

- эффектом гетерозиса, отбором по адаптивно важным признакам и полом // Генетика. – 1995. – Т. 31, №1. – С. 24-29.
7. Кайданов Л.З., Мыльников С.В., Иовлева О.В., Галкин А.П. Направленный характер генетических изменений при длительном отборе линий *Drosophila melanogaster* по адаптивно важным признакам // Генетика. – 1994. – Т. 30, №8. – С. 1085-1096.
 8. Страшнюк В.Ю. Генетична варіабельність та адаптивні модифікації ступеня політенії гігантських хромосом у *Drosophila melanogaster* // Труды по фундаментальной и прикладной генетике. – Харьков: Штрих, 2001. – С. 285-295.
 9. Воробьева Л.И. Зависимость эффекта гетерозиса от уровня гетерозиготности исходных линий: Дис. ... канд. биол. наук. Харьков: Харьковский гос. ун-т, 1988. 170 с.
 10. Cummings M.K., Robin M.S., Ganetzky B. Biochemical aspects of oogenesis in *Drosophila melanogaster* // J. Ins. Physiol. – 1971. – vol. 17. – P. 2105-2118.

Резюме

При переведении мутации *ey* на генетический фон высокоинбредных линий НА (низкоактивная), ВА (высокоактивная) и *Oregon-R* (дикий тип) *Drosophila melanogaster* установлено резкое снижение экспрессивности мутантного фенотипа, а также достоверное увеличение плодовитости, продолжительности жизни, по сравнению с исходной аутбредной линией *eyeless*.

При переведенні мутації *ey* на генетичне оточення ліній високоінбредних НА (низькоактивна), ВА (високоактивна) та *Oregon-R* (дикий тип) *Drosophila melanogaster* встановлено різке зниження експресивності мутантного фенотипу, а також вірогідне збільшення плодючості, тривалості життя порівняно з аутбредною лінією *eyeless*.

On genetic background of lines LA (low activity), HA (high activity), and *Oregon-R* (wild type) *Drosophila melanogaster* expressivity of the *ey* mutation was shown to be far lower than in original *eyeless* line. But in lines *ey*_{LA}, *ey*_{HA}, *ey*_{Or}, fecundity, life span were significantly higher compared with original *eyeless* lines.

ДМИТРИЄВ О. П., КРАВЧУК Ж.М., НАУМЕНКО В.Д., ПОЛЯКОВСЬКИЙ С.О., ДЯЧЕНКО А.І.

*Інститут клітинної біології та генетичної інженерії НАН України
Київ, 03143 вул. акад. Заболотного, 148, e-mail: dmyt@iatp.org.ua*

ІНДУКУВАННЯ СИСТЕМНОЇ СТІЙКОСТІ У РОСЛИН ЗА ДОПОМОГОЮ БІОГЕННИХ ЕЛІСИТОРІВ

Захист рослин, як відомо, ґрунтується на двох головних принципах: одержанні стійких сортів і використанні пестицидів. Однак процес селекції стійких сортів є досить тривалим і виникнення нових вірулентних рас патогенів найчастіше випереджає можливості селекціонерів. Крім того, орієнтація селекційної роботи в останні десятиліття на підвищення врожайності сільськогосподарських культур привела до значного ослаблення їхньої стійкості. Що стосується пестицидів, то майже всі вони відносяться до класів сполук, серед яких зустрічаються мутагени і канцерогени. Наявність залишкових кількостей пестицидів у складі готової сільськогосподарської продукції може створювати загрозу здоров'ю населення [1]. І, нарешті, деякі навіть найбільш ефективні пестициди справляють моносайтову дію, внаслідок чого в популяціях фітопатогенів можуть накопичуватися резистентні до них форми.

Все це обумовлює доцільність пошуку альтернативних методів захисту рослин, необхідних для одержання екологічно чистої продукції й оздоровлення навколишнього середовища. Одним з найбільш перспективних є метод індукування природної стійкості рослин. Він заснований не на пригніченні патогенів, як це має місце у випадку використання пестицидів, а на індуванні імунного потенціалу рослин подібно до того, як це відбувається в природі.

Відомо, що у патогенів є особливі метаболіти – індуктори або еліситори, які є антигенною детермінантою паразита. Рослини здатні розпізнавати ці біогенні індуктори і вмикати у відповідь свої захисні реакції [2]. До числа найбільш важливих з них відносяться: утворення активних форм кисню (АФК), механічне зміцнення клітинної стінки (відкладення калози і лігніну), синтез антибіотичних речовин – фітоалексинів (ФА) і нагромадження патоген-залежних (PR-) білків [3]. Одні з захисних реакцій виникають безпосередньо в місці інфікування і є «локальними». Інші – це «системні» захисні реакції, що розвиваються у вільних від зараження тканинах інфікованої рослини. Цей феномен набуття стійкості віддаленими від місця зараження тканинами рослини одержав назву системної індукованої стійкості (СІС) [4].

Системна індукована стійкість. СІС виявлена у багатьох видів рослин. Як у дводольних - картоплі, томатів, сої, червоної конюшини, люцерни, так і однодольних, наприклад, рису [5]. До числа трьох, найбільш досліджених біологічних моделей для вивчення СІС, відносяться тютюн, огірок і різущка Таля - *Arabidopsis thaliana*.

Показано, що попередня інокуляція рослин тютюну вірусом тютюнової мозаїки (ВТМ) приводить до підвищення їхньої стійкості, яка виявлялася, коли тютюн *Xanthi-nc*, що несе ген *N*, був повторно інокульований ВТМ [6]. Підвищення стійкості безпосередньо в місці інфікування одержало назву локальної індукованої стійкості (ЛІС) на відміну від СІС, що виявлялася у віддалених і вільних від зараження тканинах цієї рослини.

Виявилось, що попередня інокуляція не тільки вірусами, але й грибами або бактеріальними патогенами може індукувати стійкість до цих або філогенетично віддалених патогенів, тобто однією з найбільш важливих особливостей СІС є широкий спектр набутої стійкості до різних збудників хвороб. Пізніше було встановлено, що у рослин, інфікованих ВТМ, підсилюється експресія PR-білків (хітинази та глюканази), що корелює з розвитком стійкості. Оскільки руйнування флоєми зупиняло розвиток СІС, було висловлене припущення, що сигнал, який обумовлює розвиток стійкості, переміщається по флоємі. Встановлено можливість індукції СІС в рослин тютюну з використанням хімічних сполук - саліцилової кислоти (СК) і 2,6-дихлор-ізонікотинової кислоти (ІНК) [7].

Іншою добре охарактеризованою модельною системою для дослідження індукованої стійкості стали рослини огірка. В ранніх роботах Й. Кюча [6] показано, що системну стійкість до захворювань, викликаних *Colletotrichum lagenarium*, *Cladosporium cucumerinum*, *Pseudomonas lachrymans* і вірусом некрозу тютюну (ВНТ), вдається індукувати попередньою інокуляцією кожним з цих патогенів. Захисний ефект зберігався протягом декількох тижнів і також характеризувався широким спектром набутої стійкості.

A. thaliana був успішно використаний як модель для вивчення СІС. При індуванні стійкості до бактерії *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* і гриба *Peronospora parasitica* за допомогою ІНК виявлене нагромадження мРНК для гомологів PR-білків і поява самих білків в апопласті [8]. Пізніше з'явилися повідомлення про індукцію СІС одним видом грибів до іншого виду і авірулентними бактеріями до вірулентних штамів тих же бактерій. Аналіз т.зв. СІС-білків (кількість і активність яких добре корелює з підтримкою стану стійкості) показав, що багато хто з них відносяться до PR-білків.

Мобільний сигнал для системної індукованої стійкості. Після первинного зараження *P. syringae* у флоємі рослин огірків і тютюну відбувалось підвищення

концентрації СК. Було висловлене припущення, що саме СК є мобільним сигналом для розвитку СІС у вище розташованих неінфікованих листках [9]. Однак, в інших експериментах, коли інфіковані листки відрізали через 4 год після первинного ураження, це не позначалося на нагромадженні СК або прояві реакції СІС у вище розташованих листках. Крім того, протягом перших 4 год у флоємі не відзначалося істотного підвищення вмісту СК. Це викликало перші сумніви щодо ролі СК як мобільного сигналу. Деяку ясність внесли експерименти з щепленнями, у яких використовували рослини з генотипом NahG, що не накопичують СК у відповідь на ураження патогеном [10]. Коли на підщепи NahG-рослин або підщепи дикого генотипу прищеплювали черешки дикого типу в останніх відбувалася індукція СІС після інфікування підщеп ВТМ. З іншого боку, у щеплень з генотипом NahG не виникала СІС, незалежно від того, на які підщепи робилося щеплення. Отримані результати свідчать, що СК навряд чи виконує функції мобільного сигналу. Утворення сигналу не залежить від СК, але, очевидно, вона необхідна для індукції СІС сигналом, природа якого дотепер невідома.

Тому особлива увагу дослідників привабила жасмонова кислота (ЖК) та її метиловий ефір (Ме-ЖК) після того, як була відкрита їхня гормональна активність, здатність регулювати ріст і прискорювати старіння рослин. Ці сполуки утворюються при окислюванні ліноленової кислоти ліпоксигеназою за участю молекулярного кисню. Вважається, що вони є реальними кандидатами на роль сигнальних молекул, що ініціюють комплекс імунних процесів у рослинних клітинах. Вміст ендогенних ЖК і Ме-ЖК зростає в результаті механічного поранення рослинних тканин, а також після додавання еліситорів в суспензійну культуру клітин різних видів рослин [11]. Показано, що жасмонати індукують синтез інгібіторів протеїназ у відповідь на поранення або інфікування, а також тіонінів - поліпептидів з антигрибною активністю. Висловлене припущення, що ЖК є інтегральною частиною системи трансдукції сигналу, що регулює в рослинах індукцію захисних генів. Проте є факти, які суперечать цій думці: Ме-ЖК не індукував експресію СІС-генів або стан стійкості в тютюну. Крім того, ЖК і Ме-ЖК справляють пряму антимікробну дію на патогени, що утрудняє їхній аналіз як сигнальних молекул.

З'ясування шляхів формування СІС веде до нових підходів у створенні трансгенних рослин з підвищеною стійкістю до хвороб.

Індукування хворобостійкості у рослин. Розвиток технології рекомбінантних ДНК дозволяє переносити в рослини гени, що беруть участь у синтезі ФА і контролюють хворобостійкість. Теоретично тут можливі кілька підходів. По-перше, генетичне вдосконалення вищих рослин з наданням їм можливостей синтезувати нові ФА, які вони раніш не виробляли. По-друге, зміна генома таким чином, щоб рослина могла продукувати ФА у відповідь на зараження сумісною расою гриба (перенесення генів, які контролюють утворення рецепторів на цитоплазматичній мембрані, і т.п.). І, нарешті, перенесення генів хворобостійкості з однієї рослини в іншу, котрі не схрещуються між собою при звичайній гібридизації.

Відомо, що багато спеціалізованих патогенів можуть переборювати захисні реакції рослин, перешкоджаючи індукуванню ФА, виробляючи в собі толерантність до них або метаболізуючи ФА до нетоксичних сполук. Але ці ж патогени виявляються чутливими до ФА інших рослин і тому, швидше за все, не є патогенними для цих рослин. У перспективі гени біосинтезу ФА можна буде клонувати і переносити, розширюючи, таким чином, арсенал ФА тієї або іншої рослини. Деякі автори пропонують індукувати у рослинах великі концентрації ФА за рахунок їх обробки індукторами. Однак при цьому вміст ФА в рослинах може досягти токсичних для людини і тварин концентрацій, тобто вони стануть непридатними для харчових і кормових цілей. Крім того, індукування ФА в здорових рослинах у великій кількості

перетворить їх з індукованих у конститутивні речовини і, по суті, "розсекретить" захисну зброю рослин, внаслідок чого паразит зможе швидко до неї пристосуватися.

Більш ефективним, на нашу думку, є підвищення стійкості сприйнятливих рослин до ураження шляхом їх обробки малими дозами біогенних індукторів, які викликають лише сліди ФА в рослинних тканинах, але разом з тим істотно підвищують їх стійкість при наступному контакті з патогеном. Обробка дисків картоплі ЛГП-комплексом у низьких концентраціях сенсibiliзувала тканини до наступного зараження сумісною расою *P. infestans* [12]. Під дією цього комплексу індукувались лише сліди ФА картоплі рішитину, але у відповідь на наступне зараження кількість ФА значно зростало у порівнянні з не обробленими індуктором бульбами. Польові дослідження показали, що обробка різних сортів картоплі ЛГП-комплексом дозволяє захистити рослини від ряду патогенних грибів, бактерій і нематод.

В наших дослідженнях показана принципова можливість підвищення хворобостійкості рослин томатів і цибулі за допомогою біогенного індуктора з клітинних стінок гриба *Fusarium solani* [1]. Препарат сенсibiliзував рослинні тканини, які внаслідок цього швидше й ефективніше вмикали систему своїх захисних реакцій, зокрема, утворення ФА при наступному контакті з патогеном. Передпосівне замочування насіння цибулі в розчині індуктора або обприскування ним вегетуючих рослин в умовах штучного інфекційного фону зменшували поширення і ступінь розвитку дуже небезпечної хвороби цибулі - пероноспороза.

Оскільки біогенні індуктори діють за тим же принципом, по якому рослини захищаються в природних умовах, можна вважати, що при їх використанні для підвищення хворобостійкості рослин не буде забруднюватися навколишнє середовище і не будуть знищуватися популяції мікроорганізмів, як це має місце при обробці пестицидами.

Заключення

Поки ще передчасно робити далекосяжні висновки щодо практичного значення індукування стійкості у рослин. Хімічний метод захисту рослин став у наш час основним і рентабельним землеробством без нього в сучасних умовах практично неможливе. Отримані результати не стільки розкрили механізми імунітету рослин, скільки намітили підходи до їх подальшого дослідження фахівцями різного профілю. Треба буде створювати промислову біотехнологію одержання і використання в рослинництві ефективних індукторів захисних реакцій, виділених з мікроорганізмів.

За останні 15 років опубліковано більше 3 тис. статей присвячених СІС, дослідження якої по праву стало гарячою точкою фітоімунології [13]. Індукувати стійкість рослин змушує складна екологічна обстановка. Пестицидний і інфекційний тиск на рослини часто перевищує їх адаптаційні можливості. Тому головним, на нашу думку, має бути інтеграція наявних методів захисту рослин з максимальним використанням адаптивних можливостей природної стійкості самих рослин.

Література

1. *Дмитриев А.П.* Фитоалексины и их роль в устойчивости растений. - Киев: Наук. думка, 2000. - 207 с.
2. *Метлицкий Л.В., Озерецковская О.Л., Кораблева Н.П. и др.* Биохимия иммунитета, покоя, старения растений - М.: Наука, 1984.- 264 с.
3. *Тарчевский И.А.* Сигнальные системы клеток растений. – М: Наука, 2002. – 294 с.
4. *Ryals J.A., Neuenschwander U.H., Willits M.G. et al.* Systemic acquired resistance // *Plant Cell*. - 1996. – Т. 8. - P. 1809-1819.
5. *Van Loon L.C.* Induced resistance in plants and the role of pathogenesis-related proteins // *Eur. J. Plant Pathol.* – 1997. – Т. 103. – P.753-765.
6. *Kuc J.* Expression of latent genetic information for disease resistance in plants // *Innovative Approaches to Plant Disease Control*. Chef J. (ed) New York:- 1987.- P. 255-274.

7. Cameron R.K., Dixon R., Lamb C. Biologically induced systemic acquired resistance in *Arabidopsis thaliana* // Plant J. - 1994.- N 5.- P. 715-725.
8. Dangl J. L. Applications of *Arabidopsis thaliana* to outstanding issues in plant-pathogen interactions // Int. Rev. Cytology. - 1993. –Т. 144. - P. 53-83.
9. Durner J., Shah J., Klessig D.F. Salicylic acid and disease resistance in plants // Trends Plant Sci. – 1997. – N 2. – P. 266-274.
10. Neuenschwander U., Lawton K., Ryals J. Systemic acquired resistance. 1996.- New York: Chapman & Hall.- P. 81-106.
11. Ebel J., Cosio E.G. Elicitors of plant defense responses // Int. Rev. Cytology.- 1994. –Т. 148. - P. 1-36.
12. Озерецковская О.Л. Индуцирование устойчивости растений биогенными элиситорами фитопатогенов // Прикл.биохим. и микробиол. -1994. –Т. 30, N 3. - С. 325-339.
13. Dmitriev A.P. Induction of systemic resistance in plants // Cytology and Genetics. – 2004. – N5. – P. 72-81.

Резюме

Рослини здатні розпізнавати певні метаболіти патогена (т.зв. індуктори або еліситори) та реагувати на його вторгнення активацією каскаду захисних реакцій. На цьому базується метод індукування природної стійкості рослин біогенними індукторами, що дозволяє уникати забруднення навколишнього середовища, пов'язаного з широким використанням пестицидів. Розглянуто дані про молекулярні аспекти взаємодії фітопатогенних мікроорганізмів з рослиною-хазяїном.

Растения способны распознавать особые метаболиты патогена (т.н. индукторы или элиситоры) и реагировать на его вторжение активацией каскада защитных реакций. На этом базируется метод индуцирования естественной устойчивости растений биогенными индукторами, который позволяет избежать загрязнения окружающей среды, связанного с широким использованием пестицидов. Рассмотрены сведения о молекулярных аспектах взаимоотношений фитопатогенных микроорганизмов с растением-хозяином.

Plants are capable to recognize the penetrating pathogen and to respond to his invasion by activation of the set of defense responses. That is the base for a new method of systemic acquired resistance (SAR) in plants by biotic inducers derived from the pathogens. The method is allowed to avoid contamination of the environment caused by intensive usage of pesticides. The review summarizes data on molecular aspects of plant-pathogen interactions.

ДЬЯЧЕНКО Л.Ф.¹, ТОЦЬКИЙ В.М.¹, ФАЙТ В.І.², ТОПТИКОВ В.А.¹

¹Одеський національний університет ім. І.І.Мечникова

Україна 65026, Одеса вул. Дворянська 2, e-mail: caphgen@ukr.net

²Селекційно-генетичний інститут УААН, Україна, 65036 Одеса, Овідіопольська дор., 3

ЕКСПРЕСИВНІСТЬ МНОЖИННИХ ФОРМ ДЕЯКИХ ФЕРМЕНТІВ У ТКАНИНАХ РОСЛИН ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ З РІЗНИМИ ГЕНАМИ ФОТОПЕРІОДИЗМУ

Фотоперіодична чутливість значною мірою визначає рівень адаптації рослинного організму до конкретних умов вирощування. М'яка пшениця є рослиною довгого дня, але її сорти дуже поліморфні щодо реакції на скорочення тривалості світового періоду від майже нейтральних до дуже чутливих генотипів [1, 2]. Більшість