

УДК 577.152.344:57.047

ВПЛИВ ФУЗАРІОЗНОЇ ІНФЕКЦІЇ ТА ЖАСМОНОВОЇ КИСЛОТИ НА ПРОТЕАЗНО-ІНГІБІТОРНУ СИСТЕМУ ПРОРОСТКІВ ПШЕНИЦІ

© 2020 р. О. Б. Лихота, О. О. Молодченкова

Селекційно-генетичний інститут –
Національний центр насіннєзнавства та сортовивчення
(Одеса, Україна)

Вважається, що підвищення вмісту інгібіторів протеолітичних ензимів є однією з важливих захисних реакцій рослин у відповідь на інфікування патогенними грибами. Досліджували вплив фузаріозної інфекції та жасмонової кислоти на протеазно-інгібіторну систему проростків пшениці (*Triticum aestivum*). Показано, що зміни активності нейтральних протеаз та інгібітору трипсину за інфікування проростків пшениці *Fusarium graminearum* відрізняються у сортів з різною стійкістю до збудників фузаріозу. З використанням температурної обробки екстракту, висолювання, діалізу та афінної хроматографії проведено виділення та очищення інгібіторів трипсину зі здорових, інфікованих *Fusarium graminearum* та оброблених жасмоновою кислотою проростків пшениці. Дослідження компонентного складу виділених інгібіторів трипсину методом електрофорезу в поліакриламідному гелі не виявило сортового поліморфізму, але показало наявність змін за інтенсивністю смуг та кількістю компонентів цих білків за інфікування рослин патогеном та впливу жасмонової кислоти. Обговорюється участь жасмонової кислоти в регуляції активності інгібіторів трипсину за інфікування пшениці грибними патогенами.

Ключові слова: *Triticum aestivum*, фузаріоз, стійкість, жасмонова кислота, протеази, інгібітори протеаз

DOI: <https://doi.org/10.35550/vbio2020.01.072>

Важливу роль в реалізації імунної відповіді рослин на зараження патогенами відіграє система протеази–інгібітори (Левицкий, 1982; Прист, 1987; Вовчук и др., 1992; Мосолов, Валуева, 1997; Тарчевский, 2001; Соколова, 2005). Одним із механізмів регуляції протеолізу є зміна активності білкових інгібіторів протеаз. Вважається, що підвищення вмісту інгібіторів протеолітичних ензимів є одним із захисних механізмів рослин у відповідь на інфекцію. Встановлено, що білки сімейства PR-6 – інгібітори протеаз, здатні пригнічувати активність екзогенних протеаз патогенів та комах-шкідників (Мосолов, Валуева 1997). Інгібітори протеаз в рослинах представлені множинними формами інгібіторів трипсину і хімотрипсину (Яруллина, Ибрагимов 2006).

Адреса для кореспонденції: Молодченкова Ольга Олегівна, Селекційно-генетичний інститут НААН України, Овідіопольська дорога, 3, м. Одеса, 65036, Україна;
e-mail: olgamolod@ukr.net

Відомо, що некротрофні патогени індують жасмонатний сигнальний шлях з вивільненням з клітинних мембран ліноленової кислоти, утворенням жасмонової кислоти (ЖАК) та етилену, що регулюють розвиток індукованої системної стійкості та синтез захисних білків, зокрема інгібіторів протеаз, які або переходять із латентного стану в активний, або синтезуються *de novo* (Серова и др., 1992; Васюкова, Озерецковская, 2009; Яруллина и др., 2016). Показано, що реалізація захисних механізмів рослин багато в чому визначається їх здатністю швидко і специфічно модулювати свій транскриптом у відповідь на інфікування патогенами (Katagiri, Tsuda 2010). Також численні дані свідчать про можливість активації захисних реакцій рослин за допомогою екзогенних обробок чинниками біотичної або абіотичної природи, в тому числі ЖАК.

Метою роботи було вивчити вплив фузаріозної інфекції та ЖАК на протеазно-

ВПЛИВ ФУЗАРІОЗНОЇ ІНФЕКЦІЇ ТА ЖАСМОНОВОЇ КИСЛОТИ

інгібіторну систему проростків пшениці з різним рівнем стійкості до фузаріозу для теоретичного обґрунтування можливості використання цих показників для оцінки стійкості рослин пшениці до патогена.

МЕТОДИКА

Об'єктом дослідження були проростки сортів пшениці (*Triticum aestivum* L.) української селекції, які відрізнялися за рівнем стійкості до збудників фузаріозу: стійкий сорт – Ластівка одеська, сприйнятливий сорт – Ніконія одеська. Матеріал був наданий відділом селекції та насінництва пшениці та відділом фітопатології та ентомології СГІ-НЦНС.

Неушкоджені зернівки пшениці пророщували в темряві на фільтрувальному папері в термостаті за температури 25°C та відносної вологості повітря 60% впродовж 5 діб. Зараження рослин патогеном проводили шляхом пророщування зерна на середовищі, що містило 1×10^5 конідій/мл штаму K90 *Fusarium graminearum* Schwabe. Обробку рослин жасмоновою кислотою проводили шляхом обприскування 4-добових проростків 1 мкМ розчином. Через 24 години після закінчення експозиції відпрепаровані надземну частину і корені проростків заморожували при -70°C, ліофільно висушували та розмелювали.

Польову фітопатологічну оцінку проводили за методикою, описаною у роботі (Бабаянц, Бабаянц, 2014).

Активність протеолітичних ензимів визначали за гідролізом 2% казеїну (рН 6,0) або 2% гемоглобіну (рН 3,5). Активність нейтральних і кислих протеаз виражали в нанокаталах на 1 г ліофільно висушеної маси. За 1 нанокатал приймали кількість ензиму, що каталізує утворення 1 наномоля тирозину за 1 с інкубації (Вовчук, 1979а).

Інгібітор трипсину визначали за зменшенням швидкості гідролізу синтетичного субстрату БАПА (N- α -бензоїл-D/L-аргінін-4-нітроанлід) ензимом в присутності інгібітору (Вовчук, 1979б). Активність інгібітору трипсину виражали в міліграмах інактивованого ензиму на 1 г ліофілізованого матеріалу.

Етапи виділення та очищення інгібіторів трипсину із проростків пшениці склалися з екстракції 0,1 М фосфатним буфером (рН 6,0), температурної обробки екстракту, висолювання 65% сульфатом амонію, діалізу за допомогою діалізних мембран з діаметром пор 12-14 кДа та

афінної хроматографії на бромціанактивованій трипсин-сефарозі 4В.

Колонкову хроматографію інгібітору трипсину проводили на обладнанні фірми LKB (Швеція), що включало перистальтичний насос (Microperplex), ультрафіолетовий детектор з проточною кюветою (Uvicord S), колектор фракцій (Ultracrac II), колонку розміром 1 \times 15 см, при температурі +20°C та швидкості потоку 1,7 мл/хв. Приготування бромціанактивованої трипсин-сефарози здійснювали відповідно до стандартної методики (Остерман, 1985). Загальний вміст білка в екстрактах визначали за спектрофотометричним методом Лоупі (Peterson, 1979), а у хроматографічних фракціях – за поглинанням при 280 нм на спектрофотометрі «Shimadzu UV-1700» (Японія).

Компонентний склад інгібіторів трипсину досліджували за допомогою електрофорезу в 15% ПААГ при 8,3 рН в присутності 0,1% SDS. Як білки-маркери молекулярної маси використовували: фосфорилазу (97 кДа), бичачий сироватковий альбумін (67 кДа), альбумін (43 кДа), карбоангідразу (30 кДа), соєвий інгібітор трипсину (20 кДа), лактоальбумін (14,4 кДа) виробництва фірми «Seriva» (Німеччина).

Досліди проводили у 3-разовому біологічному та аналітичному повторенні. У таблицях і на рис. 1 наведені середні значення та їх стандартні похибки. Статистичну обробку даних виконували за електронними таблицями офісного пакета «LibreOffice» Free Software Foundation (GNU Lesser General Public Licensev8). Результати вважали статистично достовірними при $P \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

За даними польової фітопатологічної оцінки, рівень стійкості сортів пшениці до збудників фузаріозу становив у Ластівки одеської 8-9 балів, у Ніконії одеської – 3-4 бали. Проведений раніше аналіз чутливості рослин пшениці до збудників фузаріозу в лабораторних умовах дозволив встановити, що у стійкого сорту Ластівка одеська ступінь інфікування зернівки *Fusarium graminearum* був нижчим, а енергія проростання та схожість при інфікуванні патогеном були вищими, ніж у сприйнятливого сорту Ніконія одеська. Внаслідок цього у проростків стійкого сорту менше, ніж у сприйнятливого пригнічувалися процеси лінійного росту та накопичення біомаси (Молодченкова, Адамовська, 2015).

Таблиця 1. Активність нейтральної та кислої протеаз в надземній частині 5-ти добових проростків пшениці за інфікування *Fusarium graminearum* та дії жасмонової кислоти

Сорт	Активність нейтральної протеази, нкат/г				Активність кислої протеази, нкат/г			
	Контроль	ЖАК (1 мкМ)	<i>Fusarium graminearum</i>	ЖАК (1 мкМ) + <i>Fusarium graminearum</i>	Конт-роль	ЖАК (1 мкМ)	<i>Fusarium graminearum</i>	ЖАК (1 мкМ) + <i>Fusarium graminearum</i>
Ластівка одеська	1,12±0,01	0,97±0,01	3,04±0,01*	1,46±0,01*	1,22±0,01	1,29±0,01	1,37±0,01*	1,39±0,01*
Ніконія одеська	0,94±0,01	1,12±0,01	0,62±0,01*	1,03±0,01	1,08±0,01	1,46±0,02*	1,39±0,01*	1,42±0,01*

Примітка. * - показник достовірності при $P \leq 0,05$ порівняно з контролем

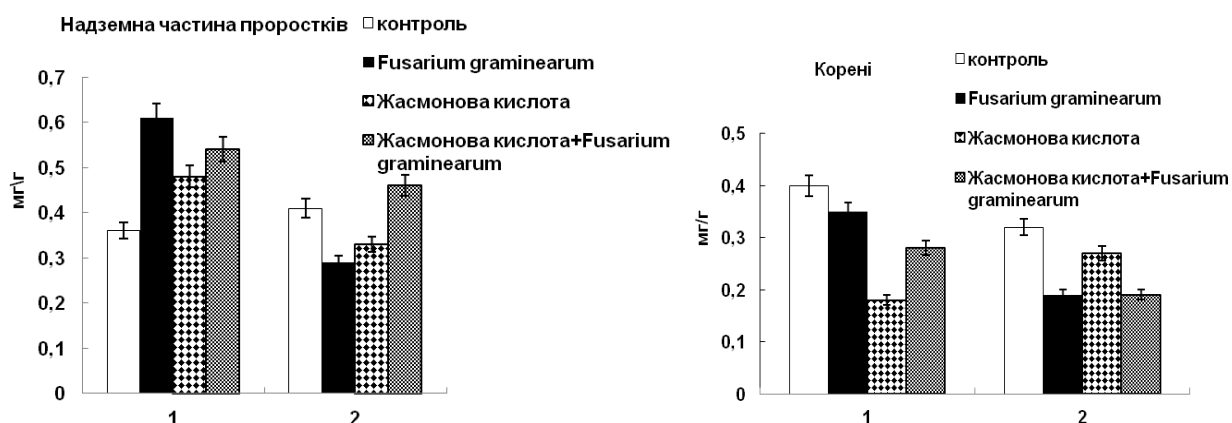


Рис. 1. Активність інгібітору трипсину в проростках пшениці за інфікування збудником фузаріозу і дії 1 мкМ ЖАК: 1 – сорт Ластівка одеська; 2 – сорт Ніконія одеська.

Вивчення впливу фузаріозної інфекції та ЖАК на активність протеолітичних ензимів показало наступне. У проростках стійкого сорту Ластівка одеська за інфікування збудниками фузаріозу відзначалося підвищення активності нейтральної протеази в 2,7 раза порівняно з контролем, в той час як у сприйнятливо сорту Ніконія одеська активність цього ензиму знижувалася в 1,5 раза відносно контролю (табл. 1). Активність кислої протеази за інфікування патогеном дещо підвищувалася (в 1,2-1,3 раза відносно контролю) як у стійкого, так і у сприйнятливо сортів. За впливу ЖАК було помічено незначне збільшення активності кислих протеаз в проростках як стійкого, так і сприйнятливо сортів, в той же час активність нейтральної протеази у сорта Ніконія одеська підвищувалась в 1,2 раза щодо контролю, а у сорту Ластівка одеська не змінювалась. За комбінованої дії ЖАК та патогена було встановлено відносно невелике (в 1,1-1,3 раза щодо конт-

ролю) підвищення активності нейтральної та кислої протеаз як у стійкого, так і у сприйнятливо сортів пшениці (табл. 1).

Вивчення активності інгібітору трипсину (АІТ) дозволило встановити, що за інфікування патогеном у стійкого сорту пшениці відбувалося зростання цього показника в надземній частині проростків в 1,7 раза щодо контролю, а в коренях – незначне зниження. У сприйнятливо сорту було виявлено зниження АІТ щодо контролю як в надземній частині проростків, так і в коренях (в 1,4 та 1,7 раза, відповідно) (рис. 1). ЖАК спричинювала активацію інгібітору трипсину в 1,3 раза відносно контролю в надземній частині проростків стійкого сорту пшениці. За комбінованої дії цих двох чинників спостерігалось зростання активності інгібітору трипсину щодо контролю та інфікованих рослин в надземній частині проростків стійкого та сприйнятливо сортів пшениці (в 1,5 та 1,2 раза, відповідно).

ВПЛИВ ФУЗАРІОЗНОЇ ІНФЕКЦІЇ ТА ЖАСМОНОВОЇ КИСЛОТИ

Таблиця 2. Стадії очищення інгібітору трипсину з проростків пшениці сорту Ластівка одеська

Стадії очищення	Сумарна АІТ, од	Загальний білок, мг	Питома АІТ, мг	Коефіцієнт очищення	Вихід, %
Екстракція	37,8	118	0,32	1,0	100
Висолювання та діаліз	30,4	9,5	3,20	10,0	55,3
Афінна хроматографія	19,7	0,854	23,1	72,2	52,1

Примітка. АІТ – активність інгібітору трипсину.

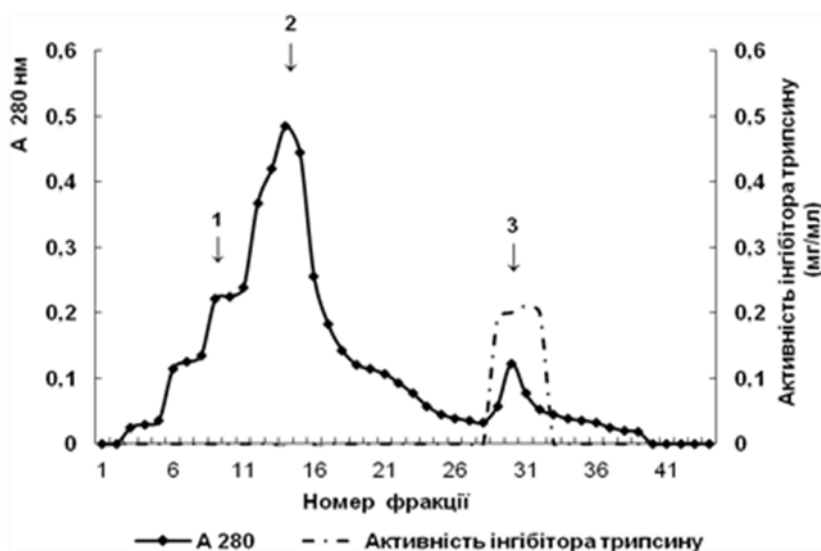


Рис. 2. Афінна хроматографія на бромціанактивованій трипсин-сефарозі 4В інгібіторів трипсину із надземної частини проростків пшениці сорту Ластівка одеська: 1, 2 – 0,1 М фосфатний буфер (рН 6,0); 3 – 0,1 М розчин HCOOH.

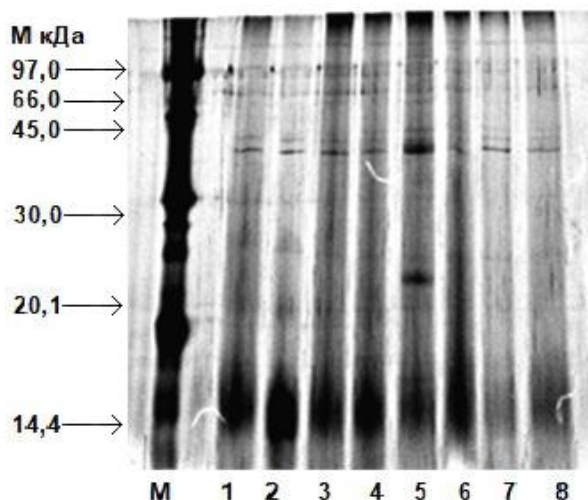


Рис. 3. Електрофорез в 15% ПААГ інгібітору трипсину з надземної частини проростків сортів пшениці: 1 – Ластівка одеська, контроль; 2 – Ластівка одеська, ЖАК (1 мкМ); 3 – Ластівка од., *Fusarium graminearum*; 4 – Ластівка одеська, ЖАК (1 мкМ) + *F. graminearum*; 5 – Ніконія одеська, контроль; 6 – Ніконія одеська, ЖАК (1 мкМ); 7 – Ніконія одеська, *F. graminearum*; 8 – Ніконія одеська, ЖАК (1 мкМ) + *F. graminearum*.

Отримані результати підтвердили наші попередні дані (Адамовская и др., 2000; Молодченкова, Адамовська 2015) стосовно участі протеазно-інгібіторної системи у формуванні

захисних реакцій рослин пшениці та наявності функціонального взаємозв'язку в системі протеази-інгібітори. Захисні функції інгібіторів трипсину можуть бути пов'язані як з кількісними, так із якісними змінами окремих білко-

вих компонентів. Тому було проведено порівняльне вивчення компонентного складу інгібіторів трипсину, виділених із інфікованих та оброблених ЖАК проростків пшениці.

В результаті виділення інгібіторів трипсину їх вихід склав 52,1% зі ступенем очищення 72,2 (рис. 2, табл. 2). Аналіз компонентного складу виділених білків показав відсутність сотрового поліморфізму за інгібітором трипсину проростків, тобто обидва досліджені сорти пшениці характеризувалися однаковою поліпептидним складом інгібіторів. В електрофоретичному спектрі інгібіторів трипсину контрольних проростків досліджених сортів пшениці було виявлено п'ять білкових компонентів з молекулярною масою 67, 43, 40, 25 і близько 20 кДа. За інфікування збудниками фузаріозу, впливу ЖАК та комбінованої дії цих чинників у стійкого сорту відбувалося підвищення вмісту компонентів інгібітору трипсину з молекулярною масою 43, 40 та 20 кДа, а у сприйнятливого сорту, навпаки, зменшення інтенсивності смуг цих компонентів порівняно з контролем (рис. 3). Такі зміни в активності та компонентному складі інгібіторів трипсину в проростках пшениці можуть бути зумовлені впливом на рослинну клітину грибних протеаз. Надходження їх у клітини ураженої рослини може призводити до активації механізму захисту у вигляді накопичення відповідних інгібіторів трипсиноподібних протеаз, які переходять із латентного стану в активний або синтезуються *de novo*.

Виявлені зміни активності протеолітичних ензимів та інгібіторів трипсину за інфікування проростків пшениці збудниками фузаріозу та дії жасмонової кислоти свідчать про її участь у формуванні захисних механізмів рослин пшениці до даного патогена. Ймовірно, при взаємодії метаболітів патогена (або жасмонової кислоти) з рецепторами плазмалеми відбувається активація сигнальних систем, які передають елісаторні сигнали у генетичний апарат клітини, що призводить до зміни характеру експресії захисних генів та активації протеазно-інгібіторної системи рослин пшениці. Частиною цих реакцій є значне збільшення рівня сигнальних і гормональних молекул, до яких належить жасмонова кислота.

Подальше вивчення змін протеазно-інгібіторної системи у складних біохімічних механізмах взаємодії «патоген–рослина» може дозволити удосконалити існуючі методи оцінки селекційного матеріалу пшениці на стійкість до збудників фузаріозу та стати основою для ство-

рення прийомів індукування стійкості рослин до грибних інфекцій.

ЛІТЕРАТУРА

- Адамовская В.Г., Клечковская Е.А., Молодченкова О.О., Вовчук С.В. 2000. Изменение протеиназной ингибиторной системы озимой пшеницы под действием салициловой кислоты и *Fusarium*. Физиология растений. 47 (2) : 210-215.
- Бабаянц О.В., Бабаянц Л.Т. 2014. Основы селекции и методологии оценок устойчивости пшеницы к возбудителям болезней. Одесса : 401 с.
- Васюкова Н.И., Озерецковская О.Л. 2009. Жасмонат-зависимая защитная сигнализация в тканях растений. Физиология растений. 56 (5) : 581-590.
- Вовчук С.В., Адамовская В.Г., Клечковская Е.А., Волчевская А.Е. 1992. Активность пептидгидролаз и их ингибиторов в инфицированных листьях озимой пшеницы. В кн.: Методы биотехнологии в селекции сельскохозяйственных растений: Сборник научных трудов ВСГИ. Одесса : 49-54.
- Вовчук С.В. 1979а. Спектрофотометрический метод определения ингибитора трипсина по гидролизу БАПНА. В кн.: Биохимические методы исследования селекционного материала: Сборник научных трудов ВСГИ. 15 : 63-64.
- Вовчук С.В. 1979б. Определение активности протеолитических ферментов в зерне злаковых культур. В кн.: Биохимические методы исследования селекционного материала: Сборник научных трудов ВСГИ. 15 : 59-61.
- Левицкий А.П. 1982. Классификация, номенклатура и биохимические свойства протеолитических ферментов зерна пшеницы и ячменя. В кн.: Протеолитические ферменты и их ингибиторы в семенах зерновых и зернобобовых культур: Сборник научных трудов ВСГИ. Одесса : 7-19.
- Молодченкова О.О., Адамовська В.Г. 2015. Захисні реакції рослин пшениці за дії фузаріозної інфекції, салицилової та жасмонової кислот. Физиология растений и генетика. 47 (5) : 447-458.
- Мосолов В.В., Валуева Т.А. 1997. Протеолитические ферменты. Москва : Наука : 414 с.
- Остерман Л.А. 1985. Хроматография белков и нуклеиновых кислот. Москва : Наука: 535 с.
- Прист Ф. 1987. Внеклеточные ферменты микроорганизмов. Москва : Мир : 117 с.
- Серова З.Я., Юшко Л.С., Подчуфарова Г.М. 1992. Функции белков в фитопатогенезе. Минск : Наука і техніка : 34-45 с.
- Соколова Г.Д. 2005. Патогенность *Fusarium Graminearum* и *F. Culmorum* и резистентность зерновых культур. Микология и фитопатология. 39 (5) : 1-11.
- Тарчевский И.А. 2001. Метаболизм растений при стрессе. Казань : 448 с.

ВПЛИВ ФУЗАРІОЗНОЇ ІНФЕКЦІЇ ТА ЖАСМОНОВОЇ КИСЛОТИ

- Яруллина Л.Г., Ахатова А.Р., Касимова Р.И. 2016. Гидролитические ферменты и их белковые ингибиторы в регуляции взаимоотношений растений с патогенами. Физиология растений. 63 (2) : 205-217.
- Яруллина Л.Г., Ибрагимов Р.И. 2006. Клеточные механизмы формирования устойчивости растений к грибным патогенам. Уфа : Гилем : 228 с.
- Katagiri F., Tsuda K. 2010. Understanding the plant immune system. Mol. Plant Microbe Interact. 23 (12) : 1531-1536. <https://doi.org/10.1094/mpmi-04-10-0099>
- Peterson G. L. 1979. Review of the folin phenol protein quantitation method of lowry, rosebrough, farr and randall. Anal. Biochem. 100 (2) : 201-220. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(79\)90222-7](https://doi.org/10.1016/0003-2697(79)90222-7)
- REFERENCES**
- Adamovskaya V.G., Klechkovskaya E.A., Molodchenkova O.O., Vovchuk S.V. 2000. Change of winter wheat proteinase-inhibitory system by salicylic acid and Fusarium. Russ. J. Plant Physiol. (Fiziologiya Rastenii). 47 (2) : 210-215.
- Babayants O.V., Babayants L.T. 2014. Osnovy selektsii i metodologii otsenok ustoychivosti pshenitsy k vozbuditelnyam bolezney (Basis of selection and methodology of wheat resistance assessment to disease agents). Odessa : 401 p.
- Vasyukova N.I., Ozeretskovskaya O.L. 2009. Jasmonate-dependent defense signaling in plant tissues. Russ. J. Plant Physiol. (Fiziologiya Rastenii). 56 (5) : 581-590. <https://doi.org/10.1134/s102144370905001x>.
- Vovchuk S.V., Adamovskaya V.G., Klechkovskaya E.A., Volchevskaya A.E. 1992. Activity of peptide hydrolases and their inhibitors in infected winter wheat leaves. In: Biokhimicheskiye metody issledovaniya selektsionnogo materiala: Sbornik nauchnykh trudov VSGI (Methods of biotechnology in breeding of agricultural plants Collection of scientific works of the VSGI). Odessa : 49-54.
- Vovchuk S.V. 1979. Spectrophotometric method for determining a trypsin inhibitor by BAPNA hydrolysis. In: Biokhimicheskiye metody issledovaniya selektsionnogo materiala: Sbornik nauchnykh trudov VSGI (Methods of biotechnology in breeding of agricultural plants Collection of scientific works of the VSGI). 15 : 63-64.
- Vovchuk S. V. 1979. Determination of proteolytic enzyme activity in cereal grain crops. In: Biokhimicheskiye metody issledovaniya selektsionnogo materiala: Sbornik nauchnykh trudov VSGI (Methods of biotechnology in breeding of agricultural plants Collection of scientific works of the VSGI). 15 : 59-61.
- Levitsky A.P. 1982. Classification, nomenclature and biochemical properties of wheat and barley grain proteolytic enzymes. In: Proteolytic enzymes and their inhibitors in grain and leguminous seeds. Biokhimicheskiye metody issledovaniya selektsionnogo materiala: Sbornik nauchnykh trudov VSGI (Methods of biotechnology in breeding of agricultural plants Collection of scientific works of the VSGI). Odessa : 7-19.
- Molodchenkova O. O., Adamovskaya V. G. 2015. Wheat defense reactions at the action of fusarium graminearum, salicylic and jasmonic acids. Fiziol. rast. genet. 47 (5) : 447-458.
- Mosolov V. V., Valueva T. A. 1997. Proteoliticheskiye fermenty (Proteolytic Enzymes). Moscow : Nauka : 414 p.
- Osterman L.A. 1985. Khromatografiya belkov i nukleinykh kislot (Chromatography of Proteins and Nucleic Acids). Moscow : Nauka : 535 p.
- Prist F. 1987. Vnekletochnyye fermenty mikroorganizmov (Extracellular Enzymes of Microorganisms). Moscow : Mir : 117 p.
- Serova Z.Y., Yushko L.S., Postufarov G.M. 1992. Funktsii belkov v fitopatogeneze (Protein Functions in Phytopathogenesis). Minsk : Navuka i tekhnika : 34-45 p.
- Sokolova G.D. 2005. Pathogenicity of Fusarium graminearum and F. culmorum and resistance of cereals. Mycology and Phytopathology. (Mikologiya i Fitopatologiya). 39 (5) : 1-11.
- Tarchevsky I.A. 2001. Metabolizm rasteniy pri stresse (Plant Metabolism Under Stress). Kazan : 448 p.
- Yarullina L.G., Akhatova A.R., Kasimova R.I. 2016. Hydrolytic enzymes and their proteinaceous inhibitors in regulation of plant-pathogen interactions. Russ. J. Plant Physiol. (Fiziologiya Rastenii). 63 (2) : 193-203. <https://doi.org/10.1134/S1021443716020151>
- Yarullina L.G., Ibragimov R.I. 2006. Kletochnyye mekhanizmy formirovaniya ustoychivosti rasteniy k gribnym patogenam (Cellular mechanisms for the formation of plant resistance to fungal pathogens). Ufa : Gilem: 228 p.
- Katagiri F., Tsuda K. 2010. Understanding the plant immune system. Mol. Plant Microbe Interact. 23 (12) : 1531-1536. <https://doi.org/10.1094/mpmi-04-10-0099>.
- Peterson G.L. 1979. Review of the folin phenol protein quantitation method of lowry, rosebrough, farr and randall. Anal. Biochem. 100 (2) : 201-220. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(79\)90222-7](https://doi.org/10.1016/0003-2697(79)90222-7)

Надійшла до редакції
10.02.2020 р.

ВПЛИВ ФУЗАРІОЗНОЇ ІНФЕКЦІЇ ТА ЖАСМОНОВОЇ КИСЛОТИ

EFFECT OF FUSARIOSIS INFECTION AND JASMONIC ACID ON PROTEASE-INHIBITORY SYSTEM OF WHEAT SEEDLINGS

E. B. Lykhota, O. O. Molodchenkova

*Plant Breeding and Genetics Institute –
National Center of Seed and Cultivar Investigation
(Odesa, Ukraine)
E-mail: olgamolod@ukr.net*

Increasing the level of proteolytic enzyme inhibitors is thought to be one of the important protective reactions of plants in response to infection with pathogenic fungi. The effects of *Fusarium* infection and jasmonic acid on the protease-inhibitory system of wheat (*Triticum aestivum*) seedlings were investigated. It was shown that changes in the activity of neutral proteases and trypsin inhibitor at the infection by *Fusarium graminearum* differ in wheat seedlings of varieties with different resistance to fusariosis pathogens. Temperature treatment of the extract, salting out, dialysis and affinity chromatography were used to isolate and purify a trypsin inhibitor from healthy wheat seedlings, infected with *Fusarium graminearum*, and treated with jasmonic acid ones. Studies of the component composition of isolated trypsin inhibitors using the PAAG electrophoresis method did not reveal varietal polymorphism, but showed changes in the intensity of bands and the number of components of these proteins when plants were infected with the pathogen and exposed to jasmonic acid. The involvement of jasmonic acid in regulating the activity of trypsin inhibitors at infection of wheat with fungal pathogens is discussed.

Key words: *Triticum aestivum*, fusariosis, resistance, jasmonic acid, proteases, inhibitory proteases

ВЛИЯНИЕ ФУЗАРИОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ И ЖАСМОНОВОЙ КИСЛОТЫ НА ПРОТЕАЗНО-ИНГИБИТОРНУЮ СИСТЕМУ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ

Е. Б. Лихота, О. О. Молодченкова

*Селекционно-генетический институт –
Национальный центр семеноведения и сортоизучения
(Одесса, Украина)
E-mail: olgamolod@ukr.net*

Считается, что повышение содержания ингибиторов протеолитических ферментов является одной из важных защитных реакций растений в ответ на инфицирование патогенными грибами. Исследовали влияние фузариозной инфекции и жасмоновой кислоты на протеазно-ингибиторную систему проростков пшеницы (*Triticum aestivum*). Показано, что изменения активности нейтральных протеаз и ингибитора трипсина при инфицировании проростков пшеницы *Fusarium graminearum* отличаются у сортов с разной устойчивостью к возбудителям фузариоза. С использованием температурной обработки экстракта, высаливания, диализа и аффинной хроматографии проведены выделение и очистка ингибитора трипсина из здоровых, инфицированных *Fusarium graminearum* и обработанных жасмоновой кислотой проростков пшеницы. Исследования компонентного состава выделенных ингибиторов трипсина методом электрофореза в ПААГ не выявило сортового полиморфизма, но показало наличие изменений по интенсивности полос и количеству компонентов этих белков при инфицировании растений патогеном и воздействии жасмоновой кислоты. Обсуждается участие жасмоновой кислоты в регуляции активности ингибиторов трипсина при инфицировании пшеницы грибными патогенами.

Ключевые слова: *Triticum aestivum*, фузариоз, устойчивость, жасмоновая кислота, протеазы, ингибиторы протеаз