez-Vasquez J., Florin-Christensen J., Ryan C.A. Positional specificity of a phospholipase A activity induced by wounding, systemin and oligosaccharide elicitors in tomato leaves // *Plant Cell*, 1999, 11:2249-2260.
84. Nebecourt P. Contribution à l'étude de l'immunité chez les végétaux. Lyon: Impr. Bosc. Er. et Riou, 1927, 174s.
85. Neuenschwander U., Vernij B. et al. Is hydrogen-peroxidase a 2nd-messenger of salicylic acid in systemic acquired resistance // *Plant Jour.*, 1995, 8,2:227-233.

86. Orozco-Cardenas M.L., Narvaez-Vasquez J., Ryan C.A. Hydrogen peroxide acts as a second manager for the induction of defense genes in tomato plants in response to wounding, systemin and methyl jasmonate // *Plant Cell*, 2001, 13:179-191.
87. Owens C.F. Principles of plant pathology: New York: J. Willey a Sons, 1928, XII, 629p.
88. Pontier D., Balague C., Roby D. The hypersensitive response. A programmed cell death associated with plant resistance // *Sciences de la vie.- Sect. Life Sciences, C.R. Acad. Sci., Paris*, 1998, № 321, P.721-734.
89. Rasmussen J., Hammerschmidt R., Zook M. Systemic induction of salicylic acid accumulation in cucumber after inoculation with *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* // *Plant Physiol.*, 1991,97:1342-1347.
90. Ranansky J., Erdelsky K. et al. Fungal elicitors – active biological substances of fungi attacking cells of higher plants // *Biologia (Bratislava)*, 1996, 51,4:471-477.
91. Renelt A., Colling Ch. et al. Studies on elicitor recognition in plant defense // *J. Exp. Bot.*, 1993, 44:257-268.
92. Ryals J., Uknes S., Ward E. Systemic acquired resistance // *Plant Physiology*, 1994, 104,4:1109-1112.
93. Ryan C.A., Farmer E.E. Oligosacharide signals in plants, a current assessment. I // *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 1991, 42:651-663.
94. Ryan C.A., Farmer E.E. Oligosacharide signals in plants, a current assessment. II // *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 1991, 42:664-674.
95. Ryan C.A., Pearce G. Systemin: a polypeptide signal for plant defensive genes // *Ann. Rev. Cell Dev. Biol.*, 1998, 14:1-17.
96. Santos C.L.V., Campos A. et al. In situ and in vitro senescence induced by KCl stress: nutritional imbalance, lipid peroxidation and antioxidant metabolism // *J. Exp. Bot.*, 2001, 52, 35:351-360.
97. Selye H. The stress of life. – New York; Toronto; London: McGraw-Hill, 1956, XVII, 325p.
98. Seo H.S., Song J.T. et al. Jasmonic acid carboxyl metiltransferase: A key enzyme for jasmonate-regulated plant responses // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001, 98,8:4788-4793.
99. Silberschmidt K. Studien zum Nachweis von Antikörpern in Pflanzen. I. // *Planta*, 1931, Bd.13, S. 114-168.

100. Silberschmidt K. Studien zum Nachweis von Antikörpern in Pflanzen. II. // *Planta*, 1932, Bd.17, S. 493-589.
101. Smirnoff N. Plant resistance to environmental stress // *Curr. Opinion in Biotechnology*, 1998, Vol. 9, № 2, P.214-219.
102. Smith J., Hammerschmidt R., Fulbright D. Rapid induction of systemic resistance in cucumber by *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* // *Physiol. Mol. Plant. Pathol.*, 1991,38:223-235.
103. Smith-Becker J., Marois E. et al. Accumulation of salicylic acid 4-hydroxybenzoic acid in phloem fluids of Cucumber during systemic acquired resistance is preceded by a transient increase in phenylalanine ammonia-lyase activity in petioles and stems // *Plant Physiol.*, 1998, 116,1:231-238.
104. Sticher L., Mauch-Mani B., Metraux J.P. Systemic acquired resistance // *Ann. Rev. Phytopath.*, 1997, 35:235-270.
105. Stintzi A., Weber H. et al. Plant defense in the absence of jasmonic acid: The role of the cyclopentenones // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001, 98, 22:12837-12842.
106. Stocker O. Die Dürresistenz.- In: *Handbuch der Pflanzenphysiologie*. B., 1956, B.3, S.696-741.
107. Stratmann J. Scheer J., Ryan C.A. Suramin inhibits initiation of defense signaling by systemin, chitosan and β -glucan elicitor in suspension cultured *Lycopersicon peruvianum* cell // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000, 97, 16:8862-8867.
108. Uknes S., Mauch-Mani B. et al. Acquired resistance in *Arabidopsis* // *Plant Cell*, 1992, 4:645-656.
109. Vernooij B., Friedrich L. et al. Salicylic-acid is not the translocated signal responsible for inducing systemic acquired-resistance but is required in signal transduction // *Plant Cell*, 1994, 6,7:959-965.
110. Wang C., Zien C.A. et al. Involvement of phospholipase D in wound-induced accumulation of jasmonic acid in *Arabidopsis* // *Plant Cell*, 2000, 12:2237-2246.
111. Ward E.R., Uknes S.J. et al. Coordinate gene activity in response to agents that induce systemic acquired resistance // *Plant Cell*, 1991,3,10:1085-1094.

112. Wees van S.C.M., Swart de E.A.M. et al. Enhancement of induced disease resistance by simultaneous activation of salicylate- and jasmonate-dependent defense pathways in *Arabidopsis thaliana* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2000, 97,15:8711-8716.
113. White R.F. Acetylsalicylic acid (aspirin) induces resistance to tobacco mosaic virus in tobacco // Virology, 1979, 99:410-412.
114. Whittaker T.W., Chester K.S. Studies on the precipitin reaction in plants. 4. The question of acquired reactions due to grafting // Amer. J. Bot., 1933, Vol. 20, P.297-308.
115. Wierstra I., Kloppstech K. Differential effects of methyl jasmonate on the expression of early light-inducible proteins and other light-regulated genes in barley // Plant Phys., 2000, 124, 10:833-844.
116. Wu G.S., Shortt B.J. et al. Activation of host defense mechanisms by elevated production of H₂O₂ in transgenic plants // Plant Physiology, 1997, 115,2:427-435.
117. Xie Z., Chen Z. Salicylic acid induces rapid inhibition of mitochondrial electron transport and oxidative phosphorylation in tobacco cells // Plant Physiol., 2009, 120,1:217-226.
118. Yamada A., Shibuya N. et al. Induction of phytoalexin formation in suspension-cultured rice callus cells by N-acetylchitoooligosaccharides // Biosci. Biotech. Biochem., 1993, 57:405-409.