

УДК 575.116:633.1

В. А. Топтіков¹, канд. біол. наук, ст. наук. співроб., **Л. Ф. Дьяченко**¹, канд. біол. наук, пров. наук. співроб., **В. М. Тоцький**¹, д-р біол. наук, проф., зав. каф., **Л. Т. Бабаянц**², канд. біол. наук, гол. наук. співроб.

¹ Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова, кафедра генетики та молекулярної біології, вул. Дворянська, 2, Одеса, 65026, Україна

² Селекційно-генетичний інститут УААН, відділ фітопатології та ентомології, Овідіопольська дорога, 3, Одеса, 65036, Україна

СТАН ГЕН-ЕНЗИМНИХ СИСТЕМ ПАРОСТКІВ ПШЕНИЦІ ЗА УРАЖЕННЯ ЇХ ЗБУДНИКОМ БУРОЇ ЛИСТОВОЇ ІРЖІ

Проведено ген-ензимне тестування ліній озимої м'якої пшениці, що містять інтрогресовані гени стійкості від *Aegilops cylindrica*, *Triticum dicoccoides* і *Triticum erebuni*, шляхом вивчення особливостей спектрів пероксидаз, фенолоксидаз, супероксиддисмутаза та естерази. З'ясовано, що взаємодія рослини-хазяїна з мікопатогеном призводить до змін експресивності ген-ензимних систем, що забезпечують процеси загального метаболізму. Зміни функціонування досліджуваних ферментів, які відбуваються на інфекційному фоні в стійких та сприйнятливих до іржі генотипах, мають в цілому протилежну спрямованість. По деяких кількісних показниках спектрів досліджуваних ферментів спостерігаються достовірні корелятивні зв'язки з рівнем стійкості рослин до захворювання. Встановлено, що генетичні системи резистентних рослин забезпечують більшу лабільність та реактивність ген-ензимних систем з одночасним збереженням їх функціонування на визначеному рівні. Досліджувані ферменти можуть бути використані для розробки тест-систем оцінки та прогнозування резистентності озимої м'якої пшениці до бурої листової іржі.

Ключові слова: пшениця, резистентність, бура листовая іржа, множинні молекулярні форми ферментів, взаємодія генів, ген-ензимна система.

Створення сортів пшениці, стійких до захворювань, бурої листової іржі зокрема, є дуже актуальним. Зазначена хвороба спричиняє в Україні значні збитки [1]. Успішна селекційна робота залежить з одного боку від наявності та підбору вихідного матеріалу з високоефективними генами резистентності, з другого боку — від надійних тест-систем на стійкість до мікопатогенів. Серед таких тест-систем особливу роль грають ті, що мають прогностичне значення. Перспективними є тест-системи, засновані на аналізі загальноклітинних ферментів, оксидоредуктаз зокрема [2–7]. В попередніх наших дослідженнях було показано, що електрофоретичні спектри деяких оксидоредуктаз та гідролаз відрізняються у різних за рези-

стентністю до мікопатогенів генотипів [8–11]. Однак, зазначена закономірність не є абсолютною. В зв'язку з цим виникає необхідність подальшого пошуку тест-систем, що ґрунтуються на аналізі ген-ензимних систем рослини.

Мета роботи — провести порівняльний аналіз змін експресивності досліджуваних ферментних систем, що спостерігаються у резистентних та сприйнятливих рослин. Основний принцип аналізу полягає у визначенні змін показників спектрів ферментів рослин після їх інфікування у порівнянні з показниками контрольних рослин, яких вирощували за нормальних умов. Роботу виконували за планом договірної бюджетної теми (держбюджет, № держреєстрації 0104U01083, код КПКВ 2201030 "Надання грантів Фондом фундаментальних досліджень", КЕКВ 1170).

Матеріали і методи

Досліджували 17 генотипів озимої м'якої пшениці з різним рівнем стійкості до бурої листової іржі. Рослинні форми об'єднували у дві головні групи відповідно рівню їх стійкості до збудника: резистентні та дуже сприйнятливі. В свою чергу серед резистентних генотипів виділяли високостійкі та стійкі рослини (табл. 1).

Таблиця 1

Властивості досліджуваних форм озимої м'якої пшениці

Рослинна форма: лінії та сорти озимої м'якої пшениці	Рівень стійкості до збудника бурої листової іржі відповідно інтегрованої шкалі оцінки стійкості зернових колосових культур	Джерело генів резистентності до збудника бурої листової іржі
Резистентні генотипи		
<i>Високорезистентні генотипи</i>		
Лінія 5/55-91	9	<i>Aegilops cylindrica</i>
Лінія ф134/04	9	<i>Aegilops cylindrica</i>
Лінія ф63/04	8	<i>Aegilops cylindrica</i>
Лінія ф284/04	9	<i>Aegilops cylindrica</i>
Лінія 7/31-91	9	<i>Aegilops cylindrica</i>
Лінія ф182/04	8	<i>Aegilops cylindrica</i>
Лінія ф30/04	8	<i>Aegilops cylindrica</i>
Лінія ф54/04	8	<i>Aegilops cylindrica</i>
Лінія ф87/04	8	<i>Triticum erebuni</i>
Лінія МГ 47/61-97	9	<i>Triticum dicoccoides</i>
<i>Генотипи зі середнім рівнем резистентності</i>		
Лінія ф67/04	7	<i>Aegilops cylindrica</i>
Лінія ф29/04	7	<i>Aegilops cylindrica</i>
Лінія ф97/04	6	<i>Aegilops cylindrica</i>
Лінія 41/46-95	6	<i>Triticum erebuni</i>
Високосприйнятливі генотипи		
Одеська напівкарликова	1	
Одеська 162	2	
Українка	2	

Вищезазначені лінії озимої м'якої пшениці створено у відділі фітопатології Одеського селекційно-генетичного інституту. Всі досліджувані лінії є генетично вирівняними та цитогенетично стабільними [12, 13]. Походження і схеми створення досліджуваних генотипів наведено у роботах [10–15]. Фітопатологічну оцінку провадили за загальноприйнятими методиками [16].

Зараження рослин пшениці здійснювали у лабораторних умовах. Чисту культуру моноізоляту збудника бурої листової іржі отримували загальноприйнятими засобами [16]. Рослини вирощували в оранжереї за оптимальних для цієї культури умов (фотоперіод: 16 годин — день, 8 годин — ніч; температура: 22–25°C вдень, 16–17°C вночі; відносна вологість повітря 60–80%) у пластмасових вазонах з ґрунтом до повного розгортання першого листка. Вік рослин складав приблизно десять діб. В експерименті було використано біля 20–30 рослин кожного генотипу, десять — п'ятнадцять з яких інфікували. Для цього надземну частину рослин обприскували за допомогою пульверизатора водною суспензією спор збудника — "дослід". Суспензію готували із розрахунку біля десяти спор у полі зору при малому збільшенні мікроскопа. Другу половину всіх рослин обробляли чистою водою — "контроль". Через добу з дослідних і контрольних рослин зрізали перші листки, з яких отримували екстракти.

Досліджували наступні ген-ензимні системи: пероксидаз (ПО), фенолоксидаз (ФО), супероксиддисмутаза (СОД) і естераз. Екстракцію та електрофоретичний розподіл множинних молекулярних форм (ММФ) ферментів провадили, як було вказано раніше [9]. ПО ідентифікували на електрофореграмах за [17], ФО — за [18], СОД — за [19], естеразу — за [20].

Для кількісного аналізу електрофореграм використовували комп'ютерну програму АнаИС [Поджарський, Рибалка, podzharsky@ukr.net], за допомогою якої для кожної ізоформи досліджуваного ферменту визначали коефіцієнт відносної електрофоретичної рухливості (Rf), питому вагу в загальному спектрі ферменту (%) та її активність в умовних одиницях (пікселях).

Для розрахунку амплітуди змін активності та питомої ваги ізоформ ферментів у спектрі провадили попарне зіставлення кількісних показників у контролі (нормальні умови вирощування) та досліді (на інфекційному фоні), а також використовували формули:

$$(D - K) / D \times 100\%, \quad (1)$$

де D — значення активності ізоформи у дослідних рослин, K — значення активності ізоформи у контрольних рослин;

$$D / K, \quad (2)$$

де D — значення питомої ваги ізоформи у дослідних рослин, K — значення питомої ваги ізоформи у контрольних рослин.

Математичну обробку результатів здійснювали за допомогою комп'ютерної програми *Microsoft Excel*.

Результати досліджень та їх аналіз

В цілому склад ферментних препаратів, отриманих з інфікованих рослин, обумовлений власними рослинними компонентами, а також ферментами, які знаходяться в клітинах гриба — збудника захворювання. Тому для правильного аналізу отриманих даних важливим було визначення у спектрі ферментів інфікованих рослин того внеску, який належить клітинам патогену. Електрофоретичний аналіз ферментів зі спор збудника (дані не наведено) показав, що в рослинах, оброблених суспензією спор збудника іржі, деякі зміни електрофоретичних спектрів ферментів можуть бути обумовлені також присутністю ферментів гриба. Однак, суспензія клітин патогену, яку використовували для інфікування, була сильно розбавленою і містила незначну кількість спор збудника. Концентрація спор у суспензії для обробки рослин була у тисячі разів меншою, ніж у зразках, що використовували для електрофоретичного аналізу. Крім того, аналіз інфікованих рослин провадили через добу після обробки, тобто на ранній стадії взаємодії патогену з хазяїном, коли його міцелій ще не міг поширитися в листовій тканині. Відомо, що за розвитку захворювання бурюю листовою іржею вегетативна фаза триває 4–5 днів (до тижня), після чого настає генеративна фаза розвитку гриба [21, 22].

Враховуючи ці обставини, можна ігнорувати наявність ферментів гриба у пробах, а отримані дані трактувати як реакцію ген-ензимних систем рослини на ураження грибом.

Зміни експресивності ген-ензимної системи пероксидази, які відбуваються під впливом інфікування збудником бурюї листової іржі у рослин з різним рівнем резистентності до захворювання, наведено у табл. 2.

Дія патогену викликає загальне підвищення пероксидазної активності як у резистентних, так і у сприйнятливих сортів. Це пояснюється важливою роллю, яку грає цей фермент у захисних реакціях організму, в тому числі проти мікопатогенів [22–25]. Однак, ми не одержали підтвердження того, що зростання активності пероксидаз в тканинах стійких рослин більш значне, ніж у сприйнятливих [22]. Більш суттєве значення мають особливості перебудови всього спектра ферменту (табл. 2). У сприйнятливих рослин, незважаючи на підвищення активності окремих ізоформ ПО, достовірних змін питомої ваги кожної з них не спостерігається, тобто спектр ферменту в цілому не змінюється. У резистентних рослин, навпаки, на фоні підвищення активності найбільш повільних та рухливих форм ПО спостерігаються зміни відносних часток окремих ізоферментів у спектрі множинних форм: достовірно збільшується питома вага малорухливої фракції (R_f 0,01–0,09) та знижується відносна частка середньорухливої фракції (R_f 0,20–0,30).

Таблиця 2

Експресивність ген-ензимної системи пероксидази у різних за стійкістю до бурої листової іржі рослин після інфікування збудником

	Ізоформи, значення R_f							
	0,01–0,09	0,10	0,15	0,18	0,20–0,30	0,32–0,41	0,45–0,50	Всі ізоформи
	<i>Зміни активності окремих множинних форм</i>							
Резистентні генотипи *	13,22±5,01 ↑ $P=0,009$	3,25±5,21 =	7,97±4,08 =	3,31±7,03 =	8,09±7,18 =	1,22±3,21 =	9,21±3,24 ↑ $P=0,012$	9,13±3,71 ↑ $P=0,025$
Сприйнятливі генотипи *	18,91±5,07 ↑ $P=0,036$	5,10±17,79 =	8,17±15,81 =	20,05±4,39 ↑ $P=0,030$	6,95±3,65 =	-3,38±10,94 =	0,03±7,10 =	11,72±0,85 ↑ $P=0,007$
P^1	=	=	=	0,050	=	=	=	=
r	=	=	=	=	=	=	=	=
	<i>Зміни питомої ваги окремих ізоформ у спектрі</i>							
Резистентні генотипи *	1,09±0,03 ↑ $P=0,038$	0,97±0,03 =	1,02±0,04 =	1,05±0,08 =	0,95±0,01 ↓ $P=0,003$	0,99±0,04 =	1,04±0,04 =	
Сприйнятливі генотипи *	1,10±0,08 =	1,00±0,19 =	1,01±0,15 =	1,11±0,05 =	0,95±0,04 =	0,87±0,09 =	0,89±0,07 =	
P^1	=	=	=	=	=	=	=	=
r	=	=	=	=	=	=	=	=

Примітки: * — наведено середні арифметичні значення змін кількісних показників ізоформ у досліді в порівнянні з контролем в межах окремої групи рослин, їх стандартна помилка та рівень достовірності різниці між дослідом і контролем (P);

P^1 — рівень достовірності різниці між різними за стійкістю генотипами;

P^2 — рівень достовірності коефіцієнту кореляції;

r — коефіцієнт кореляції між зміною показників ізоформ і стійкістю до захворювання;

"=" означає відсутність достовірності різниці, або кореляції;

↑, ↓ — напрямок змін: збільшення чи зменшення значень показників.

Істотні зміни під впливом патогену спостерігалися також в експресивності ген-ензимних систем фенолоксидази (табл. 3). У цій системі чітко виявилася протилежна спрямованість змін, що формуються під впливом патогену, в різних за стійкістю рослин. Для стійких рослинних форм характерно підвищення активності практично всіх множинних форм ФО і, як наслідок, зростання загальної активності ферменту. В сприйнятливих генотипах, навпаки, активність жодної ізоформи ФО не підвищувалася, а у фракції з R_f 0,45 – 0,50 навіть достовірно знижувалася. Такі істотні розходження між резистентними та сприйнятливими рослинами за дії патогену обумовили наявність корелятивних зв'язків між змінами активності окремих ізоформ фенолоксидази та загальною активністю ферменту і резистентністю генотипів (табл. 3). Значного перерозподілу ізоформ в спектрі ФО не виявлено ні у стійких, ні у сприйнятливих генотипів. Однак, за вивчення спектрів ФО спо-

стерігали розбіжності в характері реагування різних генотипів на інфекцію (табл. 3). Можна зазначити, що головною ознакою реакції ген-ензимної системи фенолоксидази резистентних рослин на інфікування збудником бурої листової іржі є загальне збільшення активності ферменту на фоні змін у розподілі окремих ізоформ на електрофореграмі.

Таблиця 3

Експресивність ген-ензимної системи фенолоксидази у різних за стійкістю до бурої листової іржі рослин після інфікування збудником

	Ізоформи, значення <i>Rf</i>							
	0,01–0,09	0,10	0,15	0,18	0,20–0,30	0,32–0,41	0,45–0,50	Всі ізоформи
<i>Зміни активності окремих множинних форм</i>								
Резистентні генотипи *	9,26± 1,99 ↑ <i>P</i> <0,001	11,15± 3,16 ↑ <i>P</i> =0,004	9,07± 3,46 ↑ <i>P</i> =0,022	17,96± 4,31 ↑ <i>P</i> =0,002	11,97± 3,48 ↑ <i>P</i> =0,007	- 1,62± 4,52 =	6,63± 3,92 =	9,96± 1,63 ↑ <i>P</i> <0,001
Сприйнятливі генотипи *	0,29± 7,73 =	1,64± 13,48 =	- 4,01± 8,17 =	19,72± 21,77 =	- 4,08± 1,45 =	- 13,13± 11,60 =	- 8,37± 1,68 ↓ <i>P</i> =0,042	- 1,19± 1,95 =
<i>P</i> ¹	=	=	=	=	0,001	=	0,003	0,007
<i>r</i>	0,49; <i>P</i> ² <0,05	=	=	=	0,53; <i>P</i> ² <0,05	=	=	0,67; <i>P</i> ² <0,01
<i>Зміни питомої ваги окремих ізоформ у спектрі</i>								
Резистентні генотипи *	1,00± 0,02 =	1,03± 0,04 =	1,00± 0,03 =	1,15± 0,08 =	1,04± 0,03 =	0,90± 0,30 ↓ <i>P</i> =0,007	1,00± 0,06 =	
Сприйнятливі генотипи *	1,03± 0,09 =	1,07± 0,14 =	0,98± 0,06 =	1,55± 0,54 =	0,97± 0,02 =	0,91± 0,08 =	0,93± 0,01 ↓ <i>P</i> =0,005	
<i>P</i> ¹	=	=	=	=	0,050	=	=	
<i>r</i>	=	=	=	=	=	=	=	

Примітки, як у таблиці 2.

Зміни у спектрах супероксиддисмутази, які індуковані взаємодією рослини-хазяїна з патогенним грибом, підсумовані в табл. 4. В протилежність вище розглянутим ферментам — ПО та ФО — загальна активність СОД у досліді достовірно не відхиляється від норми. Перебудови у ген-ензимній системі супероксиддисмутази головним чином пов'язані зі змінами активності та питомої ваги у електрофоретичному спектрі двох фракцій ферменту: малорухливої (*Rf* 0,09 – 0,18) та найбільш швидкої (*Rf* 0,54 – 0,60). При цьому, як і у випадку пероксидаз та фенолоксидаз, у різних за стійкістю рослин ці зміни в цілому здійснюються у протилежних напрямках. У стійких рослин інфікування збудником призводить до зниження питомої ваги у спектрі СОД фракції з *Rf* 0,09 – 0,18 і підвищення активності та збільшення її частки у спектрі множинних форм з *Rf* 0,54 – 0,60. У сприйнятливих рослин активність та питома вага фракції з *Rf* 0,09 – 0,18, навпаки, збільшується. Крім того, в спек-

трах СОД нестійких генотипів спостерігається зменшення питомої ваги фракції ферменту з електрофоретичною рухливістю 0,19 – 0,30. Зміни ізоформ СОД з R_f 0,09 – 0,18 та R_f 0,54 – 0,60 пов'язані зі стійкістю рослин до іржі статистично достовірними корелятивними взаємовідношеннями (табл. 4).

Таблиця 4
Експресивність ген-ензимної системи СОД у різних за стійкістю до бурої листової іржі рослин після інфікування збудником

	Ізоформи, значення R_f				
	0,01–0,08	0,09 – 0,18	0,19 – 0,30	0,54 – 0,60	Всі ізоформи
	<i>Зміни активності окремих множинних форм</i>				
Резистентні генотипи *	1,68± 3,17 =	- 4,57± 3,71 =	- 0,43± 2,92 =	10,09± 4,18 ↑ $P=0,016$	0,77± 2,46 =
Сприйнятливі генотипи *	- 2,69± 19,69 =	21,54± 13,00 ↑ $P=0,047$	- 4,43± 7,01 =	- 11,68± 8,97 =	3,99± 8,43 =
P^1	=	0,030	=	0,028	=
r	=	- 0,51; $P^2 < 0,05$	=	0,48; $P^2 < 0,05$	=
	<i>Зміни питомої ваги окремих ізоформ у спектрі</i>				
Резистентні генотипи *	1,01± 0,02 =	0,95± 0,02 ↓ $P=0,018$	0,99± 0,02 =	1,13± 0,04 ↑ $P=0,027$	
Сприйнятливі генотипи *	1,03± 0,13 =	1,10± 0,03 ↑ $P=0,038$	0,96± 0,025 ↓ $P=0,025$	0,92± 0,11 =	
P^1	=	0,014	=	0,049	
r	=	- 0,55; $P^2 < 0,05$	=	0,48; $P^2 < 0,05$	

Примітки, як у таблиці 2.

Результати аналізу змін, які відбуваються в спектрах естераз після взаємодії рослини з мікопатогеном, наведені у табл. 5. В протилежність усім вище розглянутим ферментам, реакція ген-ензимних систем, контролюючих естерази, у відповідь на інфікування рослин була принципово іншою. В резистентних рослинах патоген не викликав жодних достовірних змін активності множинних форм естераз та їх розподілу в спектрі, тобто ген-ензимна система естераз стійких генотипів характеризується значною стабільністю та не змінює свою експресивність під впливом збудника хвороби. Сприйнятливим рослинам, навпаки, властиве зменшення активності деяких множинних форм ферменту за відсутності підвищення активності інших ізоформ естераз. Особливо помітним є зниження активності та, як наслідок, питомої ваги множинної форми естерази з R_f 0,13. В зв'язку з цим зміни кількісних показників множинної форми естерази з R_f 0,13 за інфікування рослин добре корелюють з рівнем стійкості до бурої листової іржі (табл. 5).

Таблиця 5

Експресивність ген-ензимної системи естераз у різних за стійкістю до бурої листової іржі рослин після інфікування збудником

	Ізоформи, значення R_f					
	0,01–0,09	0,13	0,16 – 0,33	0,38 – 0,46	0,48 – 0,54	Всі ізоформи
<i>Зміни активності окремих множинних форм</i>						
Резистентні генотипи *	2,95± 8,82 =	2,23± 5,12 =	- 1,79± 5,95 =	- 0,97± 3,81 =	5,63± 3,22 =	1,84± 6,66 =
Сприйнятливі генотипи *	0,86± 13,83 =	- 43,31± 16,80 ↓ $P=0,05$	-16,14± 9,72 =	5,56± 5,56 =	4,50± 4,50 =	-9,41± 1,74 =
P^I	=	0,05	=	=	=	=
r	=	0,57; $P^2<0,05$	=	=	=	=
<i>Зміни питомої ваги окремих ізоформ у спектрі</i>						
Резистентні генотипи *	1,04± 0,04 =	1,03± 0,07 =	0,97± 0,04 =	0,26± 0,12 =	0,37± 0,16 =	
Сприйнятливі генотипи *	1,12± 0,07 =	0,77± 0,04 ↓ $P=0,05$	0,94± 0,02 =	0,38± 0,38 =	0,36± 0,36 =	
P^I	=	0,006	=	=	=	
r	=	0,50; $P^2<0,05$	=	=	=	

Примітки, як у таблиці 2.

На підставі представлених даних можна прийти до висновку, що взаємодія патогену з рослиною-хазяїном призводить до неоднозначних змін експресивності досліджуваних ген-ензимних систем у різних генотипів пшениці. Зазначені зміни проявляються певними відхиленнями кількісних показників електрофоретичних спектрів ферментів в умовах зараження від параметрів, які властиві рослинам у нормальному стані. Особливості змін залежать в першу чергу від рівня стійкості пшениці до збудника захворювання. Резистентним генотипам за їх інфікування властивий істотний зсув функціонування ген-ензимних систем оксидоредуктаз (ПО, ФО, СОД). У сприйнятливих рослин істотних змін у спектрах ферментів або не відбувається, або ці зміни мають принципово іншу спрямованість. Звичайний арифметичний підрахунок кількості змінених фракцій, що спостерігалися в ген-ензимних системах оксидоредуктаз стійких рослин у порівнянні зі сприйнятливими вже на другу після інфікування добу (15 проти 8), свідчить про більш високу лабільність та реактивність ген-ензимних систем у стійких до захворювання генотипів. Встановлені зміни можуть бути пов'язані не тільки з впливом патогену на загальний метаболізм клітин інфікованих рослин, але й із безпосередньою роллю вище зазначених ферментів у захисних реакціях організму [2–7; 22–28].

Про це свідчить наявність корелятивних зв'язків між рівнем стійкості рослин та змінами їх спектрів. Підтвердженням захисних функцій досліджуваних оксидоредуктаз є наявність встановлених раніше в наших дослідах кореляцій деяких показників електрофоретичних спектрів ферментів з присутністю у рослин певної кількості *Lr*- та *Vt*-генів [10, 11], тобто безпосередніх генетичних детермінантів, що визначають вертикальну стійкість рослин до відповідних мікопатогенів.

Не виключено, що для формування резистентності рослин важливими є не тільки лабільність та реактивність ген-ензимних систем, але й можливість збереження їх функціонування на певному рівні. Про це свідчить стабільність спектрів естераз у резистентних рослин за їх інфікування, чого не виявляється у сприйнятливих рослин.

Підсумовуючи обговорення отриманих результатів, можна також зробити висновок, який має важливе практичне значення. Ген-ензимні системи досліджуваних ферментів (пероксидаз, фенолоксидаз, супероксиддисмутаза та естераз) можуть бути застосовані для розробки тест-систем оцінки та прогнозування резистентності озимої м'якої пшениці до бурої листової іржі. В якості критеріїв визначення оцінки стійкості до патогену селекційних зразків виступатимуть показники електрофоретичних спектрів ферментів інтактних рослин та особливості змін зазначених показників на провокаційному інфекційному фоні. Для більш точного і надійного прогнозування стійкості нового селекційного матеріалу пропонується паралельний аналіз декількох ферментних систем з одночасним використанням в якості внутрішніх стандартів контрастних генотипів з відомим рівнем резистентності до захворювання.

Висновки

1. Експресивність досліджуваних ген-ензимних систем паростків пшениці змінюється після інфікування збудником бурої листової іржі як у резистентних, так й у сприйнятливих генотипів. Суттєвість змін залежить від рівня стійкості рослин до хвороби і має протилежну спрямованість у стійких та сприйнятливих до іржі генотипів.
2. Зміни функціонування ген-ензимних систем оксидоредуктаз стійких рослин після інфікування збудником відбуваються в першу чергу шляхом перерозподілу активності між окремими ізоформами ферментів; підвищується загальна активність пероксидаз та фенолоксидаз. Водночас за тих же умов дослідження спектри ізоформ естераз тканин стійких генотипів практично не змінюються.
3. Генотипи резистентних рослин виявляють більшу лабільність та реактивність досліджуваних ген-ензимних систем і обумовлюють достатньо високий рівень їх функціонування в умовах ураження збудником бурої листової іржі.

4. Досліджувані ген-ензимні системи можуть бути використані для розробки тест-систем для оцінки та прогнозування резистентності озимої м'якої пшениці до бурої листової іржі, що важливо для практичної селекції.

Література

1. Чумаков А. Е. Проблемы ржавчины хлебных злаков // Защита растений. — 1968. — № 4. — С. 113-136.
2. Андреева В. А. Фермент пероксидаза. Участие в защитном механизме растений. — М.: Наука, 1988. — 128 с.
3. Запрометов М. Н. Фенольные соединения растений и их биогенез. "Биологическая химия". — Т. 27. (Итоги науки и техники. ВИНТИ АН СССР). — М., 1988. — 188 с.
4. Venere R. J. Role peroxidase in cotton resistant to bacterial blight // Plant Sci. Lett. — 1980. — Vol. 20, N 1. — P. 47-56.
5. Gay P. A. Tuzun S. Temporal and spatial assessment of defense responses in resistant and susceptible cabbage varieties during infection with *Xanthomonas campestris* // Physiol. And Mol. Plant Pathol. — 2000. — Vol. 57, N 5. — P. 201-210.
6. Peroxidase and β -glucosidase responses of tomato fruits to viral, bacterial and fungal infections / D. Georgieva, A. Edreva, R. Rodeva, V. Sotirova, E. Stoimenova // Plant peroxidase newsletter. — 2000. — N 15. — P. 29-35.
7. Monfalbini P. Superoxide dismutases and peroxidase activities in rust infected *Vicia faba* and *Phaseolus vulgaris* leaves // Rev. Pathol. veg. — 1987. — Vol. 23. — P. 99-108.
8. Множинні молекулярні форми деяких оксидоредуктаз і резистентність м'якої пшениці до фузаріозу / Л. Ф. Дьяченко, В. А. Топтіков, С. Л. Мірось, Л. Т. Бабаянц, В. М. Тоцький // Вісник ОНУ. — 2001. — Т. 6, № 1. — С. 59-66.
9. Сопряженность устойчивости озимых мягких пшениц к *Fusarium graminearum* Schwabe. и множественных молекулярных форм некоторых ферментов / В. А. Топтіков, С. Л. Мірось, Л. Ф. Дьяченко, В. Н. Тоцький, М. А. Залогина // Цитология и генетика. — 2002. — Т. 36, № 3. — С. 3-11.
10. Електрофоретичні спектри пероксидази у різних за стійкістю до бурої листової іржі та твердої сажки ліній озимої м'якої пшениці та їх батьків / В. А. Топтіков, Л. Ф. Дьяченко, В. М. Тоцький, Л. Т. Бабаянц // Вісн. ОНУ. — 2005. — Т. 10, вип. 3. — С. 70-84.
11. Експресивність ген-ензимних систем у споріднених ліній озимої м'якої пшениці, стійких до мікопатогенів / В. А. Топтіков, Л. Ф. Дьяченко, В. М. Тоцький, Л. Т. Бабаянц // Вісн. ОНУ. — 2005. — Т. 10, вип. 5. — С. 132-144.
12. Бабаянц Л. Т., Дубинина Л. А., Ющенко Г. М. Выявление неаллельных известным генов устойчивости к *Tilletia caries* (DC) Tul. линий пшеницы от межвидовой гибридизации (*Triticum aestivum* x *Aegilops cylindrica*) // Цитология и генетика. — 2000. — Т. 34, № 4. — С. 32-40.
13. Интрогрессия в пшеницу новых генов устойчивости к возбудителю твердой головни / Л. Т. Бабаянц, Л. А. Дубинина, В. Л. Барановская, В. А. Палясний // 36. наук. праць СГП. — О., вип. 2 (42). — 2002. — С. 70-75.
14. Бабаянц Л. Т., Рыбалка О. І., Аксельруд Д. В. Нове джерело стійкості пшениці до основних хвороб // Реалізація потенційних можливостей сортів і гібридів Селекційно-генетичного інституту в умовах України: 36. наук. праць. — О., 1996. — С. 111-116.
15. Создание гибридов озимой мягкой пшеницы с *Aegilops cylindrica*, их изучение и перспективы / Д. В. Аксельруд, А. И. Рыбалка, Ю. Н. Карпюк, А. Н. Хохлов, О. И. Нагуляк // Цитология и генетика. — 1997. — Т. 31, № 4. — С. 45-51.
16. Бабаянц Л. Т., Мейстерхази А. и др. Методы селекции и оценка устойчивости пшеницы и ячменя к болезням. — Прага, 1988. — С. 125-208.

17. Сафонов В. И., Сафонова М. Р. Исследование белков и ферментов растений методом электрофореза в полнакриламидном геле // Биохимические методы в физиологии растений. — М.: Наука, 1971. — 113 с.
18. Ермаков А. И., Арасимович В. В., Ярош Н. П. и др. Методы биохимического исследования растений. — Л.: Агрпромиздат, 1987. — 430 с.
19. Гааль Э., Медьеша Г., Верецкеи Л. Электрофорез в разделении биологических молекул. — М.: Мир, 1965. — 448 с.
20. Левитес Е. В. Генетика изоферментов растений. — Новосибирск: Наука, 1986. — 144 с.
21. Дунин М. С., Буданов В. Е. Развитие бурой ржавчины пшеницы различного происхождения // Вестн. с.-х. Науки. — 1974. — № 1. — С. 17–25.
22. Лесовой М. П., Кравець А. Ф., Шелехова Л. И. Исследование степени активирования изозимов пероксидазы в связи с наследованием иммунологических реакций пшеницы к возбудителю бурой ржавчины // Физиология и биохимия культурных растений. — 1981. — Т. 13, № 3. — С. 263–268.
23. Чигрин В. В., Шутова Е. А., Саутич М. А. Изменение активности пероксидазы у устойчивых и восприимчивых сортов пшеницы при заражении стеблевой ржавчиной // Физиология растений. — 1973. — Т. 20, № 1. — С. 79–84.
24. Палилова А. Н., Фомченко Н. С. Особенности спектров изоформ ферментов изогенных линий мягкой пшеницы при заражении бурой ржавчиной // Сельскохозяйственная биология. — 1993. — № 3. — С. 127–129.
25. Мартюченко С. А. Изоэлектрофокусирование пероксидаз листьев и корней пораженных стеблевой ржавчиной растений пшеницы // Физиология растений. — 1975. — Т. 22, № 5. — С. 1079–1081.
26. Рубин Б. А., Ладыгина М. Е. Физиология и биохимия дыхания растений. — М.: Изд-во Московского университета, 1974. — 512 с.
27. Дмитриев А. П. Сигнальные системы иммунитета растений // Цитология и генетика. — 2002. — Т. 36, № 3. — С. 58–68.
28. Шакирова Ф. М. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. — Уфа: Гилем, 2001. — 160 с.

В. А. Топтиков¹, Л. Ф. Дьяченко¹, В. Н. Тоцкий¹, Л. Т. Бабаянц²

¹ Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова,
кафедра генетики и молекулярной биологии,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65026, Украина

² Селекционно-генетический институт,
Овидиопольская дор., 3, Одесса, 65036, Украина

СОСТОЯНИЕ ГЕН-ЭНЗИМНЫХ СИСТЕМ ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ ПРИ ЗАРАЖЕНИИ ИХ ВОЗБУДИТЕЛЕМ БУРОЙ ЛИСТОВОЙ РЖАВЧИНЫ

Резюме

Проведено ген-энзимное тестирование линий озимой мягкой пшеницы, содержащих интрогрессированные из *Aegilops cylindrica*, *Triticum dicoccoides* и *Triticum erebuni* гены резистентности к микопатогенам, путем исследования особенностей спектров пероксидаз, фенолоксидаз, супероксиддисмутаза и эстераз. Установлено, что взаимодействие растения-хозяина с микопатогеном приводит к изменению экспрессивности ген-энзимных систем, обеспечивающих процессы общего метаболизма. Сдвиги функционирования исследуемых ферментов, происходящие на фоне инфицирования, имеют в целом противоположную направленность у восприимчи-

вых и устойчивых к ржавчине генотипов. Выявлены достоверные коррелятивные взаимоотношения между уровнем устойчивости растений к болезни и некоторыми количественными показателями спектров ферментов. Установлено, что генетические системы резистентных генотипов обеспечивают более высокий уровень лабильности и реактивности ген-энзимных систем с одновременным сохранением их функционирования на необходимом уровне. Исследуемые ферменты могут быть использованы для разработки тест-систем для оценки и прогнозирования резистентности озимой мягкой пшеницы к бурой листовой ржавчине.

Ключевые слова: пшеница, резистентность, бурая листовая ржавчина, множественные молекулярные формы ферментов, взаимодействие генов, ген-энзимная система.

V. A. Toptikov¹, L. F. Diachenko¹, V. N. Totsky¹, L. T. Babayants²

¹ Odessa Mechnikov National University,
Department of Genetic and Molecular Biology,
Dvoryanskaya str., 2, Odessa, 65026, Ukraine

² Plant Breeding and Genetic Institute,
Ovidiopolskaya St., 3, Odessa, 65036, Ukraine

THE STATE OF GENE-ENZYME SYSTEMS OF WHEAT SEEDLINGS UNDER LEAF RUST PATHOGENE INFECTION

Summary

The gene-enzyme testing of winter soft wheat with genes of micopathogene resistance being introgressed from *Aegilops cylindrica*, *Triticum dicoccoides* and *Triticum erebuni* previously, obtained by investigation of peroxidases, phenoloxidases, superoxydesmutases and, esterases spectra features. It is found out, that the interaction of plant-host with micopathogene brings to changes of gene-enzyme systems, ensuring the processes of general metabolism. The reorganization of the studied enzymes taking place on the background of infection, has the opposite direction for the genotypes susceptible and resistant to leaf rust. The reliable correlative relationship has been revealed between the level of plant stability to the disease and some quantitative indices of the enzymes spectra. The genetical systems of the resistant genotypes provide higher level of lability and reactivity of gene-enzyme systems with preservation of their functioning at the necessary level. The studied enzymes can be used for working out of the test-system for estimation and prediction of soft winter wheat resistance to leaf rust.

Keywords: wheat, resistance, brown leaf rust, multiple molecular forms of ferments, gene interaction, gene-enzyme system.