

УДК 582.47+632

ПРОБЛЕМА ИНДУЦИРОВАННОГО ИММУНИТЕТА ХВОЙНЫХ

Н. В. Пашенова, А. А. Перцовая, Ю. Н. Баранчиков

Институт леса им. В. Н. Сукачева СО РАН – обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН
660036, Красноярск, Академгородок, 50/28

E-mail: pasnat@ksc.krasn.ru, pertsovaya@mail.ru, baranchikov_yuri@yahoo.com

Поступила в редакцию 31.05.2023 г.

В полевых опытах по искусственной инокуляции отмечено медленное распространение мицелия гриба *Grosmannia aoshimae* (Ohtaka et Masuya) Masuya et Yamaoka в проводящих тканях деревьев пихты сибирской (*Abies sibirica* Ledeb.), сохранивших жизнеспособность после недостаточно массового поражения уссурийским полиграфом (*Polygraphus proximus* Blandford). После искусственной инокуляции стволов культурой *G. aoshimae* длина некрозов флоэмы у поврежденных деревьев была примерно на 30 % меньше, чем у неповрежденных. Наиболее вероятная причина такого угнетения – защитные реакции, предположительно вызванные в стволах неудачными попытками атаки жука до искусственной инокуляции. Отмеченное явление поднимает вопрос о недостаточности знаний об индуцированном иммунитете древесных видов, включая хвойные, который, в отличие от травянистых растений, изучен слабо. Показано, что естественное или искусственное «низко интенсивное» заражение патогенами способно повысить устойчивость деревьев к заболеваниям ветвей и стволов, а также к стволовым вредителям. Но до сих пор не охарактеризованы в должной степени сигнальные пути, обуславливающие включение защитных реакций. Из-за размеров древесных растений и многообразия их экологических отношений особенно важно изучить взаимодействие между молекулярными сигнальными путями, идущими из разных мест повреждения. Исследования индуцированного иммунитета у хвойных, особенно характеристика эндогенных сигнальных путей, открывают новые перспективы для диагностики состояния деревьев, разработки экологически безопасных методов регулирования устойчивости древостоев, смягчения воздействия вредителей на деревья, в том числе в случаях биологического вторжения.

Ключевые слова: хвойные, фитопатогены, вредители, индуцированная устойчивость.

DOI: 10.15372/SJFS20230503

При исследовании взаимодействия инвазийной ассоциации уссурийского полиграфа (*Polygraphus proximus* Blandford) (Coleoptera: Curculionidae: Scolytinae) и связанных с ним офиостомовых грибов, с одной стороны, и новой кормовой породы этого вредителя – пихты сибирской (*Abies sibirica* Ledeb.) – с другой, нами обнаружено, что в деревьях, подвергнувшихся нападению полиграфа, но отбивших атаку и сохранивших жизнеспособность, мицелий фитопатогенов заметно медленнее колонизирует проводящие ткани ствола по сравнению с деревьями, еще не атакованными короедом.

Это проявилось в проведенных нами в пихтарнике разнотравном в окрестностях Красноярска полевых инокуляционных экспериментах, где живой мицелий помещали в лунки, про-

битые перпендикулярно в стволах через кору до поверхности древесины. Для инокулирования использовали культуру гриба *Grosmannia aoshimae* (Ohtaka et Masuya) Masuya et Yamaoka, который является доминирующим фитопатогенным ассоциантом уссурийского полиграфа (Пашенова и др., 2017). Скорость распространения гриба оценивали по длине некрозов флоэмы, развивающихся вокруг инокуляционных лунок через 4–5 нед после заражения стволов.

Средние значения длины образовавшихся в опыте некрозов ствольной флоэмы ($\bar{x} \pm \sigma$, мм) достоверно ($p < 0.01$; критерий Манна – Уитни) различались и составили 61.0 ± 14.3 мм (для 15 деревьев без признаков нападения короедов) и 37.0 ± 8.0 мм (для 12 деревьев, атакованных короедами, но сохранивших зеленую крону).

Соответствующие средние показатели длины некрозов в контроле (пустая лунка без добавления мицелия) демонстрировали ту же тенденцию, но достоверно не отличались: 13.5 ± 5.2 и 11.0 ± 1.3 мм соответственно ($p > 0.05$).

Логично предположить, что меньшая длина некрозов в опыте на слабо атакованных короedом деревьях была результатом изменений в ствольной флоэме растения-хозяина. Хвойные, подобно другим растениям, обладают конститутивным и индуцированным типами иммунитета. При этом, в отличие от конститутивного, защитные реакции индуцированного иммунитета начинают реализовываться только при непосредственном контакте с повреждающим фактором (например, вредителем или патогеном) (Буров и др., 2012). Это объясняют экологической стратегией в условиях, когда вероятность «нападения» неизвестна, а затраты на постоянное производство и хранение защитных веществ слишком велики для растения-хозяина. Сначала защитный ответ начинает реализовываться вблизи места вторжения патогена/вредителя (локальная индуцированная устойчивость). Эти процессы сопровождаются генерированием сигнала/сигналов, которые могут распространиться по всему организму, вызывая защитные реакции на большом расстоянии от места повреждения. В последнем случае подразумевают системную индуцированную устойчивость (Systemic Induced Resistance, SIR), обеспечивающую резистентность в частях растения, не подвергнутых воздействию патогена/вредителя (Bonello et al., 2006; Eyles et al., 2010).

Наблюдаемое нами на пихте сибирской замедленное продвижение мицелия, очевидно, было связано с генерированным ранее индуцированным защитным ответом растения-хозяина. Однако неясно, было ли это результатом множественных локальных защитных реакций вокруг небольших некрозов флоэмы (неудачные попытки втачивания жуков) или имела место системная устойчивость, индуцированная в стволах предыдущим, недостаточно массовым и неудавшимся нападением уссурийского полиграфа.

Исследования индуцированной устойчивости к настоящему времени достигли большого прогресса у покрытосемянных травянистых растений (Bonello et al., 2006). У крупноразмерных и долгоживущих древесных растений, в том числе хвойных, она изучена в меньшей степени, и не исключено, что имеет особенности в сравнении с соответствующими процессами в травянистых растениях (Eyles et al., 2010).

Интересно отметить, что именно с хвойными связаны немногочисленные случаи исследования индуцированной устойчивости против патогенов стволов и ветвей. Например, показана возможность возникновения SIR против возбудителя смоляного рака (*Fusarium circinatum* Nirenberg & O'Donnell) при естественном или искусственном инокулировании стволов сосны лучистой (*Pinus radiata* D. Don) этим же патогеном (Bonello et al., 2001). Возникновение устойчивости к возбудителю некрогенного рака (*Sphaeropsis sapinea* (Fr.: Fr.) Dyko & Sutton) (син. *Diplodia pinea* (Desm.) J. Kickx.) отмечали у 4–5-летних саженцев сосны черной (*Pinus nigra* J. F. Arnold), искусственно зараженных этим же грибом или менее агрессивным видом *Diplodia scrobiculata* J. de Wet, Slippers & Wingfield (Blodgett et al., 2007).

Известны примеры перекрестной индукции системной устойчивости. Так, показано, что заражение корней сосны желтой (*Pinus ponderosa* P. Lawson & C. Lawson) корневой губкой (*Heterobasidion annosum* (Fr.) Bref.) приводило к снижению интенсивности повреждения деревьев калифорнийским пятизубчатым гравером (*Ips paraconfusus* Lanier). При этом особо отмечается, что системная устойчивость приурочена к ранней, бессимптомной стадии поражения корней, а достаточно развитые корневые и комлевые гнили, наоборот, снижают устойчивость хвойных к короедам. И в этом случае речь может идти об индуцированной системной чувствительности (Systemic Induced Susceptibility, SIS) (Goheen, Hansen, 1993; McNee et al., 2003; Bonello et al., 2006).

К началу XXI в. стало ясно, что вследствие множественности взаимодействий растения-хозяина с окружающей средой предпочтительно исследовать аспекты защитного ответа, вызванного двумя или даже несколькими агентами-индукторами, принадлежащими к разным царствам живой природы (Van Oosten et al., 2008; Eyles et al., 2010). Такой подход оправдан еще и тем, что взаимодействие между молекулярными сигнальными путями от разных очагов повреждений способно привести к перекрестным помехам, своеобразной «интерференции», следствием чего может быть как усиление, так и ослабление устойчивости (Bostock, 2005; Eyles et al., 2010).

Р. Bonello и соавт. (2006) отмечали, что, хотя при изучении SIR в древесных растениях особое внимание уделяется патогенам, в качестве агентов-индукторов может иметь место и об-

ратный процесс, при котором именно повреждение насекомыми вызывает в организме хозяина системную устойчивость против вредителей и патогенов. На момент публикации авторы не располагали доказательствами двусторонней индукции иммунитета у деревьев.

Сложно сказать, какой именно из компонентов короедогрибной ассоциации уссурийский полиграф – офиостомовые грибы послужил индуктором изменений флоры, существенно замедливших колонизацию грибом *G. aoshimae* проводящих тканей ствола пихты сибирской в наших экспериментах. Возможно, индуцирующий защиту молекулярный сигнал был запущен комплексным воздействием на ткани пихты (повреждение жуками + проникновение в растительные ткани мицелия гриба-первопоселенца *G. aoshimae*). Выяснение этих вопросов может быть важным вкладом в понимание механизмов взаимодействия партнеров в триаде короед – фитопатоген – хозяин, поскольку практически все физиологически опасные виды короедов образуют долговременные ассоциации с офиостомовыми грибами.

Ассоциация уссурийский полиграф – офиостомовые грибы представлена видами-инвайдерами (Пашенова и др., 2017). Несколько десятилетий, в течение которых эта короедогрибная ассоциация предположительно обитает в Сибири (Баранчиков и др., 2014), – недостаточный срок для ее коэволюции с новым видом растения-хозяина, поэтому то, что виды-инвайдеры вызывают защитный ответ (а возможно, даже системную устойчивость) в деревьях пихты сибирской, поднимает вопрос о специфичности индуцированного иммунитета у нее и хвойных в целом.

Интерес к различным аспектам SIR в древесных растениях постоянно растет, чему содействуют практические соображения: функционально SIR аналогична иммунизации растений. Исследование индуцированного иммунитета расценивают как новые перспективы для развития методов диагностики состояния лесов и повышения их резистентности к абиотическим стрессам, болезням и вредителям. Стратегии защиты деревьев, основанные на манипулировании индуцированной устойчивостью, находятся на ранних стадиях концептуальной разработки, и существуют большие пробелы в знаниях о механизмах и результатах. Для травянистых идентифицировано много соединений, которые сочетают в себе как прямое действие на патоген, так и прайминг-индуцирующую активность в рас-

тении (Буров и др., 2012). Речь уже идет о создании технологий для коммерческого производства биоактивных малых метаболитов, которые можно было бы использовать для индуцирования резистентности или для непосредственного воздействия на возбудителей болезней и вредителей. Кроме того, синтетические молекулы, индуцирующие резистентность, предположительно, могут быть использованы в качестве инструмента скрининга в традиционных программах селекции, особенно тех, которые нацелены на сопоставление видов или генотипов с условиями местности (Eyles et al., 2010). Для оценки состояния древостоев обсуждается возможность создания тест-системы, основанной на серологическом распознавании маркеров растения-хозяина. В качестве потенциальных маркеров, реагирующих на широкий спектр стрессоров, предлагаются PR-белки (Pathogenesis-Related proteins), синтезируемые растением при формировании системного иммунитета (Nosenko et al., 2021).

Глубокое понимание механизмов и, главное, сигнальных путей, задействованных в индуцировании системной устойчивости хвойных, позволит разработать экологически чистые методы регулирования устойчивости древостоев, смягчения воздействия вредителей на деревья, в том числе и в случае биологических инвазий. Характеристика эндогенного сигнального пути – наиболее важный шаг в понимании индуцированного иммунитета деревьев. К сожалению, методы исследования индуцированного иммунитета у травянистых культур (например, использование биосинтетических мутантов) в данном случае непригодны, и для решения проблемы нужны другие подходы (Eyles et al., 2010).

В настоящем сообщении не стояла задача охарактеризовать во всей полноте современное состояние знаний в области индуцированного иммунитета хвойных. Но даже приведенные примеры свидетельствуют о важности понимания физиологических и молекулярных механизмов индуцированной устойчивости хвойных.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Баранчиков Ю. Н., Демидко Д. А., Лаптев А. В., Петько В. М. Динамика отмирания деревьев пихты сибирской в очаге уссурийского полиграфа // Лесн. вестн. 2014. Т. 18. Вып. 6. С. 132–138.
- Буров В. Н., Петрова М. О., Селицкая О. Г., Степанчева Е. А., Черменская Т. Д., Шамиев И. В. Индуцированная устойчивость растений к фитофагам. М.: Тов-во науч. изд. КМК, 2012. 182 с.

- Пашенова Н. В., Кононов А. В., Устьянцев К. В., Блинов А. Г., Перцовая А. А., Баранчиков Ю. Н. Офиостомовые грибы, ассоциированные с уссурийским полиграфом на территории России // Рос. журн. биол. инваз. 2017. Т. 10. № 4. С. 80–95.
- Blodgett J. T., Eyles A., Bonello P. Organ-dependent induction of systemic resistance and systemic susceptibility in *Pinus nigra* inoculated with *Sphaeropsis sapinea* and *Diplodia scrobiculata* // Tree Physiol. 2007. V. 27. Iss. 4. P. 511–517.
- Bonello P., Gordon T. R., Storer A. J. Systemic induced resistance in Monterey pine // For. Pathol. 2001. V. 31. Iss. 2. P. 99–106.
- Bonello P., Gordon T. R., Herms D. A., Wood D. L., Erbilgin N. Nature and ecological implications of pathogen-induced systemic resistance in conifers: A novel hypothesis // Phytiol. Mol. Plant Pathol. 2006. V. 68. Iss. 4–6. P. 95–104.
- Bostock R. M. Signal crosstalk and induced resistance: straddling the line between cost and benefit // Annu. Rev. Phytopathol. 2005. V. 43. P. 545–580.
- Eyles A., Bonello P., Ganley R., Mohammed C. Induced resistance to pests and pathogens in trees // New Phytol. 2010. V. 185. Iss. 4. P. 893–908.
- Goheen D. J., Hansen E. M. Effects of pathogens and bark beetles on forests // Beetle-pathogen interactions in conifer forests / T. D. Schowalter, G. M. Filip (Eds.). London: Acad. Press Harcourt Brace & Co., Publ., 1993. P. 175–96.
- McNee W. R., Bonello P., Wood D. L., Storer A. J., Gordon T. R. Feeding response of *Ips paraconfusus* to phloem and phloem metabolites of *Heterobasidion annosum*-inoculated ponderosa pine, *Pinus ponderosa* // J. Chem. Ecol. 2003. V. 29. N. 5. P. 1183–1202.
- Nosenko T., Hanke-Uhe M., Heine P. A., Shahid A., Dübel S., Rennenberg H., Schumacher J., Winkler J. B., Schnitzler J.-P., Hänsch R., Kaufholdt D. Plant defense proteins as potential markers for early detection of forest damage and diseases // Front. For. Glob. Change. 2021. V. 4. Article 654032. 5 p.
- Van Oosten V. R., Bodenhausen N., Reymond P., Van Pelt J. A., Van Loon L. C., Dicke M., Pieterse C. M. Differential effectiveness of microbially induced resistance against herbivorous insects in *Arabidopsis* // Mol. Plant-Microbe Interact. 2008. V. 21. N. 7. P. 919–930.

THE PROBLEM OF INDUCED IMMUNITY IN CONIFERS

N. V. Pashenova, A.A. Pertsovaya, Yu. N. Baranchikov

V. N. Sukachev Institute of Forest, Russian Academy of Sciences, Siberian Branch,
Federal Research Center Krasnoyarsk Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Siberian Branch
Akademgorodok, 50/28, Krasnoyarsk, 660036 Russian Federation

E-mail: pasnat@ksc.krasn.ru, pertsovaya@mail.ru, baranchikov_yuri@yahoo.com

During the field experiments on artificial inoculation, the mycelium of *Grosmannia aoshimae* (Ohtaka et Masuya) Masuya et Yamaoka fungus was observed to spread slowly in the conductive tissues of Siberian fir (*Abies sibirica* Ledeb.) trees that retained their viability after slow intensity attack by four-eyed fir bark beetles (*Polygraphus proximus* Blandford). In damaged trees the length of phloem necrosis after artificial inoculation of trunks with *G. aoshimae* culture was approximately 30 % less than in trees without signs of attack. The most likely reason for the inhibition is the defense reactions presumably induced in stems by unsuccessful attempts of the beetle attack prior to artificial inoculation. This phenomenon raises the question of the lack of knowledge about induced resistance in coniferous species. In contrast to herbaceous plants induced resistance in woody species including coniferous ones has been poorly studied. It was demonstrated that natural or artificial “low-intensity” infection with pathogens can increase tree resistance to diseases in branches and trunks, as well as to stem pests. However, the signaling pathways that cause the activation of defense reactions have not yet been sufficiently characterized. Because of the size of woody plants and the multiplicity of their ecological relationships, it is of particularly importance to study the interactions between molecular signaling pathways that are running from the different sites of damage. Studies of induced resistance in conifers, especially the characterization of endogenous signaling pathways, open the new prospects for tree conditions diagnosing, developing environmentally friendly methods for regulating the resistance of forest stands, mitigating the pest impact on trees, including the cases of biological invasions.

Keywords: conifers, phytopathogens, pests, induced resistance.

How to cite: Pashenova N. V., Pertsovaya A. A., Baranchikov Yu. N. The problem of induced immunity in conifers // *Sibirskij Lesnoj Zhurnal* (Sib. J. For. Sci.). 2023. N. 5. P. 10–13 (in Russian with English abstract and references).