

## БІОХІМІЧНІ ЗАХИСНІ РЕАКЦІЇ ЗЛАКОВИХ РОСЛИН ЗА ДІЇ БІОТИЧНИХ І АБІОТИЧНИХ ЧИННИКІВ ДОВКІЛЛЯ

**О. Молодченкова, В. Адамовська, О. Лихота, Л. Безкровна,  
Ю. Левицький, О. Рищаківа, Т. Картузова**

*Селекційно-генетичний інститут  
Національний центр насіннєзнавства та сортовивчення  
Овідіопольська дорога, 3, Одеса 65036, Україна  
e-mail: olgamolod@ukr.net*

Показано, що в основі біохімічних механізмів формування стійкості рослин зернових культур до інфікування грибними патогенами, впливу несприятливих абіотичних чинників лежить перебудова процесів метаболізму, пов'язана з накопиченням та перерозподілом захисних білків (інгібіторів протеїназ, лектинів, дегідринів), зміною активності ферментів (ліпоксигенази, фенілаланінаміакліази, сахарозофосфатсинтази), спрямованою генерацією медіаторів сигнальних систем у рослинних тканинах. Встановлено, що зміни активності вивчених захисних білків і ферментів у злакових рослинах за впливу чинників різної природи контролюються різними механізмами і залежать від рівня експресії захисних генів та інтенсивності процесів біосинтезу білка. Досліджена роль саліцилової та жасмонової кислот у формуванні захисних реакцій злакових рослин проти грибних патогенів і абіотичних стресорів. На основі отриманих результатів розроблені методи біохімічної лабораторної оцінки стійкості злакових рослин до грибних патогенів і посухостійкості.

*Ключові слова:* злаки, стійкість, біохімічні захисні реакції.

Рослинні організми у природних умовах дуже часто піддаються впливу несприятливих чинників довкілля. Здатність рослин чинити опір екстремальним умовам вирощування, пристосовуватися до них і зберігати при цьому свій життєвий потенціал є однією з визначальних умов існування рослин і залежить від можливості реалізувати захисні пристосувальні механізми, тобто адаптуватися до різноманітних стресових чинників [7]. Стійкість рослин до несприятливих чинників і здатність до адаптації залежить від генома, можливості його реалізації у процесі онтогенезу. Важлива роль у цих процесах належить біохімічним системам захисту рослин, до яких належать такі реакції, як індукція синтезу стресових білків і окремих білків, що є у нормі, зміни у функціонуванні ген-ензимних систем, збільшення концентрації стресових фітогормонів, активація сигнальних систем та інші [4].

Ключова роль у регуляції метаболізму структурних і каталітичних білків належить протеолітичним ензимам та їхнім інгібіторам. Накопичення інгібіторів протеїназ у відповідь на інфікування фітопатогенними мікроорганізмами виявлено у багатьох культурних рослин, що належать до різних родів та видів. Функції інгібіторів протеїназ повністю не розкриті. Вважають, що вони захищають рослини від дії ферментів грибів, бактерій, комах. Є літературні дані, які свідчать про здатність інгібіторів оберігати внутріклітинні білки від ушкоджуючої дії ендогенних протеїназ [3]. У літературі обговорюється питання про участь лектинів у формуванні захисних реакцій під час стресів біотичної та абіотичної природи. Можливість захисної ролі лектинів до фітозахворювань розглядається у зв'язку з їхньою здатністю специфічно взаємодіяти з вуглеводними компонентами на поверхні клі-

тин патогенів, що призводить до пригнічення їхнього росту. Крім того, вони можуть бути ефекторами для включення сигнальних систем, які активують реакції стійкості рослин до біотичних і абіотичних стресорів [2]. Великий інтерес при вивченні механізмів посухо-морозостійкості становлять білки-дегідрини, утворення яких відбувається за зневоднення клітин в умовах посухи, низькотемпературного стресу та інших впливів [1]. Відомо, що інфекційний процес та деякі абіотичні стресові чинники викликають накопичення фенольних сполук, утворення лігніну [10]. Центральною і регулюючою ланкою фенілпропановидного метаболізму є перетворення  $\alpha$ -фенілаланіну на транскоричну кислоту, яка каталізується ферментом фенілаланінаміакліазою (ФАЛ, КФ 4.3.1.5). Встановлено, що ФАЛ бере участь в утворенні попередників саліцилової кислоти, фітоалексинів, мономерів лігніну, які укріплюють механічні та хімічні бар'єри клітин і залучені у формування захисних реакцій рослин [8]. Одним із ключових ензимів ліпоксигеназного метаболізму, в результаті якого утворюються токсичні для багатьох патогенів сполуки (гексеналі, нонадієналі, оксиліпіни), а також фітодієнова та жасмонова кислоти, котрі викликають експресію захисних генів і активацію захисного відгуку клітини, є ліпоксигеназа (КФ 1.13.11.12). Інтерес до даного ензиму викликаний також тим, що каталізуючи процес перекисного окиснення ненасичених жирних кислот, ліпоксигеназа може впливати на склад мембранних ліпідів і функції біомембран клітин рослин [5]. Відомо, що стресові чинники (посуха, гіпо-гіпертермія та ін.) можуть викликати як зниження, так і підвищення вмісту в клітині розчинних цукрів. Це пов'язане з фазою розвитку, різною стійкістю до стресу, ступенем ураження рослин несприятливим фактором [6]. Одним із найважливіших осмопротекторів в умовах стресу є сахароза. Це основна транспортна форма цукрів у більшості рослин [9]. Ключовим ферментом біосинтезу сахарози є сахарозофосфатсинтаза (СФС – К.Ф.2.4.1.13), що каталізує утворення із уридиндифосфатглюкози та фруктозо-6-фосфату сахарозофосфату, який потім за допомогою сахарозофосфатази перетворюється на сахарозу. Ключова роль СФС у накопиченні сахарози підтверджена методами генетичної інженерії [11]. На регуляцію активності СФС в умовах стресу можуть впливати як рівень накопичення метаболітів, генотипні особливості, так і стійкість рослини до несприятливого чинника. Процес розпізнавання патогенів у рослинах здійснюється за допомогою сигнальних систем, які визначають реакцію клітин на різні хімічні та фізичні впливи. Кількість сполук, які виконують функції медіаторів сигнальних систем, постійно зростає. Таку роль можуть виконувати жасмонова, саліцилова кислоти, закис азоту, перекис водню та деякі інші сполуки [12].

У лабораторії біохімії рослин СГІ-НЦНС виявлені закономірності зміни активності й компонентного складу інгібітора трипсину, розчинних і пов'язаних з клітинними стінками лектинів, активності фенілаланінаміакліази і ліпоксигенази, вмісту ендогенної саліцилової кислоти, оксиду азоту й пероксиду водню у проростках сортів пшениці, ячменю та кукурудзи, що відрізнялися за рівнем стійкості до збудників фузаріозу, альтернаріозу, гельмінтоспоріозу, за інфікування грибними патогенами і дії саліцилової та жасмонової кислот. Встановлено, що зміна активності вивчених захисних білків у рослинах зернових культур під впливом чинників різної природи контролюється різними механізмами і залежить від рівня експресії захисних генів, інтенсивності процесів біосинтезу білка. Показані певні відмінності реакції-відповіді проростків зернових культур на інфікування збудниками фузаріозу, альтернаріозу і вплив специфічних інгібіторів ( $\alpha$ -амінооксіоцтової кислоти і D-фенілаланіну). Ці відмінності полягають у різному ступені зміни активності фенілаланінаміакліази залежно від стійкості сорту чи лінії до грибних патогенів, чинника впливу та досліджуваної культури. Одним із проявів захисної дії жасмонової та саліцилової кислот є їхня здатність індукувати зміни активності вивчених захисних білків у тканинах

рослин зернових культур. Встановлені оптимальні терміни дії та концентрація саліцилової й жасмонової кислот, за яких спостерігався максимальний ефект їхнього впливу на захисні білки злакових рослин. Дані щодо зміни активності захисних білків під впливом саліцилової та жасмонової кислот свідчать про участь цих сполук у ланцюзі сигнальних шляхів, що призводять до експресії захисних генів і формування стійкості рослин зернових культур до грибних патогенів.

Показано, що вплив абіотичних стресорів (водного дефіциту, гіпер-гіпотермії) призводить до неспецифічних і специфічних змін у характері накопичення та перерозподілу лектинів клітинних стінок та електрофоретичних спектрах дегідринів рослин пшениці, які відрізняються за рівнем посухостійкості й морозостійкості. Висловлене припущення, що синтез даних білків перебуває під контролем абсцизової кислоти, зростання кількості якої спостерігалось у тканинах рослин пшениці. Встановлені особливості зміни вмісту сахарози й активності сахарозофосфатсинтази у проростках злакових рослин (пшениці, ячменю, кукурудзи) в умовах водного дефіциту і гіпертермії залежно від рівня посухостійкості ліній та сортів зернових культур.

Показано, що реакція-відповідь рослин зернових культур на дію біотичних і абіотичних чинників чітко регулюється взаємодією окремих компонентів біохімічної системи захисту. Регулюючий ефект біохімічних реакцій визначається природою чинника впливу та швидкістю мобілізації механізмів захисту, які мають особливості прояву залежно від ступеня стійкості рослин і досліджуваної культури.

На основі проведених досліджень теоретично обґрунтовані й експериментально реалізовані нові біохімічні підходи до оцінки стійкості генотипів зернових культур до біотичних і абіотичних несприятливих чинників довкілля, розроблені експрес-методи оцінки генотипів пшениці та ячменю на стійкість до фузаріозу (пат. №12639, № 43280 А), експрес-методи оцінки жаростійкості генотипів пшениці та посухостійкості ліній і гібридів кукурудзи (пат. № 49643) [13].

Отримані результати і подальші дослідження в цих напрямках дадуть змогу вдосконалити наявні методи оцінки селекційного матеріалу на стійкість до біотичних і абіотичних несприятливих чинників довкілля, стануть основою для створення ефективних індукторів стимулювання й управління захисними системами рослин зернових злакових культур.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Аллагулова Ч.Р., Гималов Ф.Р., Шакирова Ф.М., Вахитов В.А. Дегидрины растений: их структура и предполагаемые функции // Биохимия. 2003. Т. 68. Вып. 9. С. 1157–1165.
2. Бабоша А.В. Индуцибельные лектины и устойчивость растений к патогенным организмам и абиотическим стрессам // Биохимия. 2008. Т. 73. Вып. 7. С. 1007-1022.
3. Валуева Т.А., Мосолов В.В. Роль ингибиторов протеолитических ферментов в защите растений // Успехи биол. химии. 2002. Т. 42. С. 192-216.
4. Ильинская Л.И., Васюкова Н.И., Озерцовская О.П. Биохимические аспекты индуцированной устойчивости и восприимчивости растений // Итоги науки и техники. Сер. Защита растений. М.: ВИНТИ, 1991. С. 15-26.
5. Ильинская Л.И., Озерцовская О.П. Продукты липоксигеназного окисления жирных кислот как сигнальные молекулы в индуцировании устойчивости растений // Прикладная биохимия и микробиология. 1997. Т. 33. С. 329 - 333.
6. Колупаев Ю.Е., Карпец Ю.В. Участие растворимых углеводов и низкомолекулярных соединений азота в адаптивных реакциях растений // Вестник Харьк. нац. агр. ун-та. Сер. Биология. 2010. Вып. 2 (20). С. 36-53.

7. *Косаківська І.В.* Фізіолого-біохімічні основи адаптації рослин до стресів. К: Сталь, 2003. 191 с.
8. *Сергейчик А.А.* Фенилаланинаммиаклиаза и фенилпропаноидный метаболизм // Физиология и биохимия культурных растений. 1987. Т.19. № 3. С. 211-220.
9. *Castrillo M.* Sucrose metabolism in bean plants under water deficit// J. Exp. Bot. 1992. Vol. 43. N 257. P. 1557-1561.
10. *Dixon R.A., Paiva N.S.* Stress-induced phenylpropanoid metabolism // Plant Cell. 1995. Vol. 7. P. 1085-1097.
11. *Worrell A.C., Bruneau J.M., Summefelt et al.* Expression of maize sucrose phosphate synthase in tomato alters carbohydrate partitioning // Plant Cell. 1991. Vol. 3. P. 1121-1130.
12. *Тарчевский И.А.* Сигнальные системы клеток растений. М.: Наука, 2002. 292 с.
13. Патент 12639 Україна, А 01 Н1/04. Способ оценки генотипов пшеницы на устойчивость к фузариозу / Адамовская В.Г., Вовчук С.В., Молодченкова О.О., Левицкий А.П., Бабаянц Л.Т., Гонтаренко О.В. (Украина); Селекционный институт. № 96020534; Заявл. 14.02.96; Опубл. 28.02.97. Бюл. № 1.
14. Декларативный патент на винахід № 43280 А, Україна, А01Н1/04. Спосіб оцінки генотипів ярого ячменю на стійкість до фузариозу /Адамовська В.Г., Лінчевський А.А., Молодченкова О.О., Цисельська Л.Й., Бірюков С.В., Бабаянц О.В. Бюл. № 10. Заявл. 06.06.2001. Опубл. 15.11.2001 р.
15. Патент № 49643, Україна, А01Н1/04. Спосіб оцінки посухо-жаростійкості ліній і гібридів кукурудзи / Адамовська В.Г., Молодченкова О.О., Белоусов А.О., Соколов В.М., Ришачова О.В. Бюл. № 9. Заявл. 05.10.2009. Опубл. 11.05.2010 р.

*Стаття: надійшла до редакції 20.07.16  
доопрацьована 1.09.16  
прийнята до друку 2.09.16*

## **БИОХИМИЧЕСКАЯ ЗАЩИТНАЯ РЕАКЦИЯ ЗЛАКОВЫХ РАСТЕНИЙ ПОД ДЕЙСТВИЕМ БИОТИЧЕСКИХ И АБИОТИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ**

**А. Молодченкова, В. Адамовская, А. Лихота, Л. Бескровная,  
Ю. Левицкий, А. Ришачова, Т. Картузова**

*Селекционно-генетический институт  
Национальный центр семеноводства и сортоизучения  
Овидиопольская дорога, 3, Одесса 65036, Украина  
e-mail: olgamolod@ukr.net*

Показано, что в основе биохимических механизмов формирования устойчивости растений зерновых культур к инфицированию грибными патогенами, влияния неблагоприятных абиотических факторов лежит перестройка процессов метаболизма, связанная с накоплением и перераспределением защитных белков (ингибиторов протеиназ, лектинов, дегидринов), изменением активности ферментов (липоксигеназы, фенилаланинаммиаклиаза, сахарозофосфатсинтазы), направленной генерацией медиаторов сигнальных систем в растительных тканях. Установлено, что изменения активности изученных защитных белков и ферментов в злаковых

растениях под влиянием факторов различной природы контролируются различными механизмами и зависят от уровня экспрессии защитных генов и интенсивности процессов биосинтеза белка. Исследована роль салициловой и жасмоновой кислот в формировании защитных реакций злаковых растений против грибных патогенов и абиотических стрессоров. На основе полученных результатов разработаны методы биохимической лабораторной оценки устойчивости злаковых растений к грибным патогенам и засухоустойчивости.

*Ключевые слова:* злаки, устойчивость, биохимические защитные реакции.

## BIOCHEMICAL DEFENSE REACTIONS OF CEREALS AT THE ACTION OF BIOTIC AND ABIOTIC FACTORS OF ENVIRONMENT

**O. Molodchenkova, B. Adamovska, E. Likhota, L. Bezkravna,  
Yu. Levitsky, O. Ruschakova, T. Kartuzova**

*Plant Breeding & Genetics Institute  
National Center of Seed and Cultivar Investigation  
3, Ovidiopolska Road, Odessa 65036, Ukraine  
e-mail: olgamolod@ukr.net*

It is shown that restructuring of metabolic processes connected with the accumulation and redistribution of protective proteins (proteinase inhibitors, lectins, dehydrins), change of enzymes activity (lipoxygenase, phenylalanine ammonia-lyase, sucrose phosphate synthase), directed generation of mediators of signaling systems in the plant tissues form the basis of biochemical mechanisms of plant resistance formation of cereals to infection of fungal pathogens and the influence of abiotic stress factors. It was elucidated that the changes of activity of the studied protective proteins and enzymes in cereals at the action of factors of different nature are controlled by different mechanisms. These changes depend on the expression of defense genes and intensity of processes of biosynthesis protein. A role of salicylic and jasmonic acids in the formation of protective reactions of cereals against fungal pathogens and abiotic stressors was studied. Methods of biochemical laboratory estimation of cereals resistance to fungal pathogens and drought were improved on the basis of received results.

*Keywords:* cereals, resistance, biochemical defense reactions.