

УДК 581.1

## ПРОТЕИНАЗНО-ИНГИБИТОРНАЯ СИСТЕМА ПРИ ФОРМИРОВАНИИ ЗАЩИТНЫХ РЕАКЦИЙ РАСТЕНИЙ

© 2015 г. О. О. Молодченкова, В. Г. Адамовская

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

Представлены литературные данные и результаты собственных исследований относительно роли протеиназно-ингибиторной системы в формировании ответных реакций растений на действие биотических и абиотических факторов среды, взаимосвязь их с другими составляющими биохимической системы защиты растений, устойчивостью к фитопатогенам, абиотическим стрессорам.

**Ключевые слова:** *протеолиз, ингибиторы протеиназ, устойчивость, фитопатогены, абиотические стрессы*

Протеолиз – один из универсальных процессов живой природы, играющий важную роль в поддержании стационарных концентраций белков в живой клетке и организме (Антонов, 1983; Bohley, 1987; Мосолов, 1988). Протеолитические ферменты относятся к классу гидролаз и катализируют расщепление пептидных связей в молекулах белков и пептидов. Согласно классификации и номенклатуре ферментов – это пептидгидролазы и имеют шифр 3.4.11 (Брауштейн, 1979; Barrett, 1980; Левицкий, 1982; Фершт, 1980). Указанные ферменты, расщепляющие крайнюю или (вторую) с N- или C-конца пептидную связь, получили название экзопептидаз, или просто пептидаз. Остальные ферменты, которые расщепляют в молекуле белка внутренние пептидные связи, получили название эндопептидаз или просто протеиназ, с учетом современной номенклатуры и рекомендаций ряда авторов, представлены в табл. 1. Общее число пептидаз – гидролаз, внесенных в список ферментов до 1975 года, составляет 112 отдельных ферментов, из которых 75 являются протеиназами (Дунаевский и др., 1990).

К терминам, используемым в современной классификации ферментов, относятся следующие: тип – используется для разделения пептидаз по типу химических групп, суще-

ственных для катализа, а именно: аспартатные, цистеиновые, глутаматные, сериновые, треониновые, металлопротеиназы и протеиназы с неизвестным типом катализа; семейство – объединяет группу белков с гомологичными пептидазными единицами и обладающими статистически достоверным сходством аминокислотных последовательностей, по крайней мере, в области протеолитического модулирования; в основе каждого семейства – «типичный представитель»; клан – объединяет пептидазы, которые имеют единое эволюционное происхождение, что устанавливается, главным образом, на основании сходства третичной структуры, несмотря на возможное отсутствие статистически значимой гомологии последовательностей. Базы данных постоянно пополняются, что отражено в табл. 2, суммирующей объем данных MEROPS за последние годы (Немова, Бондарева, 2008). К настоящему времени идентифицировано 66524 последовательностей пептидаз (эндопептидаз, экзопептидаз и омегапептидаз). В новой классификации пептидаз учитываются различные аспекты каталитической активности, в том числе и чувствительность к ингибиторам. В основу классификации ингибиторов пептидаз положены те же принципы, что и в классификацию самих пептидаз. Ингибиторы не так широко распространены, как пептидазы. В наиболее широко распространенной группе ингибиторов цистеиновых пептидаз выделяют суперсемейство цистатинов – белков, обладающих

Таблица 1. Классификация протеолитических ферментов (пептидгидролаз) (Браунштейн, 1979; Barrett, 1980)

Название подподкласса	Шифр	Катализируемая реакция	Представители
А. Пептидазы (экзопептидазы)			
Аминопептидазы (аминоацетил-пептидгидролазы)	3.4.11	Пептид+H <sub>2</sub> O + аминокислота (с N-конца) + пептид (n-1)	Лейцинаминопептидаза С (3.4.11.1)
Карбоксипептидазы (гидролазы пептидиламинокислот)	3.4.12	Пептид+H <sub>2</sub> O + аминокислота (с С-конца) + пептид (n-1)	Карбоксипептидаза С (3.4.12.1) Карбоксипептидаза А (3.4.12.2)
Дипептидазы	3.4.13	Дипептид+H <sub>2</sub> O + 2 аминокислоты	Дипептидаза (3.4.13.11)
Дипептидил-пептидаза	3.4.14	Пептид+H <sub>2</sub> O = дипептид (с N-конца) + пептид (n-2)	Катепсин С (3.4.14.1)
Пептидил-дипептидаза	3.4.15	Пептид+H <sub>2</sub> O = дипептид	Карбоксикатепсин (3.4.15.1)
Б. Протеиназы (эндопептидазы)			
Сериновые	3.4.21	(с С-конца) + пептид	Химотрипсин (3.4.21.1) Трипсин (3.4.21.4) Эластаза (3.4.21.11) Папаин (3.4.22.2)
Цистеиновые (тиоловые)	3.4.22	Белки +H <sub>2</sub> O = пептиды	Катепсин В (3.4.22.1)
Аспаргатные (карбоксильные)	3.4.23	Белки +H <sub>2</sub> O = пептиды	Пепсин (3.4.23.1) Катепсин Д (3.4.23.6)
Металлопротеиназы	3.4.24	Белки +H <sub>2</sub> O = пептиды	Коллагеназа (3.4.24.3) Термолизин (3.4.24.4)
С неизвестным механизмом действия	3.4.99	Белки +H <sub>2</sub> O = пептиды	Ренин (3.499.19) Агавин (3.499.2) Гураин (3.499.9)

Таблица 2. Количество идентифицированных пептидаз, их семейств, кланов, а также ингибиторов пептидаз в базе данных MEROPS (Rawlings et al., 2002; 2006).

Параметр	MEROPS 6.3		MEROPS 7.1		MEROPS 7.7	
	2003		2005		2006	
	пептидазы	ингибиторы	пептидазы	ингибиторы	пептидазы	ингибиторы
Последовательности	18076	2651	30909	3690	55133	4731
Белки	1711	318	2053	532	2330	563
Семейства	172	48	180	53	185	53
Кланы	33	25	39	32	51	33

высокой степенью сходства и присутствующих у млекопитающих, птиц, насекомых, растений. В настоящее время большинство пептидгидролаз получено в очищенном состоянии и для ряда из них расшифрована первичная структура. Механизм каталитического действия протеиназ, особенно сериновых, изучен сравнительно полно. Использование различных активаторов и ингибиторов позволяет четко дифференцировать различные группы протеиназ (табл. 3).

В зерне злаков установлено наличие в основном цистеиновых (тиоловых) протеолитических ферментов папаиноподобной природы. Окончательное подтверждение данного вывода было получено, когда из муки пшеницы путем фракционирования по методу Норттропа получили частично очищенный препарат тиоловой природы (Skupin, Warchalewski, 1971).

Значительно меньше распространены в растительных тканях сериновые, аспаргатные и металлопротеиназы (Baxter, 1978; Feller, 1978).

Таблица 3. Критерии, на которых основана дифференциация эндопептидаз (Дин, 1981)

Ингибитор или активатор	Эндопептидазы			
	Сериновые	Цистеиновые	Аспаратные	Металлосодержащие
Пепстатин	-	-	Ингибитор	-
Дитиотреитол + ЭДТА (по 2 мм каждого)	-	Активатор	-	Ингибитор
Диизопропилфторфосфат (ДФФ) или метилфенилсульфонилфторид (МФСФ) (1мМ)	Ингибитор	Ингибитор	-	-
Пара-хлормеркурий-бензоат (ПХМБ) (1мМ)	-	Ингибитор	-	-
Диазоацетилнорлейцин-метилловый эфир + Cu (по 1мМ каждого)	-	Ингибитор	Ингибитор	-
Соевый ингибитор трипсина (100 мкг/мл)	Ингибитор	-	-	-
1,10 – фенантролин				
Наиболее вероятный оптимум рН действия	7-9	4-7	2-5	7-9

Установлено, что различные органы растения специализируются на образовании специфических сериновых протеиназ. В связи с этим сериновые протеиназы могут вовлекаться в процессы деградации белков, прорастания семян, протеолиза в пластидах, деградации предшественников белков в растительных митохондриях (Rawlings, Barrett, 1994; Roberts et al., 2003; Beers et al., 2004).

Растительные протеиназы находятся в зерне в виде сложных комплексов с другими ферментами и белками неферментативной природы. Значительное количество их ассоциировано с запасными белками, обладающими, в свою очередь, высокой агрегирующей способностью. Как правило, в злаках содержится несколько изоформ цистеиновых протеиназ: в зерне пшеницы и кукурузы обнаружено две изоформы (Feller et al., 1978), в зерне ячменя – три изоформы. У них сравнительно низкие молекулярные массы (12-36 кДа), а изоэлектрические точки находятся в области рН 2,3-4,4 (Вахтер, 1978). Оптимум действия цистеиновых протеиназ – в кислой зоне (3,0-4,0), они способны расщеплять белки животного и растительного происхождения (гемоглобин, альбумин, казеин, проламины), а также многие синтетические и природные полипептиды (Mougeux, 1979).

В зерне злаков обнаружены также цистеиновые протеиназы, не способные гидролизовать запасные белки. Так, одна из двух цистеиновых протеиназ пшеницы (протеиназа А) не обладает активностью по отношению к клейковине, однако гидролизует казеин и многие пептиды типа глицин-тирозин, окисленный глута-

тион и лейцин-глицил-глицин. Отличительной особенностью этого фермента является и более высокий его оптимум рН, равный 5-6 (Белтей, 1984).

Цистеиновые протеиназы, способные гидролизовать запасные белки, не обнаруживаются в зрелом зерне и появляются при его прорастании (Белтей, 1984). Наряду с ними в непроросшем зерне злаков присутствует еще целый ряд протеолитических ферментов. Некоторые из них нельзя отнести к цистеиновым, сериновым и металлопротеиназам (Шаненко и др., 1985). Биохимические свойства их фактически не изучены и физиологическая роль неизвестна. Другие являются карбоксильными протеиназами, так как их активность ингибируется пепстатином А. Эти ферменты имеют молекулярную массу около 25 кДа, изоэлектрическую точку 5,2-6,3 и их оптимум рН равен 3-4.

В зерне злаков содержится значительное количество пептидаз, карбоксипептидаз, аминопептидаз и дипептидаз. Среди них обнаружены ферменты, способные расщеплять N-α-бензоил-L-аргинин-пара-нитроанилид (БАПНАза, БАПАза или пептидгидролаза А), N-α-бензоил-L-аргинин этиловый эфир (БАЭЭ-эстераза или пептидгидролаза В), α-нафтил-ацетат (пептидгидролаза С), 1-лейцин-β-нафтил-амид (амидаза), а также пептидазы, гидролизующие ала-гли и лей-тир (Burger, Prentice, 1971).

Карбоксипептидазы наряду с эндопептидазами играют важную роль в мобилизации запасных белков при прорастании семян (Wingspear et al., 1984). Две карбоксипептидазы (А и

В) выделены из зерна пшеницы (Preston, Kruger, 1976), ячменя (Breddam, Sorensen, 1983) и три (с оптимумами pH 4,5; 5,5 и 7,0) обнаружены в семенах риса, одна из которых (с оптимумом pH 5,5) содержалась также в листьях. Молекулярная масса карбоксипептидаз находится в интервале 55000-120000 Да, эти ферменты нестабильны при нагревании и не изменяют своей активности в присутствии ионов  $Mg^{2+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $Na^{+}$  и сульфгидрильных реагентов. Данные ферменты гидролизуют гемоглобин и запасные белки злаков преимущественно при слабнокислых значениях pH (4,0-5,5). При этом следует отметить, что скорость протеолиза запасных белков, в частности клейковины, под действием этих ферментов составляет 10% от скорости протеолиза гемоглобина.

Наряду с карбоксипептидазами в зерне злаков содержится несколько изоформ аминопептидаз: в зерне ячменя – три, кукурузы – четыре. На примере ячменя было установлено, что активностью этих ферментов обусловлено образование 25% свободных аминокислот при гидролизе белков в эндосперме прорастающего зерна (Mikola, Kirsi, 1972). Оптимум pH аминопептидаз находится в пределах 6,0-7,2, а молекулярная масса – 60-90 кДа. Активность аминопептидаз обнаруживается также в листьях и корнях (Frith et al., 1975). В листьях растений обнаружены протеиназы с оптимумом действия при более низких pH (3,5-4,5). Они гидролизуют гемоглобин, ингибируются на 50% метилфенилсульфонилфторидом и имеют сравнительно высокую молекулярную массу (Frith et al., 1978; Vodkin, Scandalios, 1980).

Хорошо изучена функция протеиназ в процессах, контролируемых реакциями ограниченного протеолиза, в передаче клеточных импульсов, контроле качества белков, клеточном цикле, апоптозе, индивидуальном развитии и других физиологических и патологических процессах (Mayer et al., 1991; Goll et al.; Волкова, Немова, 2005; Бондарева и др., 2006). Характерными чертами регуляторного действия протеолитических ферментов является быстрота осуществления и высокая экономичность. При действии экстремальных факторов часто повышается активность внутриклеточных протеолитических ферментов, в результате чего образуются биологически активные вещества, которые, в свою очередь, влияют на синтез белка и нуклеиновых кислот. Так, показано, что при стрессовых воздействиях индуцируются структурные перестройки, характерные для долговременной адаптации, что является про-

явлением общего адаптационного синдрома. Известно, что протеолитические ферменты действуют на первом, ключевом этапе мобилизации белковых резервов клетки, и поэтому их роль в механизмах биохимической адаптации велика. Клеточный протеолитический аппарат должен быть высокоселективным и жестко регулируемым, так как усиленная деструкция жизненно необходимых белков или замедленная деградация короткоживущих регуляторных белков могут существенно изменить клеточные функции. Эти процессы требуют наличия в клетке достаточно тонких и надежных механизмов контроля, обеспечивающих максимальную эффективность и в то же время высокую избирательность внутриклеточного протеолиза (Немова, Бондарева, 2008).

В эукариотических клетках функционирует несколько механизмов деградации белков.

1. Убиквитин, АТФ-зависимый протеолиз. Образование комплекса убиквитина с белком-субстратом изменяет конформацию последнего и облегчает атаку протеазами. По этому механизму осуществляется деградация белков с небольшим временем жизни и аномальных белков.

2. Кальцийзависимые протеазы осуществляют деградацию многих белков, но особенно важны в протеолизе цитоскелетных структур.

3. АТФ-зависимый, но не требующий участия убиквитина, протеолиз.

4. Независимый ни от АТФ, ни от убиквитина путь деградации белков, определяющийся, по-видимому, лишь структурными особенностями атакуемых протеазами полипептидов.

5. Протеолиз ферментами лизосом – специальных органоидов, осуществляющих лизис самых различных сложных веществ клеток (Тарчевский, 1996).

Активность протеолиза контролируется многими факторами, например, ионным окружением, концентрацией ионов кальция, кальмодулинподобным кальцийсвязывающим белком, ингибиторами белковой природы и т.д. Было обнаружено, что простетические группы сложных белков защищают их от протеолиза. В последние годы все больше исследований посвящается белковым ингибиторам протеиназ, которые широко распространены в живых организмах и выполняют функцию регуляции протеолиза. Ингибиторы протеиназ имеют разнообразную химическую природу, но чаще все-

## ПРОТЕИНАЗНО-ИНГИБИТОРНАЯ СИСТЕМА

го это белки. Ряд ингибиторов протеиназ имеют молекулярную массу всего лишь в несколько тысяч дальтон (ингибитор Кунитца-Норттропа 6511 Да), а другие – несколько сот тысяч ( $\alpha_2$ -макроглобулин – 830000Да). Подавляющее число природных ингибиторов, являющихся псевдосубстратами, при этом очень легко и быстро образуют совместно с ферментами комплекс, который очень медленно распадается. Освобождающийся из комплекса ингибитор оказывается модифицированным, поскольку в нем расщеплена одна из специфических пептидных связей. Предполагаемая классификация ингибиторов протеолитических ферментов (табл. 4) основана на классификации ферментов (Левицкий, 1982).

В пределах каждой группы ингибиторы подразделяются в зависимости от механизма действия, размеров и т.д.

Ингибиторы протеолитических ферментов обнаружены у многих видов растений, относящихся к различным систематическим группам. По содержанию ингибиторов на первом месте стоят представители семейства бобовых, значительные количества ингибиторов обнаружены и в семенах злаков. По уровню содержания ингибиторов трипсина злаковые культуры располагаются следующим образом (в порядке убывания): рожь, ячмень, кукуруза, пшеница, овес (Boisen, Djurtoft, 1982; Мироненко и др., 1990).

В семенах злаков, как известно, обнаружены и ингибиторы химотрипсина, а также незначительное количество (0,5-1,0% от общего содержания) ингибиторов эндогенных протеиназ (Конарев, 1987; Валуева и др., 1989). Данные ингибиторы отличаются друг от друга как по биохимическим свойствам, так и по генетическому контролю. Содержание ингибиторов протеиназ в растениях изменяется под влиянием условий выращивания. Однако видовые и сортовые различия в их содержании, а также

компонентный состав ингибиторов сохраняются независимо от года репродукции, что свидетельствует о генетической обусловленности данного признака (Адамовская, 1984).

В настоящее время многие ингибиторы протеиназ семян злаков выделены в очищенном виде. Наиболее изучены в этом плане ингибиторы трипсина. Это теплоустойчивые белки. Прочность белковой молекулы обусловлена остатками цистеина. В молекуле ингибитора трипсина ячменя имеется пять дисульфидных связей, пшеницы – девять, ржи – четыре (Odani et al., 1986). Свободных тиоловых групп у ингибиторов трипсина не обнаружено, а восстановление дисульфидных связей приводит к полной потере ингибиторной активности (Chang, Tsen, 1981).

Для большинства ингибиторов, выделенных из зерна, молекулярные массы находятся в пределах 6-24 кДа (Tashiro, Maki, 1979). По молекулярной массе нативные ингибиторы листьев пшеницы делятся на три основные группы: 18-19, 10-12 и 6-8 кДа (Конарев, 1987). Величины молекулярных масс ингибиторов трипсина из листьев других культур значительно варьирует. Так, ингибиторы из листьев люцерны имели молекулярную массу 7,5 кДа (Brown, Ryan, 1984) и 6,9 кДа (Сухинин и др., 1990), из листьев табака – 10 кДа (Rickauer et al., 1989). Из этилированных листьев табака выделен протеиназный ингибитор с молекулярной массой 39 кДа, который подобно ингибиторам из картофеля и томатов, состоит из пяти субъединиц с молекулярной массой 8 кДа (Brown, Ryan, 1984).

Ингибиторы трипсина различных злаковых культур отличаются друг от друга по своим изоэлектрическим точкам: для ингибитора кукурузы – pI 5,3; pI 6,0; pI 7,9 (Метлицкий, Озерецковская, 1985), ячменя – pI 7,4; pI 7,51 (Малиновский, 1982), ржи и пшеницы – pI 9,0-9,35 (Bisen et al., 1981). Они тормозят актив-

**Таблица 4. Классификация ингибиторов протеолитических ферментов (Левицкий, 1982; Валуева, Мосолов, 2002).**

Группа ингибиторов	Представитель
Ингибиторы сериновых протеиназ	Ингибитор Кунитца-Норттропа, ингибитор Казала, ингибитор подчелюстных желез собаки, соевый ингибитор трипсина, $\alpha_1$ -антитрипсин, $\alpha_2$ – макроглобулин
Ингибиторы цистеиновых протеиназ	Цистатины
Ингибиторы аспартатных протеиназ	Пепстатины
Ингибиторы металлопротеиназ	Флавоноиды

ность трипсина, в ряде случаев проявляется слабый эффект по отношению к химотрипсину, но не воздействуют на пепсин, калликреин и эластазу. В активном центре данных ингибиторов содержится аргинин. У ингибитора трипсина, выделенного из ячменя, активный центр находится в 33-34 положении и образован арглей (Валуева, Мосолов, 2002).

Аминокислотный состав многих ингибиторов, выделенных из растений, и являющихся простыми белками, отличается неполноценностью. Значительная часть из них не содержат триптофан и характеризуются низким уровнем ароматических аминокислот. Это типично для многих растительных ингибиторов, особенно из семян бобовых, с чем связан необычный характер их УФ спектров, лишенных свойственного другим белкам четкого максимума при 278-280 нм. У ингибиторов трипсина эндосперма ячменя, ржи и пшеницы очень похожий аминокислотный состав, однако отличаются они друг от друга иммунологическими свойствами. По своей первичной структуре ингибитор трипсина ячменя не похож ни на один из ингибиторов сериновых протеиназ, что позволяет говорить о его принадлежности к новой группе (семейству) ингибиторов (Конарев, 1992). В то же время он по своей аминокислотной последовательности в значительной степени гомологичен с ингибитором  $\alpha$ -амилазы пшеницы и запасным белком клещевины (Мосолов, 1995). Эти данные указывают на возможную эволюционную дивергенцию различных классов белков и наличие одного общего предшественника, а также на то, что ингибиторы протеиназ можно рассматривать как составную часть запасных белков.

У растений интенсивное образование ингибиторов протеиназ наблюдается при стрессе – при механическом повреждении, при действии различных патогенов и т.д. Значительный практический интерес представляют последние достижения биотехнологии по созданию трансгенных растений, содержащих гены ингибиторов протеиназ и обладающих повышенной устойчивостью к различного рода неблагоприятным воздействиям. Подобный подход позволяет не только повысить урожайность многих культурных растений, но и способствует улучшению экологической обстановки за счет снижения использования высокотоксичных химических средств защиты растений (Estruch et al., 1997; Mourgues et al., 1998). Гены свыше 14 белковых ингибиторов перенесены из растений одного вида в растения других видов (Schuler et

al., 1998). В подавляющем большинстве трансгенные растения, содержащие гены ингибиторов протеиназ, характеризовались повышенной устойчивостью к насекомым и некоторым другим вредителям. Однако показано, что по своей устойчивости трансгенные растения, содержащие гены ингибиторов протеиназ, пока уступают растениям, содержащим гены токсинов *Bacillus thuringiensis* (Gatehouse et al., 1999). Предполагается, что наиболее перспективными могут стать трансгенные растения, содержащие гены ингибиторов протеиназ в сочетании с генами других белков. Так, например, были созданы растения батата (*Ipomoea batatas* (Lam.)), содержащие одновременно гены трех белков: глюкокоронидазы, ингибитора трипсина (СрТІ) и лектина подснежника (*Galanthus nivalis* L.) (Newell et al., 1995). Были получены растения табака, содержащие гены токсина *Bacillus thuringiensis* и СрТІ. Такие растения обладали более высокой инсектицидной активностью по сравнению с растениями, содержащими только гены токсина *Bacillus thuringiensis* (Zhang et al., 2000). Высказано предположение, что в подобных случаях ингибиторы протеиназ помимо выполнения своих основных функций, еще и защищают другие рекомбинатные белки от разрушающего действия протеиназ растений (Валуева, Мосолов, 2002).

Установлено, что воздействие различных неблагоприятных факторов среды сопровождается значительными изменениями в активности протеолитических ферментов и их ингибиторов и при этом происходят определенные изменения и в экспрессии кодирующих их генов. Так, показано, что возрастание холодоустойчивости растений пшеницы при действии низкой закалывающей температуры связано с регулируемым абсцизовой кислотой усилением экспрессии гена *CP* цистеиновой протеиназы. Однако экспрессия гена *CP* носила транзиторийный характер: ее уровень снижался, когда устойчивость достигала максимальных значений (Таланова и др., 2012). При действии низких температур происходили изменения экспрессии ряда генов цистеиновых протеиназ и у других растений. Так, под влиянием пониженной температуры было обнаружено усиление накопления мРНК генов *CatB* у растений ячменя (Martinez et al., 2003), *C14* и *C17* у томата (Schaffer, Fisher, 1988) и *A1494* у арабидопсиса (Williams et al., 1994). Усиление экспрессии генов цистеиновых протеиназ обнаружено также в условиях засухи у арабидопсиса (Koizumi et al., 1993), при засолении у гороха (Jones, Mullet, 1995), при аноксии у кукурузы (Subbaiah et al., 2000).

Обработка абсцизовой кислотой в нормальных условиях приводила к возрастанию холодоустойчивости растений пшеницы, но не вызвала усиления экспрессии гена *CP* и повышения активности цистеиновых протеиназ. Абсцизовая кислота также не влияла на экспрессию гена *Cyp15a* цистеиновой протеиназы у растений гороха (Jones, Mullet, 1995) и гена *CatB* катепсин-В-подобной цистеиновой протеиназы у ячменя (Martinez et al., 2003). Авторами был сделан вывод, что положительное влияние экзогенной абсцизовой кислоты на устойчивость растений пшеницы до начала холодового воздействия не связано с функционированием цистеиновых протеиназ, а определяется другими механизмами (Таланова и др., 2012). Установлено также, что в начальный период (1-5 ч) холодового закаливания пшеницы увеличение устойчивости сопровождалось повышением накопления мРНК гена *WC3* ингибитора цистеиновых протеиназ цистатина. Усиление экспрессии этого гена в условиях низкой температуры, обнаруженное в листьях пшеницы (Таланова и др., 2012), указывает на его участие в повышении холодоустойчивости растений. В листьях каштана повышенный уровень транскриптов ингибиторов цистеиновых протеиназ был отмечен при действии низкой и высокой температуры, а также избыточного засоления (Pernas et al., 2000). Ингибитор протеаз *WC3*, противодействуя повышению активности протеаз, вероятно, защищает жизненно важные структуры клетки от возможного излишнего протеолиза как в условиях нормальных температур, так и при действии холода. Высказано предположение, что в стрессовых условиях функции ингибиторов протеиназ у растений не ограничиваются способностью подавлять активность протеолитических ферментов, а связаны с их ферментативной активностью, а также с влиянием на активность глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (Мосолов и др., 2001). Установлено увеличение активности ингибитора химотрипсина под влиянием экзогенной абсцизовой кислоты и активности ингибитора трипсина под действием жасмоновой кислоты в листьях ячменя, что свидетельствует о различных путях регуляции индукции этих двух ингибиторов (Casaretto, Ho, 2002).

Изучено было влияние кадмия (100 мкМ) на экспрессию генов, кодирующих АТФ-зависимые протеиназы хлоропластов и митохондрий (*ClpP*, *Lon1*), цистеиновую протеиназу (*Cys*), а также ингибитор цистеиновой протеиназы (*inCys*), в листьях проростков яровой пшеницы. Установлено, что в начальный пери-

од (5 ч) его действия на растения происходит усиление экспрессии генов протеолитических ферментов *ClpP* и *Lon1*, однако в дальнейшем (3-4 сутки) уровень транскрипции этих генов снижается до исходных значений. Содержание транскриптов гена ингибитора трипсина *inCys* также резко повышалось в первые часы действия кадмия, а затем возвращалось к исходному уровню. В отличие от этого, экспрессия гена *Cys* была снижена в течение всего периода действия кадмия. Полученные данные рассматриваются как свидетельство участия протеолитических ферментов и их ингибиторов в неспецифических защитно-приспособительных реакциях растений пшеницы, которые должны обеспечить время, необходимое для разворачивания долговременных специализированных адаптивных программ, направленных на повышение устойчивости растений к стрессу, обусловленному действием тяжелых металлов, в частности кадмия (Таланова и др., 2011).

Установлено, что активация одной или нескольких цистеиновых протеиназ является одним из механизмов запуска программируемой клеточной смерти в клетках сои. Ингибирование цистеиновых протеиназ вследствие экспрессии гена эндогенного ингибитора цистеиновых протеиназ цистатина приводило к ингибированию этих ферментов и блокированию программируемой клеточной смерти, вызванной авирулентным штаммом *Pseudomonas syringae pv glycinea* или окислительным стрессом. Подобная экспрессия ингибиторов сериновых протеиназ не приводила к таким эффектам. Сделан вывод, что программируемая клеточная смерть в тканях растений может регулироваться активностью цистеиновых протеиназ и их ингибиторов. Высказано предположение, что гены протеиназных ингибиторов являются модуляторами программируемой клеточной смерти у растений (Solomon et al., 1999).

VPE (vacuolar processing enzymes) также являются цистеиновыми протеазами. В арабидопсисе были идентифицированы четыре VPE протеазы, связанные с процессами формирования запасных белков семян (Shimada et al., 2003; Gruis et al., 2004). Установлено, что один из генов *VPE* (*gVPE*) индуцировался при поранении (Yamada et al., 2004) и (*like RD21*) *gVPE*-протеин аккумулировался в индуцированных поранением ER тельцах (Hayashi et al., 2001). Обнаруженная CDR1 аспарат-пепсиноподобная протеаза (A1) при сверхэкспрессии вызывает конституционную устойчивость к *Pseudomonas bacteria* (Xia et al., 2004).

Известно, что сериновые протеиназы выполняют несколько важных функций в растительной клетке: выступают в качестве сигнальных пептидов в микроспорогенезе, симбиозе; индуцируются при атаке патогенами, прежде всего при СВЧ; участвуют в сигнальных путях, регулирующих Rubisco proteolysis, который является триггером образования грибных токсинов. Установлено, что различные органы растения специализируются на образовании специфических сериновых протеиназ. В связи с этим сериновые протеиназы могут вовлекаться в процессы деградации белков, прорастания семян, протеолиза в пластидах, деградации предшественников белков в растительных митохондриях (Antao, Malcata, 2005).

Идентифицированы некоторые гены сериновых протеиназ. Так, из томатов был выделен кластер геномных клонов, включающих группу из четырех различных генов субтилизин-подобных протеаз (*P69A*, *P69B*, *P69C* и *P69D*). Несмотря на их сходство (79-88% идентичность), эти четыре гена отличались по уровню транскрипционной регуляции и картине экспрессии. Показано, что экспрессионные профили этих генов в процессе развития были различны, а *P69A* и *P69D* экспрессировались конститутивно, в то время как *P69B* и *P69C* экспрессировались при инфицировании *Pseudomonas syringae* и не регулировались салициловой кислотой. Предполагается, что четыре гена этих сериновых протеаз могут принадлежать к группе генов семейства растительных субтилаз. Эти четыре *P69*-подобные протеазы, возможно, играют важную роль в некоторых специфических процессах протеолиза, которые происходят в растениях при патогенезе (Jorda et al., 1999). Позже были охарактеризованы еще два гена *P69* семейства субтилаз, выделенные из растений томатов, которые были названы *P69E* и *P69F*. Эти гены организованы в кластер и в тандем, они по-разному регулируются: *P69E* мРНК экспрессируется только в корнях, в то время как *P69F* мРНК экспрессируется только в листьях томатов. Авторы работ, сравнив аминокислотные последовательности, структуру, профили экспрессии и кластерную организацию изученных *P69* генов, предложили рабочую модель эволюции этого семейства генов (Jorda et al., 2000). Была предложена классификация семейства генов субтилаз в *L. esculentum*. Согласно этой классификации, семейство генов субтилаз томатов включает 15 представителей на основании сравнения их последовательностей и может быть разбито на пять различных подсемейств. Сделано предположение,

что отдельные гены принадлежат к LeSBT1, LeSBT2 и tmp, а 5 и 6 генов к LeSBT3/4 и P69 подсемействам генов. С использованием нозерн-блот- или RT-PCR-анализов было показано, что пять подсемейств генов субтилаз характеризуются различной картиной экспрессии генов в тканях томатов (Meichtry et al., 1999). В сое были идентифицированы две субтилизин-подобных протеазы, названные SLP-1 и SLP-2. Ген *SLP-2* был выделен как из развивающихся семян, так и из взрослых растений, в то время как *SLP-1* детектировался только в ранних развивающихся семенах сои (Beilinson et al., 2002). S8 семейство сериновых протеаз было описано в *Arabidopsis sp.* Авторами было построено филогенетическое дерево из 54 субтилаз арабидопсиса, базирующееся на изучении кодирующих их генов. Субтилазы арабидопсиса были сравнены с S8 протеазами из дыни, лилии, томатов и сои. Ныне сложно объяснить эволюционную дивергенцию между этими ферментами, так как генные кластеры этих субтилаз имеют различную структуру (Beers et al., 2004).

Высказано предположение о важной роли протеаз в защитных механизмах растений (Hoorn, Jones, 2004). Во-первых, протеазы могут высвобождать элиситоры из клеток патогена, которые впоследствии распространяются и распознаются в тканях растений. Так, антиген, представляющий собой большой гистологически совместимый комплекс-I (МНС-I), включается в сходные процессы с участием аминокислотаза ERAAP (Serwold et al., 2002). Во-вторых, специфическое связывание элиситоров может активироваться протеазами, активация которых может происходить вследствие образования сигнальных компонентов при протеолизе. Этот механизм был описан на примере регуляторного фактора С сериновой протеазы *Horseshoe crab*, который активируется при связывании с липополисахаридом (LPS) патогена. Эта активация приводит к протеолитическому каскаду, в результате которого развивается защитная реакция, включающая свертывание крови (Ariki et al., 2004).

В лаборатории биохимии растений СГИ-НЦСС также были проведены исследования по изучению активности протеиназно-ингибиторной системы в зерне и проростках озимой пшеницы и ярового ячменя в связи с ее возможным участием в процессах формирования устойчивости растений к действию биотических и абиотических факторов окружающей среды. Исследования были проведены в срав-



нительном аспекте на растениях, различающихся по уровню устойчивости к таким болезням как фузариоз, мучнистая роса, бурая ржавчина, а также у различных по морозоустойчивости сортов озимой пшеницы.

При заражении растений озимой пшеницы возбудителями бурой ржавчины, мучнистой росы и фузариоза происходили изменения в протеиназно-ингибиторной системе вегетативных органов растений. Характер этих изменений, с одной стороны, определяется степенью устойчивости/восприимчивости сорта, типом питания патогена, интенсивностью поражения и фазой развития болезни. С другой стороны, часть изменений, происходящих в белок-протеиназном комплексе, характерна для всех исследуемых фитопатосистем и является общей, а часть – специфична и проявляется только в определенных системах растение-патоген или при поражении растений с определенным типом устойчивости. Так, при поражении растений озимой пшеницы облигатными паразитами, возбудителями бурой ржавчины или мучнистой росы общей закономерностью является увеличение активности кислых, нейтральных протеиназ и карбоксипептидаз в тканях восприимчивых сортов. В то же время инфицирование устойчивых сортов не влияет на интенсивность тканевого протеолиза или незначительно увеличивает его. Активность БАПНАзы в большинстве случаев в эксперименте падает. Фузариозная инфекция в тканях надземной части проростков вызывала уменьшение активности кислых протеиназ в первые, а активности БАПНАзы – в последние дни опыта, и торможение активности нейтральных протеиназ только в листьях устойчивых сортов по мере развития болезни (Волчевская, 1991). Можно предположить, что нейтральная протеиназа является ферментом, который обеспечивает определенное преимущество у устойчивых растений в борьбе с патогеном. Не исключено, что данный фермент необходим организму для расщепления белковых чужеродных веществ таких, как токсины (Валуева, Мосолов, 2002). Изменение скорости протеолиза приводило к нарушению белкового обмена в инфицированных тканях растений. При этом показано, что поражение облигатными паразитами у восприимчивых сортов сопровождалось уменьшением содержания белка, а у устойчивых – увеличением его количества в листьях. Фузариозная инфекция вызывала снижение содержания белка в листьях пораженных растений независимо от уровня устойчивости к патогену (Вовчук и др., 1992).

Одним из механизмов регуляции протеолиза являются ингибиторы собственных и чужеродных пептидгидролаз. При изучении динамики изменения содержания ингибитора трипсина в разных органах прорастающих семян на фузариозном фоне и без него, были получены следующие результаты. В процессе развития зерновки происходило снижение содержания ингибитора трипсина вегетативных частей проростков, в результате чего их количество в надземной части проростков и корнях за пять суток уменьшалось более, чем в два раза у контрольных растений. Вместе с тем, у зараженных растений наблюдалось замедление снижения активности ингибитора трипсина. Оно было намного более выражено у устойчивых сортов как в тканях надземной части проростков, так и в тканях корней и составляло 230 и 170% относительно контроля соответственно, а у восприимчивых сортов – только 150 и 130% соответственно. Такая реакция на действие патогена указывает на протекторную функцию ингибиторов трипсина и предполагает их участие в формировании защитных механизмов растений. Она носит общий характер, так как свойственна и эндосперму, и листьям проростков. Вероятнее всего, растения используют ингибиторы протеолитических ферментов для нейтрализации трипсиноподобных протеиназ фузариозных грибов и их токсинов (Волчевская и др., 1991).

Поражение растений облигатными патогенами также вызывало изменения в ингибиторной активности листьев пшеницы. В этом случае также происходило уменьшение содержания ингибитора трипсина в контрольных растениях и увеличение его количества в пораженных листьях растений восприимчивых, а не устойчивых сортов пшеницы. Более того, процесс распространения заболевания по здоровым участкам листа сопровождался одновременным накоплением ингибитора трипсина, что особенно четко прослеживалось при поражении мучнистой росой. Данная реакция восприимчивых сортов на поражение облигатными патогенами является результатом усилий растения на стабилизацию протеолитической системы, активируемой патогеном, и может определять защитные, но не иммунные свойства организма, являясь неспецифической ответной реакцией на внедрение патогена и развитие болезни. Различные по устойчивости к фузариозу сорта озимой пшеницы характеризовались разной степенью снижения активности ингибитора трипсина вегетативных частей проростков при проращивании на инфекционном фоне. Обна-

руженная закономерность при инфицировании факультативными патогенами указывает на важную роль ингибиторов трипсина в формировании иммунных свойств организма (Адамовская и др., 1992). На основе полученных результатов был разработан метод оценки пшеницы на устойчивость к фузариозу (Авт. свид. 1779305 СССР, А 01 Н1/04).

Особое значение имеют исследования активности пептидгидролаз при стрессовых состояниях, когда изменение метаболических процессов в клетке связано с адаптацией растений к новым условиям среды. Исходя из этого, было проведено изучение активности протеолитических ферментов проростков сортов озимой пшеницы, различающихся по морозоустойчивости, в связи с предполагаемым их участием в процессах криоадаптации.

Как показали наши исследования, изменение активности пептидгидролаз в проростках зависило от фазы закаливания растений и в значительной степени определялись уровнем морозоустойчивости сорта. Активность всех изученных пептидгидролаз в исходных, не подвергнутых холодному закаливанию проростках высокоморозоустойчивых сортов, была достоверно ниже активности данных ферментов в проростках средне- и слабоморозоустойчивых сортов (Вовчук и др., 1991). В литературе имеются сведения о том, что проростки более морозоустойчивых сортов пшеницы накапливают в оптимальных условиях больше белков. Поэтому более низкая активность пептидгидролаз в проростках высокоморозоустойчивых сортов может рассматриваться как фактор защиты белковых молекул от протеолитической деградации. Устойчивость озимой пшеницы к холоду генетически детерминирована, поэтому на стадии проростков, не подвергавшихся холоду, уже существуют метаболические различия по данному показателю между контрастными по морозостойкости сортами пшеницы (Колоша, 1986). Наши исследования показали, что эти отличия относятся и к уровню протеолиза. Впервые было выявлено две группы пептидгидролаз (нейтральные и карбоксипептидазы), уровень активности которых был выше у морозоустойчивых сортов. Полученные результаты дают основание предполагать о возможном участии этих ферментов в общих механизмах адаптации и формировании устойчивости озимой пшеницы к низким температурам, а показатель изменения активности этих пептидгидролаз рекомендовать для использования в селекционно-генетических исследованиях.

БАПНАза и кислые протеиназы, уровень активности которых был выше в проростках слабоморозоустойчивых сортов пшеницы на всех этапах холодного закаливания, являются, по-видимому, фактором деструкции белков растительной клетки (Макаренко, 1993).

Большое теоретическое значение имеет обнаружение пептидгидролазной активности в межклеточном пространстве проростков пшеницы. Причем при действии низких температур удельная активность нейтральных протеиназ и карбоксипептидазы в межклеточной жидкости проростков высокоморозоустойчивых сортов пшеницы повышалась в большей степени по сравнению с этими показателями у средне- и низкоморозоустойчивых сортов, что указывает на адаптогенную роль протеиназ при действии низких температур. При выяснении возможных механизмов активации протеолиза в проростках пшеницы при действии низких температур было установлено, что этот процесс не обусловлен переводом ферментов из метаболически неактивного связанного состояния в свободную форму, а также не зависит от изменения содержания ингибиторов эндогенных протеиназ и карбоксипептидаз (Макаренко и др., 1994). Наряду с этим был обнаружен низкомолекулярный активатор карбоксипептидаз, изучение специфичности действия которого не выявило отличий в активирующей способности данного модификатора по отношению к карбоксипептидазам из проростков различных по морозоустойчивости сортов пшеницы. При низкотемпературном воздействии не происходило также изменения общего количества активатора, хотя по содержанию аминокислот и сахаров активаторы, выделенные из исходных и закаленных проростков, значительно отличались друг от друга, что, по всей видимости, отражает особенности метаболизма в растениях при адаптации. В то же время обнаруженный нами активатор открывает новые перспективы в изучении механизмов внутриклеточного протеолиза в тканях растений и животных, так как повышает активность других карбоксипептидаз (из эндосперма пшеницы, дрожжей и поджелудочной железы свиньи, не действуя при этом на такие эндопептидазы, как трипсин, химотрипсин и папаин) (Макаренко, 1993). Несмотря на то, что в настоящее время не получены окончательные результаты по химическому составу активатора и механизму активации карбоксипептидаз, регуляторные функции данного модификатора могут быть связаны с изменением его внутриклеточной компартментации и локализации в системе клетка–межклетник. По-

сколькo объектом непосредственного воздействия пептидгидролаз являются белки, изменение активности этой группы тесно связано с белковым метаболизмом. Имеющиеся литературные данные (Джаумов, 1986) и собственные исследования свидетельствуют о том, что при воздействии низкой температуры происходит исчезновение некоторых белков и снижение общего содержания белка растительной клетки, увеличение низкомолекулярных пептидов и свободных аминокислот.

Таким образом, одним из звеньев сложного механизма адаптации растений является внутриклеточный протеолиз под действием нейтральных протеиназ и карбоксипептидазы, увеличение уровня которых при этом рассматривается не как признак деструкции тканей, а как усиление физиологической активности, направленной на противостояние воздействию фактору. Под действием этих пептидгидролаз некоторая часть сложных белковых соединений может переходить в более простые, при этом повышается гидрофильность белков и накапливаются свободные аминокислоты, что имеет значение для адаптации и выживания растений в новых изменяющихся условиях. Исследование биологических свойств проростков пшеницы, подвергнутых холодовому воздействию, выявило высокий уровень биологической активности и адаптогенные эффекты экстракта проростков: противоязвенные, радиопротекторные, антиоксидантные. На основании проведенных исследований был создан новый препарат адаптогенного действия под названием «Биотрит» (НПА «Одесская биотехнология»).

Проблема повышения устойчивости растений к фитопатогенам является одной из центральных в современном растениеводстве. К биохимическим факторам индуцированной устойчивости относятся такие реакции растений, как образование фитоалексинов, фенолов, патогенезозависимых белков, активация гидролитических ферментов (Pierpoint et al., 1990; Озерецковская, 2002). Образование защитных реакций в растениях может индуцироваться под влиянием ряда химических агентов (Loon, 1983; Raskin, 1992; Conrath et al., 1995). Известно, что такие химические соединения, как полиакриловая кислота, этефон, 2,6-дихлороизоникотиновая кислота, а также салициловая кислота индуцируют в растениях образование PR-белков и формирование приобретенной устойчивости (Loon, Gerritsen, 1989; Kessmann et al., 1994; Ryals et al., 1994; Lawton

et al., 1995). Еще в 90-е годы прошлого столетия в литературе появились данные о влиянии салициловой кислоты на индукцию протеиназных ингибиторов (Seong-Ryong et al., 1992). Нами было проведено изучение влияния салициловой кислоты на протеиназно-ингибиторную систему проростков и зерна озимой пшеницы в связи с их возможным участием в формировании устойчивости к фузариозу и использованием этих показателей в селекции. Было показано, что опрыскивание 6-дневных проростков растворами салициловой кислоты и проращивание семян на растворах с различными концентрациями салициловой кислоты приводит к увеличению в тканях проростков активности ингибитора трипсина и изменению активности протеиназ (Вовчук и др., 1997). Индукция ингибитора трипсина под влиянием салициловой кислоты, вероятно, является, с одной стороны, проявлением слабого химического стресса, а с другой – может приводить к включению антистрессовых программ, способствующих преадаптации растений к возможным неблагоприятным воздействиям. По данным Lawton et al. (1995), под действием салициловой кислоты происходило образование PR-белков, часть из которых являлись ингибиторами протеиназ.

Сравнительное изучение действия салициловой кислоты и фузариозной инфекции на протеиназно-ингибиторную систему показало, что увеличение активности нейтральных протеиназ и уровня активности ингибитора трипсина происходило как при инфицировании патогеном, так и при действии салициловой кислоты. В то же время увеличение активности кислых протеиназ наблюдалось только при действии на растения салициловой кислоты как у устойчивых, так и у восприимчивых сортов. Можно предположить, что отсутствие активации кислых протеиназ при заражении фузариозом обусловлено тем, что, как известно, кислые протеиназы локализованы в вакуолях и низкая активность данных ферментов не способна изменить проницаемость тонопласта (Серова и др., 1992). А так как на ранних сроках развития проростков мицелий гриба и его ферменты в незначительном количестве присутствуют в растениях, в нашем эксперименте и не наблюдалось увеличения активности кислых протеиназ опытных растений относительно контроля. Под влиянием салициловой кислоты, по всей видимости, увеличение активности кислых протеиназ происходит вследствие активации экспрессии генов данных ферментов под дей-

ствием сигнала, индуцируемого салициловой кислотой.

Активация протеиназно-ингибиторной системы приводит к изменениям в характере обновления белков, вследствие чего меняется уровень свободных аминокислот в тканях растений. Повышение уровня свободных аминокислот под действием салициловой кислоты может быть результатом увеличения активности протеолиза (карбоксипептидаз, дипептидаз) или в результате усиления функционирования фотосинтеза, дыхания, трансаминирования и других метаболических путей, являющихся также источником их появления. Изучение аминокислотного состава белков надземной части проростков показало, что под действием салициловой кислоты происходит увеличение в большей степени содержания пролина, метионина, лейцина, изолейцина, глицина и уменьшение гистидина (Молодченкова, 1997). Белки корней растений, обработанных салициловой кислотой, отличались повышенным содержанием основных аминокислот – лизина, аргинина, а также глицина, аланина и снижением концентрации глутаминовой кислоты (Молодченкова, 1997). Известно, что белки, в составе которых увеличивается содержание метионина, изолейцина, пролина, лейцина, аргинина участвуют в развитии защитных реакций (Серова и др., 1992).

Действие биотических и абиотических факторов приводит к модификации белков растений. Анализ электрофореграмм белков 6-дневных проростков, обработанных салициловой кислотой, показал, что под действием салициловой кислоты происходит увеличение компонентов с молекулярной массой 10 и 29 кДа, что, по нашему мнению, вызвано усилением процессов биосинтеза белков. Действие патогена приводит к повышению интенсивности всех белковых компонентов ингибитора трипсина и появлению нового белкового компонента с молекулярной массой 29 кДа, образование которого можно рассматривать как проявление ответной реакции растения на действие патогена (Вовчук и др., 1997).

Сравнительное изучение действия салициловой кислоты и фузариозной инфекции показало, что средний уровень содержания ингибитора трипсина у устойчивых сортов в зерне и 6-суточных проростках выше, чем у восприимчивых. Эти результаты свидетельствуют о том, что ингибиторы трипсина являются одним из факторов, лежащих в основе физиолого-биохимических механизмов устойчивости к

фузариозу, и могут играть важную роль в защите растений от инфекции, а салициловая кислота является индуктором данного механизма защиты растений (Молодченкова, 1997; Адамовская и др., 2000).

Основываясь на данных литературы (Ильинская и др., 1991; Шакирова, 2001; Яруллина, Ибрагимов, 2006), можно предположить, что конкретный путь включения ингибиторов трипсина в развитие защитной реакции может проходить на нескольких уровнях. Один из них – взаимодействие патогена (салициловой кислоты) с рецепторами растительной клеточной стенки, завершающееся образованием цепи сигналов, передающихся в ядро и изменяющих характер экспрессии генов, кодирующих ингибиторы трипсина. Второй путь – действие патогена (или салициловой кислоты) приводит к увеличению содержания эндогенной салициловой кислоты, которая вызывает дерепрессию генов ингибитора трипсина. Также было отмечено, что повышение активности протеолитических ферментов в тканях растений при фузариозе и действии салициловой кислоты протекает сопряжено с увеличением активности ингибиторов трипсина, что подтверждает высказанное нами предположение о функциональной взаимосвязи системы «протеазы–ингибиторы». По всей видимости, изменение активности протеиназ в этой системе можно рассматривать как первичную реакцию растения на действие изучаемых факторов. Между различающимися по устойчивости сортами озимой пшеницы в этом отношении существуют различия в ответной реакции. Повышение активности ингибитора трипсина является вторичным ответом растений на действие патогена и салициловой кислоты, который можно рассматривать как защитную реакцию, направленную на локализацию процесса. Эффективность такой ответной реакции можно охарактеризовать отношением активности протеиназ к содержанию ингибитора трипсина. Следовательно, по степени увеличения содержания ингибитора трипсина и по соотношению протеазы/ингибиторы можно судить об устойчивости или восприимчивости растений озимой пшеницы к заболеванию (Вовчук и др., 1992; Молодченкова, 1997).

На основании проведенных исследований разработан способ оценки генотипов озимой пшеницы на устойчивость к фузариозу с использованием салициловой кислоты, на который получен патент Украины № 12639 А. Кроме того, было показано, что предварительная обработка зерна 2 мМ салициловой кислотой с

последующим посевом на инфекционном фоне повышает уровень устойчивости растений сортов озимой пшеницы к фузариозу. Уровень устойчивости регистрировали по изменению биомассы проростков и увеличению активности ингибитора трипсина.

Представленные результаты могут служить основанием для последующих исследований механизмов формирования устойчивости злаковых растений к биотическим и абиотическим факторам среды и для разработки экологически безопасных методов борьбы с фитозаболеваниями, основанных на включении собственных защитных механизмов растения.

### ЛИТЕРАТУРА

- Адамовская В.Г.* Подбор и создание исходного материала для селекции высокоблековых форм озимой пшеницы: Дисс. ... канд. с.-х. наук. – Одесса: ВСГИ, 1984. – 194 с.
- Адамовская В.Г., Клечковская Е.А., Литвиненко Н.А.* Содержание ингибитора трипсина в зерне озимой пшеницы в зависимости от устойчивости к фузариозу // Научн.-техн. бюл. ВСГИ. – 1992. – № 2 (82). – С. 49-54.
- Адамовская В.Г., Клечковская Е.А., Вовчук С.В., Левицкий А.П., Волчевская А.Е., Бабаянц Л.Т.* А.с. 1779305 СССР, А 01 Н1/04. Способ оценки пшеницы на устойчивость к фузариозу. № 4885586/13; Заявлено 27.07.90; Опубл. 07.12.92. – Бюл. № 45.
- Адамовская В.Г., Вовчук С.В., Левицкий А.П., Молодченкова О.О., Бабаянц Л.Т., Гонтаренко О.В.* Патент 12639 Украина, А 01 Н1/04. Способ оценки генотипов пшеницы на устойчивость к фузариозу. Селекционно-генетический институт. – № 96020534; Заявл. 14.02.96; Опубл. 28.02.97. – Бюл. № 1.
- 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.
- Антонов В.К.* Химия протеолиза. – Москва: Наука, 1983. – 367 с.
- Бондарева Л.А., Немова Н.Н., Кяйвярйнен Е.И.* Внутриклеточная  $Ca^{2+}$ -зависимая протеолитическая система животных. – Москва: Наука, 2006. – 307 с.
- Брауштейн А.* (ред.). Номенклатура ферментов – Рекомендации Международного биохимического союза по номенклатуре и классификации ферментов, а также по единицам ферментов и символам кинетики ферментативных реакций. – Москва, 1979.
- Валуева Т.А., Григорьева Л.И., Потапенко Н.А., Мосолов В.В.* Ингибиторы протеиназ микроорганизмов из семян кукурузы // Прикл. биохимия и микробиология. – 1989. – Т. 25, № 4. – С. 477-479.
- Валуева Т.А., Мосолов В.В.* Роль ингибиторов протеолитических ферментов в защите растений // Успехи биологической химии. – 2002. – Т. 42. – С. 193-216.
- Вовчук С.В., Мусич В.И., Макаренко О.А.* Активность пептидгидролаз в проростках озимой пшеницы при действии низких температур // Физиология и биохимия культ. растений. – 1991. – Т. 23, № 4. – С. 355-358.
- Вовчук С.В., Адамовская В.Г., Клечковская Е.А., Волчевская А.Е.* Активность пептидгидролаз и их ингибиторов в инфицированных листьях озимой пшеницы // Методы биотехнологии в селекции сельскохозяйственных растений. – Сб. науч. тр. – Одесса, 1992. – С. 49-54.
- Вовчук С.В., Адамовская В.Г., Левицкий А.П., Молодченкова О.О.* Изменение белок-протеиназного комплекса озимой пшеницы под действием салициловой кислоты // Физиология и биохимия культ. растений. – 1997. – Т. 29, № 5. – С. 363-369.
- Волкова Т.О., Немова Н.Н.* Молекулярные механизмы апоптоза лейкозной клетки. – Москва: Наука, 2005. – 289 с.
- Волчевская А.Е.* Протеиназно-ингибиторная система озимой пшеницы в патогенезе бурой ржавчины, мучнистой росы и фузариоза: Автореферат дисс. ... канд. биол. наук. – Минск, 1991. – 23 с.
- Волчевская А.Е., Адамовская В.Г., Левицкий А.П., Вовчук С.В.* Взаимосвязь между уровнем ингибиторов протеиназ и устойчивостью озимой пшеницы к фузариозу // Физиология и биохимия культ. растений. – 1991. – Т. 23, № 4. – С. 355-359.
- Джаумов Д.А.* Физиология устойчивости фотосинтетического аппарата растений и его первичная структурно-функциональная реакция на стресс: Автореферат дисс. ... докт. биол. наук. – Москва, 1986. – 37 с.
- Дин Р.* Процессы распада протеолиза в клетке. – Москва: Мир, 1981. – 119 с.
- Дунаевский Я.Е., Сарбаканова Ш.Т., Белозерский М.А., Заиров С.З.* Совместное действие протеаз покоящегося и прорастающего зерна пшеницы // Прикл. биохимия и микробиология. – 1990. – Т. 26. – С. 273-278.
- Ильинская Л.И., Васюкова Н.И., Озерецковская О.Л.* Биохимические аспекты индуцированной устойчивости и восприимчивости растений // Итоги науки и техники. Серия защиты растений. – Москва: ВИНТИ, 1991. – С. 4-78.

- Колоша О.И.* Криофизиологические механизмы адаптации и устойчивости // Физиология и биохимия культ. растений. – 1986. – Т. 18, № 6. – С. 555-567.
- Конарев А.В.* Компонентный состав ингибиторов трипсина из зерна и листьев пшеницы // Докл. ВАСХНИЛ. – 1987. – № 12. – С. 6-9.
- Конарев А.В.* Система ингибиторов гидролаз у злаков: организация, функции и эволюционная изменчивость: Автореферат дисс. ... докт. биол. наук. – Москва, 1992. – 38 с.
- Конарев А.В.* Ингибиторы ферментов как генетические маркеры // Аграрная Россия. – 2002. – № 3. – С. 44-52.
- Левецкий А.П.* Классификация, номенклатура и биохимические свойства протеолитических ферментов зерна пшеницы и ячменя // Протеолитические ферменты и их ингибиторы в семенах зерновых и зернобобовых культур. – Одесса: ВСГИ, 1982. – С. 7-19.
- Макаренко О.А.* Влияние низких температур на протеолиз в зеленых проростках озимой пшеницы: Автореферат дисс. ... канд. биол. наук. – Киев, 1993. – 20 с.
- Макаренко О.А., Вовчук С.В., Мусич В.И.* Протеиназная активность и компонентный состав межклеточной жидкости проростков озимой пшеницы при действии низких температур // Физиология и биохимия культ. растений. – 1994. – Т. 26, № 2. – С. 180-185.
- Малиновский В.А.* Выделение, очистка и антиферментный спектр ингибиторов трипсина из кукурузы // Протеолитические ферменты и их ингибиторы в семенах зерновых и зернобобовых культур. – Одесса: ВСГИ, 1982. – С. 34-41.
- Метлицкий Л.В., Озерецковская О.Л.* Индуцирование у растений устойчивости к инфекционным болезням // Успехи соврем. биологии. – 1981. – Т. 92, № 3 (6). – С. 406-421.
- Метлицкий Л.В., Озерецковская О.Л.* Как растения защищаются от болезней. Москва: Наука, 1985. – С. 46-116.
- Мироненко А.В., Домаш В.И., Рогульченко И.В.* Белки культурных и дикорастущих кормовых растений. – Минск: Наука и техника, 1990. – С. 164-180.
- Молодченкова О.О.* Вплив саліцилової кислоти на протеїназно-інгібіторну систему озимої пшениці та їх участь у формуванні стійкості до фузаріозу: Автореф. дис.... канд. біол. наук. – К., 1997. – 19 с.
- Мосолов В.В.* Белки ингибиторы протеиназ и α-амилаз у растений // Прикл. биохимия и микробиология. – 1995. – Т. 35, № 1. – С. 5-10.
- Мосолов В.В., Григорьева Л.И., Валуева Т.А.* Ингибиторы протеиназ из растений как полифункциональные белки (обзор) // Прикл. биохимия и микробиология. – 2001. – Т. 37, № 6. – С. 643-650.
- Немова М.Н., Бондарева Л.А.* К вопросу об эволюции протеолитических ферментов // Биомедицинская химия. – 2008. – Т. 54, вып. 1. – С. 42-57.
- Озерецковская О.Л.* Проблемы специфического иммунитета // Физиология растений. – 2002. – Т. 49. – С. 148-154.
- Серова З.Я., Юшко Л.С., Подчуфарова Г.М.* Функции белков в фитопатогенезе. – Минск: Наука и техника, 1992. – С. 34-45.
- Сухинин В.И., Понедилок И.А., Сахаров И.Ю.* Свойства ингибиторов трипсина из листьев люцерны, выделенного хроматофокусированием // Прикл. биохимия и микробиология. – 1990. – Т. 26, № 4. – С. 500-505.
- Таланова В.В., Титов А.Ф., Топчиева Л.В., Фролова С.А.* Влияние абсцизовой кислоты на экспрессию генов цистеиновой протеиназы и ее ингибиторов при холодовой адаптации растений пшеницы // Физиология растений. – 2012. – Т. 59, № 4. – С. 627-631.
- Таланова В.В., Титов А.Ф., Топчиева Л.В., Репкина Н.С.* Влияние кадмия на экспрессию генов протеолитических ферментов и их ингибиторов у проростков пшеницы // Труды Карельского научн. центра РАН. – 2011. – № 3. – С. 112-116.
- Тарчевский И.А.* Процессы деградации у растений // Соросовский образоват. журн. – 1996. – № 6. – С. 13-19.
- Шакирова Ф.М.* Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. – Уфа: Гилем, 2001. – 160 с.
- Шаненко Е.Ф., Попов М.П., Кретович В.Л.* Нейтральные протеиназы зерна пшеницы // Прикл. биохимия и микробиология. – 1985. – Т. 21, № 1. – С. 20-26.
- Ферит Э.* Структура и механизм действия ферментов. – Москва: Мир. – 1980. – 432 с.
- Яруллина Л.Г., Ибрагимов Р.И.* Клеточные механизмы формирования устойчивости растений к грибным патогенам. – Уфа: Гилем, 2006. – 228 с.
- Antão С.М., Malcata F.X.* Plant serine proteases: biochemical, physiological and molecular features // Plant Physiol. Biochem. – 2005. – V.43, № 7. – P.637-650.
- Ariki S., Koori K., Osaki T., Motoyama K., Inamori K.I., Kawabata S.I.* A serine protease zymogen functions as a pattern-recognition receptor for lipopolysaccharides // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2004. – V. 101. – P. 953-958.
- Barrett A.Y.* Introduction: classification of proteinases // Protein degradation in health and disease. Ciba Foundation symposium 75. – 1980. – P. 1-13.

- Baxter E.D.* Purification and properties of malt carboxypeptidases attacking hordein // *J. Inst. Brew.* – 1978. – V. 84, № 5. – P. 271-275.
- Beers E.P., Jones A.M., Dickerman A.W.* The S8 serine, C1A cysteine and A1 aspartic protease families in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* – 2000. – V. 123. – P.1185-1196.
- Beers E.P., Jones A.M., Dickerman A.W.* The S8 serine, C1A cysteine and A1 aspartic protease families in *Arabidopsis* // *Phytochemistry.* – 2004. – V. 65. – P. 43-58.
- Beilinson V., Moskalenko O.V., Livingstone D.S., Reverdatto S.V., Jung R., Nielsen N.C.* Two subtilisin-like proteases from soybean // *Physiol. Plant.* – 2002. – V. 115. – P. 585-597.
- Bisen S., Andersen C.Y., Heigaard I.* Inhibitors of chymotrypsin and microbial proteases in barley grain // *Plant Physiol.* – 1981. – V. 52. – P. 167-176.
- Bohley P., Neuberger A., Brocklehurst K.* Hydrolytic Enzymes / Elsevier Science Publishers B.V. (Biomedical Division). – 1987. – P. 307-332.
- Boisen S., Djurtoft R.* Protease inhibitor from barley embryo inhibiting trypsin and trypsin-like microbial protease. Purification and characterization of two isoforms // *J. Sci. Food Agric.* – 1982. – V. 33, № 5. – P. 431-440.
- Burger W.C., Prentice N.* Inhibition and activation of barley // *Peptide hydrolases. II Peptide hydrolases B and C, and  $\alpha$ -Lecycn- $\beta$ -tnaphthyl-amidase* // *J. Inst. Brew.* – 1971. – V. 77, № 3. – P. 291-294.
- Breddam K., Sorensen S.* Isolation of a carboxypeptidase from malted barley by affinity chromatography // *Carlsberg. Res. Commus.* – 1983. – V. 48, № 3. – P. 217-230.
- Brown W.E., Ryan C.N.* Isolation and characterization of a wound-induced trypsin inhibitor from alfa-alfa leaves // *Biochemistry.* – 1984. – V. 23. – P. 3418-3422.
- Casaretto J., Ho T.H.* The transcription factors HvABI5 and HvVP1 are required for the abscisic acid induction of gene expression in barley aleurone cells // *Plant Cell.* – 2003. – V.15. – P. 271-284.
- Chang C.R., Tsen C.C.* Characterization and heat stability of trypsin inhibitors from ryo, triticale and wheat samples // *Cereal. Chem.* – 1981. – V. 58, № 3. – P. 211-213.
- Conrath U., Chen Z., Ricigiano J.R., Klessing D.F.* Two inducers of plant defense response 2,6-dichloroisonicotinic acid and salicylic acid inhibit catalase activity in tobacco // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* – 1995. – V. 92. – P. 7143-7147.
- Feller U.* Patternes of proteolytic enzyme activities in different tissues of germinating corn (*Zea mays* L.) // *Planta.* – 1978. – V. 140. – P. 155-162.
- Frith G.S., Bruce D.G., Dalling M.S.* Distribution of acid protease activity of wheat seedling // *Plant Cell Physiol.* – 1975. – V. 16. – P. 1085-1091.
- Gatehouse J.A., Gatehouse A.M.R., Bown D.P.* Control of phytophagous insect pests using serine proteinase inhibitors // *Recombinant Proteiase Inhibitors in Plants* / Ed. D. Michaud. – Georgetown: Landes Bioscience. – 1999. – P. 9-26.
- Goll D.E., Thompson V.F., Li H., Wei W., Cong J.* The calpain system // *Physiol. Rev.* – 2003. – V.83. – P.731-801.
- Gruis D.F., Schulze J., Jung R.* Storage protein accumulation in the absence of the vacuolar processing enzyme family of cysteine proteases // *Plant Cell.* – 2004. – V. 16. – P. 270-290.
- Hale W.S., Mitchell H.L., Wasson C.E.* Trypsin inhibitors of corn (*Zea mays*) // *Trans. Kaans. Acad. Sci.* – 1973. – V. 7. – P. 289-293.
- Hayashi Y., Yamada K., Shimada T., Matsushima R., Nishizawa N.K., Nishimura M., Hara-Nishimura I.* A proteinase-storing body that prepares for cell death or stresses in the epidermal cells of *Arabidopsis* // *Plant Cell Physiol.* – 2001. – V. 42. – P.894-899.
- Hoorn R.A., Jones J.D.G.* The plant proteolytic machinery and its role in defence // *Plant Biol.* – 2004. – V. 7. – P. 400-407.
- Estruch J.J., Carozzi N.B., Desai N., Duck N.B., Warren G.W., Koziel M.G.* Transgenic plants: an emerging approach to pest control // *Nat. Biotechnol.* – 1997. – V. 15. – № 2. – P.137-141.
- Jones J.T., Mullet J.E.* A salt-inducible and dehydration-inducible pea gene *Cyp15a*, encodes a cell-wall protein with sequence similarity to cysteine proteases // *Plant Mol. Biol.* – 1995. –V. 28. – P. 1055-1065.
- Jorda L., Coego A., Conejero V., Vera P.* A genomic cluster containing four differentially regulated subtilisin-like processing protease genes is in tomato plants // *J. Biol. Chem.* – 1999. – V. 274. – P. 2360-2365.
- Jordá L., Conejero V., Vera P.* Characterization of P69E and P69F, two differentially regulated genes encoding new members of the subtilisin-like protease family from tomato plants // *Plant Physiol.* – 2000. – V. 122. – P. 67-73.
- Kessmann H., Staub T., Hofmann Ch., Maestzke T., Herzog J.* Induction of systemic acquired resistance in plants by chemicals // *Ann. Rev. Phytopathol.* – 1994. – № 32. – P. 439-459.
- Koizumi M., Yamaguchi-Shinozaki K., Tsuji H., Shinozaki K.* Structure and expression of two genes that encode distinct drought inducible cysteine proteases in *Arabidopsis thaliana* // *Gene.* – 1993. – V. 129. – P. 175-182.
- Lawton K., Weymann K., Friedrich L., Vernooij B., Uknes S., Ryals J.* Systemic acquired resistance in *Arabidopsis* requires salicylic acid but not ethylene // *Mol. Plant-Microbe Interact.* – 1995. – V. 8, № 6. – P. 863-870.

- Loon L.C. The induction of pathogenesis-related proteins by pathogens and chemicals // *Neth. J. Plant Path.* – 1983. – V. 89. – P. 65-273.
- Loon L.C., Gerritsen Y.A.M. Localization of pathogenesis-related proteins in infected and non-infected leaves of Samsun NN tobacco during the hypersensitive reaction to tobacco mosaic virus // *Plant Sci.* – 1989. – V. 63. – P. 131-140.
- Mayer R J, Arnold J, Laszlo L, Landon M, Lowe J. Ubiquitin in health and disease // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1991. – V. 1089. – P.141-157.
- Martinez M., Lopez-Solanilla E., Rodriguez-Palenzuela P., Carbonero P., Diaz I. Inhibition of plant-pathogenic fungi by the barley cystatin Hv-CPI (gene Icy) is not associated with its cysteine-proteinase inhibitory properties // *Mol Plant-Microbe Interact.* – 2003. – V.16. – P. 876-883.
- Meichtry J., Amrhein N., Schaller A. Characterization of the subtilase gene family in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) // *Plant Mol. Biol.* – 1999. – V. 39. – P.749-760.
- Mikola I., Kirsi M. Differences between endospermal and embryonal trypsin inhibitor in barley, wheat and rye // *Acta Chem. Scand.* – 1972. – V. 26, № 2. – P. 787-795.
- Mourgues F., Brisset M.N., Chevreau E. Strategies to improve plant resistance to bacterial diseases through genetic engineering // *Trends Biotechnol.* – 1998. – V. 16, № 5. – P. 203-210.
- Moureaux T. Protein breakdown and properties of germinating maize endosperm // *Phytochem.* – 1979. – V. 18, №7. – P. 1113-1117.
- Newell C.A., Lowe J.M., Merryweather A., Rooke L.M., Hamilton W.D.O. Transformation of sweet potato (*Ipomoea batatas* (L.) Lam.) with *Agrobacterium tumefaciens* and regeneration of plants expressing cowpea trypsin inhibitor and snowdrop lectin // *Plant Sci.* – 1995. – V. 107. – P.215-227.
- Odani S., Koide T., Ono T. Wheat germ trypsin inhibitors. Isolation and structural characterization of single-headed and double inhibitors of Bowman-Birk type // *J. Biochem.* – 1986. – V. 100. – P. 975-983.
- Schaffer M.A.; Fischer R.L. Analysis of mRNAs that accumulate in response to low temperature identifies a thiol protease gene in tomato // *Plant Physiol.* – 1988. – V. 87. – P. 431-436.
- Schuler T.H., Poppy G.M., Kerry B.R., Denholm I. Insect-resistant transgenic plants // *Trends Biotechnol.* – 1998. – V. 16. – P. 168-175.
- Shimada T., Tamada K., Kataoka M., Nakaune S., Koumoto Y., Kuroyanagi M., Tabata S., Shinozaki K., Seki M., Kobayashi M. Vacuolar processing enzymes are essential for proper processing of seed storage proteins in *Arabidopsis thaliana* // *J. Biol. Chem.* – 2003. – V. 278. – P. 32292-32299.
- Skupin D., Warchalewski I. Isolation and properties of protease A from wheat grain // *J. Sci. Food and Agric.* – 1971. – V. 22, № 1. – P. 11-15.
- Serwold T., Gonzalez F., Kim J., Jacob R., Shastri N. ERAAP customizes peptides for MHC class I molecules in the endoplasmic reticulum // *Nature.* – 2002. – V. 419. – P. 480-483.
- Seong-Ryong K., Younghee K., Costa M., Ynheung An. Inhibition of sucrose enhancer effect of the potato proteinase inhibitor II promoter by salicylic acid // *Nature.* – 1992. – V. 98. – P. 1109-1112.
- Solomon M., Belenghi B., Delledonne M., Menachem E., Levine A. The involvement of cysteine proteases and protease inhibitor genes in the regulation of Programmed Cell Death in plants // *Plant Cell.* – 1999. – V. 11. – P. 431-443.
- Subbaiah C.C., Kollipara K.P., Sachs M.M. A Ca<sup>2+</sup>-dependent cysteine protease is associated with anoxia-induced root tip death in maize // *J. Exp. Bot.* – 2000. – V. 51. – P. 721-730.
- Tashiro H., Maki I. Purification and characterization of a trypsin inhibitor from rice // *J. Natr. Sci. Vitaminol.* – 1979. – V. 25, № 3. – P.255-264.
- Pernas M., Sanchez-Monge R., Salcedo G. Biotic and abiotic stress can induce cystatin expression in chestnut // *FEBS Letter.* – 2000. – V. 467. – P. 206-210.
- Pierpoint W.S., Jackson P.J., Evans R.M. The presence of a thaumatin-like protein, a chitinase and a glucanase among the pathogenesis-related proteins of potato // *Physiol. And Mol. Plant Pathol.* – 1990. – V. 36. – P. 325-338.
- Preston K.R., Kruger I.E. Purification and properties of two proteolytic enzymes with carboxypeptidase activity in germinated wheat // *Plant Physiol.* – 1976. – V. 58. – P. 516-520.
- Raskin I. Salicylate a new plant hormone // *Plant Physiol.* – 1992. – V. 99. – P. 799-803.
- Rawlings N.D., Barrett A.J. Families of serine peptidases // *Methods Enzymol.* – 1994. – V. 244. – P. 19-61.
- Rawlings N.D., O'Brien E.A., Barrett A.J. MEROPS: the protease database // *Nucleic Acids Res.* – 2002. – V. 30. – P. 343-346.
- Rawlings N.D., Morton F.R., Barrett A.J. MEROPS: the peptidase database // *Nucleic Acids Res.* – 2006. – V. 34. – P. 270-272.
- Rickauer M., Fournier I., Esquierre-Tugave M.T. Induction of proteinase inhibitors in tobacco cell suspension culture by elicitors of *Phytophthora parasitica* var *nicotianae* // *Plant Physiol.* – 1989. – V. 90. – P. 1065-1070.
- Roberts I.N., Murray P.F., Caputo C.P., Passeron S., Barneix A.J. Purification and characterization of a subtilisin-like serine protease induced during the senescence of wheat leaves // *Physiol. Plant.* – 2003. – V. 118. – P. 483-490.



## ПРОТЕИНАЗНО-ИНГИБИТОРНАЯ СИСТЕМА

- Ryals J., Uknes S., Ward E. Systemic acquired resistance // *Plant Physiol.* – 1994. – V. 104. – P. 1109-1112.
- Vodkin I.O., Scandalios I.G. Comparative properties of genetically defined peptidases in maize // *Biochemistry.* – 1980. – V. 19. – P. 4660-4667.
- Williams J., Bulmon H., Huttly A., Phillips A., Neill S. Characterization of a cDNA from *Arabidopsis thaliana* encoding a potential thiol protease whose expression is induced independently by wilting and abscisic acid // *Plant Mol. Biol.* – 1994. – V. 25. – P. 259-270.
- Winspear M.I., Preston K.R., Rastogi V. Comparison of peptide activities in cereals // *Plant Physiol.* – 1984. – V. 75. – P. 480-482.
- Xia Y., Suzuki H., Borevitz J., Blount J., Guo Z., Patel K., Dixon R.A., Lamb C. An extracellular aspartic protease functions in Arabidopsis disease resistance signalling // *EMBO J.* – 2004. – V. 23. – P. 980-988.
- Yamada K., Nishimura M., Hara-Nishimura I. The slow woundresponse of cVPE is regulated by endogenous salicylic acid in Arabidopsis // *Planta.* – 2004. – V. 218. – P. 599-605.
- Zhang J.H., Wang C.Z., Qin J.D. The interactions between soybean trypsin inhibitor and delta-endotoxin of *Bacillus thuringiensis* in *Helicoverpa armigera* larva // *J. Invertebrate Pathol.* – 2000. – V. 75. – № 4. – P. 259-266.

Поступила в редакцию  
23.01.2015 г.

## PROTEINASES-INHIBITORS SYSTEM IN THE FORMATION OF PLANT DEFENSE REACTIONS

O. O. Molodchenkova, V. G. Adamovskaya

*Breeding and Genetics Institute – National Center of Seed and Cultivar Investigation  
National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine  
(Odessa, Ukraine)  
e-mail: olgamolod@ukr.net*

The literature and our data on role of proteinases-inhibitors system in the formation of plant response reactions to the action of biotic and abiotic factors, its connection with other plant defense factors and resistance to phytopathogenes, abiotic stressors are presented.

**Key words:** *proteinases, inhibitors of proteinases, resistance, phytopathogenes, abiotic stresses*

## ПРОТЕІНАЗНО-ІНГІБІТОРНА СИСТЕМА ПРИ ФОРМУВАННІ ЗАХИСНИХ РЕАКЦІЙ РОСЛИН

O. O. Молодченкова, В. Г. Адамовська

*Селекційно-генетичний інститут –  
Національний центр насіннєзнавства та сортовивчення  
Національної академії аграрних наук України  
(Одеса, Україна)  
e-mail: olgamolod@ukr.net*

Представлені літературні дані та результати власних досліджень стосовно ролі протеїназної-інгібіторної системи у формуванні реакцій відповіді рослин на дію біотичних та абіотичних чинників середовища, взаємозв'язок їх з іншими складовими біохімічної системи захисту рослин, стійкістю до фітопатогенів, абіотичних стресорів.

**Ключові слова:** *протеоліз, інгібітори протеїназ, стійкість, фітопатогени, абіотичні стреси*