

АНАЛІЗ І ОЦІНКА ГЕНЕТИЧНИХ РЕСУРСІВ

АДАМОВСКАЯ В.Г., МОЛОДЧЕНКОВА О.О.,САГАЙДАК Т.В., ВОЛЧЕВСКАЯ А.В. ТИХОНОВА О.В.

*Селекционно-генетический институт - Национальный центр семеноведения и сортоизучения УААН,
Украина, 65036, Одесса, Овидиопольская дорога 3, e-mail: adam@paco.net*

НЕКОТОРЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ КОМПОНЕНТЫ ФОРМИРОВАНИЯ ПРИОБРЕТЕННОГО ИММУНИТЕТА В ОТВЕТЕ ЗЛАКОВЫХ КУЛЬТУР ПРИ ГРИБНЫХ БОЛЕЗНЯХ

Обострившаяся в последние годы проблема отсутствия у зерновых культур устойчивости к фузариозу, выдвигает необходимость углубленного изучения механизмов приобретенного иммунитета растений. Связано это с несколькими причинами. Во-первых, несмотря на достижения селекции, очень часто устойчивость сортов оказывается недолговечной. Во-вторых, при химической защите в грибных популяциях накапливаются толерантные к системным фунгицидам штаммы. В третьих, изучение механизмов фитоиммунитета показало, что существует общая интегрированная система защиты растений от биотических и абиотических факторов. Поэтому препараты, с механизмом действия, отличным от пестицидов, стимулирующие защитные механизмы растений и их устойчивость, привлекают все большее внимание ученых и практиков.

Известно, что защитные реакции растений, направленные против патогенов различной природы, для своего эффективного функционирования и запуска должны располагать определенными системами узнавания. К сожалению, фитопатология располагает крайне небольшим запасом достоверных экспериментальных данных о молекулярных механизмах подобного узнавания. В целом, механизм и метаболизм защитных реакций растений изучен явно недостаточно. Физиолого-биохимические аспекты иммунизации растений заслуживают особого внимания. Поиск биохимических факторов, ответственных за запуск и усиление защитных реакций с помощью тех или иных биохимических адаптивных реакций, лежащих в основе формирования устойчивости растений, позволит выявить природные биостимуляторы, обладающие высоким иммуностимулирующим эффектом к стрессовым факторам [1]. Считается, что одной из наиболее ранних реакций растений на действие стрессовых факторов является активация целого ряда ферментативных систем (белкового, углеводного, липидного и фенольного метаболизма), а также лектинов, входящих в различного рода клеточные структуры. Наряду с функциями узнавания патогенов лектины, согласно современным представлениям, могут выполнять также и прямые защитные функции с помощью агглютинации клеток патогена. Практически у всех изученных растений обнаружены ингибиторы протеиназ, которые образуют одну из наиболее общих защитных систем, направленных против действия биотических и абиотических факторов среды. Существуют убедительные доказательства того, что в пораженных патогенными микроорганизмами растительных клетках отмечается усиление синтеза фенольных соединений, в метаболизме которых принимает участие фенилаланинаммиаклиаза (ФАЛ) – ключевой фермент фенольного метаболизма. Многие авторы отмечают более высокую концентрацию приведенных выше биологически активных веществ в тканях устойчивых к патогенам растений, либо увеличение их концентрации после начала инфекционного процесса [2,3,4]. В исследованиях, проведенных в нашей лаборатории, показано, что при введении лектина сои в суспензию патогена происходит угнетение развития колоний грибов рода *Fusarium graminearum* и *Fusarium culmorum*, в то же время наблюдается положительное влияние на ростовые процессы растений. Высказано предположение об активации неспецифических защитных реакций растений под действием лектина сои [5]. Эта статья является логическим продолжением наших

предыдущих исследований с целью подтвердить или опровергнуть это предположение на биохимическом уровне. Исходя из этого в задачу исследования входило изучение влияния экзогенного лектина, введенного в среду прорастания растений, на активность ингибитора трипсина (ИТ), ФАЛ и эндогенных лектинов, участвующих в формировании неспецифических защитных реакций растений.

Объектом исследования служили надземная часть проростков и корни 4 суточных проростков озимой пшеницы и ярового ячменя с разным уровнем устойчивости к фузариозу на разных фонах проращивания (вода, патогенные штаммы *F.graminearum* и *F.culmorum*, лектин, выделенный из семян сои (50 и 100 мкг/мл), смесь лектин+патоген).

Лектин из семян сои выделяли по методу Ригаса и Осгуди [6]. Активность ФАЛ определяли по методу Цукера [7] в нашей модификации. Активность ИТ определяли с помощью синтетического субстрата БАПНА (N-а-бензоил-L-аргинин-4-нитроанилид). Активность лектинов (ЛА) определяли по реакции гемагглютинации трипсинизированных эритроцитов крови белых крыс по методу Луцка [8].

Учитывая исключительное своеобразие физиологических функций, в том числе защитных, выполняемых эндогенными лектинами в клетках растений [9], нами была предпринята попытка использовать экзогенный лектин сои как возможный природный биостимулятор защитных реакций в ответ на действие фузариозной инфекции у генотипов злаковых культур с разным уровнем устойчивости к данному заболеванию. Прежде всего мы исследовали влияние разных концентраций лектина сои на активность ФАЛ, ИТ и эндогенных лектинов в тканях проростков у изучаемых генотипов злаковых культур.

Введение в среду прорастания экзогенного лектина оказывало заметное и неоднозначное влияние на активность ИТ, ФАЛ и ЛА в тканях проростков у изучаемых генотипов злаковых культур. Установлено, что различия по изменению активности этих биологически активных веществ, участвующих в формировании защитных реакций при стрессовых воздействиях, у генотипов злаковых культур с разным уровнем устойчивости к фузариозу при введении в среду прорастания экзогенного лектина, зависило от его концентрации, рода культуры и органа, в котором определялась активность.

В нашу задачу также входило выяснить стимулирует или индуцирует лектин сои изменение активности изучаемых биохимических факторов при действии патогена.

При совместном действии патогена и лектина сои в тканях проростков у изучаемых злаковых культур, также регистрировалось изменение активности ИТ, ФАЛ и эндогенных лектинов. Как показали наши исследования, в этом варианте эксперимента, уровень индукции этих биологически активных веществ, прежде всего, определялся родоспецифичностью изучаемых генотипов. Так, у устойчивых генотипов озимой пшеницы в тканях корней активность ИТ, ФАЛ и эндогенных лектинов возрастала по сравнению контрольным вариантом в интервале от 300% (ФАЛ) до 350% (ИТ). У устойчивых генотипов ярового ячменя активность изучаемых биохимических факторов при действии патогена и лектина находилась на уровне контроля (ИТ, ЛА) или незначительно ниже (ФАЛ – 96,4%). У восприимчивых генотипов озимой пшеницы уровень активности ИТ и эндогенных лектинов в проростках находится на уровне значительно ниже, чем у устойчивых генотипов (113 и 91,8% соответственно), а активность ФАЛ составляла 150% относительно контроля. В то время как у восприимчивых генотипов ярового ячменя характер изменения активности этих показателей имел противоположную направленность (ИТ -120 %, ЛА -131,2%, ФАЛ – 56,7% относительно контроля).

Неодинаковая направленность изменений активности ИТ, ФАЛ и эндогенных лектинов в присутствии лектина сои и патогена в тканях корней у генотипов разных родов злаковых культур, различающихся по устойчивости к фузариозу, указывает, во

первых, на неодинаковый вклад этих веществ в формирование ответных реакций растений, а во вторых, о существовании сложной системы взаимодействия и взаимовлияния между этими биохимическими показателями в цепи событий, приводящих к формированию защитных реакций, в регуляции которых они играют важную роль. Практическим выходом из этих исследований после детализации полученных данных может быть возможность использования эндогенного лектина сои для стимуляции защитных механизмов растения и повышения устойчивости злаковых культур к фузариозной инфекции.

Литература

1. *Тарчевский И.А., Чернов В.М.* Молекулярные аспекты фитоиммунитета// Микология и фитопатология. – 2000. – Т. 34, вып.3. – С. 3-10.
2. *Запрометов М.Н.* Фенольные соединения –М.: Наука,1993. - 272 с.
3. *Адамовская В.Г., Ключковская Е.А., Молодченкова О.О., Вовчук С.В.* Изменение протеиназно-ингибиторной системы озимой пшеницы под действием салициловой кислоты и *Fusarium*// Физиология растений. – 2000. – Т. 47, № 2. – С. 210-215.
4. *Адамовская В.Г., Литвиненко Н.А., Молодченкова О.О., Цисельская Л.Й., Бирюков С.В.* Лектины клеточных стенок озимой пшеницы при поражении *Fusarium spp.* и действии салициловой кислоты// Сб. научных трудов СГИ. – 2003. – Вып.4/44. – С.27-31.
5. *Молодченкова О.О., Адамовская В.Г., Цисельская Л.Й., Захарова О.А., Тихонов П.С., Тихонова О.В.* Вплив лектину на розвиток грибів роду *Fusarium* на ростові процеси злакових культур при зараженні фузаріозом// Матеріали науково-практичної конференції “Актуальні проблеми імунітету із захисту сільськогосподарських культур від болезней і шкідників. – 2007. –Одеса. – С. 39.
6. *Луцук Л.В.* Методи дослідження углеквонної специфічності лектинів (метод. указання). – Львов.: Вища школа, 1983. -156 с.
7. *Rigas N., Osgood E.* Purification and properties of the PHAL of *Phaseolus vulgaris*// Biol.chem. – 1955. – V. 212. - № 2. – P. 607-615.
8. *Zucker M.* Induction of phenylalanineammonia-lyase in Xantin leaf disk Photosintetic requirement and effect of day-legth// Plant Physiol. - 1969. - № 44. – P. 91-112.
9. *Марков Е.Ю., Хавкин Э.Е.* Лектины растений:предполагаемые функции// Физиология растений. – Т. 30. – Вып. 5. – С.852-868.

Резюме

Неодинаковый характер изменения активности ингибитора трипсина, фенилаланинаммиаклиази и лекинов растений в зависимости от фона проращивания у генотипов различных родов злаковых культур с разным уровнем устойчивости, можно рассматривать как биохимическую адаптивную реакцию на действием сигнальных компонентов экзогенного лектина и патогена.

Неоднаковий характер зміни активності інгібітора трипсину, фенілаланінаміакліази та лектинів рослин в залежності від фону пророщування у генотипів різних родів злакових культур з неоднаковим рівнем стійкості, можна розглядати як біохімічну адаптивну реакцію на дію сигнальних компонентів екзогенного лектина та патогена.

Different character of change of activity of trypsin inhibitor, phenylalanineammonialyase and lectins of plants depending on the background of germination at the genotypes of different genus of cereal crops with the different level of resistance, it is possible to examine as a biochemical adaptive reaction on by the action of alarm components of ekzogenous lectin and pathogen.