

УДК 581.1

АКТИВНІСТЬ ІНГІБІТОРУ ТРИПСИНУ, ЛЕКТИНІВ ТА ФЕНІЛАЛАНІНАМОНІЙЛАЗИ ПШЕНИЦІ У ЗВ'ЯЗКУ ЗІ СТІЙКІСТЮ ДО ФУЗАРІОЗУ ТА АЛЬТЕРНАРІОЗУ

© 2010 р. **О. О. Молодченкова, В. Г. Адамовська,
О. В. Бабаянц, Л. Й. Цісельська, Л. Я. Безкровна,
Ю. А. Левицький, Н. Ю. Лерфіна**

*Селекційно-генетичний інститут – Національний центр насіннєзнавства
та сортовивчення Національної академії аграрних наук України
(Одеса, Україна)*

Досліджено ростові процеси, активність інгібітору трипсину, лектинів, фенілаланінамонійлази в рослинах сортів пшениці, які відрізняються за стійкістю до фузаріозу та альтернаріозу, при інфікуванні збудниками цих хвороб. Зроблено висновок, що вивчені фізіолого-біохімічні показники є ефективними компонентами механізмів захисту рослин пшениці від патогенів (*Fusarium graminearum* та *Alternaria* spp.) і можуть бути використані при розробці методів оцінки стійкості пшениці до фузаріозу та альтернаріозу на ранніх етапах селекції.

Ключові слова: *Triticum aestivum* L., фузаріоз, альтернаріоз, інгібітор трипсину, лектини, фенілаланінамонійлаза

Серед чинників, які лімітують урожай пшениці в степовій зоні України, найбільш істотними є фітозахворювання, зокрема фузаріоз та альтернаріоз. Селекція сортів, стійких до патогенів, є одним з найбільш ефективних шляхів вирішення цієї проблеми (Євтушенко та ін., 2004). Успіх у селекції на стійкість до фітозахворювань передусім залежить від наявності вихідного матеріалу та ефективних методів оцінки стійкості рослин до фітозахворювань (фітопатологічних, біохімічних та інших).

Адаптація рослин, в тому числі формування стійкості до фітозахворювань, включає зміни комплексу різних функцій та систем організму. Це пов'язане зі змінами експресії цілого ряду генів, що призводить до відповідних фізіолого-біохімічних реакцій. До таких захисних реакцій, зокрема, належать синтез патогенезозалежних білків, активація ряду ферментів (ліпоксигенази, фенілаланінамонійлази (ФАЛ)), збільшення вмісту фенольних речовин

тощо (Ильинская и др., 1991; Серова и др., 1992; Шакирова, 2001; Дмитриев, 2002; Яруллина, Ибрагимов, 2006).

Існує точка зору, що основними критеріями для оцінки стійкості генотипів до стресових факторів, в тому числі до фітозахворювань, виступають не самі ознаки, а характер їх зміни під впливом несприятливих чинників середовища (Тоцкий и др., 2002; Тотиков и др., 2008). Обґрунтуванням такого підходу є дані, отримані раніше нами та іншими дослідниками, які свідчать про те, що зміни у функціонуванні компонентів біохімічної системи захисту на фоні стресового фактора мають в цілому протилежну спрямованість у різних за стійкістю до стресорів генотипів. У стійких генотипів, як правило, спостерігається вища лабільність, пластичність та реактивність захисних систем з одночасним збереженням їх функціонування на необхідному рівні (Ксендзова, Тетюрев, 1977; Ямалеев, 1989; Хайруллин и др., 1993; Адамовська и др., 2000; Молодченкова та ін., 2006; Яруллина, Ибрагимов, 2006). Пошук надійних біохімічних критеріїв стійкості має особливо важливе значення для селекційної практики при розробці експрес-методів оцінки та добору

селекційних форм, стійких до впливу стресових факторів, зокрема до фітозахворювань, на ранніх етапах селекції.

У зв'язку з цим, метою даної роботи було вивчення характеру зміни ростових процесів та деяких компонентів біохімічної системи захисту рослин (активності інгібітору трипсину (ІТ), лектинів, фенілаланінамонійліази) при зараженні збудниками фузаріозу та альтернаріозу у різних за стійкістю до патогенів сортів пшениці.

МЕТОДИКА

Дослідження проводили на восьми сортах пшениці (*Triticum aestivum* L.), які достовірно відрізнялися за стійкістю до збудників фузаріозу колоса та альтернаріозу (стійкі до фузаріозу: Еритроспермум 80/06, Еритроспермум 84/06, Ластівка одеська, Вихованка одеська; стійкі до альтернаріозу: Ніконія, Вікторія; сприйнятливі до фузаріозу: Одеська напівкарликова, Харківська 26, Ніконія; сприйнятлива до альтернаріозу: Одеська напівкарликова). Рівень стійкості сортів пшениці, які були взяті у дослідження, до збудників фузаріозу та альтернаріозу варіював в межах 1-8 балів.

Проростки вирощували при 24°C на воді (контроль) і на інфекційному фоні (сильнопатогені штами K90 *Fusarium graminearum* та *Alternaria* spp.).

Активність інгібітору трипсину визначали за зменшенням швидкості гідролізу синтетичного субстрату БАПА ферментом у присутності інгібітору, котрий екстрагували з контрольного та інфікованого зерна на другу добу пророщування (Левицький, 1979).

Лектини виділяли із зародків насіння, замоченого на ніч у воді (контроль) та в суспензії патогена. Активність лектинів визначали за їх здатністю аглютинувати трипсинізовані еритроцити білих щурів (за кімнатної температури). Лектинову активність виражали у величинах, зворотних мінімальній концентрації білка, за якої відбувається аглютинація еритроцитів (мкг білка/мл)⁻¹. Еритроцити одержували та трипсинізували за методикою (Луцик и др., 1981).

ФАЛ екстрагували з чотиридобових проростків, вирощених на воді (контроль) та на суспензії патогена і визначали активність за методичними принципами Zucker (1965) у нашій модифікації. Активність ФАЛ виражали як відношення одиниць екстинції на мг білка ($\Delta E/mg$).

Вміст білка в екстрактах визначали за методом Лоурі (Lowry et al., 1951).

Експерименти проводили в 2-3-разовому біологічному та 4-разовому аналітичному повторенні для кожного сорту. Цифровий матеріал оброблений статистично, визначені критерій достовірності, коефіцієнти кореляції між стійкістю сортів пшениці, лабораторними даними оцінки стійкості до фузаріозу колоса і альтернаріозу та біохімічними показниками. Статистична обробка даних проведена за загальноприйнятими методиками з використанням стандартних програм математичного забезпечення.

РЕЗУЛЬТАТИ

Аналіз результатів визначення чутливості рослин пшениці до збудників фузаріозу колоса та альтернаріозу в лабораторних умовах дозволив встановити, що ступінь інфікування зернівки у стійких сортів досягала в середньому 42,7% (інфікування *Fusarium graminearum*) та 49,2% (при інфікуванні *Alternaria* spp.), а у сприйнятливих сортів – 78,6% (при інфікуванні *Fusarium graminearum*) та 72,3% (при інфікуванні рослин збудниками альтернаріозу). Енергія проростання та схожість насіння при інфікуванні сприйнятливих сортів пшениці значно знижувалися порівняно з контрольними рослинами (табл. 1). У стійких сортів енергія проростання та схожість при інфікуванні патогенами були вищими, ніж у сприйнятливих сортів, внаслідок чого у рослин стійких сортів менше, ніж у рослин сприйнятливих сортів пригнічувалися ростові процеси (довжина надземної частини проростка, коренів) та накопичення біомаси (табл. 1).

У подальших експериментах вивчали зміни біохімічних показників (активності інгібітору трипсину, лектинів, фенілаланінамонійліази) при зараженні збудниками фузаріозу та альтернаріозу у різних за стійкістю до патогенів сортів пшениці. Як видно з табл. 2, рівень інгібітору трипсину в інфікованому збудниками фузаріозу зерні підвищувався в середньому в 1,69 раза порівняно з контролем у стійких до фузаріозу сортів пшениці, в 1,27 раза – у стійких до альтернаріозу сортів пшениці. У сприйнятливих сортів пшениці спостерігалось зниження активності інгібітору трипсину відносно контролю.

Рівень активності лектинів зародків при інфікуванні насіння збудниками фузаріозної інфекції зростав у стійких сортів пшениці в середньому в 1,29 раза порівняно з контролем, а

АКТИВНІСТЬ ІНГІБІТОРУ ТРИПСИНУ, ЛЕКТИНІВ ТА ФЕНІЛАЛАНІНАМОНІЙЛАЗИ

Таблиця 1. Характеристика сортів пшениці за лабораторним тестуванням на стадії проростків при інфікуванні збудниками *Fusarium graminearum* та *Alternaria*

Сорт	Стійкість до фітозахворювань (польова оцінка)	Ступінь інфікування зернівок, % (5 доба)	Енергія проростання, % до контролю (3 доба)	Лабораторна схожість, % до контролю (7 доба)	Зменшення довжини, % до контролю (5 доба)		Біомаса надземної частини, % до контролю (7 доба)	Біомаса коренів, % до контролю (7 доба)
					Надземної частини	Коренів		
Еритроспермум 80/06	Стійкий до фузаріозу	31,0	87,0	80,0	10,0	12,0	94,0	92,0
Еритроспермум 84/06	Стійкий до фузаріозу	45,0	90,0	89,0	12,0	12,0	86,5	84,2
Ластівка одеська	Стійкий до фузаріозу	48,0	82,0	80,0	15,0	16,0	80,0	76,9
Вихованка одеська	Стійкий до фузаріозу	47,0	72,0	79,0	22,0	14,0	77,0	76,8
Середнє		42,7	82,7	82,0	14,5	14,7	84,3	82,4
Вікторія	Стійкий до альтернarioзу	50,0	85,0	90,0	20,0	34,0	92,0	75,0
Ніконія	Стійкий до альтернarioзу	48,4	82,6	80,0	15,0	36,0	95,0	82,0
Середнє		49,2	83,8	85,0	17,5	35,0	93,7	78,5
Ніконія	Сприйнятливий до фузаріозу	62,9	72,0	77,0	36,0	68,0	49,8	60,6
Харківська 26	Сприйнятливий до фузаріозу	74,7	62,0	59,0	82,0	83,4	39,8	44,1
Одеська напівкарлікова	Сприйнятливий до фузаріозу	82,6	59,0	50,0	50,0	69,0	59,2	60,6
Середнє		78,6	64,3	62,0	56,0	73,4	49,6	55,1
Одеська напівкарлікова	Сприйнятливий до альтернarioзу	72,3	56,0	60,0	53,0	68,2	54,3	38,2
P₁		<0,01	<0,05	<0,05	<0,05	<0,01	<0,05	<0,05
P₂		<0,05	<0,01	>0,1	<0,05	<0,01	<0,05	<0,05

Примітки. P₁ – рівень значимості, за якого достовірно відрізняються середні дані досліджених показників у стійких та сприйнятливих до фузаріозу колоса сортів пшениці; P₂ – рівень значимості, за якого достовірно відрізняються середні дані досліджених показників у стійких та сприйнятливих до альтернarioзу сортів пшениці.

при інфікуванні збудниками альтернarioзу – в 1,19 раза. У сприйнятливих сортів пшениці рівень активності лектинів складав 84,0% відносно контролю при інфікуванні збудниками фузаріозної інфекції та 82,8% відносно контролю при інфікуванні збудниками альтернarioзу.

Визначення активності фенілаланінамоніліази дозволило виявити достовірні відмінності за рівнем активності ферменту в інфікованих збудниками фузаріозу рослинах між стійкими та сприйнятливими сортами пшениці (у стійких сортів пшениці сумарна активність складала в середньому 163,7% відносно контролю, у сприйнятливих – 75,6%). За результатами визначення активності ферменту в тканинах рослин сортів пшениці, які відрізнялися за стійкістю до альтернarioзу при інфікуванні патогеном достовірних відмінностей не було виявлено (у стійких сортів сумарна активність ФАЛ складала 87,1% відносно контролю, а у

сприйнятливих сортів – 79,4% відносно контролю).

За даними кореляційного аналізу (табл. 3), були встановлені позитивні кореляційні зв'язки між стійкістю сортів пшениці до збудників фузаріозу колоса та зміною активності ІТ ($r=0,94$ при $p=0,01$), активності лектинів ($r=0,84$ при $p=0,05$) та активності ФАЛ (сумарної) ($r=0,55$ при $p=0,05$) на інфекційному фоні. Встановлені кореляційні зв'язки між даними лабораторної оцінки стійкості рослин до фузаріозу колоса та зміною активності ІТ (0,74-0,95 при $p=0,01$), активності лектинів ($r=0,58-0,82$ при $p=0,05$), сумарної активності ФАЛ на інфекційному фоні (0,49-0,67 при $p=0,05$).

Були також встановлені позитивні кореляційні зв'язки між стійкістю сортів пшениці до збудників альтернarioзу та зміною активності ІТ ($r=0,95$ при $p=0,01$) і активності лектинів ($r=0,91$ при $p=0,05$) на інфекційному фоні.

Таблиця 2. Зміна біохімічних показників в зерні, зародках та 4-добових проростках пшениці на інфекційному фоні залежно від стійкості сорту (лінії) до збудників фузаріозу та альтернаріозу (в % від контролю)

Сорт	Стійкість до фітозахворювань	Активність ПІ в зерні	Лектинова активність в зародках	Активність ФАЛ		
				Надземна частина	Корені	Сумарна активність
Еритроспермум 80/06	Стійкий до фузаріозу	245,7	181,0	128,0	156,0	160,0
Еритроспермум 84/06	Стійкий до фузаріозу	185,0	125,3	220,0	300,0	263,6
Ластівка одеська	Стійкий до фузаріозу	125,5	110,3	130,5	154,1	112,3
Вихованка одеська	Стійкий до фузаріозу	120,3	103,1	111,1	123,0	119,0
Середнє		169,1	129,9	147,4	183,2	163,7
Вікторія	Стійкий до альтернаріозу	120,5	133,3	73,3	65,0	68,5
Ніконія	Стійкий до альтернаріозу	135,0	105,6	110,0	111,7	105,8
Середнє		127,7	119,4	91,6	88,3	87,1
Ніконія	Сприйнятливий до фузаріозу	69,6	79,3	105,8	52,6	82,3
Харківська 26	Сприйнятливий до фузаріозу	49,9	87,1	60,0	69,2	66,6
Одеська напівкарлікова	Сприйнятливий до фузаріозу	28,1	85,7	49,4	65,6	77,9
Середнє		49,2	84,0	71,7	62,4	75,6
Одеська напівкарлікова	Сприйнятливий до альтернаріозу	43,7	82,8	68,4	90,0	79,4
	P₁	<0,01	<0,1	<0,1	<0,05	<0,1
	P₂	<0,05	<0,2	>0,1	>0,1	>0,1

Примітки. P₁ – рівень значимості, за якого достовірно відрізняються середні дані досліджених біохімічних показників у стійких та сприйнятливих до фузаріозу колоса сортів пшениці; P₂ – рівень значимості, за якого достовірно відрізняються середні дані досліджених біохімічних показників у стійких та сприйнятливих до альтернаріозу сортів пшениці.

Встановлені кореляційні зв'язки між даними лабораторної оцінки стійкості рослин до альтернаріозу і зміною активності інгібітору трипсину (0,88-0,99 при $p=0,01$) та активності лектинів ($r=0,74-0,96$ при $p=0,05$) на інфекційному фоні (табл. 4).

ОБГОВОРЕННЯ

Згідно з сучасними уявленнями, стійкість рослин до різних інфекцій визначається комплексом фізіолого-біохімічних реакцій, кожна з яких сприяє захисту від патогена (Ильинская и др., 1991; Серова и др., 1992; Дмитриев, 2002; Яруллина, Ибрагимов, 2006). Результати наших попередніх експериментів та аналіз літературних даних дозволяють стверджувати, що у різних за стійкістю рослин на клітинному рівні розвивається схожий спектр біохімічних реакцій відповіді. Однак у стійких рослин дані процеси виникають значно швидше та відбуваються більш інтенсивно, ніж у рослин сприйнятливих

форм (Адамовская и др., 2000; Молодченкова та ін., 2006; Яруллина, Ибрагимов, 2006).

Результати лабораторної оцінки ростових процесів рослин при ураженні збудниками фузаріозу та альтернаріозу показали наявність достовірних відмінностей між стійкими та сприйнятливими до фітозахворювань сортами пшениці за реакцією рослин на дію патогенів. У рослин стійких сортів пшениці при інфікуванні патогенами ступінь ураження зернівок та проростків була значно нижчою в порівнянні зі сприйнятливими сортами (див. табл. 1).

Вважається, що у формуванні механізмів стійкості рослин до фітозахворювань важливу роль відіграють інгібітори протеїназ, які пригнічують індуквану патогеном активність протеолітичних ферментів (Ямалеев, 1989; Мосолов, 1990; Серова и др., 1992; Яруллина, Ибрагимов, 2006). Показано, що ці білки захищають рослину від ураження шкідниками та фітопатогенами і їх активність в насінні генетично детермінована.

АКТИВНІСТЬ ІНГІБІТОРУ ТРИПСИНУ, ЛЕКТИНІВ ТА ФЕНІЛАЛАНІНАМОНІЛАЗИ

Таблиця 3. Кореляційна залежність між стійкістю сортів пшениці, лабораторними даними оцінки стійкості до фузаріозу колоса та біохімічними показниками, визначеними в зерні, зародках та проростках пшениці при інфікуванні збудниками фузаріозу

	Var 1	Var 2	Var 3	Var 4	Var 5	Var 6	Var 7	Var 8	Var 9	Var 10	Var 11	Var 12	Var 13
Var 1	1												
Var 2	0,95	1											
Var 3	0,96	-0,89	1										
Var 4	0,87	-0,86	0,91	1									
Var 5	-0,80	0,87	-0,86	-0,82	1								
Var 6	-0,95	0,91	-0,82	-0,78	0,90	1							
Var 7	0,96	-0,85	0,85	0,75	-0,90	-0,86	1						
Var 8	0,88	-0,88	0,90	0,76	-0,91	-0,89	0,90	1					
Var 9	0,94	-0,95	0,87	0,74	-0,80	-0,85	0,81	0,87	1				
Var 10	0,86	-0,82	0,75	0,58	-0,65	-0,72	0,76	0,76	0,91	1			
Var 11	0,64	-0,68	0,74	0,69	-0,67	-0,72	0,52	0,65	0,72	0,43	1		
Var 12	0,53	-0,57	0,61	0,51	-0,55	-0,70	0,50	0,57	0,68	0,46	0,93	1	
Var 13	0,55	-0,59	0,63	0,51	-0,57	-0,67	0,49	0,61	0,71	0,50	0,94	0,97	1

Примітки. Var_1 – стійкість до фузаріозу колоса; Var_2 – ступінь інфікування зернівок, % (лабораторна оцінка) Var_3 – енергія проростання (% відносно контролю)(лабораторна оцінка); Var_4 – лабораторна схожість (% відносно контролю); Var_5 – зменшення довжини надземної частини (% відносно контролю); Var_6 – зменшення довжини кореня (% відносно контролю); Var_7 – біомаса надземної частини проростка (% відносно контролю); Var_8 – біомаса кореня (% відносно контролю); Var_9 – активність ІТ в зерні (% відносно контролю); Var_10 – лектинова активність в зародках (% відносно контролю); Var_11 – активність ФАЛ в надземній частині (% відносно контролю); Var_12 – активність ФАЛ в коренях проростків (% від контролю); Var_13 – сумарна активність ФАЛ в проростках (% від контролю).

Таблиця 4. Кореляційна залежність між стійкістю сортів пшениці, лабораторними даними оцінки стійкості до альтернاریозу та біохімічними показниками, визначеними в зерні, зародках та проростках пшениці при інфікуванні збудниками альтернاریозу

	Var_1	Var_2	Var_3	Var_4	Var_5	Var_6	Var_7	Var_8	Var_9	Var_10	Var_11	Var_12	Var_13
Var 1	1												
Var 2	-0,978	1											
Var 3	0,997	-0,991	1										
Var 4	0,984	-0,924	0,967	1									
Var 5	-0,961	0,998	-0,981	-0,898	1								
Var 6	-0,995	0,994	-0,999	-0,961	0,985	1							
Var 7	0,975	-0,999	0,990	0,921	-0,998	-0,993	1						
Var 8	0,954	-0,996	0,975	0,886	-0,999	-0,980	0,997	1					
Var 9	0,954	-0,996	0,975	0,886	-0,999	-0,980	0,997	0,999	1				
Var 10	0,912	-0,802	0,875	0,970	-0,764	-0,864	0,799	0,746	0,747	1			
Var 11	0,458	-0,638	0,529	0,294	-0,684	-0,548	0,642	0,704	0,703	0,052	1		
Var 12	-0,196	-0,019	-0,115	-0,366	-0,081	0,093	0,025	0,108	0,107	-0,581	0,782	1	
Var 13	0,079	-0,291	0,160	-0,098	-0,349	-0,182	0,297	0,375	0,374	-0,337	0,923	0,962	1

Примітки. Var_1 – стійкість до альтернاریозу; Var_2 – ступінь інфікування зернівок, % (лабораторна оцінка); Var_3 – енергія проростання (% відносно контролю)(лабораторна оцінка); Var_4 – лабораторна схожість (% відносно контролю); Var_5 – зменшення довжини надземної частини (% відносно контролю); Var_6 – зменшення довжини кореня (% відносно контролю); Var_7 – біомаса надземної частини проростка (% відносно контролю); Var_8 – біомаса коренів (% відносно контролю); Var_9 – активність ІТ в зерні (% відносно контролю); Var_10 – лектинова активність в зародках (% відносно контролю); Var_11 – активність ФАЛ в надземній частині (% відносно контролю); Var_12 – активність ФАЛ в коренях проростків (% від контролю); Var_13 – сумарна активність ФАЛ в проростках (% від контролю).

Генетичний аналіз показника інгібітору трипсину в насінні озимої пшениці, проведений шляхом схрещування контрастних за вмістом інгібітору трипсину сортів, показав, що коефіцієнт успадкування ознаки досить високий ($H^2=0,81-0,91$) (Литвиненко и др., 1999).

Отримані нами результати підтвердили наші попередні дані на інших сортах пшениці (Адамовская и др., 2000) та результати інших дослідників (Ямалеев, 1989; Яруллина, Ибрагимов, 2006) про різноспрямований характер зміни активності інгібітору трипсину у стійких та сприйнятливих сортів пшениці при зараженні зерна збудниками фузаріозу та альтернаріозу. В тканинах стійких форм рослин підвищення рівня активності інгібіторів трипсину при інфікуванні зерна патогенами може відбуватися за рахунок зміни характеру експресії генів, що кодують інгібітори трипсину. Ураження рослин сприйнятливих сортів пшениці, навпаки, призводить до пригнічення синтезу білків з інгібіторною активністю під впливом позаклітинних метаболітів патогенів.

Проведеними дослідженнями встановлені високі коефіцієнти кореляції між активністю інгібіторів трипсину в інфікованому зерні та стійкістю пшениці до фузаріозу і альтернаріозу. Таким чином, підвищення (або зниження) рівня активності інгібіторів трипсину в тканинах рослин пшениці при взаємодії зі збудниками фузаріозу та альтернаріозу є важливим фактором їх стійкості до ураження цими патогенами.

У відповідних реакціях рослин при патогенезі беруть участь лектини – білки зі специфічними біологічними властивостями, які зворотно і вибірково зв'язують вуглеводи, не спричиняючи їх хімічного перетворення (Луцки и др., 1981; Любимова, Сальнокова, 1988; Белава та ін., 2009). Захисну роль лектинів пов'язують з їх здатністю специфічно взаємодіяти з поверхнею клітин гіфів грибів, що призводить до пригнічення їх росту, а також зі спроможністю виступати в ролі ефекторів для включення сигнальних систем, які активують інші захисні реакції. Проведене нами дослідження активності лектинів зародків пшениці при інфікуванні збудниками фузаріозу та альтернаріозу в сортах пшениці, які відрізнялися за стійкістю до даних фітозахворювань, дозволило встановити диференційовані зміни лектинової активності залежно від стійкості до патогенів. При цьому сорти пшениці, стійкі за даними фітопатологічної оцінки, відрізнялися більш високою активністю лектинів на інфекційному фоні порівняно з контролем. Відомо,

що ураження патогенами викликає мультикомпонентну реакцію рослини, однією зі складових якої є зміни в гормональній системі, що призводить до індукованого зростання вмісту лектину, регулює його на рівні транскрипції, посттранскрипції і посттрансляції (Хайруллин и др., 1993; Шакирова, 2001; Белава та ін., 2009). Тому зміни лектинової активності можуть бути зумовлені, з одного боку, конформаційними перебудовами білкових молекул, в ході яких змінюється доступність вуглевод-зв'язуючих центрів, а з іншого – зміною вмісту цього білка, що регулюється фітогормонами. На підставі аналізу рівня лектинової активності в інфікованих зародках пшениці можна стверджувати, що лектини беруть участь у формуванні механізмів стійкості пшениці до фузаріозу та альтернаріозу.

Адаптаційні можливості рослин значною мірою визначаються рівнем стабільності структури та кінетичними характеристиками ферментів. Зокрема, припускають, що підвищення стійкості рослин до фітозахворювань можна досягти дією ефекторів, що збільшують активність ферментів фенольного метаболізму, таких як ФАЛ (Ксендзова, Тетюрев, 1977; Ильинская и др., 1991). Аналізуючи зміни активності ФАЛ, виявили, що більш істотне підвищення активності даного ферменту відносно контролю відбувалося у стійких до фузаріозу сортів пшениці при інфікуванні збудниками фузаріозу. Припускається, що геномний рівень індукції ФАЛ під впливом інфекції є основним (Ильинская и др., 1991). Ймовірно, що при ураженні рослин стійких сортів пшениці збудниками фузаріозної інфекції, утворюються елісатори, які спричиняють активацію експресії генів ФАЛ та індукцію синтезу відповідних мРНК, що призводить до зростання активності ферменту у стійких сортів пшениці. У сприйнятливих до збудників фузаріозу генотипів пшениці, очевидно, ці процеси відбуваються менш інтенсивно, що призводить до незначного підвищення рівня мРНК ФАЛ або зниження активності цього ферменту, що може бути результатом дії інгібіторів ФАЛ (фенольних сполук або специфічних білкових інгібіторів).

При інфікуванні рослин пшениці збудниками альтернаріозу активації ФАЛ не спостерігалось як у стійких, так і у сприйнятливих до даного захворювання сортів. Не виключено, що при ураженні рослин пшениці збудниками фузаріозу та альтернаріозу включаються різні механізми, які контролюють активність ФАЛ.

АКТИВНІСТЬ ІНГІБИТОРУ ТРИПСИНУ, ЛЕКТИНІВ ТА ФЕНІЛАЛАНІНАМОНІЛАЗИ

На підставі отриманих результатів можна зробити висновок, що зміна активності ФАЛ в тканинах рослин пшениці може використовуватися як один з критеріїв для оцінки стійкості пшениці до збудників фузаріозу.

Отримані результати підтверджують наші попередні дані, отримані на інших сортах пшениці (Адамовская и др., 2000; Молодченкова та ін., 2006), про різну спрямованість змін досліджених біохімічних компонентів захисних систем рослин пшениці при інфікуванні збудниками фузаріозу колоса та альтернативі у резистентних і сприйнятливих сортів пшениці, що свідчить про їх участь в формуванні механізмів стійкості рослин до даних фітозахворювань. Встановлені також особливості зміни активності ФАЛ у рослин пшениці при інфікуванні різними патогенами.

Таким чином, зазначені біохімічні показники (активність ІТ, лектинів, ФАЛ) є ефективними компонентами системи захисту рослин і можуть бути використані при розробці методів оцінки стійкості пшениці до фузаріозу та альтернативі на ранніх етапах селекції. У запропонованих методах оцінки як критерії стійкості селекційних зразків до патогенів можуть бути використані особливості зміни вищезазначених показників на інфекційному фоні.

ЛІТЕРАТУРА

- Адамовская В.Г., Клечковская 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.
- Белава В.Н., Панюта О.О., Таран Н.Ю. Роль лектинів у захисних реакціях рослин до фітопатогенів // Физиология и биохимия культ. растений. – 2009. – Т. 41, № 3. – 221-233.
- Дмитриев А.П. Сигнальные системы иммунитета растений // Цитология и генетика. – 2002. – Т. 36, № 3. – С. 58-68.
- Євтушенко М.Д., Лісовий М.П., Пантелєєв В.К., Слюсаренко О.М. Імунітет рослин. – К.: Колодів, 2004. – 304 с.
- Ильинская Л.И., Васюкова Н.И., Озерецковская О.А. Биохимические аспекты индуцированной устойчивости и восприимчивости растений // Итоги науки и техники. Сер. Защита растений. – М.: ВИНТИ, 1991. – С. 4- 78.
- Ксендзова Э.Н., Тюттерев С.Л. Изучение активности фенилаланин-аммиак-лиазы в связи с проблемой болезнеустойчивости растений // Тр. Всесоюз. НИИ защиты растений. – 1977. – № 52. – С. 66-76.
- Левицкий А.П. Методы определения ингибиторов трипсина // Биохимические методы исследования селекционного материала. Сб. научн. тр. – Одесса: ВСГИ, 1979. – Т.15. – С. 68-72.
- Литвиненко Н.А., Адамовская В.Г., Бирюков С.В. Характер наследования ингибитора трипсина и его связь с содержанием белка у гибридов пшеницы // Цитология и генетика. – 1999. – Т. 33, № 2. – С. 33-38.
- Луцк М.Д., Панасюк Е.Н., Луцк А.Д. Лектины. – Львов: Вища школа, 1981. – 155 с.
- Любимова Н.И., Сальникова Е.Г. Лектин-углеводное взаимодействие во взаимоотношениях растение – патоген // Прикл. биохимия и микробиология. – 1988. – Т. 24, № 4. – С. 596 – 606.
- Молодченкова О.О., Адамовська В.Г., Цисельська Л.Й., Волчевська О.Є. Зміни фенольного метаболізму в проростках злакових культур при фузаріозі та дії салицилової кислоти // Збірник наук. праць симпозиуму «Рослинні поліфеноли та неспецифічна резистентність». – 2006. – С. 21-22.
- Мосолов В.В. Ингибиторы протеолитических ферментов как защитные белки растений // Фитонциды. Бактериальные болезни растений: Мат-лы конф. – Львов, 1990. – С. 50-51.
- Серова З.Я., Юшко Л.С., Подчуфарова Г.М. Функции белков в фитопатогенезе. – Минск: Наука и техника, 1992. – 45 с.
- Топтиков В.А., Дьяченко Л.Ф., Тоцкий В.Н. Стратегия применения изозимных спектров оксидоредуктаз и гидролаз при разработке тест-систем для оценки и прогнозирования адаптивных возможностей растений // Геном рослин: Збірник наук. праць. – Одеса, 2008. – С. 135-139.
- Тоцкий В.Н., Хаустова Н.Д., Ашлибли Н.М., Сечняк А.Л. Генетико-биохимические механизмы онтогенетической и филогенетической адаптации // Цитология и генетика. – 2002. – Т. 36, № 3. – С. 69-75.
- Шакирова Ф.М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. – Уфа: Гилем, 2001 – 160 с.
- Хайруллин Р.М., Шакирова Ф.М., Максимов И.В. и др. Изучение содержания лектина, абсцизовой и индолилуксусной кислот в растениях пшеницы, инфицированных *Septoria S. nodorum*. Berk // Физиология и биохимия культ. растений. – 1993. – Т. 25, № 2. – С. 138-144.
- Ямалеев А.М. О связи устойчивости образцов пшеницы к твердой головне с активностью ингиби-

МОЛОДЧЕНКОВА та ін.

- торов протеиназ // Селекция и семеноводство. – 1989. – № 2. – С. 12 – 13.
- Яруллина Л.Г., Ибрагимов Р.И. Клеточные механизмы формирования устойчивости растений к грибным патогенам. – Уфа: Гилем, 2006. – 228 с.
- Lowry O.H., Rosebrough N.T., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – V. 193. – P. 265-275.
- Zucker M. Induction of phenylalanine deaminase by light its regulation to chlorogenic acid synthesis in potato tuber tissue // Plant Physiol. – 1965. – V. 40, № 5. – P. 779-784.

Надійшла до редакції
15.02.2010 р.

**ACTIVITY OF TRYPSIN INHIBITOR, LECTINS
AND PHENYLALANINEAMMONIALIASE OF WHEAT IN CONNECTION
WITH RESISTANCE TO FUSARIUM SPP. AND ALTERNARIA SPP.**

O. O. Molodchenkova, V. G. Adamovska, O. V. Babayanc,
L. Y. Ciselska, L. Ya. Bezкровna, Yu.A. Levitsky, N.Yu. Lerphina

*Plant Breeding and Genetic Institute – Center of Seed and Cultivar Investigation
of National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine
(Odesa, Ukraine)*

The growth processes, activity of trypsin inhibitor, lectins, phenylalanineammonialyase in the plants of wheat varieties which reliable different at the resistance to *Fusarium* spp. and *Alternaria* spp at the infection the excitors of this diseases are researched. In virtue of data of correlation analysis the conclusion is done, that the studied biochemical indexes are the effective components of the plant defense mechanisms of wheat and can be used for the development of methods of estimation of wheat resistance to *Fusarium* spp. and *Alternaria* spp. on the early stages of breeding.

Key words: *Triticum aestivum* L., *Fusarium*, *Alternaria*, *trypsin inhibitor*, *lectins*, *phenylalanineammonialyase*

**АКТИВНОСТЬ ИНГИБИТОРА ТРИПСИНА, ЛЕКТИНОВ
И ФЕНИЛАЛАНИАММОНИЙЛИАЗЫ ПШЕНИЦЫ В СВЯЗИ
С УСТОЙЧИВОСТЬЮ К ФУЗАРИОЗУ И АЛЬТЕРНАРИОЗУ**

О. О. Молодченкова, В. Г. Адамовская, О. В. Бабаянц,
Л. Й. Цисельская, Л. Я. Безкровная, Ю. А. Левицкий, Н. Ю. Лерфина

*Селекционно-генетический институт – Национальный центр семеноведения и сортоизучения
Национальной академии аграрных наук Украины
(Одесса, Украина)*

Исследованы ростовые процессы, активность ингибитора трипсина, лектинов, фенилаланинаммонийлиазы в растениях сортов и линий пшеницы, достоверно различающихся по устойчивости к фузариозу и альтернариозу, при заражении возбудителями этих заболеваний. Сделан вывод, что изученные физиолого-биохимические показатели являются эффективными компонентами механизмов защиты растений пшеницы от патогенов (*Fusarium graminearum* и *Alternaria* spp.) и могут быть использованы при разработке методов оценки устойчивости пшеницы к фузариозу и альтернариозу на ранних этапах селекции.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L., фузариоз, альтернариоз, ингибитор трипсина, лектины, фенилаланинаммонийлиаза