

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК  
УФИМСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР  
ИНСТИТУТ БИОХИМИИ И ГЕНЕТИКИ  
АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН

**Ф.М. Шакирова**

**НЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ  
УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ  
К СТРЕССОВЫМ ФАКТОРАМ  
И ЕЕ РЕГУЛЯЦИЯ**



Издательство «Гилем»  
УФА — 2001

ББК 28.57

Ш 12

УДК 581.1: 577.175.1:631.524.85

Ф.М. Шакирова. Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. Уфа: Гилем, 2001. – 160 с.

ISBN 5-75-01-0215-7

В работе проведен анализ большого количества данных о развитии разнообразных универсальных защитных реакций в растительных организмах в ответ на неблагоприятные факторы окружающей среды и рассмотрены механизмы антистрессового действия фитогормонов. Выявлено, что защитное действие биорегуляторов включает в себя влияние на состояние эндогенной гормональной системы и активность трансляционного аппарата растений в обычных условиях произрастания и при воздействии стрессовых факторов, что способствует реализации физиолого-биохимических механизмов повышения устойчивости и продуктивности растений. Обсуждается участие агглютинина зародыша пшеницы в защитных реакциях растений в ответ на действие разных по природе неблагоприятных факторов, что позволяет отнести его к АБК-контролируемым компонентам неспецифической устойчивости пшеницы.

Книга рассчитана на физиологов и биохимиков растений, специалистов в области растениеводства, преподавателей и студентов вузов биологического профиля.

Табл. 10. Рис. 35. Библиограф.: 558 назв.

*Ответственный редактор*  
акад. АН РБ, проф. В.А. Вахитов

*Рецензенты:*  
проф. Г.Р. Кудоярова,  
канд. биол. наук Ш.Я. Гилязетдинов

ISBN 5-75-01-0215-7

© Шакирова Ф.М., 2001  
© Издательство «Гилем», 2001

*Сыну Камиллю и всей моей семье  
с благодарностью посвящаю*

## ВВЕДЕНИЕ

Растительные организмы обладают широким спектром защитно-приспособительных реакций, способствующих развитию их устойчивости к разнообразным стрессовым факторам внешней среды.

Рассмотрение совокупности адаптивных процессов, развивающихся в растениях в ответ на повреждающие воздействия, позволяет выявить общие неспецифические физиолого-биохимические защитные реакции, к числу которых можно отнести сдвиги в гормональном балансе, вносящие свой вклад в изменение структуры и функции клеток и способствующие переключению функциональной активности клеток в нормальных условиях на так называемые стрессовые подпрограммы. К их проявлениям можно отнести снижение активности процессов метаболизма, которое, однако, сопровождается индукцией образования целого ряда соединений, необходимых для сохранения целостности клеточных структур и жизненного потенциала растительного организма в неблагоприятных условиях [Мелехов, 1985; Кулаева, 1994; Dixon, Palva, 1996; Тарчевский, 1993; 2000]. Среди них заметное место занимает изменение в спектре синтезируемых белков.

Сейчас не вызывает сомнений ключевая роль АБК в индукции синтеза более десятка стрессовых белков, протекторная роль многих из которых уже доказана [Bewley, 1997; Leung, Giraudat, 1998; Busk, Pages, 1998]. Вместе с тем АБК участвует в регуляции синтеза белков, играющих важную роль в повседневной жизни растений [Singh et al., 1987; Robertson et al., 1994; Hurkman, Tanaka, 1996]. К таким белкам, вероятно, можно отнести и лектин пшеницы, так называемый агглютинин зародыша пшеницы (АЗП), относящийся к семейству Раб-белков [Skriver, Mundy, 1990]. Несмотря на детальное исследование его физико-химических свойств, физиологическая роль АЗП в растениях пшеницы все еще дискутируется в литературе [Chrispeels, Raikhel, 1991; Peumans, van Damme, 1995; Rudiger, 1997]. Участие АБК в контроле экспрессии гена АЗП и регуляции его количественного уровня в растениях пшеницы при стрессовых воздействиях [Cammue et al., 1989; Shakirova et al., 1996; Singh et al., 2000] дает основание предполагать вовлечение его в АБК-индуцируемые неспецифические реакции пшеницы в ответ на неблагоприятные воздействия биотической и абиотической природы.

Однако хорошо известно, что реализация антистрессовых подпрограмм требует больших энергетических затрат растений, что сопровождается одновременно снижением энергетического обеспечения процессов продуктивности. Поэтому актуально использование в растениеводстве фитогормонов, в спектре физиологического действия которых проявляется четко выраженный антистрессовый эффект. Они способны в крайне низких концентрациях регулировать активность метаболических процессов на высоком уровне, индуцируя при этом устойчивость различных культур к широкому спектру стрессовых воздействий и поддерживая в этих условиях высокую продуктивность растений. В этом плане имеется немало данных о повышении под влиянием АБК, цитокининов, брассиностероидов, салициловой кислоты устойчивости растений [Кулаева, 1973; Титов и др., 1987; Пустовойтова и др., 1997; Busk, Pages, 1998; Mauch-Mani, Metraux, 1999; Шакирова, 2000a; Khripach et al., 2000], хотя механизмы их защитного действия недостаточно ясны. Возникает необходимость сравнительного изучения механизмов действия как природных, так и синтетических регуляторов роста с тем, чтобы понять, что лежит в основе индуцирования под их влиянием неспецифической устойчивости растений к различным неблагоприятным факторам.

В настоящей работе предпринята попытка раскрытия общих закономерностей проявления защитного действия на растения различных по химической структуре и функциям регуляторов роста при воздействии повреждающих факторов среды. Наряду с подробным обсуждением имеющейся на сегодняшний день суммы знаний (вместе с тем далеко не исчерпывающей) о разнообразии проявлений неспецифических защитных механизмов растительных организмов к стрессовым воздействиям разной природы и путей их активации фитогормонами и синтетическими препаратами, обладающими свойствами природных регуляторов роста, автором проведено комплексное изучение гормонального статуса, состояния белоксинтезирующего аппарата клеток, динамики содержания лектина у растений пшеницы в условиях засухи, засоления, грибного патогенеза и одновременно при предобработке биорегуляторами. Это позволило оценить их вклад в изменения активности метаболизма при индуцировании под их влиянием комплексной устойчивости и уровня продуктивности пшеницы.

В данной работе особое внимание уделено рассмотрению следующих положений: 1) разнообразные по природе стрессовые факторы среды индуцируют универсальную (неспецифическую) ответную реакцию растений, включающую в себя изменения в

эндогенной гормональной системе, активности трансляционного аппарата, а также количественного уровня лектина как показателя развития неспецифической устойчивости пшеницы; 2) природные и синтетические регуляторы роста, повышающие устойчивость пшеницы к широкому спектру неблагоприятных воздействий, вызывают накопление АБК и АЗП (на фоне высокого уровня ИУК) и способствуют преадаптации растений к стрессовым ситуациям; 3) защитный эффект биорегуляторов в стрессовых условиях включает в себя поддержание оптимального баланса фитогормонов и торможение деградации аппарата белкового синтеза, что в совокупности приводит к снижению потерь урожая растений. Выявленный в работе ряд общих критериев, характеризующих защитное действие природных и синтетических регуляторов роста на растения при различных неблагоприятных воздействиях, может способствовать разработке приемов по их использованию в практическом растениеводстве.

Автор выражает сердечную благодарность своему учителю проф. О.Н. Кулаевой, д-ру биол. наук Н.Л. Клячко и всем сотрудникам Института биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН, которые на протяжении многих лет способствовали получению экспериментального материала, легшего в основу данной работы. Особую признательность автор выражает канд. биол. наук Ш.Я. Гилязетдинову за ценные замечания при оформлении монографии и канд. биол. наук М.В. Безруковой за помощь при подготовке ее к изданию.

## ГЛАВА 1. МЕХАНИЗМЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ К НЕБЛАГОПРИЯТНЫМ ФАКТОРАМ РАЗНОЙ ПРИРОДЫ

### **Общие представления о неспецифической устойчивости растений к стрессовым воздействиям**

Растительные организмы в природных условиях очень часто подвергаются воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды. Способность растений сопротивляться экстремальным условиям произрастания, приспосабливаться к ним и сохранять при этом свой жизненный потенциал является одним из определяющих условий существования растений и зависит от возможности реализовать защитно-приспособительные механизмы, то есть адаптироваться к разнообразным стрессовым воздействиям.

Любой стрессовый фактор, очевидно, оказывает на растительный организм двойной эффект: повреждающий и раздражающий [Урманцев, Гудсков, 1986]. Повреждение проявляется в нарушении целостности мембранных структур клеток, изменении их свойств, разобщении дыхания и фосфорилирования и других процессов, тогда как стрессор-раздражитель вызывает формирование целой цепи ответных защитных реакций, направленных на репарацию повреждений. Уже исходя из сказанного можно, по-видимому, выявить наличие не только специфических, но и прежде всего неспецифических универсальных или стандартных ответов организма на действие стрессовых факторов, хотя, безусловно, не вызывает сомнения существование тесной связи тех и других защитно-приспособительных реакций растений к действию неблагоприятных факторов, которое особенно четко проявляется в выделении эколого-физиологических групп растений с генетически закрепленными механизмами устойчивости к конкретной среде обитания [Лапина, Строгонов, 1979; Генкель, 1982].

Однако, очевидно, первичная реакция на воздействие стрессора направлена на предотвращение повреждений клеток организма, а потому является универсальной [Удовенко, 1979; Мелехов, 1985; Кузнецов и др., 1987; Александров, Кислюк, 1994; Dixon, Palva, 1995; Пахомова, 1995; Пахомова, Чернов, 1996], что проявляется в мобилизации неспецифических защитных реакций, стоящих «на страже

жизни» и участвующих в формировании адаптивных реакций растений, способствующих повышению их устойчивости к изменяющимся условиям среды.

Согласно концепции о стрессе, сформированной Г. Селье [1972], в ответ на сильное неблагоприятное воздействие в организме индуцируются неспецифические реакции, сопровождающиеся перестройкой защитных систем во времени – генерализованный адаптационный синдром, в котором выделяется три стадии: *реакция тревоги* – первоначальная реакция, сопровождающаяся процессами катаболизма различных полимеров, призывающая к активации защитных механизмов, затем при длительном воздействии любого альтерирующего агента наступает *стадия адаптации*, которая, наоборот, характеризуется активацией синтетических процессов, приводящих часто к усилению выше нормы степени сопротивляемости клеток организма, однако при продолжающемся повреждающем действии стрессора наступает *стадия истощения*, в которой истощаются компенсаторные механизмы организма, теряется достигнутая адаптация и сопротивляемость падает ниже нормы, что, вероятно, связано с существованием порога приспособительной силы [Родченко и др., 1988; Пахомова, 1995].

Такое поэтапное проявление всех трех стадий адаптационного синдрома, очевидно, возможно при рассмотрении длительных воздействий сильных (патологических) стрессоров. В отношении же менее сильных и кратковременных воздействий картина может быть иной и не столь «пессимистичной». Наоборот, физиологические (слабые) стрессоры способны индуцировать усиление восстановительных процессов, приводящих к формированию длительной неспецифической устойчивости.

Таким образом, физиологический стресс, индуцируя избыточную активацию метаболизма, может повышать общие адаптивные механизмы растительного организма и способствовать его преадаптации к другим возможным стрессовым воздействиям, увеличению его неспецифической устойчивости [Bonham-Smith et al., 1987; Кузнецов и др., 1990; Kuznetsov et al., 1993; Ishikama et al., 1995; Hughes, Dunn, 1996; Franco et al., 1999].

Следует специально отметить, что строгое разделение на фазы стрессовых ответных реакций в ходе формирования механизмов адаптации на воздействие стрессоров разной силы четко прослежено для животных организмов. Однако растительные организмы также претерпевают цепь сходных реакций в ответ на разнообразные неблагоприятные воздействия разной природы (неспецифический ответ)

в ходе формирования адаптационных процессов, которые, в свою очередь, также в широкой степени неспецифичны [Александров, 1985; Александров, Кислюк, 1994], и условное разделение их на аналогичные фазы, по-видимому, может быть справедливым и для растений, хотя их иногда очень трудно выделить [Урманцев, Гудсков, 1986; Урманцев, Пронина, 1986; Пахомова, 1995].

К первым неспецифическим ответам клеток растений на воздействие разнообразных стрессоров, характерных для начальной фазы стресса, соответствующей катаболической фазе тревоги, которую называют по-разному – фазой торможения [Удовенко, 1979], реакцией защитного торможения метаболизма [Мелехов, 1985], первичной стрессовой реакцией [Полевой, 1989], фазой физиологической депрессии [Пахомова, 1995] и так далее, относится целый комплекс в той или иной степени однотипных реакций, которые, в свою очередь, можно рассматривать в качестве общебиологических: снижение тотальной активности синтетических процессов, деградация белоксинтезирующего аппарата, катаболизм биополимеров, синтез стрессовых белков, повышение синтеза и активация гидролитических ферментов, образование необходимых для срочной защиты клеток соединений [Мелехов, 1985; Метлицкий, Озерецковская, 1985; Полевой, 1989; Блехман, Шеламова, 1992; Тарчевский, 1993; Кузнецов, Старостенко, 1994; Dixon, Palva, 1995; Bohnert et al., 1995; Пахомова, 1995; Пахомова, Чернов, 1996].

В то же время интересно попытаться выявить последовательность нарушений, вызываемых стрессором в первой фазе действия [Удовенко, 1979], хотя скорость их прохождения может быть настолько быстрой, что эти нарушения могут регистрироваться почти одновременно. Так, первичные (основные) нарушения являются результатом непосредственного действия его на клетки, их метаболических функций, а именно нарушение структурной целостности мембран и изменение их проницаемости [Полевой, 1989; Skriver, Mundy, 1990; Мелехов, Ефремова, 1990; Bohnert et al., 1995; Конарев, 1998; Тарчевский, 2000], изменение свойств и состояния цитоплазмы, изменение ее pH [Александров, 1985; Александров, Кислюк, 1994], структурного состояния и активности ядерной ДНК [Удовенко, 1979; Блехман, Шеламова, 1992; Bohnert et al., 1995], а также процессов, связанных с биоэнергизацией клеток [Урманцев, Гудсков, 1986; Полевой, 1989; Блехман, Шеламова, 1992; Bohnert et al., 1995].

Вторичные нарушения являются следствием первичных нарушений; к ним можно отнести индукцию синтеза стрессовых белков и отдельных присущих норме белков на фоне подавления тотального



синтеза белка [Ramagopal, 1987; Савич, 1989; Кулаева и др., 1991; Блехман, Шеламова, 1992; Колесниченко и др. 2000], повышение концентрации стрессовых фитогормонов АБК (ей отводят ключевую роль в индукции синтеза стрессовых белков) и этилена (называемого часто гормоном тревоги) [Meyer et al., 1987; Quarrie, 1989; Neumann et al., 1989; Skriver, Mundy, 1990; Кулаева, 1994; Ракитина и др., 1994; Bleecker, 1999], а также других эндогенных регуляторов роста, например салицилата и жасмоната, задействованных в индукцию стресс-реакций [Raskin, 1992; Creelman, Mullet, 1997; 1997a; Genoud, Metraux, 1999], и, что важно, наряду с этим снижение уровня ИУК, цитокининов и гиббереллинов [Пустовойтова, 1981; Мелехов, 1985; Жирмунская, Шаповалов, 1987; Жолкевич, Пустовойтова, 1993; Jackson, 1997], торможение ростовых процессов [Жолкевич, Пустовойтова, 1993; Шакирова и др., 1993; Митриченко, 1999; Шакирова, 1999] и, наконец, результирующие изменения ряда интегральных показателей организма, к которым относят поглощение и утилизацию элементов минерального питания, прирост биомассы, урожай зерна и т.д. [Полевой, 1989; Triboi, Leblevenec, 1995; Миркин и др., 1999; Трапезников и др., 1999; Рахманкулова, Усманов, 2000].

Центральным звеном метаболизма, как известно, является тотальный синтез белка, который, вероятно, можно рассматривать в качестве маркера изменения активности метаболизма клеток в целом, поскольку он очень чутко реагирует на перемену условий произрастания растений. Об интенсивности синтеза белка можно судить не только по включению меченых аминокислот, но и по активности белоксинтезирующего аппарата, о которой, в свою очередь, можно судить по соотношению активных в синтезе белка полисом и неактивных моносом. Разнообразные по природе стрессовые воздействия вызывают в клетках деградацию трансляционного аппарата, приводящую к снижению интенсивности тотального синтеза белка, то есть присущих норме белков, например, при засухе [Генкель и др., 1972; Шевелуха и др., 1983; Gallie, 1993; Кудоярова и др., 2000], температурном стрессе [Ferguson et al., 1994; Wollgiehn, Neumann, 1995], засолении [Ramagopal, 1987; Singh et al., 1985; 1987], снижении pH среды [Тиру et al., 1986], ультрафиолетовом облучении [Araoz et al., 1998], гипоксии [Gallie, 1993], грибном патогенезе [Султонов, Аксенова, 1978; Шакирова и др., 1985; 1989; Джемилев и др., 1990] и других стрессовых факторах.

Активность белоксинтезирующего аппарата контролируется всеми классами фитогормонов и в качестве антагониста в регуляции активации синтеза белка ауксинами, цитокининами и гиббереллинами

часто выступает АБК [Johnson et al., 1974; Klyachko et al., 1979; Но, 1980; Шакирова и др., 1983; Клячко, 1985; Кулаева, 1982; 1987; 1994; Gallie, 1993]. Действительно, стрессовые факторы разной природы вызывают накопление АБК, причем оно, вероятно, в большой мере зависит от новообразования АБК, поскольку ингибиторы синтеза РНК и белка – кордицепин и циклогексимид – резко уменьшают стресс-индуцированное повышение уровня этого гормона [Williams et al., 1994].

Вместе с тем стрессовые воздействия часто вызывают в клетках растений одновременно значительные, иногда очень быстрые, падения в содержании ауксинов, цитокининов и гиббереллинов [Пустовойтова, 1981; Жолкевич, Пустовойтова, 1993; Jackson, 1997; Kudoyarova et al., 2001], недостаток концентрации которых также может приводить к торможению активности процессов метаболизма. Правда, следует особо подчеркнуть, что снижение уровня отдельных фитогормонов-активаторов роста, равно как и накопление АБК не всегда выявляется при воздействии стресса [Жолкевич, Пустовойтова, 1993; Ribaut, Pilet, 1994]. Надо сказать, что изменения в балансе фитогормонов в ответ на стресс могут происходить очень быстро и они легко обратимы при снятии стрессового воздействия [Муромцев и др., 1987; Williams et al., 1994; Митриченко, 1999]. Все это позволяет рассматривать фитогормоны в качестве ключевого звена в регуляции защитного торможения метаболизма в условиях стресса [Мелехов, 1985; Жирмунская, Шаповалов, 1987; Dunlap, Binzen, 1994; Шакирова, 1999].

Согласно гипотезе Е.И. Мелехова [1985], торможение метаболизма в клетках растений в начальную фазу в ответ на стрессор, имеющее ярко выраженный неспецифический характер, по-видимому, можно называть защитным, поскольку оно приводит к снижению скорости повреждающих целостность клеток процессов в условиях стресса, являющихся «продуктом» обмена веществ и находящихся на «балансе» энергии, получаемой опять же в результате активного метаболизма. Соответственно снижение активности метаболических процессов при стрессе носит защитно-приспособительный характер и препятствует развитию самоповреждения, сохраняя тем самым жизненный потенциал клеток для последующей репарации.

В пользу справедливости этой гипотезы свидетельствуют данные об усилении повреждающего действия стресс-фактора и снижении устойчивости растений на фоне обработки ауксинами, цитокининами и гиббереллинами и, наоборот, повышении ее под влиянием АБК [Мелехов, Ефремова, 1988; Robertson et al., 1994; Jackson, 1997]. Правда, такое заключение справедливо при воздействии жесткого

повреждающего агента, тогда как обработка растений фитогормонами-активаторами метаболизма при действии физиологических доз стресс-фактора, напротив, способна повышать их устойчивость [Шакирова и др., 1982; Мелехов, Ефремова, 1988; Чернядьев, 1997; Paldi et al., 1999].

Особо следует подчеркнуть, что при оценке влияния различных экзогенных фитогормонов на растения в стрессовых условиях разной степени повреждения необходим тщательный анализ схемы (срока) обработки препаратами [Жирмунская, Шаповалов, 1987; Сарват и др., 1993]. Так, предварительная обработка многими регуляторами роста может существенно повышать устойчивость растений к последующим повреждающим факторам среды [Шевелуха и др., 1983; Шакирова и др., 1985; Жирмунская, Шаповалов, 1987; Джемилев и др., 1990; Robertson et al., 1994; Хрипач и др., 1995; Тарчевский и др., 1999; Шакирова, 1999].

Торможение метаболизма клеток в ответ на действие стрессора не является пассивным и его, вероятно, можно называть не просто защитной, а защитно-адаптивной реакцией, поскольку хорошо доказана роль продуктов происходящего в эту фазу катаболизма биополимеров в защите растений, а также в индукции образования активных антистрессовых механизмов [Чигрин, 1986; Блехман, Шеламова, 1992; Bohnert et al., 1995; Dixon, Palva, 1995; Пахомова, 1995; Пахомова, Чернов, 1996; Тарчевский, 1993; 2000], способствующих противостоянию повреждающему действию различных неблагоприятных факторов и формированию реакций адаптации. К ним можно отнести олигосахарины; аминокислоты пролин, аргинин, аспарагиновую и глутаминовую кислоты и другие; полиамины; моно- и дисахара; янтарную и другие кислоты; оксигенированные жирные кислоты; низкомолекулярные пептиды (например, системин) и многие другие соединения [Тарчевский, 1993; Bohnert et al., 1995; Dixon, Palva, 1995; Пахомова, 1995; Пахомова, Чернов, 1996; Озерецковская, Роменская, 1996; Жолкевич и др., 1997; Шевякова и др., 1999; Hare et al., 1999; Озерецковская, 1999; Тарчевский и др., 1999; 2000; Ryan, 2000].

Таким образом, в первую фазу воздействия стрессора в клетках растений снижается интенсивность присущего норме метаболизма и включаются процессы, не характерные для обычных условий существования, которые, однако, носят временный характер. Интенсивность и длительность катаболических процессов при стрессе не должны выходить за рамки необратимых изменений (неизбежно ведущих к гибели), поэтому, вероятно, в клетках должны образовываться и накапливаться стресс-лимитирующие факторы

[Пахомова, Чернов, 1996]. Первую фазу стрессовой реакции в формировании адаптации растений к повреждающим воздействиям можно рассматривать в качестве срочной, но несовершенной адаптации, тогда как в период 2-й фазы постепенно возникают долговременные механизмы адаптации при действии на организм стрессовых факторов среды. Таким образом, 1-я фаза стрессового ответа не только предшествует адаптации к изменениям условий среды, но и играет в ней активную роль [Пахомова, Чернов, 1996].

В процессе адаптации к «непатологическим» стрессовым факторам клетки растений претерпевают изменения анаболического характера, приводящие к постепенной активации метаболических процессов, выражающиеся в активации хроматина, транскрипции и трансляции, снижении активности многих гидролитических ферментов и стабилизации активности других, восстановлении активности фотосинтеза и дыхания, ростовых процессов. То есть, в этот период организм переходит на новый режим жизнедеятельности, способствующий формированию приспособительных реакций [Пахомова, Чернов, 1996; Конарев, 1998], среди которых все более важное значение для растения приобретают специфические.

Устойчивость растений к стрессовым факторам зависит от фазы онтогенеза. Если в покое состоянии растения наиболее устойчивы, то в периоды, например, прорастания или формирования семян – наиболее уязвимы [Удовенко и др., 1998].

Идентификация механизмов защиты растений очень важна для понимания природы естественной устойчивости с целью активного управления ими для повышения продуктивности важнейших сельскохозяйственных культур.

## **Роль АБК в неспецифической устойчивости растений**

Многие исследователи называют АБК «гормоном стресса» в связи с тем, что разнообразные по природе стрессовые воздействия вызывают ее быстрое накопление [Lang et al., 1994; Кулаева, 1994; Hughes, Dunn, 1996; Moons et al., 1997; Leung, Giraudat, 1998; Busk, Pages, 1998]. Однако АБК является присущим всем растениям на протяжении всего онтогенеза соединением, отвечающим всем критериям фитогормона, функции которой в регуляции жизненно важных физиологических программ в растительном организме весьма разнообразны: регуляция ростовых процессов, закрывание устьиц, поступление и транспорт ионов, развитие и созревание семян (регуляция обезвоживания и

индукция синтеза запасных белков), поддержание состояния покоя, прорастание семян, биогенез хлоропластов, старение листьев, ответ растений на разнообразные стрессовые воздействия (индукция синтеза стрессовых белков) [Кефели и др., 1989; Skriver, Mundy, 1990; Bray, 1993; Кулаева, 1994; Kende, Zeevaart, 1997; Bewley, 1997; Jackson, 1997; Leung, Giraudat, 1998; Bonetta, McCourt, 1998; Piola et al., 1998; Busk, Pages, 1998; Tester, 1999; Desikan et al., 1999]. Кроме того, АБК в концентрациях  $10^{-5-9}$  М играет важную роль в стимуляции поступления ассимилятов в развивающиеся зародыши семян, формировании клубней, дифференцировки зимующих почек, развитии партенокарпических плодов, роста мезокотила, гипокотила, формировании эмбриоидов в суспензионной культуре клеток, образовании стеблей в семядольных узлах и придаточных корней на гипокотильях, а также роста корней у ряда растений [Обручева и др., 1985; Кефели и др., 1989; Николаева, 1993; Шаяхметов, Шакирова, 1996; Заякин, Нам, 1998]. Известна роль АБК, наряду с этиленом, в опадении листьев, цветков и завязей, которая связана с экспрессией генов белков, необходимых для формирования отдельного слоя при их опадении [Milborrow, 1974; Нам и др., 1990; Bleecker, 1999].

Одной из наиболее удачных физиологических моделей, позволивших получить доказательства определяющей роли АБК в формировании, созревании семян, а также сохранении состояния покоя, являются семена, изолированные из дефицитных по АБК и нечувствительных к АБК мутантов (более десятка их получено из кукурузы, арабидопсиса и томата) на разных стадиях развития [Cutler et al., 1996; Bewley, 1997; Busk, Pages, 1998; Bonetta, McCourt, 1998]. Известно, что в ходе развития семян, особенно в период синтеза запасных веществ, наблюдается значительное накопление АБК, а к моменту созревания (обезвоживания) уровень АБК снижается [Rademacher, Drabe, 1984; Skriver, Mundy, 1990; Bousquet et al., 1990; Шакирова и др., 1994]. Зрелые семена, способные прорасти в природных условиях, содержат АБК в весьма низкой, не ингибирующей рост концентрации, и можно предположить, что роль АБК в прорастании семян сводится не только к отсутствию ингибирующего эффекта, но и к стимулированию каких-то процессов, связанных с прорастанием [Обручева и др., 1985; Walker-Simmons, 1987; Morris, 1989; Николаева, 1993; Вонг и др., 1994].

АБК, вероятно, можно отнести к числу основных факторов торможения тех или иных процессов метаболизма в связи с их физиологической необходимостью. Очевидно, в этом заключается ее важная роль в регуляции процессов старения тканей, поддержания

состояния покоя семян и почек и снижении активности метаболических процессов в жестких стрессовых ситуациях [Кулаева, 1982; 1987; 1994; Мелехов, 1985; Муромцев и др., 1987; Кефели и др., 1989; Hoffmann-Benning, Kende, 1992; Вонг и др., 1994; Jackson, 1997; Шакирова, 1999]. При необходимости АБК может быстро образовываться из каротиноидов через ксантоксин (хотя основным первичным предшественником является мевалоновая кислота), накапливаться и быстро инактивироваться в фазеевую кислоту, а затем в дигидрофазеевую кислоту [Bray, 1993; Kende, Zeevaart, 1997; Cutler, Krochko, 1999], обеспечивая таким образом обратимое торможение процесса, который может полностью нормализоваться после падения концентрации АБК [Муромцев и др., 1987].

Теперь уже хорошо доказано, что именно АБК играет существенную роль в индукции синтеза ряда запасных Rab (ABA-responsible) белков в ходе созревания и обезвоживания семян и, вероятно, белков, блокирующих преждевременное прорастание семян, хотя специфических именно для прорастания белков-маркеров пока не найдено [Bewley, 1997]. К таким Rab белкам, в частности, относятся белки семейства LEA (late embryogenesis abundant), включающие ряд глобулинов, Em, дегидрины, которые быстро деградируют при замачивании [Barratt, 1986; Skriver, Mundy, 1990; Holappa, Walker-Simmons, 1995; Bewley, 1997; Busk, Pages, 1998]. Функциональная значимость АБК-индуцируемых LEA белков, вероятно, заключается в стабилизации клеточных белков в условиях глубокого обезвоживания, поскольку их характерной особенностью является гидрофильность [Dure et al., 1989; Bray, 1993; Ismail et al., 1999].

Выявлены различные пути регуляции экспрессии АБК-индуцируемых генов. Так, экспрессия генов 2-х белков (7S глобулина и Em), характерных для зрелых зародышей пшеницы, по-разному реагирует на ингибиторы транскрипции и трансляции: аккумуляция мРНК 7S глобулина ингибируется циклогексимидом, эффективным ингибитором синтеза белка на 80S рибосомах, тогда как синтез мРНК Em не зависит от синтеза белка *de novo* [Williamson, Quatrano, 1988]. Интересно, что в этот же период эмбриогенеза зародышей пшеницы наблюдается массивированный синтез еще одного белка, экспрессия гена которого контролируется АБК. Это агглютинин зародыша пшеницы (АЗП) [Raikhel, Quatrano, 1986; Mansfield, Raikhel, 1990], который также может быть отнесен к Rab белкам [Skriver, Mundy, 1990], однако он не является запасным белком, поскольку присущ растениям пшеницы в ходе всего онтогенеза [Mishkind et al., 1980; Raikhel et al., 1984; 1986; Шакирова, 1999].

В то же время особый интерес у исследователей вызывает АБК в связи с проблемой стресс-устойчивости растений. Роль АБК (предобработка растений АБК) в повышении устойчивости растений не вызывает сомнений. АБК повышает устойчивость не только при засухе, предотвращая потерю клетками воды, например, через механизм закрывания устьиц, ее протекторные свойства проявляются при гипо- и гипертермии, засолении, патогенезе и т.д. [Skriver, Mundy, 1990; Robertson et al., 1994; Anderson et al., 1994; Moons et al., 1995; 1997; Holappa, Walker-Simmons, 1995; Hughes, Dunn, 1996; Leung, Giraudat, 1998; Xiong et al., 1999]. Это свидетельствует о ключевой роли АБК в индукции защитных механизмов растений в ответ на воздействие разнообразных неблагоприятных факторов окружающей среды.

Дополнительными доказательствами вовлечения АБК в развитие стресс-адаптации растений могут служить данные об увеличении содержания АБК у растений в стрессовых ситуациях, а также использование в опытах АБК-дефицитных мутантов. Действительно, различные по природе стрессовые воздействия вызывают накопление в тканях АБК: засуха [Пустовойтова, 1981; Quarrie, 1989; Lang et al., 1994], водный дефицит [Bray, 1993; Curry et al., 1991; Williams et al., 1994; Jackson, 1997], засоление [Singh et al., 1987; Bostock, Quatrano, 1992; Moons et al., 1997; Шакирова и др., 1998], осмотический шок [Skriver, Mundy, 1990; Moons et al., 1995], высокие и низкие температуры [Ефремов и др., 1992; Шакирова и др., 1995; Shakirova et al., 1996; Hughes, Dunn, 1996; Полевой и др., 1997], заражение фитопатогенными грибами [Pegg, 1985; Шакирова и др., 1994; Васюк, 1995; Максимов и др., 1996], ионы тяжелых металлов [Таланова и др., 1999] и другие факторы.

Очевидно, что стресс-индуцированное накопление АБК может быть отнесено к универсальной неспецифической реакции и служить одним из проявлений реакции защитного торможения метаболизма [Мелехов, 1985], позволяющего растениям «пережить» стрессовые ситуации с наименьшими потерями [Жирмунская, Шаповалов, 1987; Шакирова, 1999]. При этом на фоне снижения характерных для нормальных условий белков, АБК индуцирует новообразование немалого количества специфических для нее Rab белков. Эти белки справедливо можно отнести к стрессовым белкам, поскольку большинство из них индуцируется в ответ на разнообразные повреждающие воздействия, и сейчас интенсивно изучаются механизмы регуляции их синтеза, структура, свойства, а также их значение в адаптации растений к изменяющимся условиям среды [Кулаева, 1994;

Moons et al., 1997; Leung, Giraudat, 1998; Busk, Pages, 1998; Xiong et al., 1999].

Таким образом, АБК, вероятно, является общим медиатором растений на стрессовые воздействия, оказывая влияние на изменение в их клетках генной экспрессии. Так, четко прослежена связь между индукцией под влиянием АБК синтеза стрессовых белков, а также соединений со свойствами осмопротектантов (например, пролина или пролин-богатых белков) и устойчивостью вегетирующих растений и клеток в суспензионной культуре к стрессу, вызванному осмотическим шоком, засухой, засолением, охлаждением и т.д. [Robertson et al., 1994; Moons et al., 1995; 1997; Chai et al., 1998; Hare et al., 1999]. К таким АБК-индуцируемым в стрессовых ситуациях гидрофильным белкам относятся вышеперечисленные LEA белки, характерные для позднего эмбриогенеза в период естественного в ходе созревания обезвоживания семян и обычно не обнаруживаемые в вегетирующих растениях.

В работах Moons et al. [1995], а также Close [1997] приведен подробный анализ литературных данных об усилении уровня экспрессии ряда *rab* генов, относящихся к семействам *lea*, при воздействии засоления, обезвоживания или холода. При этом естественные экотипы, используя механизмы индукции синтеза LEA белков, обладают комплексной устойчивостью к этим стресс-факторам. По аминокислотным последовательностям эти белки подразделяются на несколько групп [Dure et al., 1989]. Так, например, LEA/Rab/дегидриновые белки, относящиеся к группе 2, обычно накапливаются в растениях риса, ячменя, кукурузы и некоторых двудольных в ответ на дегидратацию, вызванную обезвоживанием, засолением или охлаждением; в проростках ячменя синтез LEA белков группы 3 индуцируется дегидратацией, холодом, экзогенной АБК и слабее засолением и т.д. [Moons et al., 1995]. Таким образом, Rab/LEA белки, очевидно, участвуют в неспецифической защите клеточных структур, в частности конститутивных белков от денатурации, вызываемой дегидратирующими факторами среды [Blackman et al., 1993; Ismail et al., 1999; Wisniewski et al., 1999].

Уже достаточно большое количество *rab* генов, экспрессия которых индуцируется также стрессовыми воздействиями, идентифицировано, однако их роль в первоначальной инициации восприятия и передачи стрессового сигнала до конца не ясна. По-видимому, очень важную роль в этой цепи могут играть протеинкиназы, в частности Rab протеинкиназа пшеницы, регулируемая также подвяданием, низкой температурой и осмотическим стрессом [Holappa, Walker-Simmons, 1995] и рецептор-подобная протеинкиназа



арабидопсиса [Hong et al., 1997]. Интересно, что экспрессия гена последнего белка может индуцироваться обезвоживанием независимо от АБК [Hong et al., 1997], то есть могут существовать параллельные пути включения экспрессии одного и того же гена, чувствительного и нечувствительного к АБК. В корнях проростков томата также выявлен независимый от АБК синтез индуцируемых засолением белков, хотя уровень эндогенной АБК в условиях стресса возрастает вдвое [Chen, Plant, 1999]. Интересно, что осмотический шок вызывает быструю активацию индуцируемой салициловой кислотой протеинкиназы ASK1 в клетках табака [Mikolajczyk et al., 2000]. Кроме того, имеются данные о повышении под влиянием АБК ГТФ-связывающей активности мембранных белков в зародышах ячменя, позволяющие предполагать их вовлечение в нейтрализацию ингибирующего эффекта АБК прорастания зародышей. [Visser et al., 1999].

Показано, что толерантность клеток в суспензионной культуре костра безостого к гипертермии связана с АБК-индуцируемым синтезом большого числа низкомолекулярных белков теплового шока (БТШ) [Robertson et al., 1994]. Вместе с тем максимальная защита от повышенной температуры выявлялась при совместной обработке суспензионных клеток АБК и 8 %-ной сахарозой, что указывает на кооперативное взаимодействие стрессовых белков и осмолитов в механизмах стресс-толерантности – защите белков и мембран от вызванной гипертермией денатурации. Этими же авторами было выявлено, что экзогенная АБК индуцирует кросс-адаптацию суспензионных клеток к замораживанию, тепловому шоку и засолению без предварительного воздействия какого-либо из этих стресс-факторов [Ishikawa et al., 1995].

Считается, что синтез стрессовых белков индуцируется при воздействии неблагоприятных факторов среды, однако детальный анализ обнаруживает наличие некоторые из них, правда, иногда в очень незначительных количествах, в клетках при нормальных условиях [Robertson et al., 1994; Pareek et al., 1997]. Так, БТШ OsHSP110 в клетках растений риса является конститутивным белком, однако его уровень возрастает при действии теплового шока, а также обезвоживания, низкой температуры и засоления, причем интересно, что последний стресс индуцирует более, чем трехкратное превышение накопления этого белка, в сравнении с действием гипертермии [Singla et al., 1997]. БТШ Qs\_HSP17 и осмотин-подобный белок Qs\_OLP накапливаются в почках дуба и могут играть важную роль в поддержании их в состоянии покоя [Pla et al., 1998]. Некоторые БТШ способны функционировать в клетках при обычных условиях в качестве молекулярных шаперонов и

участвовать в конформации синтезируемых полипептидов и сборке их в белковые комплексы [Vierling, 1991; Александров, Кислюк, 1994]. Выявлено, что эндогенная АБК, количество которой в неблагоприятных условиях может быстро и транзитно возрасти в несколько раз, так же, как и экзогенная АБК в отсутствие стресс-факторов, многократно индуцирует экспрессию генов БТШ [Robertson et al., 1994]. Это справедливо и по отношению ряда генов, регулируемых осмотическим шоком [Deleu et al., 1999] и водным дефицитом [Cohen et al., 1999].

Имеются данные об участии АБК в нормальной индукции синтеза белка 26-кД в клетках растений табака, количество которого сильно возрастает в присутствии NaCl, причем накопление белка связано с резким вызванным засолением увеличением уровня АБК и последующей толерантностью клеток растений к данному воздействию [Singh et al., 1985; 1987]. Внесение в среду инкубации NaCl или полиэтиленгликоля приводит к транзитному накоплению как *Asr1* мРНК, так и *Asr1* белка в проростках томата, хотя в обычных условиях их содержание довольно низкое; причем в механизмы стресс-индуцированной активации экспрессии гена *Asr1* также вовлекается АБК [Amitai-Zeigerson et al., 1995].

Таким образом, АБК, уровень которой в клетках может очень быстро изменяться под влиянием разнообразных стресс-факторов, вполне может служить эндогенным сигналом, способным включать механизмы адаптации и обеспечивать взаимосвязь органов в целом растении в ответ на неблагоприятное воздействие [Jackson, 1997]. Все это указывает на ключевую роль АБК в регуляции неспецифической устойчивости растений.

## **Механизмы устойчивости растений к фитопатогенам**

Защитные механизмы растений к фитопатогенам можно условно подразделить на конститутивные (пассивные) и индуцированные (активные). К пассивным можно отнести свойства растений, присущие растительным организмам вне зависимости от контакта с болезнетворными агентами: анатомо-морфологические особенности, химический состав тканей, скорость прохождения фаз онтогенеза, характерные для растений физиологические и биохимические системы, находящиеся в состоянии готовности препятствовать внедрению и развитию патогена. Активные реакции на внедрение патогена или таких повреждающих агентов, как поранение, элиситоры биотической и абиотической природы (правда, к их числу можно отнести и активацию

пассивных механизмов, например, форсирование образования физических и химических барьеров на пути патогена) [Андреев, Талиева, 1991]. Активные механизмы устойчивости чаще всего связаны с изменениями в спектре экспрессируемых генов, кодирующих белки, обеспечивающие защиту от патогенов [Dixon, Palva, 1995; Тарчевский, 2000]. Период активации защитных механизмов в растениях при воздействии биотического стресса представляется наиболее важным в связи с проблемой повышения устойчивости, поэтому целесообразно остановиться на нем более подробно.

Инфицирование возбудителями разных болезней является распространенным стрессовым воздействием, вызывающим обычно каскад метаболических изменений, которые можно суммировать как мультикомпонентные ответы. Они включают накопление полисахаров, фенолов, лигнина, суберина, фитоалексинов и фитонцидов и ферментов, участвующих в их синтезе, гидроксипролинбогатых белков, индукцию синтеза и увеличения уровня так называемых «pathogenesis-related» (PR)-белков, в частности, хитиназ, глюканаз, ингибиторов протеиназ, других стрессовых белков, например, пероксидаз и т.д. [Чигрин, 1986; Савич, 1989; Kiraly et al., 1991; Kolattukudy et al., 1995; Дьяков, 1994; Dixon, Palva, 1995; Hammond-Kosack, Gones, 1996; Mauch-Mani, Mettraux, 1998; Ryan, 2000].

Довольно сложно бывает оценить долю вклада тех или иных механизмов в защите растений, понять их сущность, вычленив для изучения изменение скорости какого-либо процесса или содержания конкретного соединения, поскольку тот или иной исход взаимодействия «партнеров», относящихся к различным таксонам, базируется на сложном и динамичном взаимодействии многих факторов как со стороны растения-хозяина, так и патогена [Чигрин, 1986; Дьяков, 1994; Knogge, 1996]. Поэтому неудивительно, что один признак недостаточен, чтобы судить об уровне устойчивости растений к патогену, который достигается совокупным или последовательным включением нескольких механизмов, часто разных в зависимости от природы фитопатогена и растения-хозяина [Чкаников, 1996].

Тем не менее следует специально отметить, что изменение интенсивности синтеза и уровня большинства перечисленных компонентов целой системы ответов скорее всего можно отнести к неспецифическим реакциям, поскольку они индуцируются патогенами разной природы (грибы, бактерии, вирусы и т.д.) и не только патогенами, но часто и поранением (правда, поранение, как правило, является необходимым условием проникновения патогенов), элиситорами, химическими агентами, температурным шоком,

эндогенными регуляторами роста, что и обсуждается в большинстве процитированных выше работ. Следовательно, рассматривая механизмы активных защитных реакций растений, вовлекающихся в формирование устойчивости к заражению, скорее всего, можно говорить о развитии устойчивости к фитопатогенам как к частному случаю из разнообразных стрессовых факторов [Dixon, Palva, 1995].

Центральным звеном в регуляции формирования ответных реакций растительных организмов на инфицирование, вероятно, является гормональная система, причем в этом случае имеет место сложная картина активного взаимовлияния гормональных систем двух партнеров, определяющего характер развития защитных механизмов растений к фитопатогенам и развития механизмов фитопатогенов для обеспечения их успешного паразитирования. Об этом свидетельствуют, с одной стороны, исследования по анализу баланса эндогенных гормонов больного растения и влиянию экзогенных фитогормонов на различные процессы метаболизма растительных клеток, вовлекающихся в защиту от патогенов, работы по оценке способности грибных патогенов синтезировать вещества фитогормональной природы и динамики их содержания в процессе жизненного цикла, с другой стороны [Чигрин, 1986; Чкаников и др., 1990; Bosquet et al., 1990; Hughes, Dickerson, 1990; Poupet et al., 1990; Li, Heath, 1990; Талиева, Филимонова, 1992; Проценко и др., 1993; Волынец и др., 1993а,б; Андреев, Талиева, 1996; Максимов и др., 1996, 2000].

Вопросы, касающиеся значения изменений гормонального статуса больного растения при инфицировании грибными патогенами, различающимися по типу питания, будут специально рассмотрены в главе 4.

Чаще всего активация механизмов устойчивости связана с индукцией или усилением экспрессии генов белков, задействованных в системе ответа растений на патоген [Дьяков, 1994; Dixon, Palva, 1995; Hammond-Kosack, Gones, 1996; Bent, 1996; Тарчевский, 2000]. Одной из наиболее изученных систем защиты растений является синтез и накопление фитоалексинов, образующихся в ответ на заражение фитопатогенами, механическое поранение и действие элиситоров [Горбачева и др., 1991; Ильинская и др., 1991; Hammond-Kosack, Gones, 1996; Озерецковская, 1999]. Это производные метаболизма фенилпропаноидов [Collinge, Slusarenko, 1987; Dixon, Palva, 1995]. К этой группе соединений относятся сесквитерпеноиды, изофлавоноиды, дигидрофенантрены и др. Вероятно, основным механизмом контроля синтеза и содержания фитоалексинов является регуляция их биогенеза за счет индукции или подавления активности ферментов, участвующих

в нем, например фенилаланинаммонийлиазы (ФАЛ) [Collinge, Slusarenko, 1987; Hammond-Kosack, Gones, 1996]. Фитоалексины ингибируют рост грибных клеток, возможно, за счет нарушения целостности их цитоплазматических мембран [Mauch-Mani, Slusarenko, 1996].

Инфицирование, обработка этиленом и элиситорами также вызывают усиление активности ферментов, участвующих в модификации клеточных стенок растений – ФАЛ, пероксидаз, полифенол-оксидаз. Они участвуют в образовании фенолов и полифенолов, которые, связываясь со структурными белками клеточных стенок растений, укрепляют их [Горбачева и др., 1991]. Важная роль в укреплении барьерных свойств клеточных стенок принадлежит ассоциированным с растительными клеточными стенками анионным пероксидазам, которые задействованы в синтезе лигнина и суберина [Kolattukudy et al., 1995; Хайруллин и др., 2000].

До 10 % клеточно-стеночных структурных белков приходится на долю оксипролинбогатых белков, из которых наиболее изучен картофельный белок экстенсин, относящийся к классу  $\beta$ -лектинов, [Showalter, 1993], уровень которого существенно повышается при инфицировании [Mazau, Esquerre-Tugaye, 1986]. Содержание экстенсина регулируется экстенсин пероксидазой [Brownleader et al., 2000]. Интересно, что единичная копия гена экстенсина выделена из арабидопсиса, и этот ген кодирует белок с необычным мотивом, а уровень его экспрессии активируется в ответ на поранение, обработку метилжасмонатом, АБК и салициловой кислотой [Merkouropoulos et al., 1999]. Вероятно, экстенсин также вносит важный вклад в архитектуру клеточных стенок, и, следовательно, регуляцию растяжения клеток, поскольку сшивание его молекул через тирозин с участием пероксидазы образует матрикс для связывания с полисахаридами, целлюлозой и пектином, и полифенолами, лигнином и суберином, что способствует утолщению клеточных стенок растений и затруднению проникновения патогена в клетки [Горбачева и др., 1991; Проценко, 1996; Dey et al., 1997]. В укреплении клеточных стенок важную роль отводят и глицин-богатым белкам благодаря наличию тирозиновых остатков внутри глицин-богатых повторяющихся мотивов в полипептидах, синтез которых индуцируется при грибном инфицировании [Cornels et al., 2000].

## Белки, связанные с патогенезом

К настоящему времени накоплен большой фактический материал об индукции в различных растительных объектах в ответ на инфицирование вирусами, бактериями и грибами синтеза многих новых белков, PR-белков [Van Loon, 1985; Carr, Klessing, 1989; Едрева, 1991; Колесник, 1991]. На основании значений их молекулярной массы, серологических характеристик, аминокислотных последовательностей они подразделяются на несколько семейств, включающих, например, в растениях табака от 20 до 25 различных белков, в состав которых входят  $\beta$ -1,3-глюканазы, хитиназы, пероксидазы, тауматин-подобные белки, белки класса PR-1, белки, подобные ингибиторам протеиназ [Van der Bulcke et al., 1990]. Среди них есть кислые и щелочные белки, проявляющие или не проявляющие ферментативную активность [Ильинская и др., 1991].

Особое внимание в связи с изучением механизмов защиты от фитопатогенов уделяют гидролитическим ферментам хитиназам и  $\beta$ -1,3-глюканазам, защитная роль которых при патогенезе не вызывает сомнения [Schlumbaum et al., 1986; Mauch et al., 1988; Van der Bulcke et al., 1990; Ward et al., 1991; Hammond-Kosack, Gones, 1996], поэтому они составляют важную часть в семействах PR-белков. Однако помимо участия в гидролизе клеточных стенок грибов, основными компонентами которых являются хитин и глюкан [Bartinicki-Garcia, 1968], они могут способствовать индукции других защитных реакций. Так, олигосахаридные фрагменты грибных клеточных стенок и продукты их гидролиза выступают в качестве элиситоров, индуцирующих защитные реакции в неинфицированных тканях [Озерецковская, Роменская, 1996; Creelman, Mullet, 1997; Озерецковская, 1999]: синтез фитоалексинов [Woloshuk et al., 1991] или экспрессию генов других PR-белков, например ингибиторов протеиназ [Van der Bulcke et al., 1990; Ryan et al., 1994].

Ингибиторы протеиназ обладают высокой специфичностью к связыванию протеиназ патогенов, в силу чего последние теряют свою активность. В этом и заключается их важное значение в защите растений от фитопатогенов [Мосолов, 1983; Ryan et al., 1994; Ryan, 2000]. Синтез PR-белков, в том числе ингибиторов протеиназ, и повышение их активности индуцируется не только при обработке растений элиситорами, но и салициловой и жасмоновой кислотами, этиленом, а также при раневом стрессе, причем последний вызывает синтез гормоноподобного пептида системина, играющего центральную роль в сигнальной регуляции экспрессии защитных генов [Ryan, 2000].

Как правило, в здоровых растениях уровень синтеза многих PR-белков крайне низкий, обнаруживаются следовые количества этих белков. Хотя некоторые их изоформы могут накапливаться конститутивно, но при заражении фитопатогенами уровень экспрессии генов PR-белков возрастает в десятки и сотни раз [Lui et al., 1994], причем экспрессия, например генов хитиназ и глюканаз, обычно индуцируется координировано [Vogeli-Lange et al., 1988; Ward et al., 1991], что составляет важную часть защитной стратегии растений, направленной на лимитирование роста клеток многих грибов [Mauch et al., 1988; Caruso et al., 1999].

Однако важно еще раз подчеркнуть, что экспрессия генов PR-белков может происходить не только в условиях инфицирования или под влиянием элиситоров, но и в ходе нормального онтогенеза – прорастания семян, при цветении и старении тканей, а также повреждений, вызванных поранением, воздействием солей бария, магния, ртути, ультрафиолетового облучения, в условиях осмотического шока, переувлажнения, обработки химическими препаратами, [Van der Bulcke et al., 1990; Ильинская и др., 1991; Едрева, 1991; Колесник, 1991; Ponstein et al., 1994; Kauss, Jeblick, 1996; Creelman, Mullet, 1997; 1997a; Caruso et al., 1999; Morris et al., 2000].

Вместе с тем индуцирование абиотическими факторами среды синтеза, казалось бы, таких специфических по отношению к фитопатогенам защитных молекул, как PR-белки, по-видимому, может рассматриваться как запуск механизма преадаптации растений к возможному инфицированию, поскольку эти стрессовые факторы, безусловно, существенно снижают жизненный и энергетический потенциал растений, что делает их более уязвимыми при последующей патогенной агрессии.

Имеются данные об индукции экспрессии отдельных генов PR-белков фитогормонами АБК [Chalupkova, Smart, 1994; Moons et al., 1997], цитокининами [Pupet et al., 1990; Simmons et al., 1992; Yuko et al., 1995], этиленом [Ishige et al., 1991; Simmons et al., 1992; Xu et al., 1994; O'Donnell et al., 1996], жасмонатом [Xu et al., 1994; Doares et al., 1995; O'Donnell et al., 1996; Ильинская и др., 1996; Creelman, Mullet, 1997; Ryan, 2000]. Очень много данных в отношении индукции экспрессии большой группы PR-белков салициловой кислотой (СК), на анализе которых мы остановимся подробно в специальной главе, посвященной участию СК в развитии стресс-устойчивости растений.

Таким образом, большое семейство PR-белков может вовлекаться в формирование устойчивости растений не только к фитопатогенам, но и к широкому кругу факторов и стрессовых ситуаций. Поэтому белки,

названные в момент их открытия как «pathogenesis-related», в частности связанные с формированием реакции гиперчувствительности в тканях табака при заражении вирусом табачной мозаики (BTM) [Van Loon, 1985], хотя и продолжают носить это имя, скорее принадлежат к стресс-индуцируемым или стрессовым [Едрева, 1991; Jung et al., 1993] и защитным белкам [Ryan, 2000].

Эта группа белков также, как и другие, имеющиеся в арсенале растений механизмы защиты от грибных болезней, вызывает несомненный интерес у исследователей, о чем свидетельствуют многочисленные публикации, касающиеся всестороннего изучения проблемы взаимоотношения растения-патогена с позиции устойчивости, знание которых может позволить целенаправленно управлять ею [Jouanin et al., 1998].

### **Лектины в защитных реакциях при инфицировании растений**

В формировании реакций между растением-хозяином и патогеном важная роль отводится фитолектинам [Королев, 1984; Метлицкий, Озерецковская, 1985; Лахтин, 1987; Cammue et al., 1990; Chrispeels, Raikhel, 1991; Любимова, 1991; Peumans, Van Damme, 1995; Jouanin et al., 1998; Espinosa et al., 2000].

Лектины – это особый класс белков или гликопротеидов, разнообразных по своей структуре и биохимическим особенностям, обладающих замечательной способностью специфически и обратимо связывать углеводы, не вызывая их химического превращения. Общим свойством лектинов является их способность агглютинировать эритроциты крови, из-за чего их называют агглютинидами, причем агглютинация подавляется специфическими углеводными гаптенами. Несмотря на детальное исследование физико-химических и биологических свойств многих растительных лектинов, их физиологическая значимость для растений все еще носит предположительный характер, хотя решающую роль в выполнении предполагаемых функций отводят наличию в них углеводсвязывающих доменов, благодаря которым лектины могут взаимодействовать как со свободными моно- и олигосахаридами, так и с остатками углеводов в составе полисахаридов, гликолипидов и гликопротеидов [Луцик и др., 1981; Королев, 1984; Chrispeels, Raikhel, 1991; Peumans, Van Damme, 1995; Roy, 1997; Jouanin et al., 1998; Espinosa et al., 2000].

Поскольку в состав клеточных стенок фитопатогенов входят углеводные компоненты, то это свойство лектинов может обеспечивать



растениям способность распознавать целый ряд фитопатогенов даже по слабым различиям в углеводной структуре поверхностей микроорганизмов. Имеющаяся на сегодняшний день огромная масса экспериментальных данных позволяет рассматривать лектины в качестве рецептора в межклеточных взаимодействиях, что анализировалось подробно в системе бобовых с бактериями-симбионтами рода *Rhizobium* [Etzler, 1986; Lis, Sharon, 1986; Kiraly et al., 1991; Баймиев, 1999; Etzler et al., 1999].

Однако в процессах взаимодействия с азотфиксирующими бактериями могут участвовать и другие лектины. Так, имеются данные о вовлечении лектина пшеницы во взаимоотношение со свободноживущими бактериями родов *Azotobacter*, *Spirillum* и особенно сильное взаимодействие лектина с ассоциативным для злаковых культур азотфиксирующим микроорганизмом *Azospirillum brasilense* и усиление под его влиянием азотфиксирующей активности [Никитина и др., 1987; Иосипенко и др., 1996]. С другой стороны, показано участие лектинов клеточной поверхности *A. brasilense* и *A. lipoferum* в специфической адгезии бактерий на корнях пшеницы, а также способность лектина этих бактерий к взаимодействию с пшеничным лектином [Никитина и др., 1996].

Участие эндогенных лектинов в рекогниции и связывании азотфиксирующих бактерий очень привлекательно для исследователей, однако оно должно быть тщательно подтверждено функционированием *in vivo* в этой сложной системе взаимоотношений между партнерами [Peumans, Van Damme, 1995; Van Eijsden et al., 1995; Long, 1996; Rudiger, 1997; Etzler et al., 1999].

Следует подчеркнуть, что лектины бывают не только в форме свободных цитоплазматических белков, локализованных в цитоплазматических компартментах, вакуолях, или связанных с цитоплазматическими мембранами и клеточной плазмалеммой (это так называемые «классические» лектины). Имеются также прочносвязанные с клеточными стенками лектины, или  $\beta$ -лектины, которые, хотя и обладают доменами углеводной специфичности, но не способны агглютинировать эритроциты или агглютинируют их очень слабо [Cellier et al., 1978; Dey et al., 1997]. К  $\beta$ -лектинам относится, например, вышеупомянутый экстенсин [Королев, 1984; Etzler, 1986; Любимова, Салькова, 1988]. Вероятно, именно последним принадлежит важная роль в межклеточном взаимодействии, лежащем в основе узнавания патогенов растениями-хозяевами. Прочносвязанный с клеточными стенками экстенсин агглютинирует большое количество авирулентных штаммов *Pseudomonas solanacearum*, вероятно, посредством

взаимодействия с мембранным липополисахаридом бактерий (ЛПС), но практически не связывает вирулентные штаммы [Leach et al., 1982]. Это, по-видимому, обусловлено тем, что вирулентные штаммы продуцируют экстрацеллюлярный полисахарид (ЭПС), препятствующий взаимодействию лектина с ЛПС, тогда как при удалении ЭПС вирулентные клетки приобретают способность связываться с лектином [Любимова, Салькова, 1988]. Слабую рецепцию вирулентных штаммов *Erwinia stewartii* лектином кукурузы также связывают с выделением ими в окружающую среду ЭПС [Bradshaw-Rouse et al., 1981].

Наряду с экстенсином в картофеле существует очень близкий к нему по химической структуре, составу и свойствам водорастворимый, связанный с плазмалеммой лектин, который может рассматриваться в качестве предшественника экстенсина, и он, если и не участвует в создании прочного комплекса клеток в системе растение – патоген, поскольку не встроен в структуру клеточной стенки, то реально может участвовать в становлении взаимоотношений между картофелем и возбудителем фитофтороза [Любимова, Салькова, 1988; Любимова, 1991]. Взаимодействие лектинов с углеводными гаптенами фитопатогенов может запускать в ответ на микробную инфекцию цепь защитных реакций в растении-хозяине, в том числе задействованных в образовании реакции сверхчувствительности (СВЧ) [Leach et al., 1982; Mazau, Esquerre-Tugaye, 1986; Etzler, 1986; Любимова, Салькова, 1988; Showalter, 1993; Brownleader et al., 2000].

Таким образом, первым этапом взаимоотношения растения-хозяина и патогена является межклеточное узнавание партнеров [Любимова, Щербухин, 1991], которое может определять дальнейшую судьбу развития этих отношений, и роль рецепторов в распознавании чужеродных инфекционных структур могут выполнять β-лектины.

Однако существует немало данных о вероятном участии в межклеточном узнавании растениями как авирулентных, так и вирулентных штаммов фитопатогенов и вовлечении в формирование защитных реакций растений растворимых «классических» лектинов, которое заключается в их связывании со спорами фитопатогенных грибов и другими инфекционными структурами патогенов и, вследствие этого, подавлении роста и развития последних [Brambl, Gade, 1985; Метлицкий, Озерецковская, 1985; Chrispeels, Raikhel, 1991; Любимова, 1991; Peumans, Van Damme, 1995; Ciopraga et al., 1999].

В литературе имеются данные об индукции под влиянием различных лектинов двудольных растений (гороха, клецшевины, арахиса, фасоли) образования фитоалексина гороха – пизатина,

свидетельствующие о возможности действия растворимых лектинов в качестве элиситоров [Toyoda et al., 1995].

Хитинсвязывающие лектины благодаря своей специфичности к N-ацетил-D-глюкозамину (GlcNAc) и олигомерам хитина являются наиболее вероятными кандидатами для выполнения защитной роли в растениях от хитинсодержащих насекомых и грибных патогенов [Chrispeels, Raikhel, 1991; Paumans, van Damme, 1995; Oka et al., 1997; Jouanin et al., 1998], так как большинство фитопатогенных грибов – хитинсодержащие [Reberdy, 1989]. К таким белкам относятся, например, вышеупомянутый растворимый связанный с плазмалеммой лектин картофеля [Любимова, Салькова, 1988; Любимова, 1991], лектин корневища крапивы [Broekaert et al., 1989], а также агглютинин зародыша пшеницы (АЗП) [Allen et al., 1973].

Возможность выполнения антифунгальной роли АЗП впервые показана в работе Mirelman et al. [1975] в опытах *in vitro*, в которых АЗП ингибировал прорастание спор *Trichoderma viride* и *Fusarium solani*, давших основание предположить, что АЗП, обладающий специфическим сродством к GlcNAc – структурному компоненту хитина, подавляет его синтез и, таким образом, может выполнять защитную роль в растениях при болезнях, вызываемых хитинсодержащими фитопатогенными грибами. Позднее было показано, что АЗП взаимодействует с грибными патогенами пшеницы *Tilletia caries*, *Puccinia graminis*, подавляя прорастание их спор [Barragueta-Egea, Schauz, 1983], с гифами грибов *Helminthosporia sativum* [Лахтин, Яковлева, 1987], с гаусториями *Erysiphe graminis* [Ebrachim-Nesbat et al., 1982], с клеточными стенками *F. graminearum* и *F. oxysporum* [Ciopraga et al., 1999], причем микроскопические исследования влияния АЗП на ранние стадии развития двух последних грибов выявили различные модификации ростовых трубок, опухолообразование, вакуолизацию клеток и лизис грибных клеточных стенок [Ciopraga et al., 1999].

Поскольку приведенные выше результаты были получены с применением экзогенного АЗП, у некоторых исследователей возникли сомнения в чистоте препарата АЗП, так как даже очень маленькие примеси хитиназы в препарате могут вызывать ингибирование роста грибов [Schlumbaum et al., 1986; Dixon, 1986]. В ответ на это возражение Broekaert с соавт. [1989] были проделаны специальные опыты по тщательной термической очистке лектина корневища крапивы, обладающего, также, как и АЗП, специфичностью к GlcNAc, от возможных примесей хитиназы с одновременной проверкой препарата на хитиназную активность. Несмотря на то, что препарат лектина после

дополнительной очистки терял хитиназную активность, он тем не менее подавлял рост *Botrytis cinerea*, *Trichoderma hamatum*, *Phycomyces blakesleeanus* [Broekaert et al., 1989]. Проверка чистоты от хитиназ была проведена и в отношении препарата АЗП [Ciopraga et al., 1999].

Следует подчеркнуть, что прямых доказательств вовлечения АЗП в формирование защитных реакций в системе растение – гриб (*in vivo*) пока не получено, хотя в пользу его участия в ответе на инфицирование могут свидетельствовать данные о 2–3-кратном увеличении уровня этого белка в зараженных корневой гнилью и септориозом растениях пшеницы [Шакирова и др., 1990; 1994], а также при обработке элиситорами [Cammue et al., 1990] и препаратами, повышающими устойчивость пшеницы к возбудителям грибных болезней [Хайруллин и др., 1992; Шакирова, 1999].

Данные, касающиеся участия разнообразных лектинов в защите растений от патогенов, со всей убедительностью свидетельствуют о том, что эти белки, благодаря специфичности к углеводным компонентам клеточных поверхностей фитопатогенов, могут играть важную роль в цепи формирования защитных реакций растений при инфицировании, при этом, видимо, самой интригующей является возможность их участия в первой стадии взаимоотношения растение – патоген – в межклеточном узнавании патогена растением-хозяином.

Очевидно, в защите растений от хитинсодержащих фитопатогенов лектины тесно взаимодействуют с хитиназами, более того, например, обнаружено сродство N-терминального хитинсвязывающего домена хитиназ класса I табака с таковым у некоторых растительных лектинов [Ponstein et al., 1994], а эксперименты с мутациями в потенциально каталитических последовательностях хитиназы А табака показали, что замена глутаматов в положениях 122 и 144 на аланин и глицин приводит к потере каталитической (гидролитической) активности домена хитиназы с превращением его в хитинсвязывающий лектин [Iseli-Gamboni et al., 1998]. Интересна работа по созданию химерной конструкции белка, собранного из лектина корневища крапивы и каталитического домена хитиназы I табака [Does, Cornelissen, 1999].

Вместе с тем, наряду с участием в защитных реакциях к фитопатогенам, лектины вовлекаются в формирование ответных реакций к абиотическим стрессовым факторам среды. Имеется достаточное количество данных, свидетельствующих о повышении гемагглютинирующей активности разных лектинов (в том числе и клеточно-стеночных) при поранении [Любимова, 1991], воздействии низких температур [Комарова и др., 1999; Тимофеева и др., 1999], усилении синтеза и повышении их уровня при гипертермии [Spadaro-28

Tank, Etzler, 1988; Шакирова и др., 1995; Shakirova et al., 1996], засухе и осмотическом шоке [Cammue et al., 1989], засолении среды [Шакирова и др., 1993], а также об индукции экспрессии генов лектинов при дефиците влаги [Singh et al., 2000], раневом [Zhu-Salzman et al., 1998; s et al., 1999] и солевом [Zhang et al., 2000] стрессах. Интересны сведения о возможных механизмах криопротекторного эффекта галактозоспецифичных лектинов семян ряда растений на изолированные тилакоидные мембраны листьев [Hinch et al., 1993]. Благодаря относительной гидрофобности этих лектинов они могут связываться с гликолипидами мембран, что может способствовать укреплению мембранных структур тилакоидов и снижению их повреждения в ходе промораживания. Анализ сезонных изменений в уровнях лектинов листьев омелы (максимальные в зимние месяцы), наряду с их четким защитным эффектом на изолированные тилакоидные мембраны шпината, позволяет предполагать их вовлечение в связывание с гликолипидами, присутствующими в большинстве клеточных мембран, и, таким образом, в стабилизацию мембранных структур листьев омелы *in vivo* при замораживании [Hinch et al., 1997].

Все эти данные свидетельствуют о возможной роли лектинов в адаптации растений к разнообразным по природе стрессовым воздействиям и вовлечении их в формирование неспецифических защитных реакций, что еще раз подчеркивает, как мы обсуждали выше, существование универсальных механизмов защиты растений к разнообразным по природе воздействиям.

Итак, физиолого-биохимические взаимоотношения патогена и растения-хозяина в ходе инфицирования представляют собой сложные регуляторные взаимосвязи между двумя организмами. Изучение этих взаимосвязей на разных уровнях, от организменного до клеточного, свидетельствует о том, что на разных этапах развития болезни включаются различные механизмы нападения патогена и защитные реакции растения, которые регулируются внутренними и внешними факторами.

Суммируя данные, касающиеся анализа механизмов естественной устойчивости растений к природным стрессовым воздействиям, выявляются универсальные неспецифические механизмы, к которым, в первую очередь, можно отнести изменения в балансе фитогормонов, связанные, например, с накоплением АБК, продукцией этилена и снижением содержания фитогормонов «активаторного» типа действия. Повреждающие воздействия окружающей среды приводят в целом к снижению интенсивности синтетических процессов в клетках, на фоне

которого индуцируется синтез стрессовых белков, в том числе и PR-белков, а также ряда присущих норме белков, например гидролитических ферментов, ферментов дыхательной цепи, пероксидаз и отдельных конститутивных белков. Наряду с этим усиливается образование соединений фенольной природы, играющих важную роль в защите растений при атаке патогенов или раневом стрессе и т.д.

Таким образом, формирование устойчивости у растений к стрессовым факторам разной природы зависит от эффективного взаимодействия в живой системе общего (неспецифического) с частным (специфическим), и в этом заложена возможность активного реагирования организмов на неблагоприятные условия среды живых систем и развитие этой способности в процессе длительной эволюции. Поэтому, по-видимому, нет единой устойчивости, а есть устойчивость единого – одного и того же растения с одним и тем же генотипом, реализующего различные генетические подпрограммы и тем самым различные физиолого-биохимические и молекулярно-генетические механизмы устойчивости в ответ на действие различных стрессоров.

Известная неспецифичность (общность) и специфичность (особенность) ответных реакций растений на действие различных стрессоров говорит об определенной корреляции (сопряжении) частей различных генетических подпрограмм [Урманцев, Пронина, 1986; Титов и др., 1987; Кузнецов, Старостенко, 1993; Дьяков, 1994; Пахомова, 1995; Конарев, 1998; Миркин и др., 1999; Тарчевский, 2000]. Вся совокупность протекающих в ответ на стрессовые воздействия реакций, из которых многие еще, вероятно, неизвестны, а из известных еще у многих предстоит выяснить их функциональную значимость, сводится к поддержанию гомеостаза растительного организма в экстремальных условиях, направленного на преодоление, ослабление или устранение повреждающего действия стрессора на растение.

Мы сознательно сделали в этом разделе акцент на разнообразии универсальных механизмов устойчивости растений, поскольку знание ключевых звеньев неспецифической устойчивости необходимы исследователям для реализации способов целенаправленного практического повышения устойчивости растений к разнообразным неблагоприятным воздействиям, которым растения систематически подвергаются в естественных условиях произрастания.

В связи с этой проблемой отводят значительное место в современном растениеводстве использованию фитогормонов и других эндогенных регуляторов роста, а также созданных на их основе синтетических препаратов. На способность экзогенной обработки АБК повышать устойчивость растений к дефициту влаги, экстремальным

температурам, засолению среды мы уже указывали в разделе, посвященном этому гормону. Вместе с тем необходимо отметить, что в спектрах физиологического действия представителей других классов фитогормонов – цитокининов, брассиностероидов, а также эндогенного регулятора роста фенольной природы – салициловой кислоты, являющихся, в отличие от АБК, активаторами ростовых процессов растений, заметное место занимает и защитный эффект по отношению к действию разнообразных по природе неблагоприятных факторов среды.

Соответственно исследование механизмов, лежащих в основе их антистрессового эффекта и способствующих повышению неспецифической устойчивости, является очень актуальным в связи с возможностью целенаправленного управления этими механизмами с целью повышения устойчивости и продуктивности растений. Рассмотрению роли цитокининов, а также соединений, созданных на их основе или имитирующих цитокинины в специфических для них тест-системах, в повышении стресс-устойчивости растений и посвящена следующая глава данной работы.

## ГЛАВА 2. РОЛЬ БЕЛОКСИНТЕЗИРУЮЩЕГО АППАРАТА В ПОВЫШЕНИИ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ ЦИТОКИНИНА И ДРУГИХ СОЕДИНЕНИЙ, ОБЛАДАЮЩИХ ЦИТОКИНИНОВОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Физиологическая роль цитокининов в клетках растений разнообразна и включает регуляцию многих процессов, лежащих в основе жизнедеятельности растений на протяжении всего онтогенеза. Механизмам действия этих фитогормонов и системам восприятия и трансдукции цитокининовых сигналов посвящено немало работ [Кулаева, 1973; 1982; 1984; 1987; Клячко, 1985; Муромцев и др., 1987; Полевой, 1989; Binns, 1994; Jackson, 1993; 1997; Schmulling et al, 1997; Kakimoto, 1998].

В широком спектре физиологического действия цитокининов выявляется четко выраженный защитный эффект на растения при воздействии разных по природе таких стрессовых факторов, как засуха, гипо- и гипертермия, засоление, возбудители болезней, тяжелые металлы и др. [Кулаева, 1973; Roupet et al., 1990; Angra et al., 1990; Чернядьев, 1997; Зауралов, 1997; 2000; Пустовойтова и др., 1997; Barciszewski et al., 1999; Веселов, 2000; Kobayashi et al., 2000], что дает основание рассматривать природные цитокинины, а также их синтетические аналоги в качестве перспективных соединений для практического растениеводства. Защитное действие представителей этого класса фитогормонов, по-видимому, связано с характерной для них особенностью оказывать омолаживающий эффект на растительные организмы, который особенно ярко проявляется на изолированных органах. Поэтому их часто используют для изучения тонких регуляторных механизмов антистрессового действия цитокининов.

Изолированные семядоли являются одной из распространенных модельных систем благодаря их высокой чувствительности к экзогенной обработке фитогормонами. Действительно, внесение в среду ации изолированных семядолей тыквы синтетического аналога ... а, 6-бензиламинопурина (БАП), приводит к существенной активации их роста, тогда как АБК, напротив, – к его ингибированию. Различие в действии этой пары фитогормонов на рост, вероятно, связано с их противоположным влиянием на состояние трансляционного аппарата: БАП индуцирует сборку активных в синтезе белка полисом из моносом, а АБК вызывает деградацию

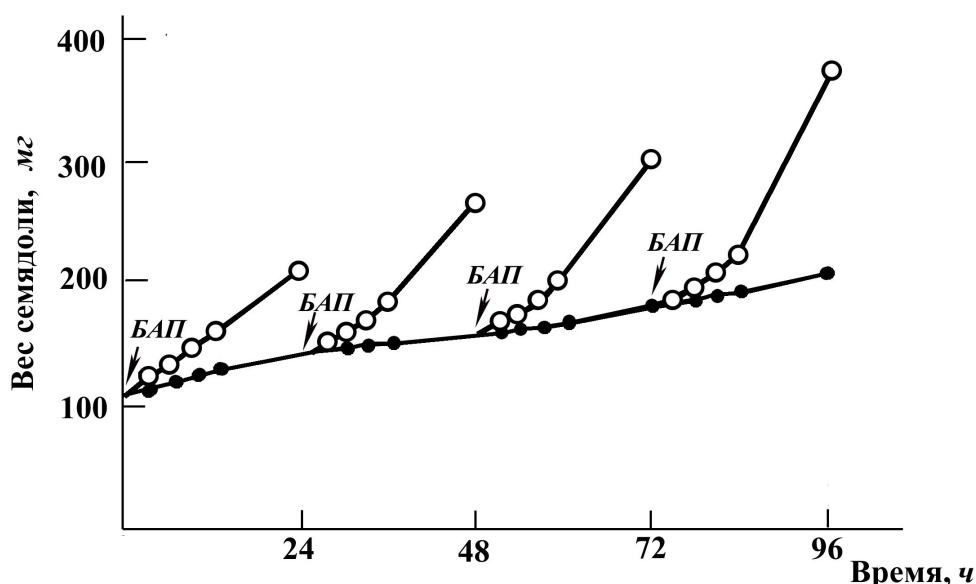


белоксинтезирующего аппарата, существенно увеличивая долю неактивных в трансляции моносом в препарате рибосом [Klyachko et al., 1979; Ананиев и др., 1980; Кулаева, 1982; Шакирова и др., 1982; 1983; Клячко, 1985], что особенно ярко проявляется в условиях голодания семядолей тыквы в течение нескольких суток после изоляции на воде в темноте.

Следует заметить, что анализ состояния трансляционного аппарата имеет важное значение в оценке интенсивности синтеза белка в клетках, который в значительной мере определяется уровнем активных в синтезе белка полисом. В свою очередь, уровень активных в синтезе белка полисом является производным двух показателей: общего содержания рибосом в клетках и соотношения полисом и моносом в выделенном препарате рибосом.

### **Влияние голодания и цитокинина на динамику роста и кинетику сборки полисом в изолированных семядолях**

Данные, приведенные на рис. 1, демонстрируют, что скорость роста изолированных от 4-суточных проростков тыквы семядолей в ходе голодания на воде в темноте на протяжении 4-х суток довольно низкая. Инкубирование семядолей сразу после изоляции на растворе БАП приводит к немедленному увеличению скорости их роста.



**Рис. 1.** Динамика роста изолированных семядолей тыквы при их инкубации в темноте на воде (контроль) или 50 мкМ БАП после различного времени голодания их на воде после изоляции. Стрелкой указан момент внесения семядолям БАП. Сплошная линия – вес семядолей на БАП, прерывистая – на воде

Внесение же цитокинина семядолям, голодавшим в течение 1–3-х суток после изоляции на воде в темноте, индуцирует их рост с некоторой задержкой, так что у голодавших в течение 3-х суток семядолей наблюдается даже 3-х часовой лаг-период. Вместе с тем в последующий после добавления БАП период, напротив, скорость их роста становится выше, чем при его внесении к свежеизолированным семядолям, о чем можно судить по увеличению угла наклона кривых роста.

В процессе голодания происходит постепенная деградация белоксинтезирующего аппарата в семядолях, так что у голодавших в течение 3-х суток семядолей доля полисом в препарате рибосом составляет лишь 50 % (рис. 2).

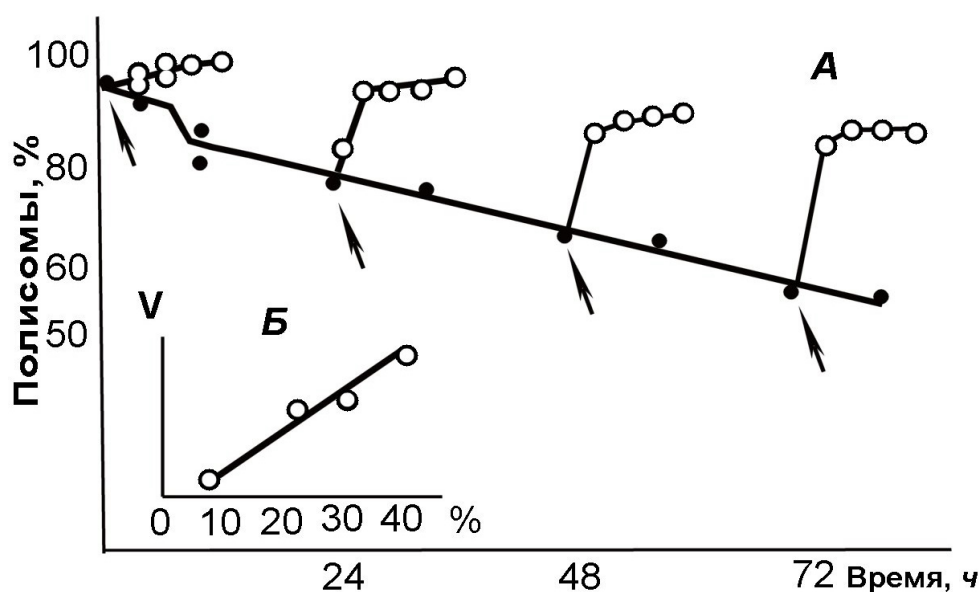


Рис. 2. Влияние БАП на кинетику сборки полисом в изолированных семядолях тыквы: А – сплошная линия – на растворе 50 мкМ БАП, прерывистая – на воде. Время добавления БАП указано стрелкой. Б – изменение скорости формирования полисом (V) под действием БАП от исходного процента моносом (%). Размерность V – % сформированных полисом за 1 ч

Добавление БАП семядолям, голодавшим в течение разного времени, индуцирует сборку полисом, причем скорость этого процесса находится в линейной зависимости от количества свободных моносом в препарате рибосом (рис. 2Б). Наибольшей белоксинтезирующей активностью характеризуются, как видно, свежеизолированные семядоли. Поскольку доля полисом в выделенном из них препарате рибосом самая высокая и составляет более 90 %, скорость БАП-индуцированного формирования полисом у этих семядолей самая низкая. Вместе с тем в ходе голодания семядолей происходит

увеличение доли свободных моносом в препарате рибосом, поэтому скорость вызванной цитокинином сборки полисом возрастает, она максимальна у голодавших в течение 3-х суток семядолей. Обращает на себя внимание факт явного защитного эффекта цитокинина на состояние аппарата белкового синтеза у семядолей сразу после изоляции, который проявляется в предотвращении вызванного голоданием распада полисом.

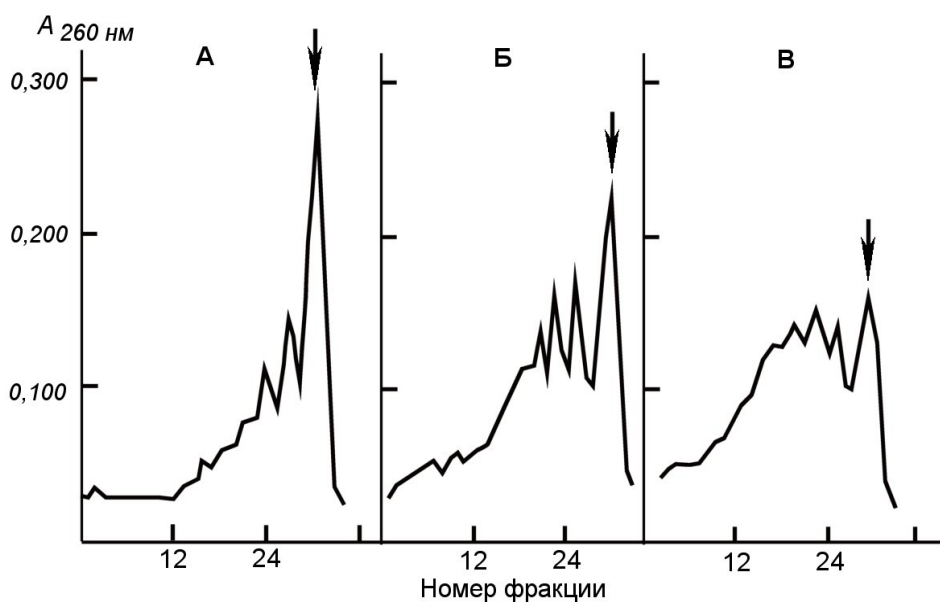
Сопоставление характера влияния БАП на рост семядолей в ходе голодания и кинетику сборки полисом показывает четкую зависимость скорости роста семядолей от состояния трансляционного аппарата в них. Линейная БАП-индуцированная активация роста наблюдается у свежеизолированных семядолей, обладающих максимальной долей полисом в препарате рибосом, тогда как в ходе голодания происходит разрушение аппарата трансляции, приводящее к замедлению ростового ответа после добавления гормона. Увеличение скорости роста семядолей, подвергнутых голоданию, наблюдается лишь спустя время, необходимое для репарации трансляционного аппарата под влиянием БАП.

Таким образом, БАП-индуцированная активация роста семядолей может происходить только при условии, когда доля активных в синтезе белка полисом в препарате рибосом превышает некое пороговое значение, которое в данной модельной системе составляет около 50 %. Дальнейшее увеличение скорости роста подвергнутых голоданию семядолей находится в прямой зависимости от доли полисом в них.

***Уровни регуляции цитокинином синтеза белка в изолированных семядолях тыквы.*** Анализ популяции рибосом в градиенте концентрации сахарозы показывает (рис. 3), что цитокинин способен к быстрой (в пределах 1–3-х ч) активации аппарата белкового синтеза у подвергнутых голоданию семядолей, о чем свидетельствует снижение доли неактивных в синтезе белка моносом в выделенном из них препарате рибосом. Причем по мере увеличения времени инкубации семядолей на БАП наблюдается не только сдвиг рибосом из зоны моносом в область полисом, но и возрастание доли тяжелых полисом в сравнении с контролем.

Уже сама скорость сборки полисом под влиянием цитокинина дает основание предполагать участие гормона в регуляции этого процесса не только на транскрипционном, но и посттранскрипционном уровнях. Использование ингибиторного анализа подтвердило это предположение. Так, подавление специфическими ингибиторами транскрипции  $\alpha$ -аманитином и кордицепином синтеза тотальной РНК и

поли(А)-содержащей РНК более чем на 70 % не снижает уровня БАП-индуцированной сборки полисом в семядолях тыквы [Ананиев и др., 1980; Шакирова и др., 1982; 1983; Клячко, 1985]. Следовательно, активация цитокинином формирования полисом в изолированных семядолях, голодавших в темноте на воде в течение двух-трех суток по крайней мере в течение первых трех-шести часов практически не зависит от новообразования рибосом и мРНК, т.е. гормон может участвовать в регуляции этого процесса на посттранскрипционном уровне.



**Рис. 3.** Влияние БАП на распределение рибосом в градиенте концентрации сахарозы (10–35 %). Полисомы выделены из семядолей, выдержанных в течение 3-х суток на воде в темноте (А) и затем инкубированных 1 ч (Б) или 3 ч (В) на растворе 50 мкМ БАП. Концентрация сахарозы уменьшается слева направо. Стрелка указывает на пик моносом, слева от которого располагаются полисомы

Причем детальный анализ распределения популяции, выделенных из обработанных БАП семядолей рибосом в градиенте концентрации сахарозы (рис. 3), может указывать на возможность активации цитокинином инициации трансляции. При этом вероятным путем регуляции инициации синтеза белка является активация факторов инициации или рибосомальных белков [Yakovleva et al., 1992; 1997]. Вместе с тем, учитывая способность БАП индуцировать накопление РНК в клетках, что заметно проявляется лишь к 6 ч от начала его действия [Шакирова и др., 1982], можно полагать, что в последующий после этого период времени все больший масштаб в действии цитокинина на синтез белка приобретает транскрипционный уровень регуляции за счет увеличения объема белоксинтезирующего аппарата.

Таким образом, цитокинины регулируют синтез белка как на транскрипционном, так и посттранскрипционном уровнях [Fosket, Terfer, 1978; Ананиев и др., 1980; Шакирова и др., 1982; 1983; Кулаева, 1982; 1987; Клячко, 1985; Gaudino, Pikkard, 1997; Schmulling et al., 1997; Kakimoto, 1998; Barciszewski et al., 1999].

Распределение в градиенте концентрации сахарозы выделенных из растений препаратов рибосом, очевидно, позволяет судить об активности в клетках тотального синтеза белка, на фоне которого практически невозможно выявить активацию или ингибирование синтеза индивидуальных белков под влиянием фитогормонов. Так, например, приведенные результаты убедительно свидетельствуют об индукции цитокининами формирования полисом, в то же время имеются сведения о подавлении под влиянием этих гормонов экспрессии ряда генов [Teramoto et al., 1994; Toyama, 1995]. Наоборот, АБК вызывает деградацию белоксинтезирующего аппарата, являясь антагонистом цитокинина в регуляции сборки полисом в клетках, и вместе с тем многочисленные данные свидетельствуют об участии АБК в индукции экспрессии генов и синтеза более десятка белков.

Тем не менее антагонизм цитокинина и АБК проявляется не только в их действии на состояние трансляционного аппарата (по-видимому, именно стадия инициации является критической для этих гормонов [Шакирова и др., 1983; Клячко, 1985]), но и в регуляции генной экспрессии. Об этом свидетельствуют, например, данные о противоположной регуляции АБК и цитокинином генной транскрипции в клетках изолированных семядолей люпина [Kuznetsov et al., 1998].

Приведенные результаты убедительно свидетельствуют о способности цитокининов активировать процесс формирования полисом и соответственно синтез белка в растениях, который, как известно, является ключевым звеном метаболизма клеток. Необходимо отметить, что цитокинины оказывают защитный эффект на белоксинтезирующий аппарат клеток, который проявляется в предотвращении его деградации в условиях воздействия неблагоприятных факторов среды (в частности, голодания). Эти гормоны также могут играть важную роль в устранении последствий повреждающего действия стрессовых факторов на клеточный метаболизм, проявляющегося в торможении тотального синтеза белка, а именно, в репарации аппарата трансляции, в котором немаловажное значение, по-видимому, имеет способность включения цитокининами быстрых независимых от транскрипции механизмов регуляции сборки полисом из предсуществующих рибосом и мРНК.

## **Повышение устойчивости растений к стрессовым факторам среды при действии картолина**

Изучение механизмов действия фитогормонов крайне важно не только для понимания их роли в осуществлении регуляции физиологических процессов в растительных организмах на протяжении всего онтогенеза, но и с точки зрения их практического применения в растениеводстве. С этой целью проводится синтез и отбор эффективных аналогов природных фитогормонов с заданными свойствами повышать интенсивность ростовых процессов растений и устойчивость их к разнообразным стрессовым воздействиям, а следовательно, увеличивать общую продуктивность растений.

Большую значимость среди таких соединений имеют вещества цитокининового типа действия, например картолин. Препарат картолин, синтезированный на основе отдаленных структурных аналогов цитокининов пуринового ряда и дифенилмочевины Ю.А. Баскаковым с сотр.[1981; 1984], был отобран по способности заменять цитокинин в стимуляции роста суспензионной культуры клеток табака и повышать устойчивость каллусных клеток пшеницы к промораживанию [Баскаков и др., 1981; Бутенко и др., 1982]. Кроме того, выявлен защитный эффект картолина на интактные растения при воздействии других стрессовых факторов.

**Засуха.** Картолин существенно повышает устойчивость растений ячменя к засухе, что убедительно показано в вегетационных опытах [Шевелуха и др., 1983]. В конце кущения – начале фазы выхода в трубку растения ячменя сортов, различающихся по устойчивости к засухе: Надя, Фаворит и Интенсивный, опрыскивали раствором картолина из расчета 2 кг/га. Спустя один-два дня растения прекращали поливать и поддерживали условия засухи (20–25 % от полной влагоемкости почвы) в течение 2 недель. После чего влажность почвы доводили до соответствующей контрольному варианту (70 %), которую поддерживали до уборки урожая.

Картолин, подобно цитокинину, проявил защитный эффект на трансляционный аппарат листьев в условиях засухи (рис. 4. и табл. 1), причем растения разных сортов не одинаково отвечали на обработку картолином в условиях засухи, что позволило выявить три типа ответа в зависимости от специфики сорта.

Так, в сорте Надя картолин проявляет стабилизирующий (на уровне контроля) эффект на белоксинтезирующий аппарат клеток. Растения сорта Фаворит, очевидно, сильнее других подвержены действию засухи, так как в них было максимальное падение доли

полисом в препарате рибосом (рис. 4), вместе с тем они более чувствительны к картолину, который даже в условиях засухи вызывал в них значительную стимуляцию сборки полисом. Опрыскивание же картолином растений ячменя сорта Интенсивный в условиях засухи не вызывало каких-либо изменений в популяции рибосом, правда, нужно отметить, что в этих условиях резкого падения уровня полисом в листьях не происходило.

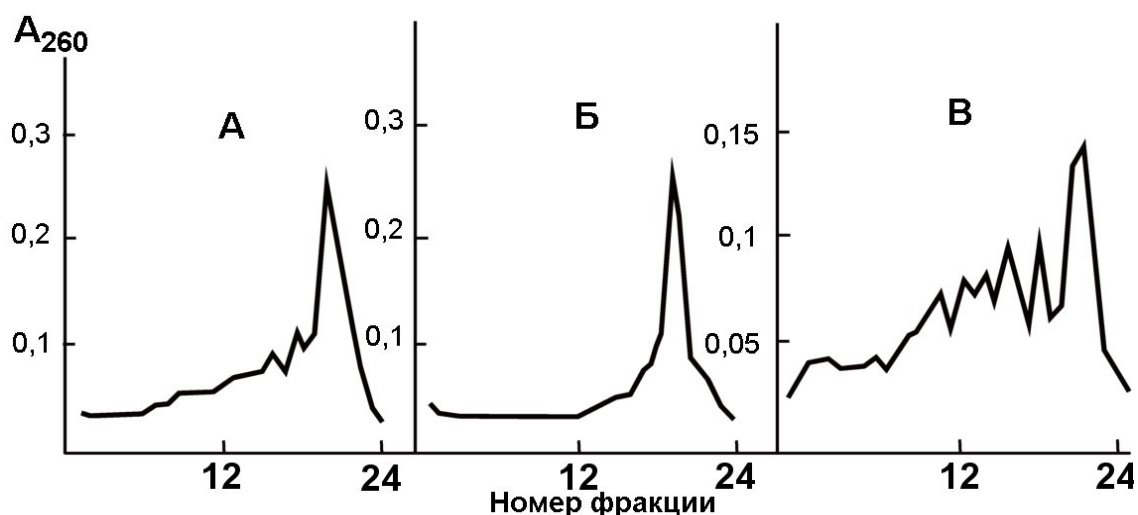


Рис. 4. Профили седиментации в градиенте концентрации сахарозы (10–35 %) препаратов рибосом, выделенных из листьев ячменя сорта Фаворит. А – контрольные растения; Б – растения, подвергнутые действию засухи; В – растения, обработанные картолином перед началом засухи

Механизм действия картолина, направленный на поддержание активного состояния белоксинтезирующего аппарата, вероятно, является ключевым в проявлении его защитного эффекта на растения в условиях засухи, что нашло отражение в результатах по урожаю зерна (табл. 1). Так, картолин практически не оказывает влияния на урожай ячменя сорта Интенсивный, тогда как в сорте Надя обработка препаратом более чем на 50 % предотвращает вызванное засухой снижение урожая зерна. Специфика ответных реакций в зависимости

Таблица 1

**Влияние засухи и обработки растений ячменя картолином  
на количество полисом (%) в выделенном из листьев препарате рибосом**

Условия выращивания растений	Сорт ячменя		
	Надя	Фаворит	Интенсивный
Контроль	65	45	64
Засуха	33	18	42
Засуха+картолин	62	63	44

от сортовых особенностей ячменя на обработку картолином в условиях засушливого вегетационного периода выявлена и в полевых испытаниях [Ковалев, 1998].

Таким образом, защитный эффект картолина, препарата, обладающего некоторыми свойствами цитокинина, на растения ячменя в условиях засухи проявляется в предотвращении вызванной засухой деградации белоксинтезирующего аппарата, что, в конечном счете, способствует существенному снижению степени повреждающего действия данного стрессового фактора на формирование урожая зерна.

**Мучнистая роса.** К объективным причинам, наносящим значительный урон урожаю важнейших продовольственных культур, можно отнести заражение возбудителями грибных болезней. Огромное разнообразие грибных патогенов, их высокая вариабельность и колоссальная способность приспосабливаться к растению-хозяину представляет собой серьезную проблему в защите растений. Несмотря на то, что восприимчивость растений в природе является скорее исключением, чем правилом [Вавилов, 1986], в годы, благоприятные для развития фитопатогенных грибов, недобор урожая культурных растений может достигать 50 % [Рассел, 1982]. К числу наиболее вредоносных относятся патогены, вызывающие развитие мучнистой росы, корневых гнилей, септориоза.

Использование химических средств защиты в мировой практике растениеводства является одним из действенных механизмов решения проблемы борьбы с грибными болезнями. Картолин, вероятно, также может быть использован для этой цели [Шакирова и др., 1985]. Об этом свидетельствуют данные опытов по изучению влияния картолина на устойчивость к мучнистой росе, которые проводили в полевых условиях на базе Чишминского ОПХ на пшенице сорта Башкирская 9, инокулированной спорами *Erysiphe graminis f. tritici* контактным способом.

Учет степени устойчивости большого количества растений в этих опытах демонстрирует факт существенного снижения под влиянием обработки картолином балла поражения пшеницы мучнистой росой (табл. 2).

Опрыскивание растений препаратом предотвращало вызванное инфицированием падение продуктивности пшеницы (табл. 3).

Повышение устойчивости и продуктивности пшеницы в условиях грибного патогенеза под влиянием картолина также, как и засухи, связано с его действием на активность аппарата белкового синтеза (рис. 5).



**Таблица 2**

**Влияние картолина на устойчивость пшеницы к мучнистой росе**

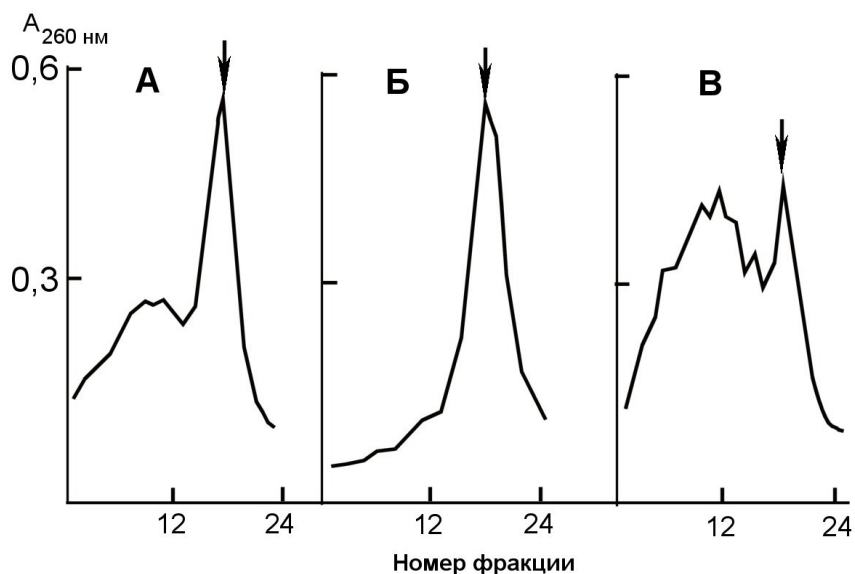
Вариант	Число исследованных растений	Из них отвечает баллу по шкале устойчивости к заболеванию				
		0	1	2	3	4
Без обработки	503	—	—	—	—	503
Обработка картолином	483	79	196	208	—	—

Примечание. Пшеницу в фазу кущения опрыскивали 0,2 %-ным раствором картолина (2 кг/га).

**Таблица 3**

**Влияние обработки картолином и инфицирования растений пшеницы  
мучнистой росой на массу 1000 семян (г)**

Контроль	Инфицирование	Картолин +инфицирование
29,3 ± 0,3	19,2 ± 0,4	30 ± 0,3



**Рис. 5. Профили седиментации в градиенте сахарозы (10–35 %) препаратов рибосом, выделенных из листьев пшеницы сорта Башкирская 9. Стрелка указывает пик моносом; А – контрольные растения, Б и В – растения, инокулированные мучнистой росой (Б – без обработки, В – обработанные картолином)**

Заражение приводит к значительной деградации трансляционного аппарата. Обработка растений картолином не только препятствует этому процессу, но и индуцирует образование полисом, и, по-видимому, увеличение общего количества рибосом, о чем свидетельствуют данные

по содержанию РНК в высечках из листьев обработанных растений (табл. 4). Это, вероятно, связано со способностью картолина активировать работу РНК-полимеразы I [Шаренкова и др., 1983]. Вместе с тем заражение растений мучнистой росой вызывает двукратное снижение содержания РНК в высечках из листьев.

**Таблица 4**

**Влияние обработки картолином и заражения растений мучнистой росой  
на долю полисом (%) в препарате рибосом из листьев пшеницы  
и содержание в них тотальной РНК**

Вариант	Доля полисом	РНК, мкг/высечка
<b>Контрольные растения</b>	48,5±2,5	15,6±0,5
<b>Инокулированные растения:</b>		
<b>не обработанные картолином</b>	22,5±9,5	8,0±1,0
<b>обработанные картолином</b>	78,0±8,0	19,0±0,7

Следовательно, важной составляющей в повышении устойчивости растений пшеницы к мучнистой росе под влиянием обработки картолином является предотвращение деградации аппарата белкового синтеза, что в конечном счете приводит к сохранению урожайности пшеницы на уровне незараженных контрольных растений.

Эти данные четко демонстрируют факт антистрессового действия картолина на растения ячменя в условиях засухи и пшеницы при грибном заражении, которое проявляется в поддержании активности трансляционного аппарата в них на уровне растений, не подвергнутых действию разных по природе неблагоприятных факторов, или даже превышении его значения. При этом обработка картолином существенно снижает вызванное стрессом падение урожая зерна или даже полностью предотвращает его.

Таким образом, рассмотренные выше результаты свидетельствуют о наличии в спектре действия картолина свойств цитокинина активировать работу РНК-полимеразы I и сборку полисом в клетках растений в условиях стресса, а также некоторых других свойств, что позволяет рассматривать его в качестве антистрессового препарата цитокининового типа действия [Баскаков, 1988].

Анализ имеющихся в литературе данных, не позволяет, вероятно, столь категорично относить картолин к соединениям цитокининового типа действия. Это вещество синтезировано на основе отдаленных структурных аналогов цитокининов, оно способно заменять цитокинин в поддержании роста культуры клеток [Бутенко и др., 1982]. Наряду с этим, картолин проявляет защитный эффект на клетки каллусов, а также

проростки озимой пшеницы при воздействии низких температур [Бутенко и др., 1982; Бочарова и др., 1983], повышает активность РНК-полимеразы I в листьях ячменя при дефиците влаги [Шаренкова и др., 1983], проявляет антистрессовое действие на проростки ячменя при тепловом шоке [Ефремов и др., 1992; Сарват и др., 1993], повышает холодоустойчивость растений проса, огурца и кукурузы [Зауралов, 1997; 2000], предотвращает деградацию белоксинтезирующего аппарата в растениях ячменя и пшеницы в условиях засухи и грибного заражения, тем самым повышает сопротивляемость растений к повреждающему действию этих стрессовых факторов [Шевелуха и др., 1983; Шакирова и др., 1985].

Перечисленные выше проявления эффектов картолина действительно относятся к свойствам цитокининов [Кулаева, 1973; 1982]. В то же время имеется немало данных, свидетельствующих о существенных различиях в широком спектре физиологического действия картолина и цитокининов. Так, в классической для исследования механизмов действия цитокининов модельной системе изолированных семядолей тыквы картолин в большом диапазоне концентраций не стимулировал их роста и не индуцировал, в отличие от БАП, формирование полисом в них [Клячко и др., 1987]. Картолин также не оказывал стимулирующего действия на рост интактных проростков тыквы, их семядолей, гипокотилей; слабее, по сравнению с БАП, подавлял рост главного корня, но при более высоких концентрациях сильнее, чем БАП, стимулировал образование боковых корней [Бурханова и др., 1984].

Это позволяет сделать вывод о существовании особых, отличных от цитокинина, механизмов действия картолина, на основе которого может быть синтезирована целая группа химически активных веществ с ярко выраженным антистрессовым эффектом действия. Такой широкий спектр защитного действия картолина на различные культуры дает основание рассматривать его в качестве эффективного для практического применения препарата, повышающего неспецифическую устойчивость растений.

## **Влияние бисола 2 и байтана на состояние трансляционного аппарата инфицированных растений пшеницы**

В последние пять-семь лет из-за резкого сокращения объемов использования импортных пестицидов в России в 1,5, а в отдельные годы в 2 раза увеличились потери урожая от сорняков, вредителей и

болезней важнейших сельскохозяйственных культур, в том числе и пшеницы, что свидетельствует о рентабельности их применения [Захаренко, 1998; Шаяхметов и др., 2000].

Значительный интерес для сельского хозяйства в связи с повышением устойчивости к грибным болезням представляют системные фунгициды триазолового ряда, ингибирующие синтез стеролов, в частности компонента клеточной мембраны грибов эргостерола как в чистой культуре грибных клеток, так и развивающихся в клетках растения-хозяина [Burden et al., 1987]. Производные триазола обладают не только высокой фунгицидной активностью, но и четко выраженными свойствами регуляторов роста, в частности ретардирующими, по-видимому, в связи с подавлением ферментативного биосинтеза гиббереллинов. Это способствует формированию растений с более низким и утолщенным стеблем, хорошо развитой корневой системой, что играет важную роль в предотвращении полегания зерновых культур [Прусакова, Чижова, 1998; 1999]. Наиболее известными из триазоловых фунгицидов, используемыми для защиты злаков от грибных болезней, являются тилт (пропиконазол), байтан (триадименол) и байлетон (триадимефон). Причем байлетон в растительном организме обычно трансформируется на несколько метаболитов, один из которых – байтан [Минькова, Комарова, 1987].

Важно отметить, что байлетон, байтан и другие фунгициды триазолового ряда обладают некоторыми свойствами цитокинина в цитокининчувствительных тестах [Fletcher, Arnold, 1986] и характеризуются мультипротекторным действием на растения, поскольку растения, предобработанные ими, меньше повреждаются при воздействии не только биотических, но и таких абиотических стрессовых факторов, как высокие и низкие температуры, озон, засуха [Fletcher, Hofstra, 1985; 1987; Bonham-Smith et al., 1988; Ronchi et al., 1997; Прусакова, Чижова, 1998]. Однако следует подчеркнуть, что все эти фунгициды эффективны против различных видов почти всех таксономических групп грибов, кроме фикомицетов, являются импортными, поэтому необходимо вести работу по синтезу из доступного сырья отечественных дешевых, экологически безопасных препаратов, способных повышать устойчивость растений к грибным болезням.

К таким препаратам можно отнести разработанный в Институте органической химии УНЦ РАН (Уфа) препарат аминного ряда бисол 2, обладающий высокой эффективностью в защите сельскохозяйственных культур от грибных болезней в крайне низких концентрациях, основное

действующее вещество которого – щавелевокислый тетраметилметилендиамин. Этот препарат характеризуется свойством иммуностимулятора, что главным образом было показано цитологическими методами в отношении патогенов, вызывающих корневые гнили и ржавчину [Ямалеев и др., 1990; Джемилев и др., 1990; Трошина и др., 1991]. В модельных опытах было также установлено, что бисол 2 ведет себя как регулятор роста, обладающий цитокининподобным эффектом [Еркеев и др., 1988].

Полевые испытания бисола 2 показали его высокую эффективность в повышении устойчивости пшеницы к грибам родов *Fusarium* и *Helminthosporium=Bipolaris*, вызывающим корневую гниль [Шакирова и др., 1989; Джемилев и др., 1990]. Несмотря на то, что предпосевная обработка 0,001 %-ным раствором бисола 2 снижает, но не предотвращает заражение пшеницы возбудителями корневой гнили, как это наблюдается в случае использования байтана, она тем не менее способствует заметному повышению продуктивности инокулированной пшеницы (табл. 5).

**Таблица 5**

**Влияние бисола 2 и байтана на устойчивость пшеницы к корневой гнили  
и элементы структуры урожая**

Вариант	Число зараженных растений, %	Число зерен в главном колосе, шт.	Масса 1000 зерен, г
Растения на инфекционном фоне	44,9 ± 3,0	21,7 ± 1,1	33,4 ± 1,2
То же + бисол 2	13,2 ± 2,1	23,1 ± 0,9	38,3 ± 2,1
То же + байтан	3,8 ± 2,8	22,3 ± 0,7	36,7 ± 2,5

Примечание. Семена обрабатывали 0,001 %-ным раствором бисола 2 или опудривали байтаном («Bayet», ФРГ), норма расхода 2 кг/т.

Результаты, приведенные в табл. 6, показывают, что скорость синтеза белка в высечках листьев из предобработанных бисолом 2 и байтаном растений в фазах кущения и трубкования на 35–40 % выше, чем в листьях зараженных, но необработанных растений, при этом доля включения меченой аминокислоты в белок от ее поступления в высечки под влиянием обоих препаратов не превышало 10 %.

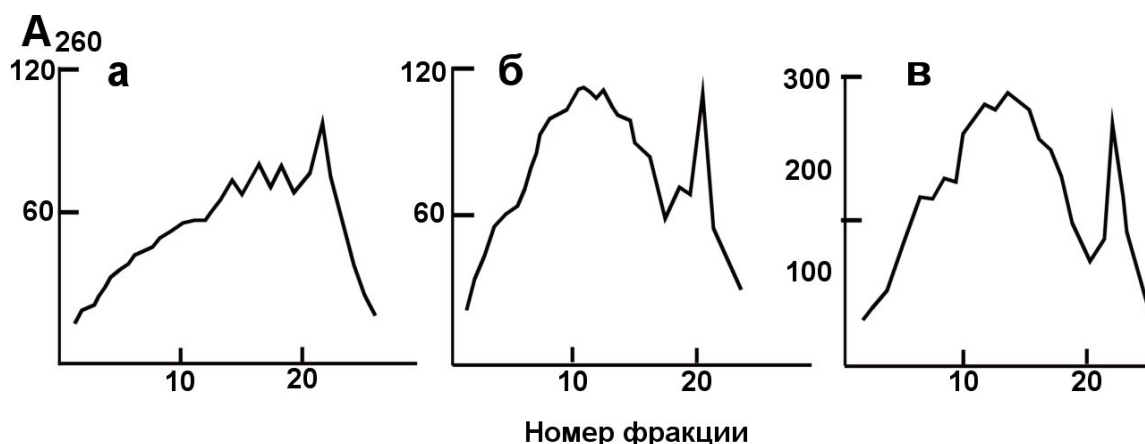
Как уже обсуждалось выше, интенсивность трансляции в значительной мере определяется уровнем активных в синтезе белка полисом. Из табл. 6 и рис. 6 видно, что доля полисом в препаратах рибосом, выделенных из предобработанных бисолом и байтаном

Таблица 6

**Влияние предпосевной обработки бисолом 2 и байтаном  
на скорость синтеза белка и долю полисом в препарате рибосом листьев  
пшеницы, инфицированной корневой гнилью**

Вариант	Кущение		Трубкование	
	включение <sup>14</sup> С-фенилаланина в белок, Бк/высечку	полисомы, %	включение <sup>14</sup> С-фенилаланина в белок, Бк/высечку	полисомы, %
Растения на инфекцион- ном фоне	204 ± 4,0	75 ± 1,0	210 ± 5,0	36 ± 2,0
То же + бисол 2	282 ± 10	89 ± 0,5	266 ± 1,0	54 ± 1,0
То же + байтан	267 ± 27	87 ± 0,5	250 ± 10	-

растений на фоне инфекции, также выше по сравнению с необработанными растениями. В ходе онтогенеза наблюдается деградация белоксинтезирующего аппарата в листьях зараженных растений, однако в растениях, обработанных бисолом 2, доля полисом в препарате рибосом заметно выше, что способствует большей скорости трансляции опытных растений.



**Рис. 6. Анализ состояния трансляционного аппарата листьев пшеницы в фазе кушения при заражении возбудителями корневой гнили (а) и обработке бисолом 2 (б) и байтаном (в)**

Приведенные результаты позволяют заключить, что одним из путей повышения устойчивости пшеницы к корневой гнили и увеличения в этих условиях ее продуктивности при предпосевной обработке бисолом 2 и байтаном является предотвращение деградации белоксинтезирующего аппарата и вследствие этого поддержание высокой скорости синтеза белка. При этом выявляется аналогия в действии этих препаратов на функциональную активность трансляционного аппарата инфицированных растений, что, очевидно,

свидетельствует о сходстве механизма их действия на белковый обмен растений.

Следовательно, можно предполагать, что трансляционный аппарат клеток является лимитирующим звеном в ответе растений на разнообразные стрессовые факторы и его состояние может служить критерием для оценки защитного действия в условиях неблагоприятных факторов среды различных по структуре соединений.

Суммируя рассмотренные в этой главе материалы, можно сказать, что функциональное состояние белоксинтезирующей системы в клетках является как бы индикатором физиологического статуса растительного организма в целом. Механизмы регуляции активации процесса формирования полисом и соответственно синтеза белка фитогормонами цитокининовой природы, вероятно, лежат в основе повышения под их влиянием продуктивности растений не только в искусственно моделируемых стрессовых ситуациях, но и обычных условиях произрастания. Это очень важно, так как флуктуации природных условий хорошо известны.

Поскольку белоксинтезирующая система клеток очень чутко реагирует на изменения внешней среды, которые могут быть очень разными по степени повреждения, то защитный эффект предобработки соединениями, обладающими свойствами цитокининов, направлен на снижение силы повреждающего действия неблагоприятных факторов и показателем такого эффекта является предотвращение деградации трансляционного аппарата, имеющее, вероятно, определяющее значение для поддержания высокой активности ростовых процессов растений, лежащих в основе формирования полноценного урожая зерна.

Вместе с тем эти гормоны, по-видимому, способны играть важную роль в устранении последствий повреждающего действия стрессовых факторов на клеточный метаболизм, а именно, индуцировать репарацию аппарата трансляции в период их последствий, что, в свою очередь, является необходимым для ускорения восстановления интенсивности интегральных физиологических процессов, способствующих сохранению высокой продуктивности растений.

### ГЛАВА 3. САЛИЦИЛОВАЯ КИСЛОТА КАК ИНДУКТОР УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ

В предыдущей главе были рассмотрены механизмы действия синтетических регуляторов роста картолина, бисола 2, байтана, которые эффективны в защите растения от грибных болезней. Настоящая глава посвящена анализу механизмов антистрессового действия эндогенного регулятора роста, обнаруженного в листьях и репродуктивных органах большого количества растений [Raskin, 1992], – салициловой кислоте (СК). Это эндогенное соединение фенольной природы привлекает огромное внимание исследователей в связи с его способностью индуцировать системную приобретенную устойчивость (СПУ) растений к разнообразным по природе возбудителям болезней. К настоящему времени получены многочисленные результаты, убедительно свидетельствующие в пользу вовлечения СК в индукцию и развитие СПУ, к сожалению, лишь единичные из них принадлежат отечественным исследователям.

Одной из важных реакций растительного организма на инфицирование патогеном является формирование пролонгированной системной устойчивости к широкому спектру последующих инфекций в ответ на локально внесенную инфекцию с образованием в листе некрозов [Bent, 1996]. Этот феномен был выявлен более 90 лет назад и позднее назван физиологической приобретенной невосприимчивостью (иммунитет) [Ryals et al., 1994; Озерецковская, 1999], или системной приобретенной устойчивостью. Первоначально эти наблюдения были получены в отношении вирусной инфекции, затем бактериальной и лишь спустя годы исследователи пришли к выводу, что становление приобретенной устойчивости является характерной реакцией разнообразных растительных организмов к широкому ряду патогенов, включая и вредоносные для сельскохозяйственных культур фитопатогенные грибы [Kus, 1982].

Прогресс в раскрытии механизмов, лежащих в основе СПУ, связан с данными о корреляции СПУ с накоплением группы PR-белков под влиянием салициловой кислоты в табаке [Van Loon, Antoniw, 1982; Van der Bulcke et al., 1990]. J. Ryals et al. [1994] предложили предварительную рабочую модель СПУ, согласно которой ее можно концептуально подразделить на 2 фазы: инициацию и установления. Инициация СПУ может быть скоротечной и включает восприятие патогена и все события, приводящие к установлению СПУ: продукция



сигналов, способных дистанционно транспортироваться по растению от места локального инфицирования патогеном, которые индуцируют накопление СК, которая в свою очередь индуцирует экспрессию генов PR-белков, способствующих установлению устойчивости.

### **Роль PR-белков в развитии индуцированной салициловой кислотой системной приобретенной устойчивости**

Действительно, PR-белки могут служить маркером развития СПУ [Ward et al., 1991; Raskin, 1992; Ryals et al., 1994; 1996; Mauch-Mani, Metraux, 1998]. Так, было выделено, по крайней мере, 9 семейств генов, координированно индуцируемых в неинфицированных тканях инокулированных растений, которые были названы СПУ–генами [Ward et al., 1991]. Причем СК, а также 2,6-дихлороизоникотиновая кислота (ИНК) – синтетический индуктор устойчивости, в отсутствии инфекции индуцируют аналогичный СПУ–генам спектр генов у многих видов растений [Ward et al., 1991; Metraux et al., 1990; Schneider-Muller et al., 1994; Ryals et al., 1996; Hammond-Kosack, Gones, 1996], что свидетельствует о тесной связи экспрессии СПУ–генов с установлением устойчивости растений к патогенам. Среди них есть гены, кодирующие хитиназы и  $\beta$ -1,3-глюканазы [Ward et al., 1991; Ryals et al., 1994], цистеинбогатые белки, подобные тауматину [Woloshuk et al., 1991], а также целую группу белков, объединенных в семейство PR-1, ингибирующих рост грибов в системе *in vitro* [Ryals et al., 1994].

Несмотря на то, что детально экспрессия СПУ–генов изучена в растениях табака, огурца и арабидопсиса, в кукурузе и ячмене также идентифицирован ряд генов, гомологичных СПУ–генам [Ryals et al., 1996]. В пшенице были выявлены координированно экспрессируемые гены-маркеры химически активируемой СПУ, кодирующие липоксигеназу, цистеин протеиназу и другие белки, и характер их экспрессии сходен с индукцией СПУ–генов при обработке СК в двудольных растениях [Gorlach et al., 1996]. Пока не все СПУ–гены идентифицированы, но работа в этом направлении ведется. Так, PR-белок ELI3 из растений арабидопсиса и петрушки является дегидрогеназой маннитола в клетках сельдерея, активность которой многократно возрастает под влиянием экзогенной обработки СК [Williamson et al., 1995], что позволяет связывать СК–индуцированную активацию данного фермента с обеспечением клеток растений энергией и источником углерода из маннозы при патогенной атаке.

Вероятно, не весь набор СПУ–генов является универсальным в формировании СПУ у разных растительных объектов [Ryals et al., 1996]. Например, в арабидопсисе семейства этих генов близки СПУ–генам табака [Uknes et al., 1992], а в растениях огурца большинство из них различаются [Mettraux et al., 1990]. Прямым доказательством вовлечения СПУ–генов в становление и поддержание СПУ могут служить опыты с использованием трансгенных растений. Так, высокий уровень экспрессии генов PR-1 в трансгенных растениях табака коррелировал со снижением степени инфицирования двумя патогенами из класса оомицетов: *Peronospora tabaci* и *Phytophthora parasitica* [Alexander et al., 1993].

Таким образом, факт участия PR-белков, кодируемых СПУ–генами, во взаимоотношении патоген – растение – хозяин в развитии и в поддержании СПУ не вызывает сомнения. Однако, если индуцирование инфицированием и обработкой СК хитиназной,  $\beta$ -1,3-глюканазной и лизоцимной активностей имеет принципиальное значение в отношении устойчивости к грибам и бактериям, то по отношению к вирусам, очевидно, должны формироваться иные механизмы, направленные на локализацию вирусов в некротических областях тканей и предотвращение их распространения по сосудистой системе растений. Так, показано участие СК в супрессии репликации вирусов и передвижения их по растению в неинокулированные ткани [Murphy et al., 1999]. Интересно, что салицилгидроксисовая кислота ингибирует СК–индуцированную вирусостойчивость, но не блокирует устойчивость к фитопатогенным грибам и бактериям, что указывает на вовлечение СК по крайней мере в два самостоятельных пути сигнальной трансдукции в ходе развития защитных реакций, наряду с индукцией синтеза PR-белков и устойчивости к грибной и бактериальной инфекции, возможна также активация альтернативной оксидазы, являющейся конечной при цианид-устойчивом дыхании [Lamb, Dixon, 1997].

О том, что СК является одним из ключевых компонентов в защитной сигнальной трансдукции, приводящей к индукции СПУ–генов и развитию СПУ, свидетельствуют не только данные о накоплении СК в растительных тканях при инфицировании. Более убедительное доказательство было получено в опытах с трансгенными растениями табака, содержащими бактериальный ген *NahG* из *Pseudomonas putida*, кодирующий гидроксилазу салициловой кислоты, – фермент, катализирующий превращение СК в катехол [Gaffney et al., 1993]. Экспрессирующие этот ген растения не накапливают СК и неспособны индуцировать СПУ в ответ на вирусную, бактериальную или грибную

инфекции [Gaffney et al., 1993]. Кроме того, растения арабидопсиса, несущие аналогичные гены, гораздо чувствительнее к различным патогенам [Delaney et al., 1993].

**Синтез салициловой кислоты в растениях.** Прямым предшественником на пути синтеза СК является фенилаланин, который при участии фенилаланиламмонилиазы (ФАЛ) превращается в транс-коричную кислоту, являющуюся ключевым звеном в синтезе СК, что особенно хорошо показано для растений табака и огурца [Yalpani et al., 1993; Dixon, Palva, 1995; Mauch-Mani, Slusarenko, 1996; Molders et al., 1996; Smith-Becker et al., 1998]. Об этом свидетельствуют данные, полученные на растениях табака с эпигенетически супрессированной экспрессией ФАЛ, которые не способны развивать СПУ в ответ на инфицирование ВТМ [Pallas et al., 1996]. Коричная кислота путем декарбоксилирования превращается в бензойную кислоту (БК), которая в свою очередь при участии фермента 2-гидроксилазы бензойной кислоты (2ГБК), превращается в СК.

Выявлено, что 2ГБК представляет собой растворимую цитохром P<sub>450</sub> монооксигеназу, использующую молекулярный кислород для 2-гидроксилирования бензойной кислоты [Leon et al., 1995]. Эти же авторы [Lee et al., 1995] охарактеризовали другой ключевой фермент в метаболизме СК – глюкозилтрансферазу СК, катализирующий превращение СК в глюкозил-СК, основной метаболит СК как эндогенной, так и экзогенной [Edwards, 1994]. Аналогичный путь синтеза и метаболизма СК характерен также и для растений риса [Silverman et al., 1995], которые отличаются очень высоким уровнем СК даже в здоровых растениях, на порядок большим в сравнении с листьями табака, поэтому, как полагают авторы, в растениях риса СК, скорее всего, не является индуктором устойчивости, так как заражение не вызывает ее накопления в них.

Однако в ряде растений синтез СК опосредуется превращением транс-коричной кислоты в *O*-кумаровую кислоту, которая затем в результате декарбоксилирования превращается в СК [Chadha, Brown, 1974]. Обработка листьев картофеля арахидоновой кислотой приводит к индукции быстрого локального синтеза СК и накопления конъюгатов СК, сходных с 2-*O*-глюкопираносалициловой кислотой, тогда как в необработанных элиситором листьях СК также синтезируется из фенилаланина и коричной и бензойной кислот в качестве интермедиатов [Coquoz et al., 1998].

Таким образом, синтез СК в клетках может идти альтернативными путями, что подчеркивает важность этого соединения

в жизни растений. Наиболее вероятным местом синтеза СК являются хлоропласты, в которых новосинтезированная СК может запасаться, а при инфицировании патогенами быстро высвобождаться из них в цитозоль и начать функционировать в механизмах, ведущих к становлению СПУ [Vernooij et al., 1994].

Развитие системной приобретенной устойчивости, естественно, является следствием взаимодействия растения с патогеном и трансдукции сигналов, которые включают механизмы устойчивости в смежных с инфицированными и отдаленных от них тканях. В качестве одного из кандидатов на роль транслокационного сигнала СПУ рассматривается сама СК.

Согласно разработанной математической модели физические свойства СК почти идеальны для транспорта на большие расстояния по флоэме [Hsu, Kleier, 1990]. В пользу способности СК транспортироваться по растению свидетельствуют данные опытов со впрыскиванием  $^{14}\text{C}$ -меченной бензойной кислоты в семядоли огурца в ходе их инокуляции вирусом табачного некроза, которые показали наличие [ $^{14}\text{C}$ ]СК во флоэме и первом листе над семядолей спустя 2 дня после инокуляции, тогда как [ $^{14}\text{C}$ ]БК не обнаруживалась в этих сосудах в течение первых 3-х дней, что указывает на флоэмный транспорт СК из семядолей в первичные листья, в которых через 3 дня развивалась системная устойчивость к *Colletotrichum lagenarium* [Molders et al., 1996]. Однако сравнение концентрации СК в инокулированных семядолях и первичных листьях огурца в предшествующий развитию системной устойчивости период дал основание заключить, что накопление СК в первичных листьях является результатом не только ее транспорта по флоэме, но и синтеза в листьях [Molders et al., 1996]. Анализ содержания новосинтезированной в инокулированном ВТМ и верхнем здоровом листе табака СК с использованием меченного кислорода позволил получить прямое доказательство ее транслокации по флоэме [Shulaev et al., 1995].

Свободная СК, подобно другим фенолам, активно конъюгирует в О- $\beta$ -D-глюкозил-СК и метилсалицилат (МС) [Yalpani et al., 1991; Enyedi et al., 1992; Alexander et al., 1993]. Однако, если глюкозил-СК немобилен и неактивен в индукции *PR*-1 генов в клетках табака и, скорее всего, является запасной формой СК [Enyedi et al., 1992; Chen et al., 1995], то экзогенная обработка растений табака МС увеличивает экспрессию *PR*-1-генов и устойчивость к ВТМ, что может быть результатом его быстрого превращения в СК, т.е. МС является ее активным летучим предшественником [Shulaev et al., 1997]. Более того, данные, полученные в опытах, когда растения табака, листья которых

инокулировали ВТМ в течение 96 ч при 32<sup>0</sup> С, переносили на 24<sup>0</sup> С, позволили выявить резкий подъем в уровне МС в жидкой форме в здоровых листьях, расположенных над инокулированными, что свидетельствуют о том, что МС может функционировать и в качестве транспортной формы СК, в которую он легко превращается в тканях-мишенях [Seskar et al., 1998].

Анализ распределения и передвижения СК при инокулировании табака ВТМ показал, что растения уже через 48 ч после инокуляции выделяют значительные количества метилсалицилата, что сопровождалось развитием реакции гиперчувствительности [Shulaev et al., 1997]. Причем количество газообразного производного СК, продуцируемого в листьях табака, инокулированных ВТМ, достаточно для индукции экспрессии генов PR-1 белков и устойчивости к данной инфекции у соседних здоровых растений [Shulaev et al., 1997]. На основании этих данных авторы предположили, что МС может служить воздушным сигналом для здоровых тканей инфицированных растений и даже соседних растений и путем превращения его в СК индуцировать в них защитные реакции.

В то же время существуют контраргументы в отношении СК как транслокационного сигнала, ответственного за индукцию СПУ. Так, удаление листа огурца, инфицированного *Pseudomonas syringae* до момента заметного накопления в нем СК, не препятствовало системной индукции ее накопления и экспрессии СПУ-генов [Rasmussen et al., 1991]. Работа по прививке трансгенных растений, экспрессирующих бактериальный ген *NahG*, продукт которого деградирует СК, показала, что, хотя трансгенные растения табака-подвоя неспособны накапливать СК, они способны передавать нетрансгенному привою сигнал об индукции СПУ, что делало его устойчивым к заражению [Vernooij et al., 1994]. Эти авторы сделали вывод о том, что, несмотря на необходимость СК в индукции СПУ, она скорее всего не является мобильным транслокационным сигналом СПУ и служит как бы мишенью для его восприятия.

Недавно в литературе появилась работа, в которой было показано, что инфильтрация листьев *Pseudomonas syringae* приводит к быстрой продукции мобильного сигнала для индукции СПУ, который вызывает впоследствии транзитное возрастание активности ФАЛ в черешках инокулированных листьев и стеблях над инокулированными листьями, предшествующее накоплению во флоэмном соке СК, что предполагает ее синтез в сосудистых тканях черешков и стеблей *de novo* в ответ на мобильный сигнал из листовой пластинки и дает основание отнести стимуляцию активности ФАЛ в инокулированных растениях огурца к

числу первых эффектов мобильного сигнала для СПУ [Smith-Becker et al. 1998]. Таким образом, данное исследование предполагает, что мобильный сигнал для СПУ, который транслоцируется по сосудистой ткани в неинокулированные листья, не является СК, но сама сосудистая ткань может играть интегрирующую роль в восприятии и передаче этого сигнала, приводящего к синтезу СК и индукции экспрессии СПУ-генов. Поскольку СК обнаруживается в значительных количествах во флоэмном экссудате, она вполне, по-видимому, может служить вторичным мессенджером в передаче сигнала при становлении системной устойчивости.

### **Механизмы действия салициловой кислоты и ее функции**

Взаимодействие растения и патогена сопровождается существенными сдвигами в окислительных реакциях, что приводит к образованию различных форм активного кислорода, к которым относится и перекись водорода, играющих важную роль в защите растений, в частности развития реакции сверхчувствительности [Ильинская и др., 1991; Kauss, Jeblick, 1996]. В литературе имеются данные о стимуляции синтеза и накопления свободных БК и СК в здоровых листьях табака под влиянием обработки перекисью водорода [Leon et al., 1995]. Облучение листьев табака ультрафиолетовым светом и выдерживание их в атмосфере озона, вызывающие образование  $H_2O_2$ , также стимулируют аккумуляцию СК [Yalpani et al., 1994], при этом в обработанных листьях накапливаются PR-1 белки и индуцируется устойчивость к ВТМ. Это позволило сделать предположение, что УФ-свет, озон и ВТМ могут активировать общие сигнальные пути трансдукции, которые ведут к накоплению СК, индукции экспрессии СПУ-генов и развитию СПУ [Yalpani et al., 1994]. Более того, опыты с использованием *NahD* трансгенных растений табака показали, что индукция экспрессии генов PR-1 перекисью водорода или соединениями, продуцирующими  $H_2O_2$ , зависит от СК [Neuenschwander et al., 1995].

О важной роли перекиси водорода в СК-индуцируемой СПУ свидетельствуют данные об ингибировании СК активности каталазы из листьев табака – фермента, превращающего перекись водорода в воду и молекулярный кислород [Chen et al., 1993; Kawano et al., 1998]. СК, накапливаясь в ходе инфицирования, специфически связывается с каталазой, которая вполне может служить рецептором СК [Conrath et al., 1995; Dong, 1995], и вызывает увеличение уровня перекиси водорода, ведущего к индукции синтеза PR-1-белка, являющегося, как уже

упоминалось, молекулярным маркером СПУ, и развитию устойчивости. Было сделано предположение, что СК осуществляет индукцию экспрессии СПУ-генов и устойчивости к ВТМ посредством перекиси водорода и таким образом перекись водорода, как и ее производные, вполне могут служить интермедиатами в связанном с СК сигнальном каскаде для индукции экспрессии защитных генов растений [Chen et al., 1993; Dong, 1995; Conrath et al., 1995; Durner, Klessing, 1996; Durner et al., 1997].

Мы уже упоминали о том, что СК по-разному накапливается в разных тканях риса: в стеблях ее больше, чем в корнях и суспензионной культуре. Авторы связывают это различие с существованием в рисе 2-х генов каталазы, кодирующих 2 разных фермента: в стеблях образуется нечувствительная к СК каталаза, а в корнях – чувствительная [Chen et al., 1997]. В то же время вовлечение ингибирования СК активности каталазы и увеличение вследствие этого уровня  $H_2O_2$  в индукцию PR-генов и становление СПУ небесспорно [Mauch-Mani, Metraux, 1998].

Так, для ингибирования каталазы требуется гораздо более высокая концентрация СК, чем обнаруживается в неинфицированных тканях [Chen et al., 1993], более того, для индукции устойчивости в неинфицированных тканях растений нет необходимости в большом подъеме уровня СК, поэтому мнение, что СК индуцирует СПУ и экспрессию СПУ-генов в этих тканях через перекись водорода подвергается сомнению [Vernooij et al., 1994]. Тем не менее имеется четкая взаимосвязь между СК, активностью каталазы и концентрацией перекиси водорода. Так, СК индуцирует экспрессию генов каталазы кукурузы и повышает каталазную активность в листьях *in vivo*, тогда как в опытах *in vitro* – ингибирует [Guan, Scandalios, 1995].

СК способна модулировать (ингибировать и усиливать) активность каталазы табака *in vitro* в зависимости от концентрации  $H_2O_2$  в среде инкубации, что дает основание предполагать важную антиоксидантную роль СК в сдерживании окислительных процессов, связанных с защитными реакциями растений [Durner, Klessing, 1996]. Детальный анализ взаимодействия СК с каталазой из табака показал, что оно может приводить не только к ингибированию каталазной активности, но и также к продукции свободных радикалов СК, которые в свою очередь могут инициировать цепь реакций, вызывающих перекисное окисление липидов, и играть роль в СК-индуцируемой индукции экспрессии генов PR-белков. Интересно, что, кроме каталазы, некоторые другие белки, включая пероксидазу, также специфически связываются с СК [Du, Klessing, 1997]. Таким образом, индукция экспрессии генов PR-белков и усиление устойчивости под влиянием СК

включает связывание СК каталазы и требует участия определенных активных форм кислорода или свободных радикалов в СК-сигнальной трансдукции [Yu et al., 1999]. Действительно, индукция СК и ИНК экспрессии PR-генов супрессируется антиоксидантами [Wendehenne et al., 1998].

Вместе с тем использование трансгенных растений табака с пониженной активностью каталазы показало участие именно СК в экспрессии гена PR-1 и развитии устойчивости [Du, Klessing, 1997a; Takahashi et al., 1997]. Сходные результаты, свидетельствующие об индукции под влиянием СК сверхчувствительной гибели клеток, вызванной бактериальной инфекцией, были получены для культуры клеток сои, в которой СК не снижает активность каталазы и не изменяет концентрацию  $H_2O_2$  [Tenhaken, Rubel, 1997]. Следовательно, ингибирование каталазы и последующее возрастание уровня перекиси водорода, вероятно, нельзя отнести к лимитирующему звену в действии СК при индуцировании устойчивости растений.

В листьях табака обнаружен новый СК–связывающий растворимый белок с М.м. 25 кД, обладающий в 150 раз большим по сравнению с каталазой сродством к СК [Du, Klessing, 1997]. Однако этот белок нуждается в идентификации, чтобы понять его роль в цепи транслокации сигналов СК–индуцированной СПУ. Интересно, что, наряду с активными формами кислорода, образующимися в результате окислительного взрыва, в индуцирование гиперчувствительных ответов клеток растений при инфицировании патогенами может вовлекаться и окись азота, которая также способна вызывать накопление СК. Это может свидетельствовать о существовании сложной системы взаимодействия и взаимовлияния участников в цепи событий, приводящих к формированию защитных реакций растений, в регуляции которых СК может играть ключевую роль [Dangl, 1998].

Поскольку инфицирование растений вызывает в их клетках продукцию этилена, играющего важную роль в индукции защитных реакций в ответ на заражение, в том числе и синтез PR-белков, было сделано предположение, что этилен может быть сигнальным мессенджером в индукции СПУ в растениях табака [Raz, Fluhr, 1992]. Однако данные, полученные с использованием мутантов арабидопсиса, нечувствительных к этилену, свидетельствуют о нормальном развитии СПУ, индуцируемой СК, в их клетках [Lawton et al., 1994]. Более того, в литературе имеются данные о подавляющем действии СК на синтез этилена, вероятно, за счет ингибирования фермента, участвующего, в превращении 1-амино-циклопропан-1-карбоновой кислоты в этилен [Romani et al., 1989; Медведев, Маркова, 1991].



Таким образом, сигнал(ы), продуцируемый в месте локализованного некроза, вызванного патогеном, который мог бы транслоцироваться по сосудам растения и который должен быть воспринят СК в удаленных от места инфицирования тканях для запуска экспрессии СПУ-генов и установления состояния устойчивости, пока не идентифицирован [Vernooij et al., 1994; Mauch-Mani, Metraux, 1998; Smith-Becker et al. 1998]. Безусловно, изучение систем восприятия и трансдукции сигналов, лежащих в основе механизмов регуляции системной устойчивости, очень важно, поскольку СПУ является существенным компонентом устойчивости растений в целом. Знание биохимических и молекулярных основ СПУ может помочь в создании фунгицидов мягкого действия, стимулирующих развитие естественных защитных механизмов устойчивости растений. И работа в этом направлении ведется [Озерецковская, 1999].

Так, например, создан фунгицид нового типа зивеелинг, в состав которого входит салициловая кислота, обладающий не только высокой защитной активностью против фузариоза, но и стимулирующий рост растений. Недавно открыт новый химический индуктор защиты и устойчивости растений, – близкий по структуре СК, – бензотиадиазол (БТД), но который гораздо активнее СК в меньших концентрациях, причем эффект БТД в активации транскрипции генов ФАЛ и анионной пероксидазы (АП) усиливается в зависимости от времени предобработки им растительных клеток и если синтез мРНК ФАЛ наблюдается лишь в присутствии элиситора в маленьких дозах, то синтез мРНК АП – даже при его отсутствии [Katz et al., 1998].

На суспензионной культуре клеток моркови получены интересные данные об индукции грибным элиситором накопления СК и появления хитиназной активности только в присутствии ионов кальция [Schneider-Muller et al., 1994].

Перспективным подходом для повышения устойчивости растений к болезням является подбор композиций защитных препаратов, позволяющих повысить эффективность их практического использования. Примером этого может служить эффективная композиция СК и арахидоновой кислоты (АК) для индуцирования устойчивости листьев томатов к галловой нематоде, причем если АК в смеси использовалась в неактивной в повышении нематодоустойчивости концентрации, то СК – в концентрации, стимулирующей рост растений, но повышающей чувствительность к болезни [Васюкова и др., 1999]. Данная работа важна также с точки зрения детального анализа концентрационных порогов в действии СК, что необходимо учитывать в опытах с защитными препаратами с целью

повышения устойчивости растений, тем более, что, как упоминалось выше, сама обработка арахидоновой кислотой способна индуцировать синтез СК в листьях картофеля [Coquoz et al., 1998].

Некоторые незараженные патогенами растения, к которым относится и картофель, содержат довольно высокий исходный уровень СК (от 40 до 100 раз превышающий таковой у растений табака и арабидопсиса), который, однако, не обеспечивает конституционную устойчивость к *Phytophthora infestans*. СПУ к данной болезни может эффективно индуцироваться обработкой АК, но не у растений, содержащих *NahG* ген, что указывает на существенную роль СК в АК-индуцируемой СПУ картофеля к *P. infestans* [Yu et al., 1999].

Интересны имеющиеся в литературе данные об усилении под влиянием предобработки СК защитных эффектов от других грибных элиситоров – хитозана, эргостерола [Kauss, Jeblic, 1996].

Вместе с тем, СК – эндогенный регулятор роста, выполняющий в растениях разнообразные физиологические функции. Так, СК является естественным индуктором термогенезиса в *Arum lilies* [Raskin et al., 1987], индуктором цветения длиннодневных и короткодневных растений семейства рясковых [Cleland, Tanaka, 1979], ингибитором поступления ионов в корни [Glass, 1983], антагонистом АБК в регуляции движения устьиц [Rai et al., 1986]. Получены экспериментальные доводы в пользу участия СК в сигнальной регуляции генной экспрессии в ходе старения листьев арабидопсиса, предшествующего, как известно, гибели клеток [Morris et al., 2000]. СК может служить регулятором транспорта органических веществ по флоэме [Бурмистрова, Красавина, 1999], гравитропизма [Медведев, Маркова, 1991] и других физиологических процессов [Raskin, 1992; Alvarez, 2000].

Недавно появились данные о снижении степени повреждающего действия ионов тяжелых металлов на растения риса при обработке СК [Mishra, Choudhuri, 1999], индукции под влиянием СК синтеза БТШ в растениях табака [Бурханова и др., 1999], а также усилении при действии СК (наряду с поранением и АБК) транскрипционной активности гена экстенсина, нормально экспрессирующегося в растениях арабидопсиса, [Merkouropoulos et al., 1999]. Кроме того, выявлена быстрая (в пределах 5–10 мин) активация в суспензионных клетках табака СК–индуцируемой 48-кД протеинкиназы при воздействии осмотического стресса [Mikolajczyk et al., 2000], причем, интересно, что активация этой протеинкиназы  $Ca^{2+}$ - и АБК–независимая [Hoyos, Zhang, 2000]. Эти данные свидетельствуют о возможности

участия СК в индукции механизмов устойчивости растений также и к абиотическим неблагоприятным факторам среды.

Все это в совокупности позволяет рассматривать СК в качестве перспективного для практического применения соединения с целью защиты растений от широкого спектра стрессовых факторов [Шакирова, 2000].

### **Влияние салициловой кислоты на устойчивость пшеницы**

Исследование влияния СК на устойчивость пшеницы в естественных условиях произрастания к возбудителям ряда грибных болезней и ее продуктивность показало [Шакирова и др., 2000a], что предпосевная обработка семян СК в оптимальной в стимуляции роста проростков концентрации – 0,05 мМ несколько снижает степень поражения мучнистой росой (в контроле – 15–20 %, в опыте – 10–15 %) и балл поражения бурой ржавчиной (4 – в контроле, в опыте – между 3 и 4) листьев пшеницы и более заметно понижает индекс развития корневой гнили (в контроле – 1,3, в опыте – 0,8) в основании стебля. Несмотря на то, что обработка СК не приводит к значительному повышению устойчивости пшеницы к грибному патогенезу в полевых условиях при отсутствии инфекционного фона, она тем не менее оказывает существенный эффект на ее продуктивность (табл. 7 и 8).

**Таблица 7**

**Структура урожая пшеницы сорта Башкирская 24  
при предпосевной обработке СК**

Вариант	Длина стебля, см	Длина колоса, см	Количество семян с главного колоса	Масса 1000 семян, г	Масса семян с колоса, г	Урожай зерна, ц/га
<b>Контроль</b>	70,7	7,3	18,7	35,5	0,67	19,9
<b>0,05 мМ СК</b>	74,6 (106 %)	8,4 (116 %)	23,7 (127 %)	38,2 (115 %)	0,93 (139 %)	27,2 (137 %)

Примечание. Размер делянок 2 м<sup>2</sup>. Ошибка опыта не превышала 4 %

Наиболее часто в практике применения регуляторов роста используют два способа обработки: предпосевное замачивание семян и опрыскивание вегетирующих растений. СК независимо от способа обработки способствует увеличению высоты растений пшеницы, длины колоса, а также количества семян с колоса и массы 1000 семян. Все эти параметры, особенно два последних, определяют продуктивность

растений. Следует отметить, что результаты по влиянию СК на основные элементы структуры урожая, приведенные в таблицах 7 и 8, получены в разные годы на разных сортах пшеницы.

Однако сравнение в одном опыте предпосевной обработки семян и опрыскивания вегетирующих (в фазе кущения) растений этим соединением на урожай зерна показывает большую эффективность применения предпосевного замачивания семян в СК.

**Таблица 8**

**Влияние обработки СК на структуру урожая пшеницы сорта Жница**

Вариант	Длина стебля, см	Длина колоса, см	Масса 1000 семян, г	Урожай зерна, ц/га
<b>Контроль</b>	63,4	7,8	31,1	27,3
<b>0,05 мМ СК (замачивание семян)</b>	68,3 (108 %)	8,7 (112 %)	33,9 (109 %)	31,5 (115 %)
<b>0,05 мМ СК (опрыскивание растений)</b>	65,9 (104 %)	8,0 (103 %)	33,4 (107 %)	30,6 (112 %)

Примечания. Размер делянок 100 м<sup>2</sup>.

Ошибка опыта не превышала 4 %

Эти данные, по-видимому, свидетельствуют о возможности влияния СК на повышение устойчивости пшеницы не только к грибным болезням, но и к постоянно изменяющимся условиям произрастания растений в природной среде.

Для проверки влияния СК на устойчивость пшеницы к засолению среды был использован тест на прорастание семян, причем особенно ярко действие СК выявилось на пшенице со сниженной всхожестью [Шакирова, Безрукова, 1997]. Замачивание семян в растворе СК в течение 3 ч приводило к существенному повышению их энергии прорастания и всхожести на среде с NaCl (табл. 9), при этом защитный эффект СК проявлялся сильнее при увеличении концентрации соли в среде.

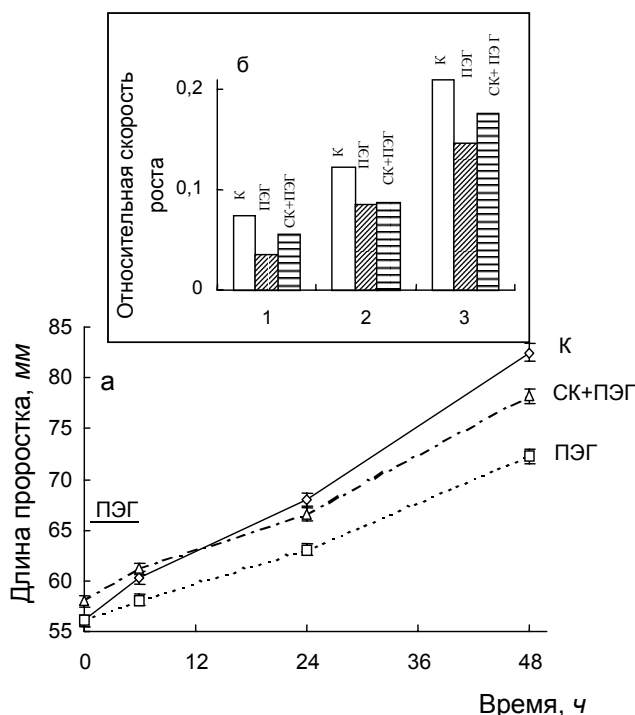
**Таблица 9**

**Влияние предпосевной обработки СК на энергию прорастания семян пшеницы через сутки в условиях засоления среды**

Вариант	Дистиллированная вода	NaCl, %		
		0,5	1	1,5
<b>Контроль</b>	66 ± 1	46 ± 1	34 ± 2	16 ± 1
<b>СК</b>	70 ± 2	66 ± 2	68 ± 1	38 ± 3

Примечание. В каждом варианте опыта использовали 100 семян

О повышении устойчивости растений под влиянием защитных препаратов можно судить по интенсивности их роста в стрессовых условиях. Данные, приведенные на рисунках 7-10, демонстрируют, что как предпосевная обработка семян, так и обработка проростков СК, хотя и не предотвращают полностью повреждающего действия дефицита влаги и засоления среды на рост растений, но заметно снижают его степень по сравнению с необработанными [Шакирова, Безрукова, 1997; Шакирова, 1999; Сахабутдинова и др., 2000; Безрукова и др., в печати].



**Рис. 7. а). Влияние предпосевной обработки семян 0,05 мМ СК на динамику роста 4-суточных проростков пшеницы, подвергнутых кратковременному (в течение 6 ч) воздействию 18 %-го ПЭГ в 2 %-й сахарозе. Контролем служили необработанные СК и ПЭГ проростки, инкубированные на 2 %-й сахарозе. б). Относительная скорость роста проростков (на оси абсцисс обозначен интервал времени: 1 – 0–6 ч, 2 – 6–24 ч, 3 – 24–48 ч).**

Кратковременное внесение в среду инкубации 18 %-го полиэтиленгликоля 6000 (ПЭГ), моделирующего дефицит влаги, приводило к существенному торможению роста проростков в сравнении с контролем (рис. 7). Стресс тормозил рост и предобработанных СК проростков пшеницы, правда, нужно отметить, что к началу опыта они характеризовались и большим размером. Вероятно, это является причиной более слабого в сравнении с контролем повреждающего действия стрессового фактора на показатели роста обработанных СК растений по отношению к необработанным. Действительно, если в период сразу после удаления ПЭГ из среды (6–24 ч) показатель относительного прироста необработанных и предобработанных СК проростков в условиях водного дефицита был одинаковым и заметно уступал контрольному, то в период с 24 до 48 ч заметно отличался: в контроле он составил 0,210, после воздействия ПЭГ у необработанных СК проростков – 0,146, а у предобработанных СК – 0,176, что,

по-видимому, может свидетельствовать об ускорении репарации ростовых процессов в проростках под влиянием СК. Таким образом, предпосевная обработка семян СК оказывает защитный эффект на рост проростков пшеницы при дефиците влаги.

Перенесение проростков на среду, содержащую 10 %-й ПЭГ, также приводило к торможению их роста (рис. 8). В то же время рост прединкубированных на СК растений на среде с ПЭГ снижался лишь спустя сутки, однако на всем протяжении опыта эти растения росли с большей интенсивностью в сравнении с растениями, инкубированными на ПЭГ, но не обработанными СК.

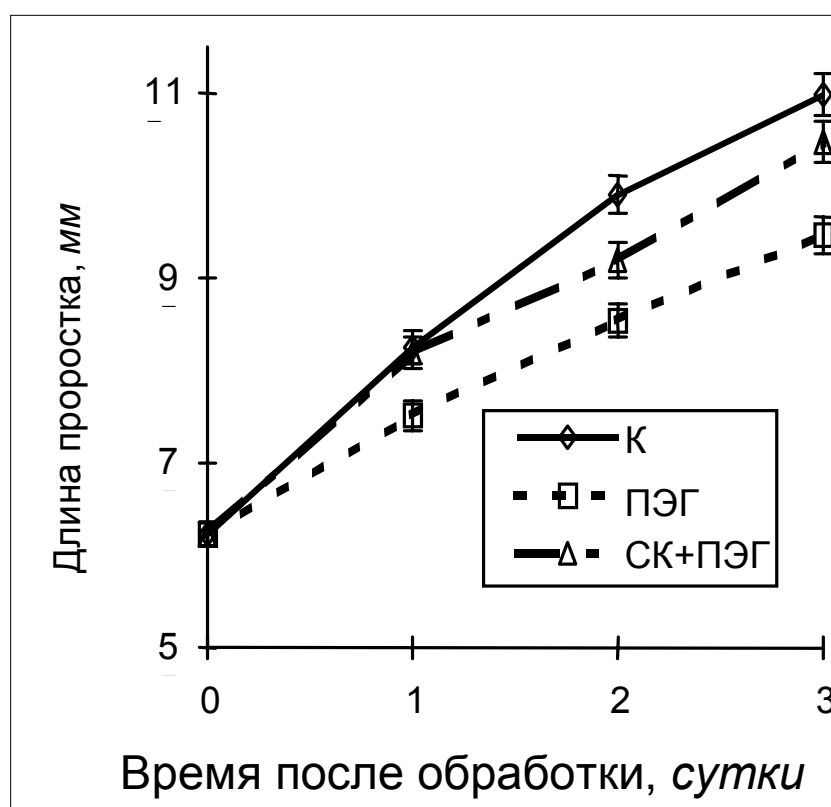
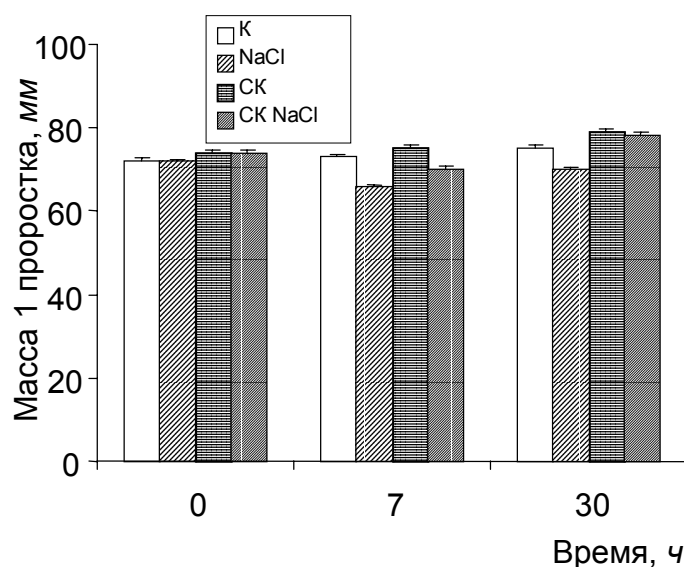
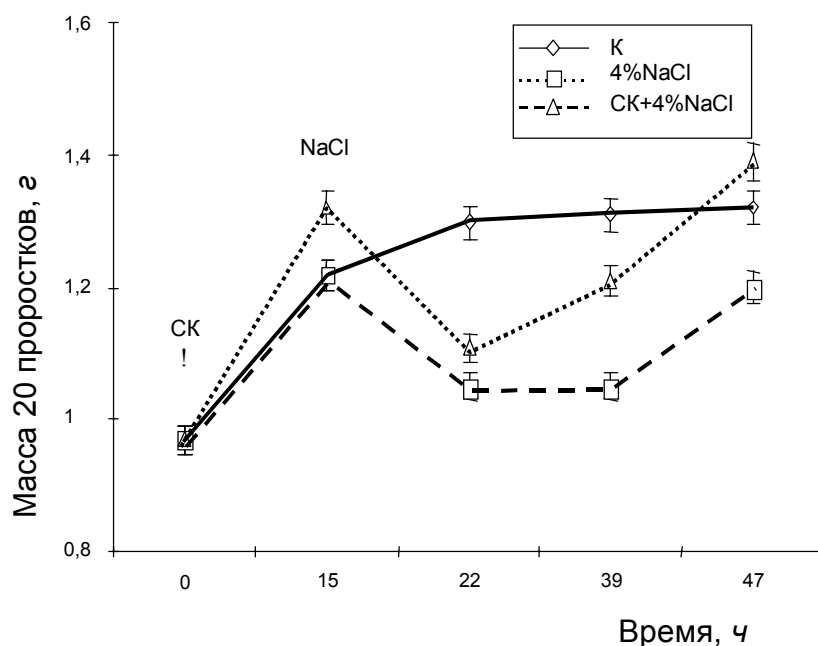


Рис. 8. Влияние предобработки в течение 24 часов 0,05 мМ СК 3-суточных проростков пшеницы на динамику роста проростков в присутствии 10 %-го ПЭГ. Контроль – не обработанные СК и ПЭГ проростки

Близкие результаты получены и в опытах по влиянию СК на рост проростков, подвергнутых воздействию засоления среды (рис. 9 и 10). Обработка СК полностью не препятствует вызванному NaCl уменьшению массы проростков, но, как видно, способствует более быстрому восстановлению роста после удаления соли из среды. Вероятно, в определенной степени снижение повреждающего действия засоления на рост предобработанных СК проростков обеспечивается ростстимулирующей активностью СК.



**Рис. 9.** Динамика роста предобработанных СК проростков пшеницы после кратковременного воздействия засоления. Семена перед посевом замачивали в течение 3 ч в 0,05 мМ СК или дистиллированной воде. 4-суточные проростки инкубировали в течение 7 ч на смеси 2 %-й сахарозы и 2 %-го NaCl, а затем переносили на раствор 2 %-й сахарозы. Контролем служили не обработанные СК и NaCl проростки



**Рис. 10.** Влияние СК на динамику роста 4-суточных проростков пшеницы, подвергнутых воздействию 4 %-го NaCl в течение 7 ч. 3-суточные проростки обрабатывали 0,05 мМ СК, затем инкубировали их 7 ч на смеси 2 %-й сахарозы и 4 %-го NaCl, после чего переносили на раствор 2 %-й сахарозы. Контролем служили необработанные СК и NaCl проростки

Анализ сырой и сухой массы обработанных и необработанных СК растений спустя трое суток после 7-часового воздействия NaCl на 4-суточные проростки (табл. 10) показал, что обработка СК заметно стимулирует не только увеличение сырой, но и сухой массы растений. Кратковременное воздействие засоления приводит к снижению этих показателей, тогда как предпосевное замачивание семян оказывает явный защитный эффект на рост проростков – их сухая масса, хотя и уменьшается в сравнении с обработанными СК, не подвергнутыми воздействию NaCl, но остается большей в сравнении с контролем.

**Таблица 10**

**Влияние СК и кратковременного воздействия засоления  
на сырую и сухую массу 7-суточных проростков пшеницы**

<b>Вариант</b>	<b>Сырая масса 20 проростков, г</b>	<b>Сухая масса 20 проростков, мг</b>
<b>Контроль</b>	1,68	139
<b>NaCl (7 ч)</b>	1,61	126
<b>СК</b>	1,78	1,54
<b>СК+NaCl (7 ч)</b>	1,79	142

- Примечания. 1. Воздействию засоления подвергали 4-суточные проростки, росшие на питательной среде Хогланда-Арнона-I, в которую на 7 ч вносили NaCl, а затем проростки переносили на свежую питательную среду и выращивали в течение 3 суток.
2. Предпосевное замачивание семян 0,05 mM СК.
3. Ошибка опыта не превышает 3 %

Как известно, одной из составляющих роста растений является деление клеток и засоление может приводить к существенному ингибированию митотической активности клеток корней злаков [Кабузенко и др., 1995]. Действительно, митотический индекс клеток в зоне меристемы корней 7-суточных проростков спустя сутки после кратковременного воздействия (7 ч) 2 %-го NaCl составил 2,9 %, тогда как в контрольных проростках (необработанных ни СК, ни 2 %-м NaCl) – 3,5 %. Очень высоким митотическим индексом характеризовались клетки корней предобработанных СК проростков (6,1 %), который существенно в меньшей степени снижался при воздействии засоления (5,5 %) [Сахабутдинова и др., 2000].

Эти данные свидетельствуют как об активации деления клеток под влиянием СК, что, безусловно, указывает на большой вклад митозов в СК-индуцируемый рост растений пшеницы, так и о поддержании высокой интенсивности митотической активности в СК-обработанных проростках, подвергнутых солевому стрессу. Такой эффект СК на



деление клеток корней пшеницы после действия засоления, по-видимому, является важным механизмом, обеспечивающим не только снижение степени повреждающего действия данного стрессового фактора в целом на рост, но и ускорение репарации ростовых процессов в проростках после удаления соли из среды.

Таким образом, СК является важным эндогенным соединением, характеризующимся широким спектром физиологического действия в растениях, в котором особое место занимает антистрессовый эффект.

В настоящее время интерес исследователей главным образом направлен на выяснение цепи событий по пути восприятия и передачи сигналов, индуцируемых внешними факторами, и роли в ней СК, прежде всего, по-видимому, связанной с ее участием в регуляции развития защитных реакций, лежащих в основе СПУ, что особенно четко продемонстрировано для двудольных растений. Вместе с тем ограничивать индукцию устойчивости под влиянием СК только к инфицированию, на наш взгляд, несправедливо. Способность СК повышать сопротивляемость растений пшеницы и к повреждающим факторам среды абиотической природы, а также оказывать заметное влияние на урожайность этой важнейшей хлебной культуры существенно расширяет перспективы ее практического использования. Применение этого соединения является весьма актуальным, особенно в связи с тем, что СК – эндогенный регулятор роста, проявляющий ростстимулирующий и защитный эффект в крайне низких концентрациях, т.е. в экологически безопасных дозах.

#### ГЛАВА 4. РОЛЬ ФИТОГОРМОНОВ В ПРОЯВЛЕНИИ УСТОЙЧИВОСТИ ПШЕНИЦЫ К СТРЕССОВЫМ ВОЗДЕЙСТВИЯМ

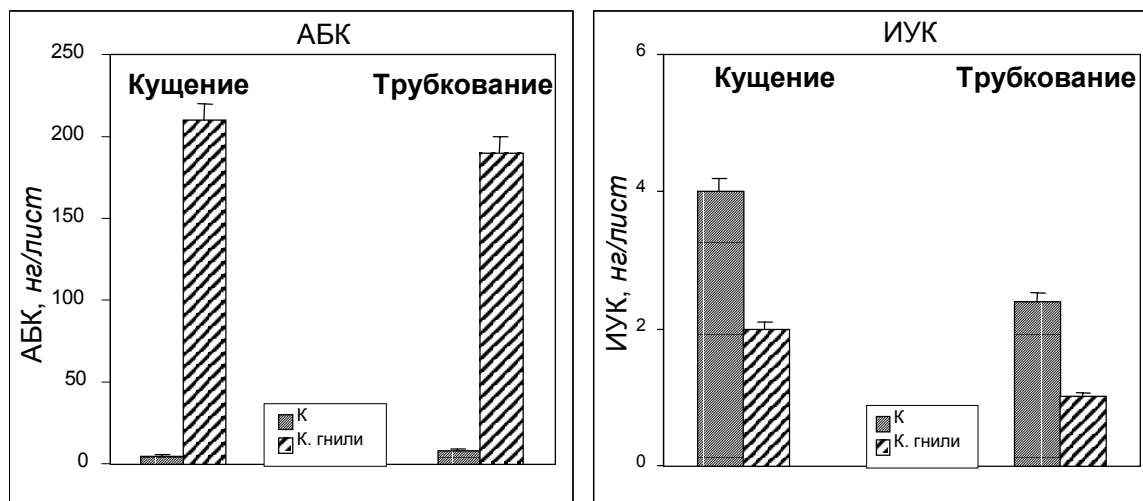
Многие грибные фитопатогены способны продуцировать соединения фитогормональной природы в значительных количествах [Pegg, 1985; Trione, Sayvedra, 1988; Angra et al., 1990; Талиева, Филимонова, 1992; Волынец и др., 1993а,б; Васюк, 1995; Васюк и др., 1996]. Можно предполагать, что это обусловлено необходимостью аттракции подвижных питательных метаболитов растения-хозяина в зону развивающегося мицелия грибов. С помощью собственных соединений гормональной природы фитопатогены, вероятно, могут активно воздействовать на гормональную систему регуляции растительных организмов и изменять интенсивность метаболических процессов в их клетках и, таким образом, оптимизировать условия для своего роста и развития. Следовательно, посредством фитогормонов, как собственных, так и хозяйских грибной патоген может управлять интегральными физиологическими программами в клетках растений для обеспечения успешного паразитирования [Талиева, Филимонова, 1992]. Безусловно, характер взаимовлияния растения-хозяина и паразита на гормональном уровне зависит от типа питания грибного патогена.

#### **Зависимость гормонального ответа растений пшеницы на инфицирование различными возбудителями грибных болезней**

**Пшеница – корневая гниль.** Возбудители корневой гнили, патогены родов *Fusarium* и *Helminthosporium* (*Bipolaris*), характеризуются некротрофным типом питания [Чулкина, 1985]. Наряду с фитотоксинами – супрессорами защитных реакций растений [Чулкина, 1985; Метлицкий и др., 1986], эти грибы продуцируют в культуральную среду вещества цитокининовой [Yadav, Mandahar, 1981] и ауксиновой [Волынец и др., 1993б] природы, а также АБК [Волынец и др., 1993а]. Вместе с тем важно провести анализ количественных изменений этих гормонов в растениях пшеницы под влиянием заражения корневыми гнилями.

Инфицирование вызывает стойкое падение уровня ИУК в тканях листьев пшеницы в фазах кущения и трубкования (рис. 11), поэтому, очевидно, речь о заметном вкладе ауксина грибного происхождения в тотальную ИУК идти не может.

Другое дело – АБК. В растениях пшеницы индуцируется резкое, почти стократное, накопление АБК под влиянием инфекции (рис. 11). Поэтому нельзя исключить, что существенная доля в содержании этого фитогормона может приходиться на грибную АБК, тем более, что такой высокий уровень АБК в листьях поддерживается на протяжении онтогенеза

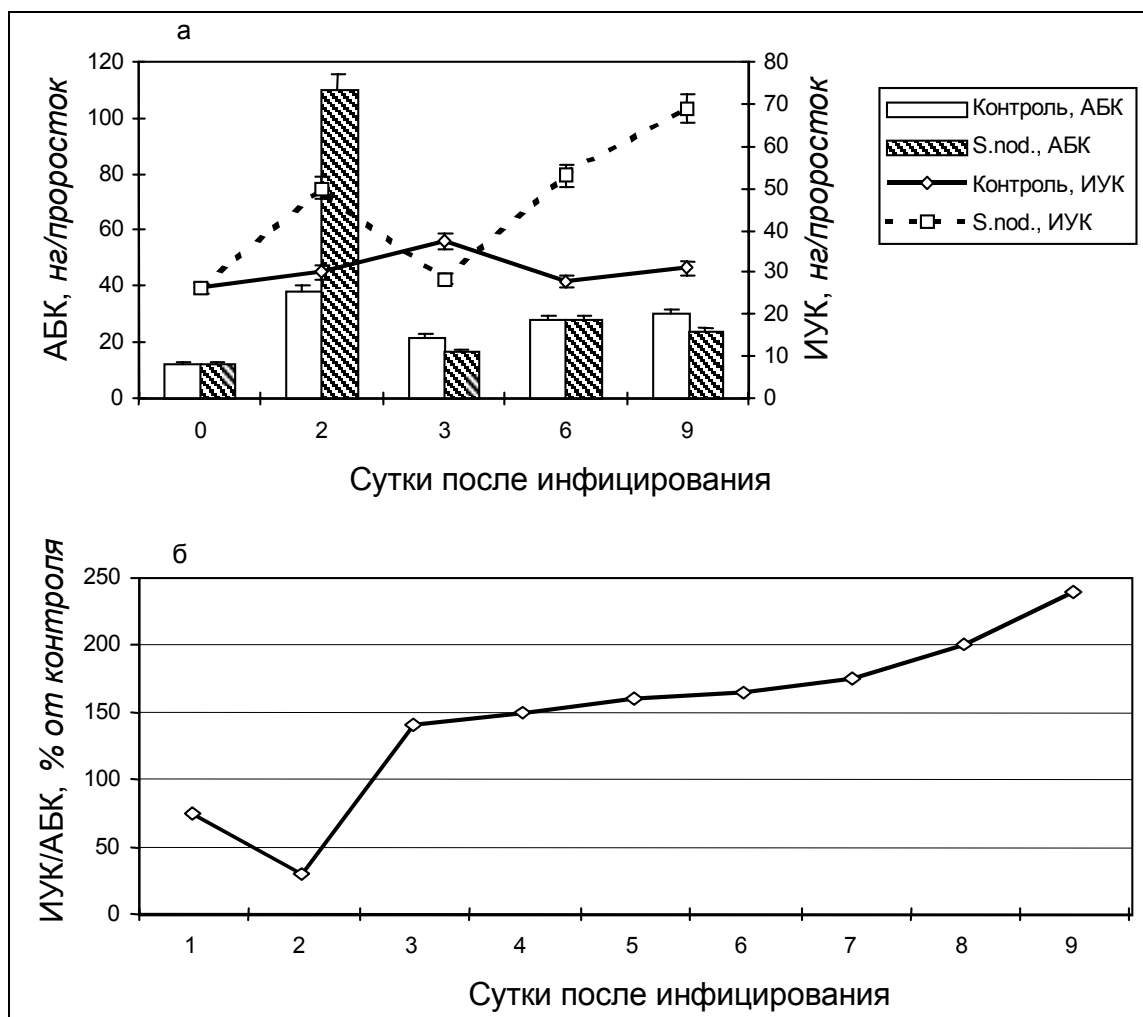


**Рис. 11. Влияние заражения возбудителями корневой гнили на уровень АБК и ИУК в листьях пшеницы в фазах кущения и трубкавания**

пшеницы. Это неизбежно должно приводить к снижению активности метаболизма растений, что, однако, вполне благоприятно для возбудителей корневой гнили, поскольку они являются некротрофами и прекрасно развиваются в поврежденных растительных тканях с ослабленным тургором, и гибель клеток хозяина им не страшна.

**Пшеница – септориоз.** *Septoria nodorum* Berk., в отличие от возбудителей корневой гнили, по типу питания относится к гемибиотрофам [Трошина и др., 1992; Parbery, 1996], и на начальных стадиях своего онтогенеза развивается преимущественно в живых тканях хозяина. *S. nodorum* инфицирует проростки и зрелые растения пшеницы, поражает листья, стебли, колосья и семена [Пыжикова, 1984; Васецкая, Чигирев, 1986; Verret et al., 1987; Bousget et al., 1990; Хайруллин и др., 1993; Шакирова и др., 1994; Максимов и др., 1996]. Поскольку гриб *S. nodorum* также способен продуцировать в культуральную среду ауксины [Васюк и др., 1996] и АБК [Васюк, 1995], интересно остановиться на сравнении изменений в балансе этих гормонов в растениях пшеницы в ходе инфицирования септориозом с выше приведенными результатами, полученными при заражении возбудителями корневой гнили.

Инокулирование проростков восприимчивой к септориозу пшеницы суспензией спор *S. nodorum* сразу же приводит к кратковременному подъему в содержании ИУК, а в последующем к постепенному стойкому накоплению этого гормона в инфицированных растениях, так что к 9-м суткам, когда можно проводить визуальную оценку развития болезни, по уровню ауксина опытные растения превышают здоровые в 2,5 раза (рис. 12а).



**Рис. 12.** Динамика содержания ИУК и АБК (а) и коэффициента отношения ИУК/АБК (б) в проростках пшеницы сорта Саратовская 29 после заражения 7-дневных проростков суспензией спор *S. nodorum* в концентрации 10 млн. спор/мл. По-видимому, различие в характере изменения уровня ИУК в ответ на заражение корневой гнилью и септориозом вызвано различием этих патогенов по типу питания.

Формально, регистрируемая в инфицированных *S. nodorum* проростках, ИУК может быть смешанного происхождения – растительного и грибного. Первоначальное транзитное накопление ИУК в проростках сразу после инфицирования, скорее всего, происходит не

за счет грибной ИУК, поскольку за такой короткий промежуток времени грибной патоген еще не мог накопить достаточной биомассы. В то же время нельзя исключить влияние этого патогена на ингибирование растительной ИУК-оксидазы [Максимов и др., 1996]. Последующее в ходе инфицирования накопление ИУК, вероятно, преимущественно связано с суперпродукцией этого фитогормона грибными клетками, поскольку ауксины необходимы для роста и развития гриба *S. nodorum*: помимо известной функции аттракции питательных веществ растения-хозяина к месту локализации этих грибных клеток [Verret et al., 1986], они стимулируют спороношение этого гриба [Reday, Strzelezyk, 1989]. Однако определенная доля в уровне ИУК, вероятно, растительного происхождения [Волынец, 1993б].

Заражение *S. nodorum* индуцирует резкое обратимое накопление АБК в растениях (рис. 12а), максимум которого приходился на 2-е сутки от момента заражения и составляет трехкратное превышение контрольного значения. В последующие дни опытные и контрольные растения по содержанию АБК почти не различались.

Такое увеличение уровня АБК может свидетельствовать о сильной стрессовой нагрузке, которое испытывали растения в результате заражения патогеном. Резкое накопление АБК может быть связано с развитием защитных реакций растений к инокулированию, например синтезом PR-белков [Graham, Graham, 1991; Chalupkova, Smart, 1994; Moons et al., 1997]. Кроме того, повышение уровня АБК может приводить к дисбалансу гормонов, в частности, к снижению активности гормонов-активаторов грибного происхождения, необходимых для роста гриба [Волынец и др., 1993а]. Однако, по-видимому, уровень вызванного заражением накопления АБК в растениях пшеницы был недостаточным для нейтрализации ИУК, поскольку имело место неуклонное повышение коэффициента отношения содержания ИУК к АБК в больных растениях (рис. 12б).

Изменение соотношения ИУК и АБК может отражать характер взаимовлияния фитогормонов на гормональный статус растения в целом [Усманов и др., 1990] и соответственно свидетельствовать о степени разбалансированности метаболизма растительных клеток. Действительно, широкая амплитуда преимущественного изменения содержания ИУК, вероятно, указывает на существенный сдвиг в активности обменных процессов в клетках растения-хозяина, который диктует патоген, в частности продукцией ИУК, оптимизируя тем самым условия питания, необходимые для своего успешного роста и развития,

что может быть связано с наличием биотрофной фазы в его онтогенезе, в отличие от патогенов родов *Fusarium* и *Helminthosporium*.

**Пшеница – твердая головня.** Возбудитель твердой головни *Tilletia caries* Tull. является типичным биотрофом [Parbery, 1996]. Успешное паразитирование этого гриба в растениях пшеницы включает на начальной стадии патогенеза даже симбиотические взаимоотношения [Trione, Sayvedra, 1988]. Инфицирование семян телиоспорами данного гриба приводит к стойкому повышению уровня цитокининов в проростках, на фоне слабого кратковременного накопления как АБК, так и ИУК [Максимов и др., 2000], т.е. в данной биологической системе столь значительных изменений в соотношении ИУК и АБК, в отличие от системы пшеница – корневая гниль или пшеница – септориоз, не наблюдается.

Существенный вклад в изменение в целом в гормональную систему инфицированных *T. caries* проростков вносят, вероятно, цитокинины, которые в значительных количествах продуцируются возбудителем твердой головни [Trione, Sayvedra-Soto, 1988]. Вместе с тем в данной биологической системе довольно сложно оценить вклад той или другой стороны в стойкое накопление уровня цитокининовых гормонов, поскольку она характеризуется довольно длительным сосуществованием двух противоборствующих организмов, вплоть до стадии формирования семян, сопровождающейся одновременным созреванием телиоспор, а цитокинины, как уже обсуждалось выше, играют важную роль в регуляции защитных механизмов растений, в том числе к патогенезу.

В связи с проблемой патогенеза нельзя обойти вниманием фитогормон этилен. Не вызывает сомнения его участие в развитии защитных реакций растений к неблагоприятным факторам разной природы. Как экзогенная обработка этиленом, так, вероятно, и эндогенный этилен, поскольку поранение и инфицирование растений вызывают резкое усиление его синтеза с участием фермента синтазы 1-аминоциклопропан-1-карбоновой кислоты, способствуют наряду с другими регуляторами роста усилению синтеза фитоалексинов, экспрессии генов ряда PR-белков, 5-кД-дифензина и других защитных соединений, вовлекающихся в становление устойчивости к фитопатогенам [Xu et al., 1994; Penninckx et al., 1996; Genoud, Metraux, 1999; Ryan, 2000]. Изучение систем восприятия этиленового сигнала с участием целого семейства рецепторных компонентов и выяснение путей его сигнальной трансдукции в растениях позволит понять роль этилена в регуляции защитных и других разнообразных реакций

[Levinsh et al., 1995; O'Donnell et al., 1996; Harpham et al., 1996; Bleecker, 1999; Urao et al., 2000].

Между тем этилен как эндогенный регулятор роста и развития растений играет чрезвычайно важную роль в их жизнедеятельности на протяжении онтогенеза. Так, этилен вызывает эпинастии листьев, индукцию старения тканей и органов, ускорение формирования отделительного слоя в черешках листьев, ускоряет созревание плодов, подавляет митотическую активность клеток и тормозит их рост растяжением и т.д. Следовательно, этилен является активным компонентом регуляторной системы растений, концентрационные изменения которого влияют на содержание других фитогормонов, а следовательно, он вовлекается в поддержание гормонального статуса на уровне, которое диктуется растениям жизненными обстоятельствами [Муромцев и др., 1987; Lawton et al., 1994; Taverner et al., 1999; Rodrigues-Pousada et al., 1999].

Таким образом, вопрос о взаимовлиянии растения и патогена с помощью фитогормонов весьма сложен и пока далек от ясности, поскольку речь идет о тонких механизмах воздействия на саму регуляторную систему, и ее ключевой составляющей является гормональный статус, под контролем которого находится реализация интегральных физиологических программ, лежащих в основе жизнедеятельности растительного организма, его целостности, с одной стороны, а также развития патогена – с другой. Однако такие исследования раскрывают принципиальные различия во взаимоотношении системы растение – грибной патоген на уровне количественных изменений фитогормонов-антагонистов в регуляции кардинальных процессов метаболизма растительных клеток, в основе которых лежит природа питания грибного патогена.

### **Влияние препаратов, обладающих свойствами цитокининов, на баланс ИУК и АБК в растениях пшеницы при инфицировании**

Фитогормонам отводят ключевую роль в регуляции интегральных физиологических процессов растительных организмов, в том числе и ответных реакций на воздействие неблагоприятных факторов среды. Поэтому можно предполагать, что изменения в гормональном балансе имеют важное значение в проявлении антистрессового действия препаратов, повышающих устойчивость и продуктивность пшеницы. Более того, индукторы устойчивости часто сами являются регуляторами роста или обладают их свойствами [Fletcher, Arnold, 1986; Raskin, 1992;

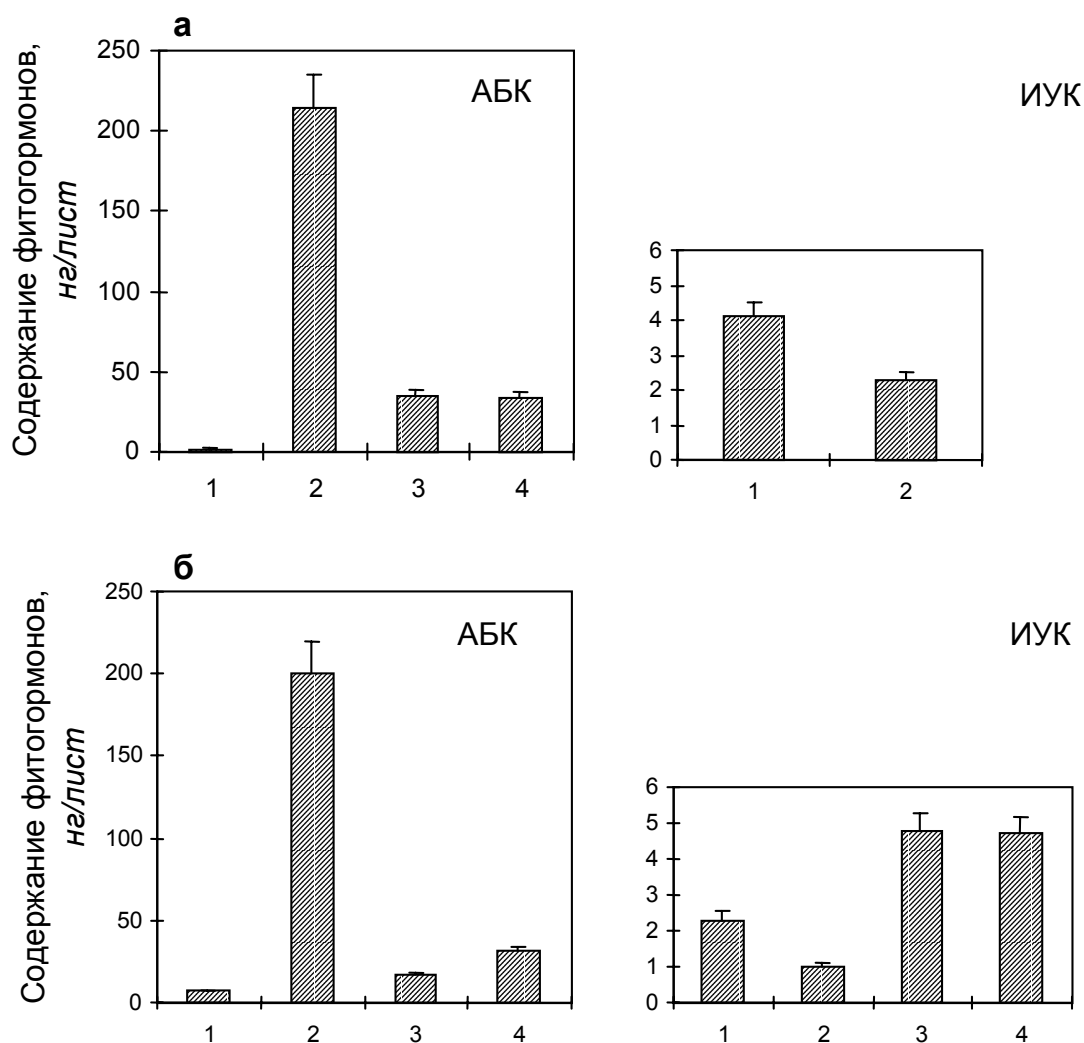
Прусакова, Чижова, 1998; 1999]. К таковым, в частности, относятся и рассмотренные в настоящей работе такие соединения, как картолин, бисол 2, байтан, салициловая кислота, которые оказывают влияние и на рост растительных клеток [Fletcher, Hofstra, 1987; Еркеев и др., 1988; Шакирова, Безрукова, 1997; Зауралов, 2000]. Это позволяет предполагать вероятность их активного воздействия на эндогенный гормональный статус растений. Следовательно, изучение влияния защитных препаратов на сдвиги в гормональном балансе при неблагоприятных воздействиях является важным для оценки механизмов регуляции индуцирования повышения устойчивости и продуктивности растений.

Анализ влияния предпосевной обработки семян пшеницы бисолом 2 и байтаном на уровень ИУК и АБК в листьях пшеницы в ходе онтогенеза выявил существенные сдвиги в их балансе в обычных условиях произрастания и при инфицировании [Ямалеев и др., 1989; Джемилев и др., 1990]. Препараты в отсутствии инфекции также вызывали некоторое повышение содержания АБК, наблюдаемое на протяжении онтогенеза (рис. 13 и 14), которое, правда, не сопоставимо по своему уровню с резким накоплением АБК в листьях при заражении (рис. 11).

Индукцированное обработкой защитными препаратами накопление АБК, по-видимому, можно рассматривать как проявление слабого химического стресса, которое, однако, может способствовать развитию антистрессовых реакций, поскольку именно АБК отводят значительную роль в их индукции. Вероятно, это может лежать в основе развития в растениях под влиянием защитных препаратов механизмов преадаптации к возможным стрессовым ситуациям и вследствие этого снижения степени их повреждающего действия на растительный организм [Fletcher, Hofstra, 1987; Шакирова, 1999]. Важно отметить, что и обработка картолином индуцирует накопление АБК в листьях растений ячменя [Ефремов и др., 1992], что, по-видимому, может способствовать повышению их устойчивости к гипертермии.

Фунгицид байлетон также, вероятно, через посредство увеличения уровня эндогенной АБК повышает термоустойчивость растений кукурузы, которая по своим показателям вполне сопоставима с таковой, индуцируемой экзогенной АБК [Bonham-Smith et al., 1988]. Изменение уровня АБК является важным звеном в действии другого триазолового фунгицида – тетраконазола, который рассматривается в качестве активатора защитных реакций растений как к биотическим, так и абиотическим стрессовым воздействиям [Ronchi et al., 1997].

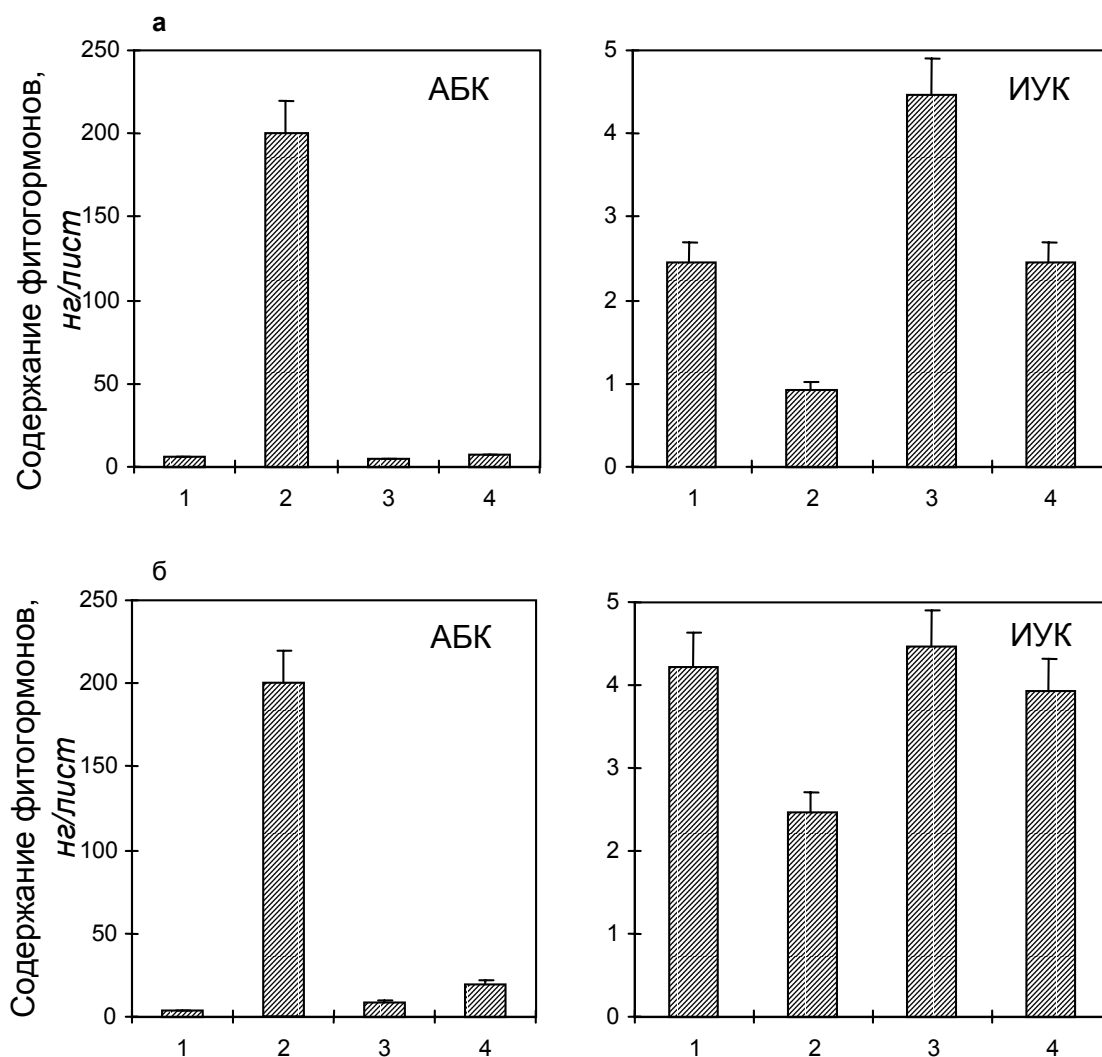




**Рис. 13. Влияние предпосевной обработки семян бисолом 2 и заражения корневой гнилью на содержание АБК и ИУК в листьях пшеницы в фазе кущения (а) и трубкования (б): 1 – здоровые, необработанные; 2 – инфицированные, необработанные; 3 – здоровые, обработанные; 4 – инфицированные, обработанные.**

Вместе с тем вызванное обработкой препаратами увеличение уровня АБК было вполне благоприятным для растений, очевидно, в связи с тем, что балансировалось одновременно повышением содержания в них также ИУК, играющей, как известно, важную роль в активации метаболических процессов, лежащих в основе роста растений. В то же время препараты предотвращали вызванное инфицированием резкое накопление АБК в листьях и способствовали поддержанию высокого уровня ИУК на протяжении онтогенеза пшеницы. Однако не следует забывать, что байтан является эффективным фунгицидом системного действия, обладающим

способностью подавлять в растительных клетках развитие этого патогенного гриба, благодаря ингибированию синтеза эргостерола [Burden et al., 1987], что, безусловно, вносит существенный вклад в повышение устойчивости пшеницы к данной болезни, тогда как бисол 2 заметно уступает ему в этом. (глава 2, таблицы 5 и 6).



**Рис. 14.** Влияние предпосевной обработки семян байтаном и заражения корневой гнилью на содержание АБК и ИУК в листьях пшеницы в фазе кущения (а) и трубкования (б): 1 – здоровые, необработанные; 2 – инфицированные, необработанные; 3 – здоровые, обработанные; 4 – инфицированные, обработанные

Таким образом, действие бисола 2 и байтана на эндогенную систему гормональной регуляции растений, вероятно, включается в повышение под их влиянием устойчивости пшеницы к грибным болезням и ее продуктивности.

Приведенные результаты, наряду с другими многочисленными данными, позволяют рассматривать грибное заражение как частный случай стрессового воздействия на растения, поскольку такие разнообразные абиотические стрессы, как засуха, засоление, экстремальные температуры и другие также вызывают нарушения в гормональном балансе и снижение метаболической активности клеток, что неизбежно сказывается на уменьшении урожая важнейших сельскохозяйственных культур.

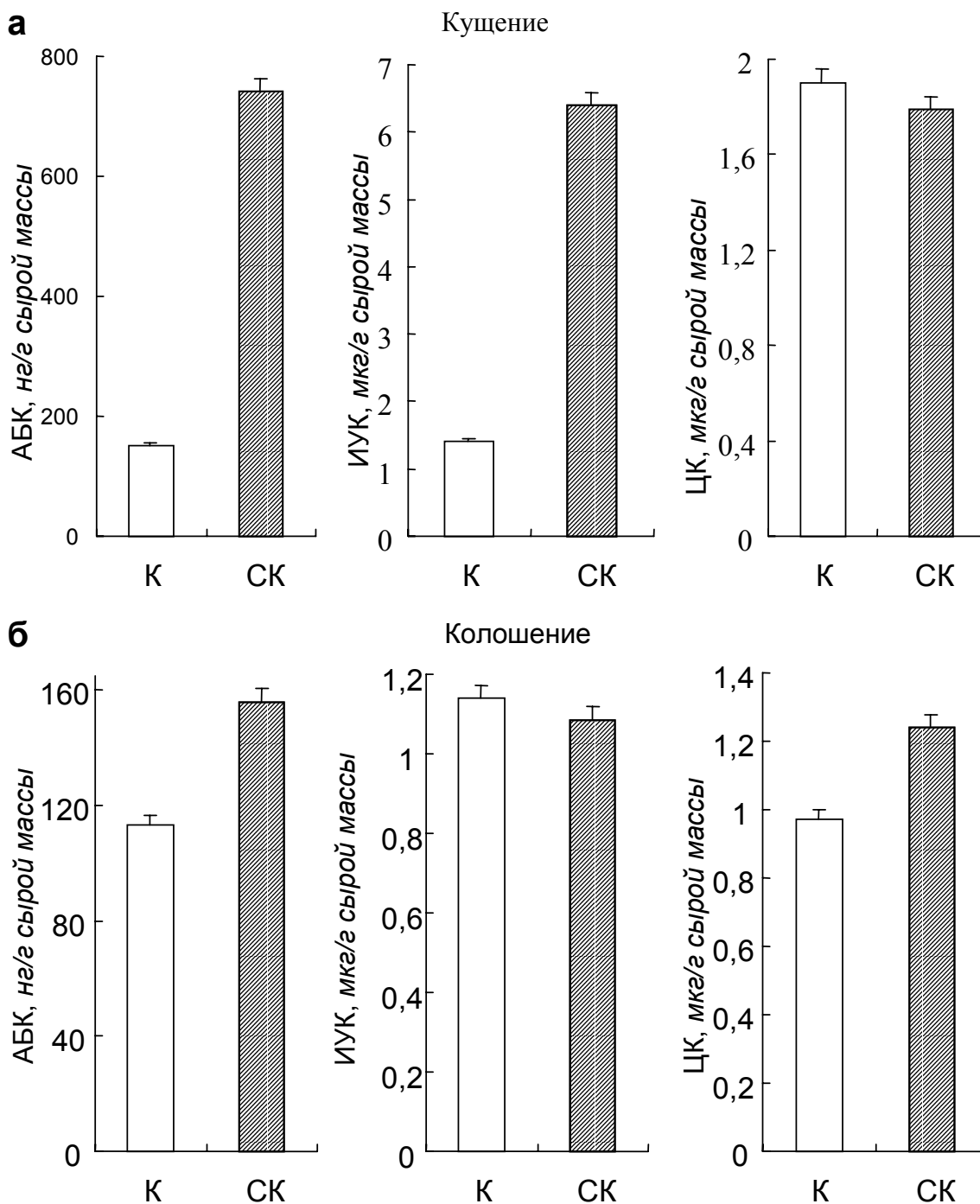
### **Изменения в состоянии гормональной системы растений пшеницы под влиянием салициловой кислоты в условиях воздействия стрессовых факторов**

СК в концентрациях, сопоставимыми с таковыми при использовании экзогенных фитогормонов, индуцирует рост растений и повышает устойчивость и продуктивность пшеницы [Шакирова, 2000]. Поскольку определяющая роль в регуляции интенсивности ростовых процессов в растениях принадлежит фитогормонам, можно ожидать влияние этого эндогенного регулятора роста на гормональный статус растительного организма.

Действительно, как упоминалось в главе 3, СК может подавлять синтез этилена в растениях. Кроме того, недавно появились данные об индукции под влиянием СК экспрессии гена стероидной сульфотрансферазы, способствующей полной инактивации биологической активности 24-эпибрассинолида, фитогормона стероидной природы [Rouleau et al., 1999], а также индукции экспрессии двух генов, кодирующих глюкозилтрансферазы, которые могут играть ключевую роль в регуляции уровней ауксина и таких сигнальных молекул, как салициловая и жасмоновая кислоты, путем превращения их в неактивные конъюгированные формы [Fraissinet-Tachet et al., 1998]. Нельзя не отметить возможность взаимовлияния СК с другим эндогенным регулятором роста жасмоновой кислотой в индукции защитных реакций, лежащих в основе устойчивости растений [Genoud, Metraux, 1999; Ozawa et al., 2000]. В данном разделе мы рассмотрим влияние СК на гормональный баланс в растениях пшеницы в обычных условиях произрастания и при воздействии стрессовых факторов.

Предпосевная обработка СК приводит к заметным изменениям в балансе ИУК, АБК и цитокининов в растениях пшеницы в ходе онтогенеза в обычных условиях произрастания [Шакирова и др., 2000]. Обработка СК индуцирует почти 5-кратное накопление АБК в листьях в

фазе кущения в сравнении с контролем, что вполне сопоставимо с данными по влиянию на уровень этого гормона других анализируемых выше защитных препаратов, которое одновременно сопровождается столь же существенным повышением концентрации ИУК (рис. 15а).

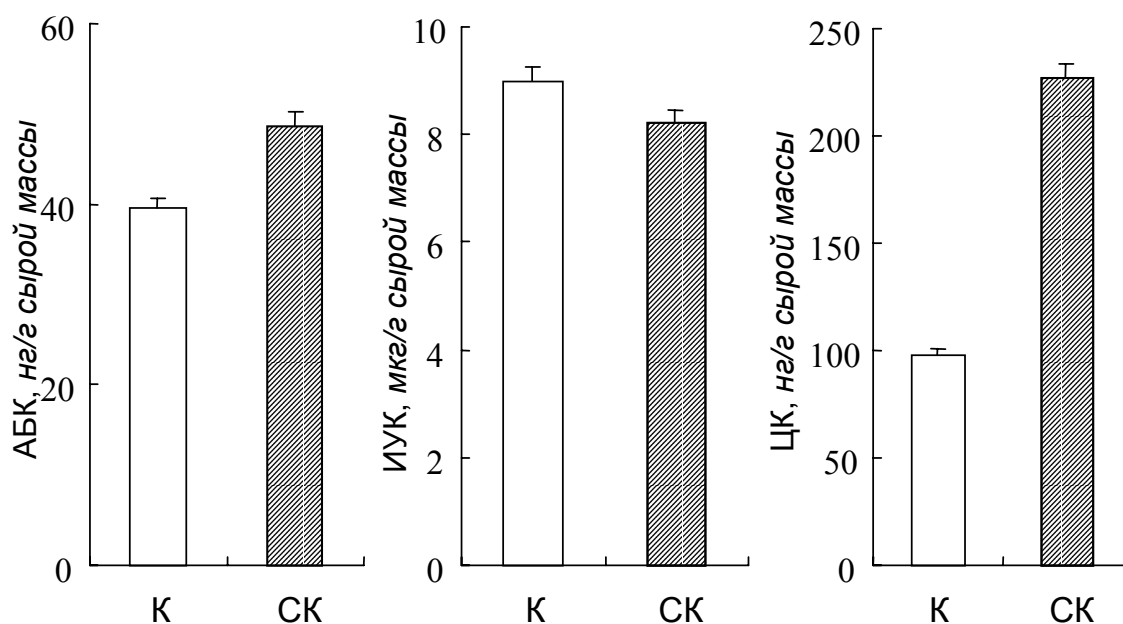


**Рис. 15.** Влияние предпосевной обработки семян 0,05 мМ СК на концентрацию фитогормонов АБК, ИУК и цитокининов в листьях пшеницы сорта Башкирская 24 в фазах кущения (а) и колошения (б)

Вероятно, обнаруженные изменения в концентрациях АБК и ИУК являются важными в СК-индуцированной регуляции роста и развития пшеницы в эту фазу онтогенеза и могут играть существенную роль в повышении под ее влиянием неспецифической устойчивости пшеницы. Каких-либо изменений в уровне цитокининов в листьях в фазе кущения пока не наблюдается.

В фазе колошения в растениях выявляется некоторое возрастание относительно контроля концентрации цитокининов на фоне практического отсутствия изменений в уровне ИУК и сохраняется повышенное по отношению к контролю содержание АБК (рис. 15б).

В формирующихся зерновках на стадии молочной спелости (14 дней после цветения) обработанных СК растений наблюдаются более значительные изменения в балансе фитогормонов, которые главным образом связаны с двукратным увеличением уровня цитокининов в сравнении с контролем (рис. 16), играющие важную роль в регуляции роста зерновок в ходе их формирования, и в этот период наблюдается их естественное накопление [Michael, Beringer, 1980].



**Рис. 16. Влияние предпосевной обработки семян 0,05 мМ салициловой кислотой на концентрацию АБК, ИУК и цитокининов в зерновках пшеницы на стадии молочной спелости**

Вероятно, повышенное содержание цитокининов в зерновках предобработанных СК растений способствует активации увеличения их размера и массы в период налива зерна, поскольку к моменту уборки

урожая семена, полученные с опытных растений, существенно опережают по массе контрольные (глава 3, табл. 7).

Вместе с тем заметных относительно контроля изменений в уровне ИУК в зерновках предобработанных СК растений обнаружено не было, хотя следует отметить вообще довольно высокое содержание этого гормона в этой фазе онтогенеза. Поскольку пик максимума в уровне ИУК в формирующихся семенах пшеницы приходится на 21-й день после цветения [Шакирова и др., 1994, глава 5], можно ожидать индуцируемые СК изменения в содержании ИУК в этот период, когда происходит массированное запасание крахмала, в регуляции которого участвуют ауксины [Michael, Beringer, 1980].

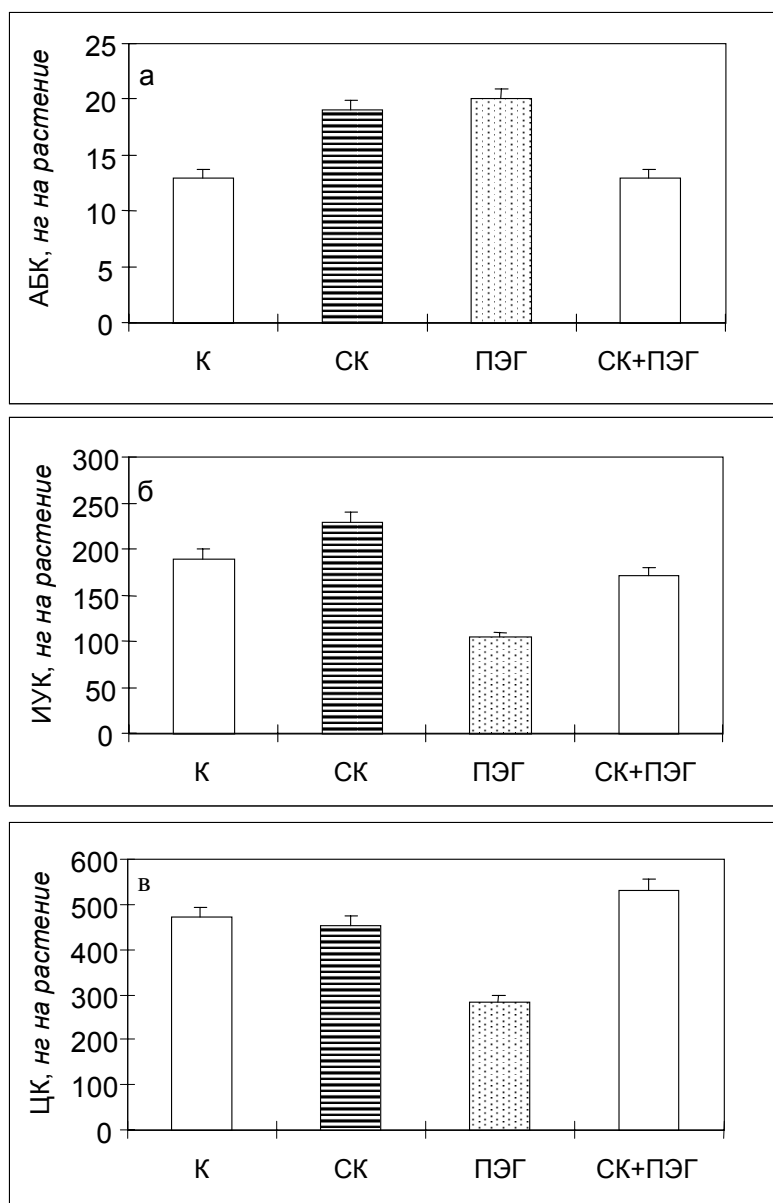
Важное значение в контроле роста зерновок отводится АБК, которое связывают не только с аттракцией ассимилятов в семена, наряду с цитокининами и ауксинами [Кузьмина, 1997; Киселева и др., 1998; Заякин, Нам, 1998], но и с индукцией в ходе формирования зерновок синтеза запасных белков, регуляцией обезвоживания семян на поздних стадиях созревания, контролем покоя зародыша семени и ингибированием его прорастания [Rademacher, Grabe, 1984; Кефели и др., 1989; Bewley, 1997; Заякин, Нам, 1998]. Поэтому повышенная в сравнении с контролем концентрация АБК в зерновках опытных растений является вполне закономерной (рис. 16).

Наблюдаемое возрастание концентрации цитокининов и поддержание более высокого уровня АБК в зерновках в фазе молочной спелости в обработанных СК растениях, по-видимому, является показателем благоприятного влияния этого препарата на рост и развитие семян, приводящего в конечном счете к повышению продуктивности пшеницы (глава 3, табл. 7).

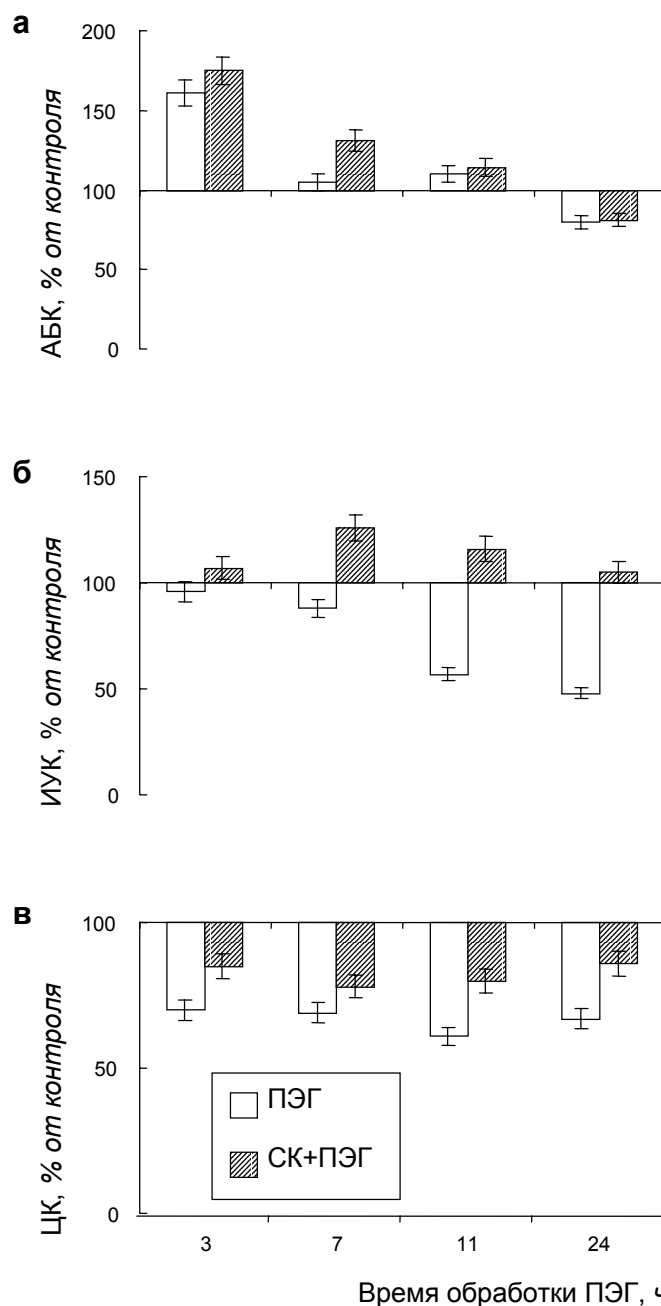
Рассмотренные выше результаты убедительно демонстрируют, что изменение гормонального статуса растений является важным компонентом в индуцировании устойчивости пшеницы под влиянием антистрессовых препаратов. Сдвиги в балансе фитогормонов, по-видимому, имеют также решающее значение в проявлении защитного эффекта и СК на растения пшеницы при воздействии разнообразных стрессовых факторов [Шакирова, 1999; Сахабутдинова и др., 2000; Безрукова и др., в печати].

Так, инкубирование проростков на среде, содержащей полиэтиленгликоль 6000, приводит к накоплению АБК и существенному падению уровня ИУК и цитокининов в их корнях (рис. 17). Предобработка проростков СК в течение 24 ч полностью предотвращает вызванные стрессом сдвиги в балансе фитогормонов,

поддерживая его на уровне, близком контрольным проросткам. Интересно, что сама по себе обработка СК одновременно индуцировала накопление АБК и ИУК в растениях, но не вызывала никаких изменений в содержании цитокининов, что, по-видимому, может быть характерным для молодых растений пшеницы, поскольку СК не оказывает влияния на уровень цитокининов в листьях пшеницы в фазе кущения (см. рис. 17). Защитный эффект на гормональную систему



**Рис. 17.** Влияние СК на уровень АБК (а), ИУК (б) и цитокининов (в) в корнях 4-суточных проростков пшеницы сорта Башкирская 24 при дефиците влаги; 3-суточные проростки выдерживали в течение 24 ч в 0,05 мМ СК, а затем переносили на 3 ч на смесь 2 %-й сахарозы и 18 %-го ПЭГ. Контролем служили не обработанные СК и ПЭГ проростки, инкубированные на 2 %-й сахарозе



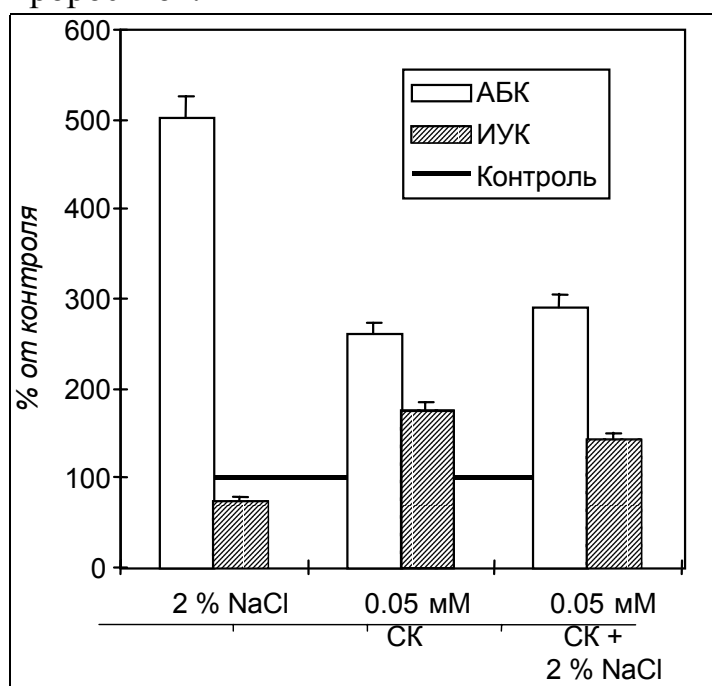
**Рис. 18.** Динамика уровня АБК (а), ИУК (б) и цитокининов (в) в корнях 4-суточных проростков пшеницы сорта Саратовская 29 при дефиците влаги (в % от контроля). Семена перед посевом замачивали в течение 3 ч в дистиллированной воде или в 0,05 мМ салициловой кислоте и 4-суточные проростки переносили на смесь 2 %-й сахарозы и 18 %-го ПЭГ. Контролем служили не обработанные СК и ПЭГ проростки, инкубированные на 2 %-й сахарозе

корней проростков пшеницы в условиях дефицита влаги проявляется и при предпосевной обработке семян СК (рис. 18). Однако лишь анализ содержания фитогормонов в динамике позволил выявить некоторые особенности в гормональном ответе корней проростков обработанных и



не обработанных СК растений, которые, правда, могут быть связаны со сменой используемого в опытах сорта мягкой пшеницы. СК существенно снижала индуцированное осмотиком падение содержания цитокининов, а также полностью снимала уменьшение уровня ИУК, гормонов – активаторов метаболизма растительных клеток.

В то же время, СК не снимала вызванное стрессом транзитное накопление АБК в корнях, более того, обработка даже увеличивала его уровень и тормозила скорость его падения (см. рис. 18). Однако, индуцированное СК поддержание в стрессовых условиях на протяжении всего опыта существенно более высокого уровня гормонов активаторного типа действия, по-видимому, играет решающую роль в необходимом для повышения устойчивости растений сдвиге в балансе ИУК/АБК и цитокинины/АБК в сторону, благоприятствующую протеканию в них ростовых процессов, что находит свое отражение в снижении повреждающего действия дефицита влаги на рост проростков.



**Рис. 19.** Влияние СК на содержание АБК и ИУК в корнях 4-суточных проростков пшеницы сорта Саратовская 29; 3-суточные проростки инкубировали на растворе СК, а затем переносили на 2 ч на раствор 2 %-го NaCl. Контроль – корни не обработанных СК и NaCl проростков

Вероятно, ответ гормональной системы на обработку салициловой кислотой и последующее воздействие стрессового фактора в растениях пшеницы является неспецифическим, поскольку близкие результаты при оценке защитного влияния СК на баланс ИУК и АБК были получены в опытах с засолением среды [Шакирова, Безрукова, 1997]. NaCl является сильным стрессовым фактором для проростков пшеницы, поскольку даже кратковременное (2 ч) их инкубирование на соли индуцирует 5-кратное накопление АБК и снижение содержания ИУК (рис. 19). Причем следует заметить, что такой ответ на засоление можно

рассматривать лишь как проявление частного случая стрессового воздействия на растения, о чем свидетельствуют не только приведенные в этой работе результаты по грибному патогенезу и дефициту влаги, но и огромная масса литературных сведений. Предварительная в течение 24 ч обработка проростков СК на 50 % снижала стресс-индуцированное накопление АБК и существенно увеличивала содержание ИУК в их корнях (рис. 19).

Оптимизации гормонального баланса в проростках пшеницы в условиях засоления способствует и предпосевная обработка семян СК (рис. 20). Замачивание семян в СК снижает степень изменений в соотношении этой пары фитогормонов, связанной не только с уменьшением стресс-индуцированного накопления АБК в корнях проростков, но и с практически полным предотвращением падения уровня ИУК.

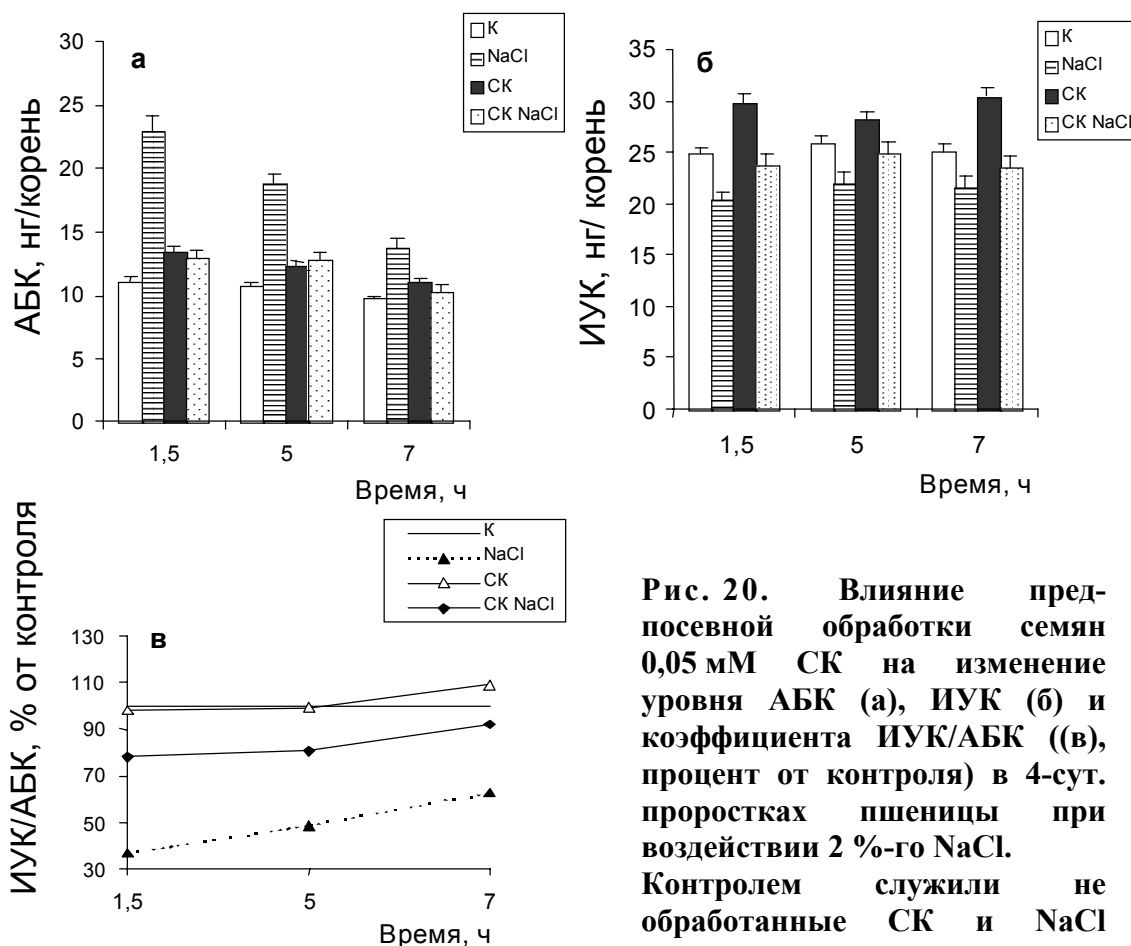
Итак, как предпосевное замачивание семян, так и обработка проростков СК предотвращают вызванное дефицитом влаги и засолением резкое накопление АБК и падение уровня ИУК и цитокининов в растениях, что может на гормональном уровне отражать индуцируемую СК–устойчивость пшеницы к абиотическим факторам среды [Шакирова, 1999].

Параллельная индукция накопления АБК и ИУК под влиянием СК, вероятно, является типичным гормональным ответом растений пшеницы на обработку этим регулятором роста, который является вполне благоприятным, судя по его стимулирующему эффекту на рост проростков – увеличение сырой и сухой массы, размера, митотической активности меристематической зоны корней, что в конечном счете приводит к существенной прибавке урожая зерна.

Таким образом, важным интермедиатом в защитном действии СК может быть АБК, накопление которой наблюдается в растениях пшеницы под влиянием СК, тогда как одновременное повышение уровня ИУК, вероятно, включается в ростстимулирующий эффект этого регулятора роста.

Приведенные в этом разделе материалы, наряду с данными, недавно полученными другими исследователями по активации индуцируемой СК протеинкиназы в гиперосмотических условиях, или индукции СК синтеза БТШ, или повышении под влиянием СК толерантности к ионам тяжелых металлов, которые мы обсуждали в главе 3, убедительно показывают, что вызываемая салициловой кислотой устойчивость растений не ограничивается условиями инфицирования, а проявляется по отношению к широкому спектру

стрессовых факторов абиотической природы. Вероятно, это связано с тем, что СК в оптимальной для стимуляции роста проростков пшеницы концентрации, наряду с повышением уровня ИУК, индуцирует накопление АБК и через этот механизм может предадаптировать растения к возможным неблагоприятным условиям.



**Рис. 20.** Влияние предпосевной обработки семян 0,05 мМ СК на изменение уровня АБК (а), ИУК (б) и коэффициента ИУК/АБК ((в), процент от контроля) в 4-сут. проростках пшеницы при воздействии 2 %-го NaCl. Контролем служили не обработанные СК и NaCl проростки

Таким образом, защитный эффект синтетических (бисол 2 и байтан) и природного (СК) регуляторов роста на растения пшеницы при воздействии стрессовых факторов разной природы проявляется в поддержании их гормонального статуса на уровне, близком к контролю, за счет предотвращения под влиянием обработки этими препаратами резкого стресс-индуцированного накопления АБК, а также падения уровня ИУК и цитокининов. Следовательно, действие этих антистрессовых регуляторов роста по повышению устойчивости пшеницы к грибному патогенезу, засолению, дефициту влаги и, вероятно, другим повреждающим факторам среды включает в себя их влияние на эндогенную систему регуляции.

## ГЛАВА 5. АГГЛЮТИНИН ЗАРОДЫША ПШЕНИЦЫ И УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ К НЕБЛАГОПРИЯТНЫМ УСЛОВИЯМ

Прежде чем приступить к рассмотрению данных, свидетельствующих об участии лектина, наряду со стрессовыми АБК-индуцируемыми белками, в развитии защитных реакций растений пшеницы к повреждающим факторам среды, необходимо первоначально остановиться на структуре этого белка, его биогенезе, а также проанализировать данные о предполагаемых функциях АЗП и других фитолектинов, в том числе о возможности вовлечения их в гормон-индуцируемую регуляцию ростовых процессов.

Впервые белок из пшеницы, обладающий агглютинирующей способностью, был выделен почти 40 лет назад из зародышей, поэтому он получил название агглютинаина зародыша пшеницы [Marchesi, 1972]. Структура и физико-химические свойства АЗП достаточно хорошо изучены [Lord, 1985]. Он обладает, как уже упоминалось в главе 1, специфическим сродством к N-ацетил-D-глюкозамину и его олигомерам. Молекулярная масса АЗП в нативном состоянии составляет 36 кД, и этот белок, являющийся «классическим» лектином, состоит из двух нековалентно связанных идентичных субъединиц, которые диссоциируют под действием SDS, экстремальных значений pH (ниже 3.0 и выше 10.5) или высокой ионной силы среды на мономеры с молекулярной массой 18 кД. АЗП характеризуется высоким содержанием глицина и цистеина, что, вероятно, обуславливает его высокую стабильность при широких диапазонах температур и pH [Allen et al., 1973; Nagata, Burger, 1974; Rice, Etzler, 1975; Wright, 1987].

Мягкая пшеница является гексаплоидом, образованным слиянием 3-х диплоидных геномов A, B и D, а поскольку лектин пшеницы состоит из 2-х гомологичных субъединиц, эти растения могут содержать 6 изолектинов, характеризующихся 93–95 %-й идентичностью по нуклеотидной и аминокислотной последовательностям [Peumans et al., 1982; Peumans, 1984; Raikhel, Wilkins, 1987; Smith, Raikhel, 1989]. Значительные количества АЗП обнаружены в зародыше зрелых семян пшеницы, при этом он локализован в клетках поверхностных слоев зародышевого корешка, первичных корешков, coleoptily [Mishkind et al., 1980; 1982; Peumans, 1984; Raikhel, Pratt, 1987]. Действительно, массированный синтез и накопление АЗП наблюдается в период эмбриогенеза в ходе формирования семян в развивающемся зародыше

[Peumans, 1984]. В этот же период онтогенеза происходит существенный синтез и накопление лектинов в других злаках – эгилопсах, ячмене, ржи, рисе, причем сравнительное изучение этих лектинов показало их высокую степень родства по иммунологическим, биохимическим свойствам и сахароспецифичности АЗП, поэтому эти лектины, иммунологически неотличимые от АЗП, были даже объединены в одну группу, так называемых «злаковых лектинов», а АЗП был отнесен к их типичному представителю [Peumans, 1984; Chrispeels, Raikhel, 1991]. Действительно, АЗП-подобные, иммунохимически сходные с ним лектины обнаружены более чем в 90 видах злаковых растений, что указывает на высокую консервативность генов лектинов злаков в эволюции [Wright et al., 1991].

Однако, несмотря на то, что хорошо охарактеризованный АЗП был получен из зародышей, он присущ растениям пшеницы на всех этапах онтогенеза. Есть сведения о синтезе *de novo* АЗП в меристематических тканях корня [Stinissen et al., 1985; Cammue et al., 1989] и основаниях стебля [Mishkind et al., 1982; Raikhel et al., 1984] проростков пшеницы, местах преимущественной локализации этого белка в вегетирующих растениях, хотя он обнаруживается и в других органах проростков и взрослых растений пшеницы, при этом его количественный уровень в процессе вегетации претерпевает существенные флуктуации [Mishkind et al., 1980; 1982; Raikhel et al., 1984; Cammue et al., 1988; 1989; Шакирова и др., 1993]. Подробный анализ распределения лектина в различных органах и тканях в ходе онтогенеза растений ячменя выявил его наличие в корнях, листьях и развивающихся колосьях, причем лектины в корнях и листьях также неотличимы от лектина зародыша, а суммарное содержание лектина в корнях и листьях может превышать его содержание в зародыше [Cammue et al., 1985].

Скруплезные исследования по синтезу АЗП в ходе формирования, созревания и прорастания зародышей выявили наличие пула запасных нетранслируемых лектиновых мРНК [Peumans, Stinissen, 1983]. Злаковые лектины, в частности АЗП, синтезируются в качестве пробелков [Stinissen et al., 1982; Mansfield et al., 1988; Smith, Raikhel, 1989] и требуются обязательные структурные преобразования при их созревании, т.е. они претерпевают сложный посттрансляционный процессинг, основные этапы которого были прослежены для АЗП и лектина ячменя [Mansfield et al., 1988; Wilkins et al., 1990; Bednarek et al., 1990].

Так, показано, что предшественник пробелка ко-трансляционно изменяется путем удаления гидрофобного сигнального пептида и модифицируется связыванием с высокогликозилированным (маннозный глюкан) карбоксилтерминальным пропептидом (КТПП), состоящим из 15 аминокислот. В таком виде полипептид с молекулярной массой 23 кД проходит через комплекс Гольджи перед аккумуляцией в вакуолях. Именно КТПП отвечает за корректное распределение предшественника в клеточную вакуоль, тогда как глюкан может оказывать влияние лишь на скорость посттрансляционного процессинга. По ходу транспорта предшественника или по достижении вакуоли гликозилированный КТПП удаляется с образованием зрелого пептида с молекулярной массой 18 кД, характерной для одной из двух идентичных субъединиц лектина с М.м. 36 кД. Использование антител, полученных для пробелка АЗП, которые не преципитируют зрелый лектин, а также пульс-метки показало, что по мере уменьшения после синтеза уровня пробелка 23 кД постепенно возрастает содержание 18 кД зрелой субъединицы лектина [Mansfield et al., 1988; Bednarek et al., 1990].

Таким образом, наличие пула запасных лектиновых мРНК и пробелков АЗП может свидетельствовать о жизненной необходимости злаковых лектинов, в частности АЗП, для растений на протяжении всего онтогенеза и вероятности выполнения ими неких важных физиологических функций. Нужно отметить, что в литературе активно дискутируются лишь их предполагаемые функции [Chrispeels, Raikhel, 1991; Peumans, van Damme, 1995; Rudiger, 1997].

## **Функции лектина пшеницы**

В связи с тем, что интенсивный синтез и аккумуляция лектина пшеницы приурочены к фазе формирования и созревания семян в период образования и накопления запасных белков, а гены многих запасных белков, также как и АЗП, относятся к *rab* генам, индукция экспрессии которых находится под контролем АБК [Mansfield, Raikhel, 1990; Skriver, Mundy, 1990], было сделано предположение, что этот белок характерен для семян при их созревании и покое и способствует поддержанию последнего [Triplett, Quatrano, 1982; Quatrano et al., 1983; Peumans, Stinissen, 1983]. Хотя говорить об одновременном синтезе лектинов и запасных белков, вероятно, не корректно [Rudiger, 1997]. В то же время, подавляющее количество АЗП аккумулируется в зародыше, а не в эндосперме – месте преимущественной локализации запасных белков. Кроме того, показано, что значительный синтез

86

лектина *de novo* происходит в основании стебля и корешках пшеницы [Raikhel et al., 1984; 1986; Cammue et al., 1989], корнях и листьях ячменя [Cammue et al., 1985]. Это приводит к существенному транзитному накоплению лектина в ходе индивидуального развития растений, количество которого в вегетирующих тканях может быть вполне соизмеримым таковому в зародышах, и даже превосходить его.

Однако интересно отметить, что лектин, характерный для вегетирующих тканей сои, может гидрофобно взаимодействовать *in vivo* с запасными белками, обеспечивающими временное запасание азота и продуктов фотосинтеза в тканях растений и, таким образом, способствовать упаковке и аккумуляции этих белков в вакуолях клеток мезофилла листьев и играть важную роль в переносе и запасании фотоассимилятов [Spilatro et al., 1996].

К числу возможных физиологических функций АЗП можно, отнести участие его в транспорте, накоплении и иммобилизации углеводов [Королев, 1984; Peumans, 1984]. Так, специфичный к АЗП N-ацетил-D-глюкозамин является одним из широко распространенных сахаров, задействованных в концевых модификациях полипептидов не только в ходе посттрансляционного процессинга [Schetz, Anderson, 1995], но и зрелых белков, играющих важную роль, например транспортную, в клетках (в частности, их наличие с использованием АЗП выявлено в ядерных мембранах растений вблизи ядерных пор [Heese-Peck et al., 1995; Heese-Peck, Raikhel, 1998]).

Имеются данные, демонстрирующие вовлечение АЗП в активации ряда ферментов, участвующих в обменных процессах клеток [Ferens-Sieczkowska et al., 1989], в усилении продукции активных форм кислорода [Oda et al., 1998], связывании с пероксидазой и транспорте ее по тканям растений [Gordon et al., 1998], гликозилировании ферментов [Clark et al., 1999], причем все эти реакции подавляются специфическим для него лигандом – тем самым GlcNAc.

Важным свойством многих растительных лектинов является их способность к митогенному и/или трансформационному действию на клетки, в том числе и в эндогенных системах [Марков, Хавкин, 1983; Лахтин, 1986]. Действительно, основным местом локализации лектинов в вегетирующих растениях, например бобовых и злаков, являются активно растущие меристематические ткани, что дает основание предполагать выполнение лектинами некой роли в процессах деления клеток [Peumans, Stinissen, 1983; Марков, Хавкин, 1983]. Вместе с тем следует отметить, что имеются лишь отрывочные сведения, касающиеся вовлечения лектинов вместе с фитогормонами в регуляцию роста растений. Так, участие в регуляции индуцируемого ауксинами роста

растений показано для разных фитолектинов, в том числе и для АЗП [Umekawa et al., 1990]. Кроме того, выявлена четкая зависимость между конканавалином А и ИУК-индуцируемым ростом гипокотилей и эпикотилей двудольных [Samajova et al., 1998].

Однако особого внимания в связи с этой проблемой заслуживают данные о прочном связывании конканавалином А гормонов ауксинового ряда [Edelman et al., 1978], а лектина лимской фасоли [Roberts, Goldstein, 1983] и земляного гороха [Zaluzec et al., 1991] – с гормонами цитокининовой природы. Причем образование комплекса этих лектинов с цитокининами осуществляется посредством гидрофобного центра связывания, не затрагивающих углеводсвязывающих доменов [Rudiger, 1997]. По-видимому, именно эти работы послужили основой для дальнейшего детального исследования аминокислотных последовательностей различных лектинов бобовых, их пространственной организации и идентификации сайтов гидрофобного связывания с гормонами адениновой природы и выявления констант их связывания [Puri, Surotia, 1994; Loris et al., 1998; Hamelryck et al., 1999; Bouckaert et al., 1999].

Интересно в связи с этим отметить цикл работ по выявлению и анализу функционирования растительных инактивирующих рибосомы белков (ribosome-inactivating proteins), обладающих лектиновым доменом типа рицина, характеризующимся сродством к галактозе, которые, специфически связываясь с консервативным адениновым остатком 28SpРНК 60S рибосомальной субъединицы в положении 4324, энзиматически удаляют его и вызывают ингибирование элонгации трансляции [Lord et al., 1991; Watanabe et al., 1992; Citores et al., 1996; Holmberg, Nygard, 1996; Peumans et al., 1998]. В высокой аффинности взаимодействия с аденином, а также цитокининами, производными аденина, важную роль играет четвертичная структура бобовых лектинов [Loris et al., 1998; Bouckaert et al., 1999].

Функционирование сайтов гидрофобного связывания лектинов бобовых, которые обеспечивают их взаимодействие с цитокининами, пока не известно, однако благодаря им эти лектины, вероятно, могут быть задействованы в запасании цитокининовых гормонов и регуляции роста растений [Hamelryck et al., 1999] и, можно предполагать, оказывать влияние на гормональный статус растений в целом. Как известно, лектины бобовых более сложно структурно организованы в сравнении с АЗП, однако это не исключает вероятности существования и у лектина пшеницы, как и других растений, самостоятельного сайта, ответственного за гидрофобное взаимодействие с молекулами неуглеводной природы, например фитогормонами, и вследствие этого



возможности активно включаться в систему сигнальной трансдукции в растениях пшеницы.

В пользу этого предположения свидетельствуют данные о 2–4-кратном повышении содержания АЗП в семенах пшеницы в ходе прорастания и корнях проростков под влиянием не только известного индуктора синтеза и накопления этого белка АБК [Mansfield, Raikhel, 1990], но и гормонов-стимуляторов роста растений [Шакирова, Безрукова, 1998; Безрукова, Шакирова, 1999; Шакирова и др., 2000; Shakirova et al., 2001]. Лишь дальнейшие исследования о взаимосвязи АЗП и эндогенных регуляторов роста в контроле деления и растяжения клеток позволят прояснить участие АЗП в сигнальной регуляции ростовых процессов в растениях пшеницы.

Однако наиболее привлекательной функцией, которую в растениях может выполнять АЗП, конечно, благодаря специфичности к мономеру и олигомерам хитина, является защитная от хитин-содержащих патогенов, которая подкреплена полученными в опытах *in vitro* данными о связывании АЗП с различными грибами и ингибировании их роста [Mirelman et al., 1975; Barkai-Golan et al., 1978; Ebrahim-Nesbat et al., 1982; Barraqueta-Egea, Schauz, 1983; Лахтин, Яковлева, 1987; Ciopraga et al., 1999].

Вместе с тем не для всех авторов защитная роль АЗП является бесспорной. Например, связывание АЗП даже в больших концентрациях с гифами *F. poae* не ингибирует их рост [Poschenrieder, Huber, 1982]. Больше того, АЗП способен даже активировать прорастание спор гриба *Aspergillus flavus* Link. [Barraqueta-Egea, Schauz, 1983]. Также известно, что гифы грибов, кроме активно растущего апекса, экранированы глюканами [Peberdy, 1989], которые делают невозможным связывание АЗП с грибными клетками. К контраргументам относительно защитной функции АЗП, приведенным в работе Peumans и Stinissen [1983], можно отнести слабую устойчивость современных сортов пшеницы к грибным патогенам в сравнении с ее дикими предками, несмотря на большее содержание в них АЗП, а также незначительное количество АЗП в листьях, хотя пшеница, так же, как и все злаки, подвержена жесткой атаке грибных патогенов, поражающих листовые поверхности. Правда, впоследствии [Cammue et al., 1985] был выявлен существенный уровень лектина в листьях ячменя взрослых растений, таким образом, использование более чувствительных современных методов количественного анализа АЗП может позволить провести более адекватную оценку содержания этого белка в различных органах пшеницы на протяжении всего онтогенеза.

Приведенные выше данные свидетельствуют о противоречивости имеющихся знаний по экзогенному влиянию лектина на рост грибных микроорганизмов и практическом отсутствии работ, указывающих на вовлечение АЗП в реакции устойчивости пшеницы к болезням *in vivo*. Хотя высокая аффинность к углеводным компонентам клеточной стенки хитинсодержащих грибов, а также насекомых, которые практически полностью отсутствуют в растениях пшеницы [Reumans, Van Damme, 1995], способность в значительных количествах выделяться в корневой чехлик/окружающую среду остаются аргументами в пользу вовлечения АЗП в формирование защитных реакций растений пшеницы к фитопатогенам.

Анализ уровня АЗП в инфицированных растениях, а также динамики его количественных изменений в ходе патогенеза позволит приблизиться к ответу на вопрос об участии этого белка в защите пшеницы от фитопатогенов.

### **Участие лектина в проявлении устойчивости пшеницы к грибным патогенам**

Одним из признаков вовлечения белков в реакцию устойчивости/восприимчивости растения является количественное изменение их уровня или активности [Вандерпланк, 1981]. Так, например, выявлена связь между гемагглютинирующей активностью водорастворимых лектинов в листьях и клубнях картофеля, обладающих, как и АЗП, специфичностью к N-ацетил-D-глюкозамину, и устойчивостью картофеля к фитофторозу [Громова и др., 1990; Любимова, 1991]. Показано, что семена сортов сои, устойчивых к *Phytophthora megasperma* var. *sojae*, характеризуются вдвое большим содержанием лектина в сравнении с таковым у восприимчивых [Gibson et al., 1982].

К белкам, функционально близким к лектинам, относят растительные ингибиторы протеолитической активности микроорганизмов и насекомых. Кроме проведения прямой параллели по их близким физиологическим, и в первую очередь, защитным функциям [Hwang et al., 1978], было выявлено наличие у ингибиторов трипсиновой активности пшеницы, а также картофеля, лектиноподобных свойств [Мелентьев и др., 1986, Isla et al., 1991]. При этом, между активностью ингибитора трипсина в семенах и устойчивостью пшеницы к поражению твердой головней обнаружена положительная коррелятивная связь [Ямалеев и др., 1980].

Однако оценка исходного количества АЗП в семенах разных образцов пшеницы: *T. urartu*, *T. dicoccum*, *T. spelta*, *T. boeoticum*, *T. monoccum*, *T. timopheevii*, *T. aestivum* – не выявила какой-либо достоверной корреляции между содержанием лектина в сухих семенах и устойчивостью растений пшеницы (в полевых условиях) к корневым гнилям и септориозу [Шакирова и др., 1992]. С тем, чтобы понять, вовлекается ли лектин в развитие ответных реакций пшеницы на заражение возбудителями грибных болезней, важно исследовать изменение содержания АЗП в растениях пшеницы на разных стадиях онтогенеза в ходе инфицирования.

**Корневая гниль.** Как известно, наиболее чувствительны к поражению *H. sativum*=*B. sorociniana*, вызывающему корневую гниль, молодые проростки пшеницы [Лангольф, Чулкина, 1985]. Действительно, инокулирование двухнедельных проростков суспензией конидий приводило уже через неделю к заметному проявлению болезни, о которой судили по интенсивности темно-бурых полосок на основании стебля проростков *T. turgidum*, и балл поражения достигал двух единиц и более [Шакирова и др., 1990]. Заражение вызывало значительное возрастание уровня АЗП в основаниях стебля (сегмент от щитка до основания листьев), причем уровень белка возрастал по мере развития болезни и увеличения степени поражения патогеном, что, вероятно, указывает на мобилизацию АЗП в защиту растений пшеницы к данному патогену (рис. 21) [Шакирова и др., 1990; Шакирова, 1999].

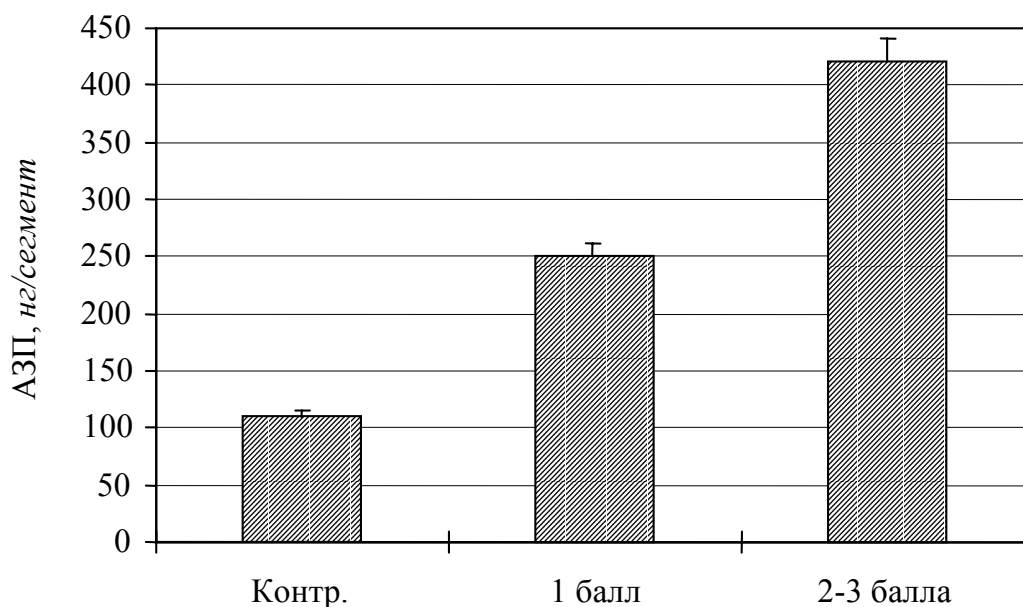
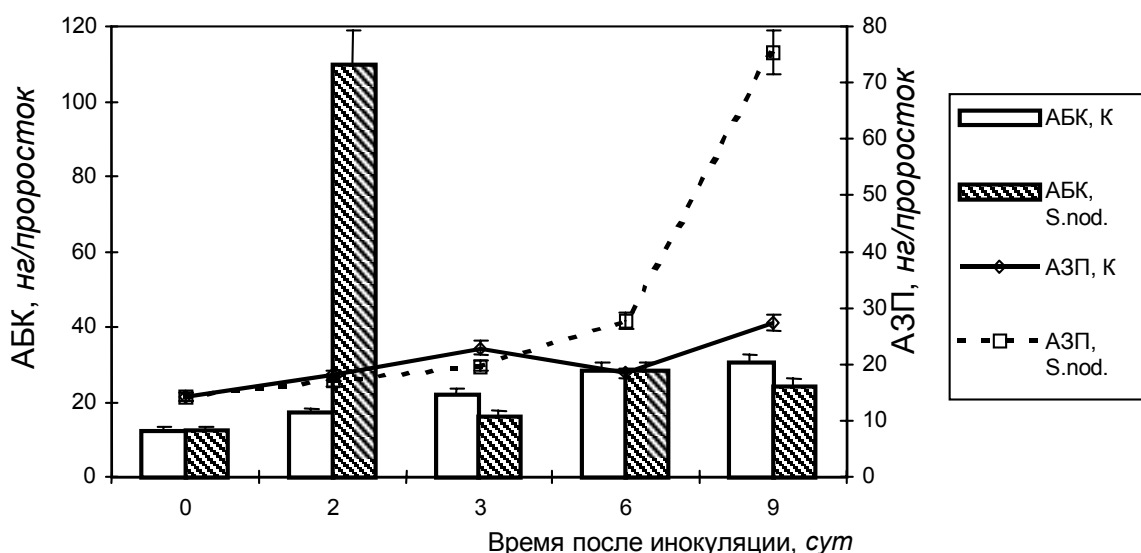


Рис. 21. Влияние корневой гнили на содержание АЗП в 3-недельных растениях *Tr. turgidum* в зависимости от балла поражения

Основанием для такого представления могут служить также данные опытов о способности лектина пшеницы *in vitro* связывать инфекционные структуры *H. sativum*, нарушать проницаемость мембран клеток гриба и приводить к их деструкции [Лахтин, Яковлева, 1987].

Корневая гниль вызывает и возрастание уровня АБК в листьях тех же растений [Шакирова и др., 1990]. Сравнительный анализ динамики содержания АБК и АЗП в проростках пшеницы при заражении фитопатогенным грибом *S. nodorum* также выявил существенные изменения в уровне этих соединений [Хайруллин и др., 1992].

**Септориоз.** Инокуляция 7-дневных растений пшеницы суспензией спор *S. nodorum* первоначально вызывает резкое транзитное накопление АБК в проростках, и к концу опыта уровень АБК в инфицированных растениях соответствует контрольному значению (рис. 22). Заражение индуцирует повышение содержания АЗП в проростках лишь спустя 6 суток, а к моменту визуального проявления болезни, 9-м суткам,



**Рис. 22.** Влияние септориоза на динамику содержания АЗП и АБК в проростках пшеницы сорта Саратовская 29. Заражали суспензией спор *S. nodorum* в концентрации 10 млн. спор/мл 7-дневные проростки

уровень этого белка возрастает почти в 3 раза. Эти результаты демонстрируют принципиальное различие в скорости вызванного патогенозом накопления в растениях АБК и АЗП. Первичное обратимое повышение содержания АБК, по-видимому, является показателем повреждающего действия грибного заражения [Bousquet et al., 1991; Хайруллин и др., 1993], тогда как накопление лектина происходит постепенно, по мере развития болезни, что может указывать на непосредственное участие этого белка в формировании защитных

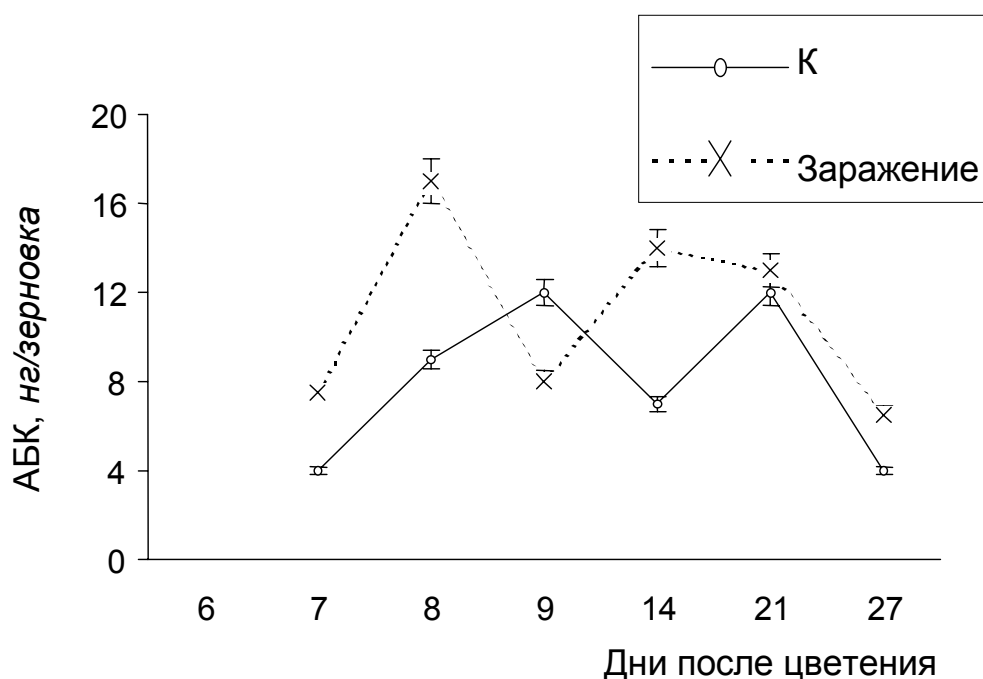
реакций растений пшеницы к фитопатогену. Поскольку АБК индуцирует экспрессию гена АЗП, можно предположить, что предшествующее накоплению лектина увеличение уровня АБК может служить сигналом для усиления его синтеза.

Наиболее вредоносным является поражение септориозом колосьев и зерен, ведущее к потере урожая не только в год посева, но и на следующий год, так как у зараженных семян снижается энергия прорастания и полевая всхожесть [Деревянкин, 1971; Bronniman, 1982; Васецкая, Чигирев, 1986; Verret et al., 1987]. В связи с этим, интересно проанализировать динамику содержания АБК и лектина в ходе формирования и созревания семян пшеницы, инфицированной *S. nodorum*. Безусловно, эти результаты должны отличаться от данных, полученных на вегетирующих проростках.

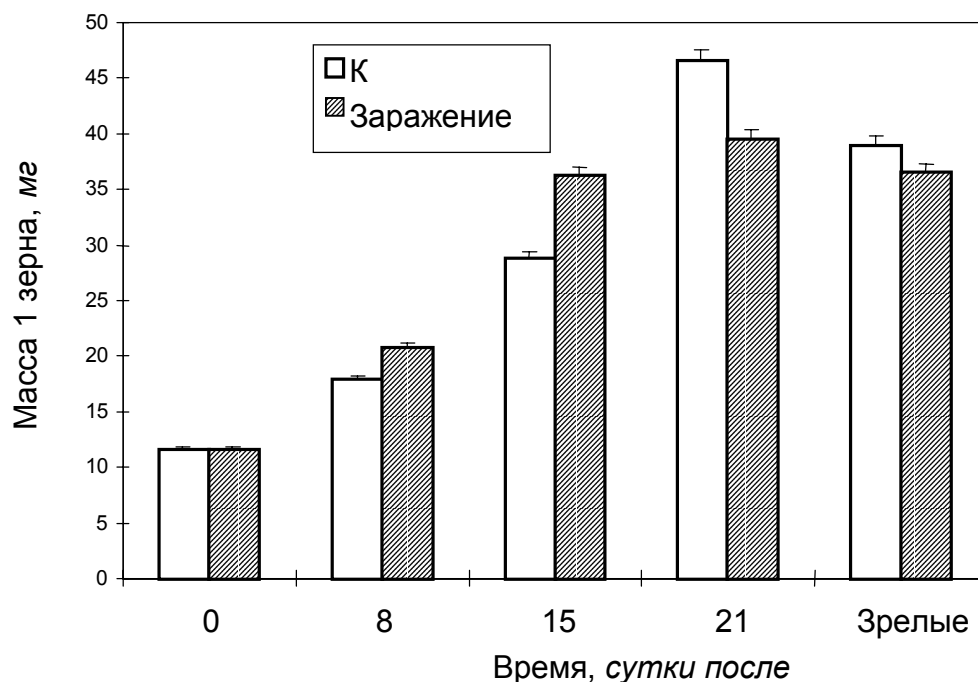
Наряду с другими фитогормонами существенную роль в формировании репродуктивных органов играет АБК, и не только в связи с индукцией синтеза запасных белков, важное значение ее связывают с регуляцией обезвоживания семян при их созревании, как уже обсуждалось в гл. 4. Кроме того, напомним, что в процессе формирования семян происходит массивный синтез АЗП, количество которого достигает максимума в зрелых зерновках пшеницы. Поэтому в период формирования и созревания зерновок имеет место естественное существенное накопление и АБК, и АЗП, тогда как заражение *S. nodorum* лишь ускоряет нормальное изменение в их содержании [Шакирова и др., 1994].

Динамика уровня АБК в контрольных семенах описывается кривой с двумя максимумами: первый – в течение 3 дней от начала опыта с пиком на 9-й день после цветения, а второй – на 21-й. Затем содержание АБК снижается. Сравнение результатов по динамике содержания АБК в развивающихся семенах с их массой (рисунки 23 и 24) обнаруживает четкую связь между изменениями этих показателей. Сырая масса зерна достигает максимума к 21 дню после цветения, соответствующему второму максимуму в уровне АБК, после которого наступает период созревания семян, сопровождающийся потерей влаги и снижением массы семян.

Наличие двух максимумов в содержании АБК прослеживается и при анализе развивающихся зерновок в колосе, инфицированном *S. nodorum*, правда, заражение вызывает ускорение накопления АБК. Пик первого максимума АБК в зерновках приходится на 8-й, а второго – 14-й дни после цветения. В последующем содержание АБК постепенно снижается, но зрелые зерновки характеризуются повышенным



**Рис. 23.** Характер изменения уровня АБК в развивающихся зерновках пшеницы Саратовская 29 под влиянием грибного заражения. Инфицирование колосьев *S. nodorum* проводили на 6-й день после цветения

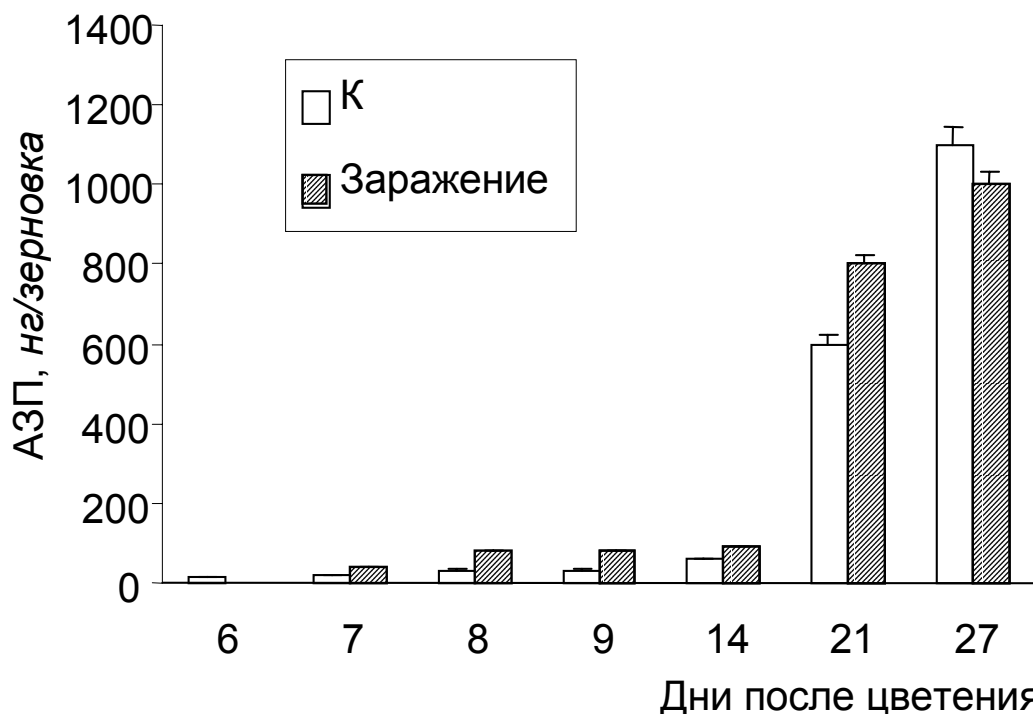


**Рис. 24.** Влияние септориоза колоса на динамику накопления массы сырого вещества зерновки пшеницы сорта Саратовская 29 при формировании и созревании. Инфицирование колосьев *S. nodorum* проводили на 6-й день после цветения

относительно контроля уровнем. В работе Bousquet et al. [1991] показано, что септориоз индуцирует увеличение количества АБК в пораженных колосьях, однако детальная динамика содержания этого гормона в зерновках, изолированных от колоса, выявила лишь сдвиги в максимумах естественного накопления этого гормона.

Как и в случае контрольных растений, в инфицированных колосьях динамика развития зерна (изменение сырой массы) в ходе их формирования и созревания коррелирует с динамикой содержания АБК, т.е. септориоз ускоряет и начало созревания семян (рис. 24). Известно, что неблагоприятные факторы среды, в том числе и грибной патогенез, ускоряют созревание семян [Roney, Hoad, 1989], и это неизбежно сказывается на существенном снижении урожая [Bronniman, 1982; Verret, Hoffman, 1986]. Септориоз колоса приводит к щуплости семян, снижению размера и массы почти на 30 %, а также к уменьшению количества семян в колосе.

Резкое накопление АЗП в инфицированных зерновках регистрировалось на второй день после заражения колосьев (рис. 25). В следующие дни различие в содержании АЗП в опытном и контрольном вариантах уменьшалось, так что в семенах здоровых и инфицированных растений на поздних стадиях созревания содержание АЗП было относительно близким.



**Рис. 25.** Динамика уровня лектина в развивающихся семенах пшеницы под влиянием инфекции. Инфицирование колосьев *S. nodorum* проводили на 6-й день после цветения

Таким образом, в ходе формирования и созревания семян наблюдается неуклонное возрастание уровня АЗП, которое достигает максимума к моменту полного созревания семян. Однако инфицирование вызывает ускорение накопления лектина практически на неделю, как и созревание семян (рис. 25). В связи с этим можно предположить, что динамика содержания АЗП может служить показателем ускорения индуцированного септориозом самого процесса созревания семян.

Вместе с тем трехкратное увеличение уровня лектина в первые дни после заражения, очевидно, является результатом АБК–индуцированного ускорения его синтеза и, по-видимому, связано с участием его в процессе взаимоотношения хозяина и патогена.

Приведенные результаты убедительно свидетельствуют об участии АЗП в формировании ответных реакций пшеницы при заражении не только возбудителями корневой гнили, но и септориоза, что может говорить о вовлечении лектина в развитие устойчивости пшеницы к различным грибным болезням и реальности выполнения им защитной функции.

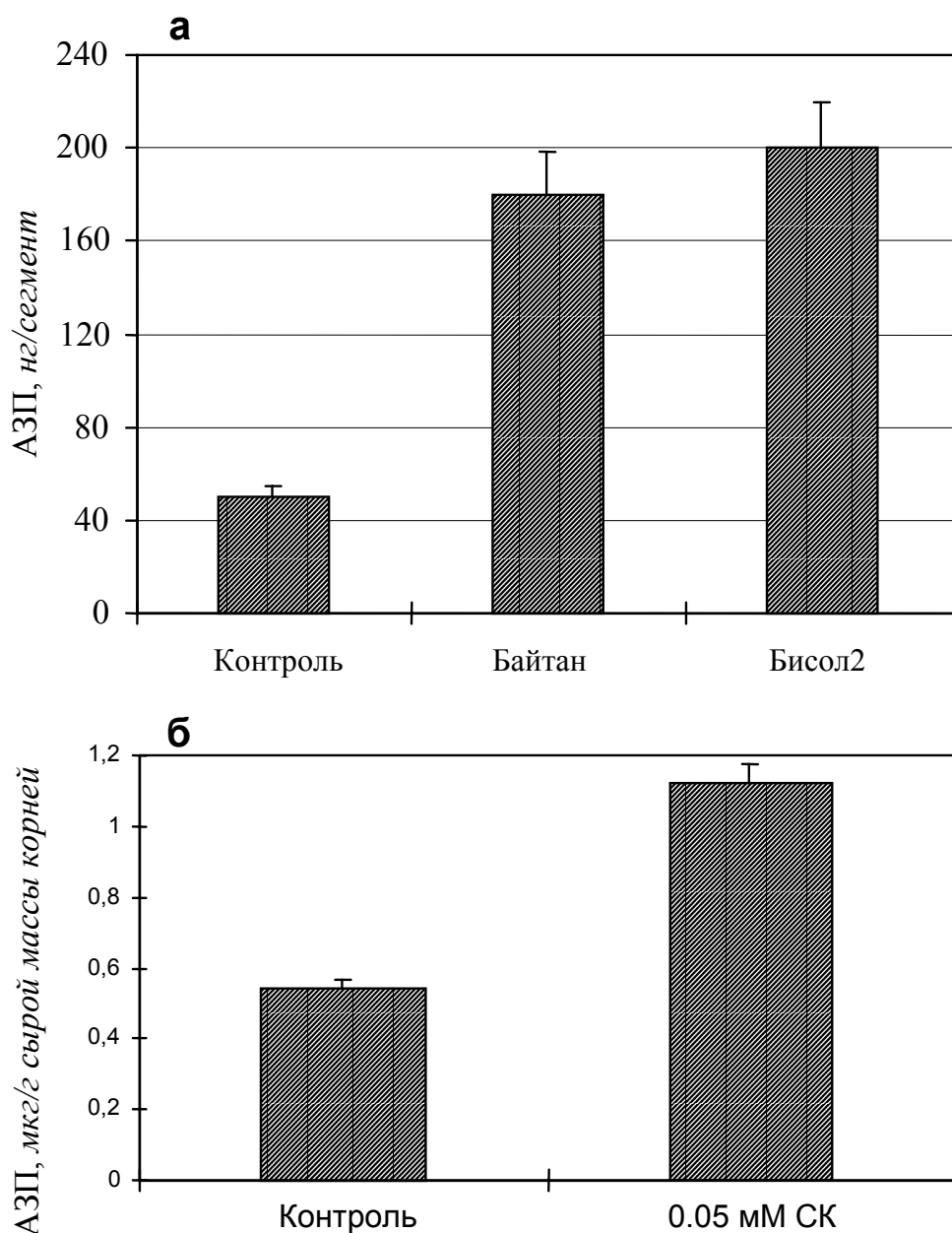
***Индукция накопления АЗП соединениями, повышающими устойчивость растений к возбудителям грибных болезней.*** Следует специально подчеркнуть, что непосредственное участие тех или иных соединений в становлении защитных реакций растений к стрессу *in vivo*, к сожалению, бывает довольно трудно доказать. Очень часто уже само появление новых белков или значительное увеличение ранее существующих в ответ на стресс позволяет исследователям относить их к разряду причастных к защите растений от неблагоприятного воздействия. В то же время нельзя исключить, что повышение содержания или активности, или даже появление новых белков, может быть лишь результатом повреждающего действия стрессового фактора на растения. Однако высокая специфичность АЗП к олигомерам хитина, по-видимому, позволяет отнести количественные изменения (увеличение) в уровне этого белка к защитным реакциям растений пшеницы при патогенезе, способствующих повышению их устойчивости к данному стрессовому воздействию.

Серьезным доводом в пользу участия лектина в защите пшеницы при патогенезе могут служить результаты по индукции накопления АЗП при обработке растений элиситорами [Samtue et al., 1990], а также под влиянием обработки байтаном, бисолом 2 [Хайруллин и др., 1992] и салициловой кислотой [Шакирова, Безрукова, 1997], которые, как было



показано в предыдущих главах, повышают устойчивость пшеницы к грибным болезням.

Данные, приведенные на рис. 26, показывают, что фунгицид байтан, препарат бисол 2, обладающий свойством иммунизатора, а также салициловая кислота, являющаяся индуктором системной приобретенной устойчивости, вызывают существенное увеличение



**Рис. 26.** Индукция накопления АЗП под влиянием препаратов, повышающих устойчивость растений к инфицированию патогенами. Анализ содержания АЗП в основаниях стебля 7-суточных проростков пшеницы, предобработанных бисолом 2 и байтаном (а). Уровень АЗП в корнях 4-суточных проростков пшеницы, выдержанных на растворе СК в течение 8 ч (б)

содержания АЗП в проростках. Поскольку все эти антистрессовые регуляторы индуцируют накопление АБК в растениях пшеницы, можно полагать, что вызванное ими увеличение уровня АЗП является АБК-контролируемым и таким образом лектин вовлекается в механизмы защитного действия этих соединений, способствующих преадаптации пшеницы к стрессовым ситуациям, в частности при патогенезе.

Приведенные в этом разделе материалы о 2–4-кратной индукции накопления АЗП в растениях под влиянием защитных препаратов, при инфицировании возбудителями корневой гнили и септориоза, наряду с данными об увеличении уровня АЗП при заражении пыльной головней [Ямалеев и др., 1988], дают основание говорить о вовлечении лектина в формирование комплексной реакции устойчивости пшеницы при патогенезе.

Ограничивать роль АЗП участием в механизмах защиты растений пшеницы только инфицированием несправедливо. Поскольку лектин-углеводное взаимодействие не определяет специфичности сортов растения и рас патогена [Любимова, 1991], более вероятным, на наш взгляд, является вовлечение такого взаимодействия в процессы, развивающиеся в ответ на разные по природе повреждающие факторы внешней среды, т.е. неспецифические механизмы устойчивости пшеницы. Например, известны данные о накоплении в клетках растений некоторых PR-белков при воздействии абиотических стрессовых факторов среды [Савич, 1989; Muneharu et al., 1994; Hurkman, Tanaka, 1996; Moons et al., 1997], что может служить аргументом в пользу задействования их в неспецифической защите растений.

Поскольку разнообразные неблагоприятные воздействия окружающей среды индуцируют накопление АБК можно предположить, что АЗП включается в АБК-контролируемый спектр неспецифических защитных механизмов в ответ на стрессовые факторы не только биотической, но и абиотической природы. Проверке этого предположения посвящен следующий раздел главы.

### **Участие лектина в АБК-контролируемых защитных реакциях пшеницы при воздействии абиотических стрессовых факторов**

Индукцированные разнообразными по природе стрессовыми воздействиями сдвиги в гормональном балансе вносят свой вклад в изменение структуры и функции клеток растительных организмов в обычных условиях на так называемые стрессовые программы.

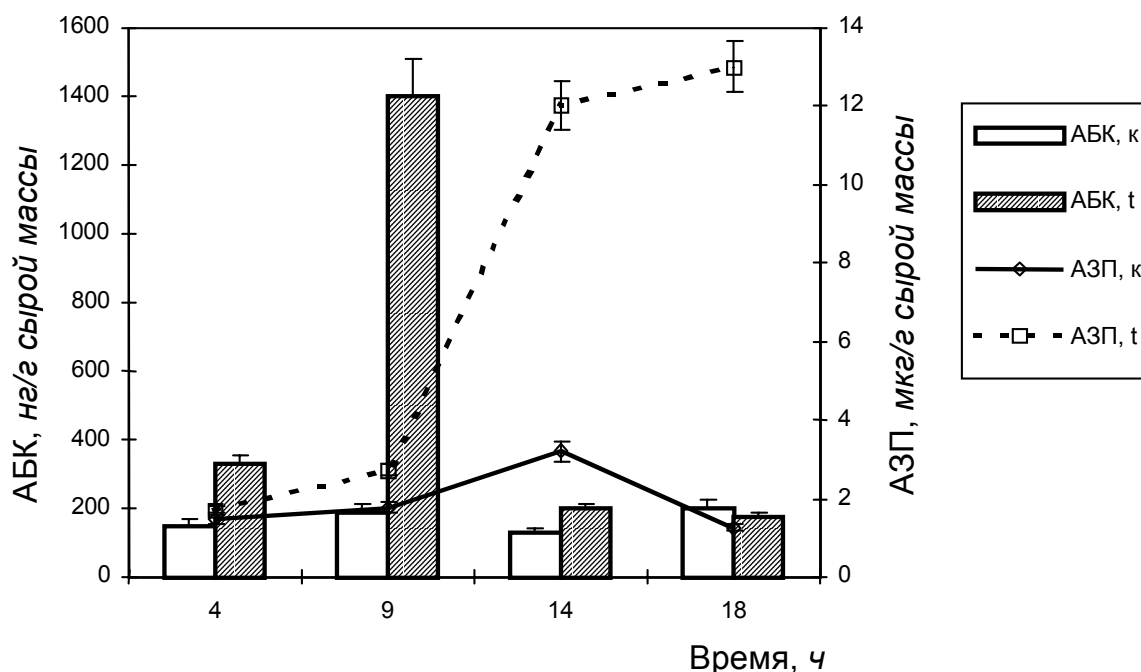
Значительную роль в регуляции изменения генной экспрессии в клетках растений при стрессе отводят АБК, уровень которой в этих условиях обычно значительно возрастает [Busk, Pages; Leung, Geraudat, 1998; Cohen et al., 1999], что, вероятно, способствует, с одной стороны, снижению активности метаболических процессов в клетках, в частности тотального синтеза белка [Блехман, 1987; Hurkman, Tanaka, 1987; 1996; Sugino et al., 1999] и индукции новообразования более десятка стрессовых белков – с другой [Hughes, Dunn, 1996; Bewley, 1997; Leung, Geraudat, 1998; Busk, Pages, 1998; Deleu et al., 1999; Cohen et al., 1999].

Напомним, что, наряду с синтезом стрессовых белков в неблагоприятных условиях, а также при обработке экзогенной АБК, происходит усиление синтеза ряда присущих норме белков [Ramagopal, 1987; Singh et al., 1987; Robertson et al., 1994; Amitai-Zeigerson et al., 1995; Hurkman, Tanaka, 1996; Chai et al., 1998]. Можно предположить, что к таким белкам, «сопровождающим» стрессовые белки в ответных реакциях растений пшеницы на повреждающие воздействия относятся и АЗП. В пользу этого свидетельствуют данные об АБК-зависимом существенном накоплении АЗП в корешках проростков пшеницы при воздействии осмотического шока и засухи [Cammue et al., 1989], в проростках в ответ на засоление среды [Шакирова и др., 1993; Шакирова, Безрукова, 1998], в культуре клеток при тепловом шоке [Shakirova et al., 1996], а также в развивающихся при дефиците влаги зерновках пшеницы [Singh et al., 2000], что позволяет рассматривать лектин пшеницы в качестве участника в АБК-контролируемых неспецифических защитных реакциях.

***Сравнительный анализ АБК и АЗП при гипертермии.*** Повышенная температура – один из наиболее распространенных неблагоприятных факторов среды, оказывающих повреждающее действие на растительный организм. Многочисленные данные показывают, что температурный стресс вызывает синтез БТШ, играющих протекторную роль в клетках растений [Блехман, 1987; Neumann et al., 1989; Кулаева и др., 1991; Robertson et al., 1994; Singla et al., 1997; Basha et al., 1999], хотя далеко не все из них идентифицированы.

В отличие от вышеупомянутых белков АЗП является конститутивным белком, хотя, как обсуждалось выше, его количественный уровень подвергается значительным флуктуациям в растениях пшеницы не только в ходе онтогенеза, но и при патогенезе. Для исследования участия лектина в ответных реакциях на тепловой шок были использованы каллусные клетки пшеницы.

Результаты, приведенные на рис. 27, показывают, что инкубированные при 40°С каллусы испытывали сильный тепловой шок, что выражается в многократном транзитном накоплении АБК с максимумом в 9 ч. Спустя 9-часовой лаг-период гипертермия вызывала сильное повышение уровня АЗП в клетках, который к 18 ч экспозиции почти на порядок превышал контрольное значение. Характер изменений в содержании этих соединений может указывать на возможность участия АБК в усилении синтеза лектина в клетках. Действительно, культивирование каллусных клеток в течение 18 суток на среде, содержащей 10 мг/л АБК, приводило к повышению концентрации АЗП в клетках до 22,2 мкг/г, тогда как в контроле она составляла 3,6 мкг/г [Шакирова и др., 1995].

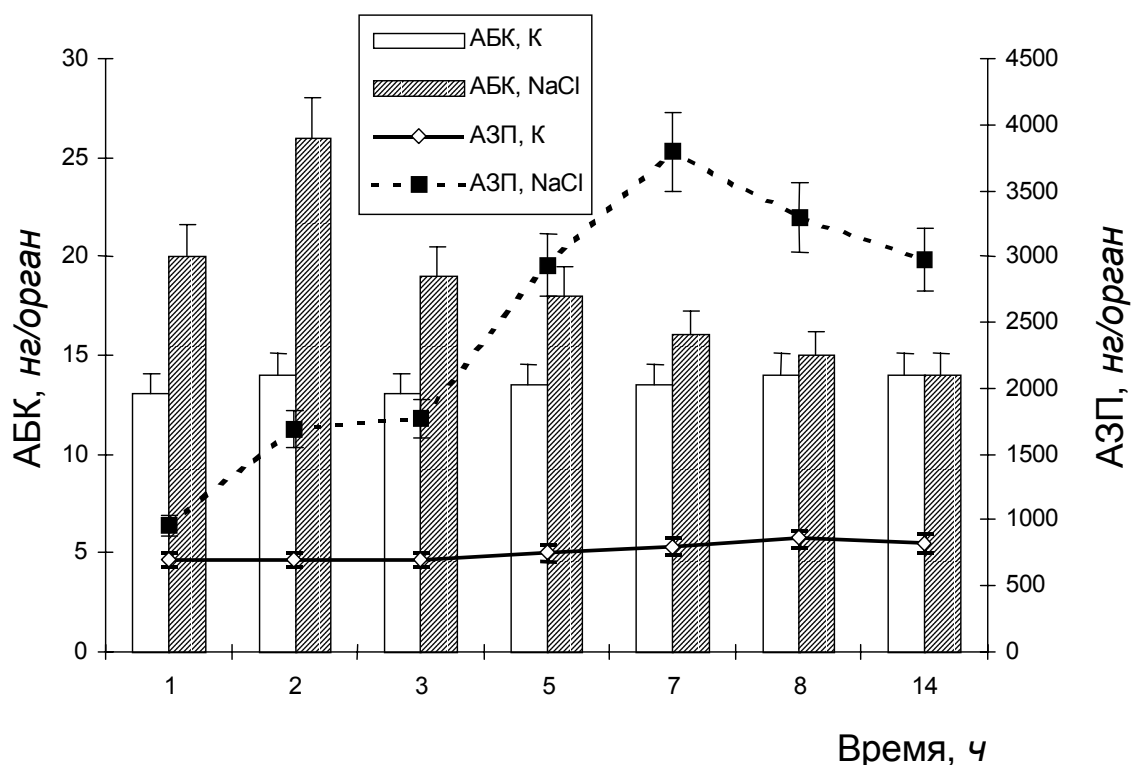


**Рис. 27.** Влияние гипертермии (40°С) на динамику уровня АБК и лектина в каллусных клетках, полученных из незрелых зародышей пшеницы сорта Безенчукская 139

По-видимому, выявление столь значительного накопления лектина при гипертермии, указывающее на вовлечение его в ответные реакции клеток пшеницы на данный стресс, было возможно именно благодаря использованию каллусной культуре клеток. Следует отметить, что значительная индукция синтеза лектиноподобного белка в условиях теплового шока показана также на суспензионной культуре клеток *Dolichos biflorus* [Spadaro-Tank, Etzler, 1988], позволившая авторам предположить его участие в защитных механизмах клеток к этому стресс-фактору.

**Сравнительный анализ АБК и АЗП при засолении.** Засоление также относится к числу распространенных неблагоприятных условий окружающей среды, приводящих к снижению интенсивности интегральных физиологических процессов в растениях [Удовенко, 1979; Строгонов, 1973; Блехман, 1987; Sugino et al., 1999; Nhiri et al., 2000]. Безусловно, растительные организмы вырабатывают в ответ на это воздействие разнообразные защитные механизмы, среди которых важное место отводят сдвигу в белковом спектре: на фоне снижения тотального синтеза белка наблюдается новообразование ряда пептидов [Ramagopal, 1987; Tabaci-Aghdaci et al., 2000], а также усиление синтеза некоторых белков, характерных для нормы [Singh et al., 1985; 1987; Ramagopal, 1987; Amitai-Zeigerson et al., 1995; Hurkman, Tanaka, 1987; 1996; Hernandez et al., 2000].

Воздействие 2 %-го NaCl вызывает уже через 2 часа двукратное накопление АЗП в корнях проростков пшеницы и к 7 ч наблюдается пятикратное возрастание содержания этого белка (рис. 28). Причем максимуму накопления лектина в корнях также предшествует обратимое увеличение уровня АБК. Приведенные данные четко демонстрируют факт довольно значительного изменения в содержании



**Рис. 28.** Динамика содержания АБК и АЗП в корнях 4-суточных проростков пшеницы сорта Московская 35 под влиянием засоления среды

лектина при солевом стрессе, что свидетельствует о вовлечении его в формирование быстрых АБК-регулируемых ответных реакций проростков пшеницы на это воздействие.

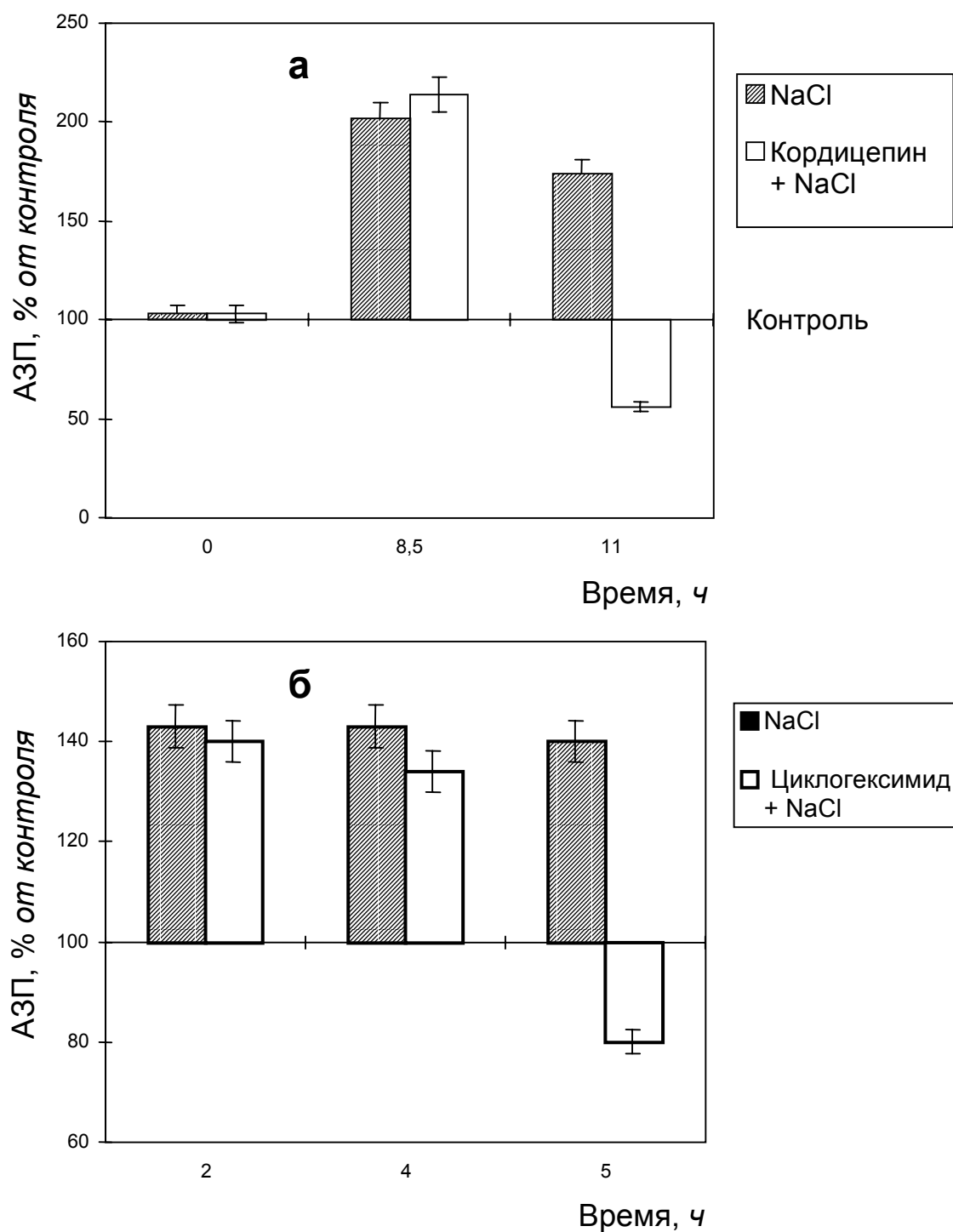
Действительно, засоление среды вызывает быстрое накопление АБК [Montero et al., 1994], которое может привести к существенному сдвигу в белковом спектре клеток растений, в частности балансе стрессовых и отдельных обычных белков, участвующих в формировании защитных реакций растений в ответ на данный стрессовый фактор [Singh et al., 1987; Ramagopal, 1987; Amitai-Zeigerson et al., 1995; Ishikawa et al., 1995; Chai et al., 1998]. Таким образом, лектин пшеницы можно отнести к «реактивным» белкам, уровень которого существенно и довольно быстро может накапливаться в растениях при засолении.

В начале этой главы мы обсуждали особенности синтеза АЗП, к которым можно отнести наличие пула запасных лектиновых мРНК и пробелков АЗП в клетках пшеницы. Не исключено, что столь быстрое и значительное вызванное засолением повышение уровня лектина пшеницы, по крайней мере в первые часы от начала воздействия NaCl, может происходить за счет образования этого белка на ранее синтезированных матрицах, а возможно, и за счет мобилизации его сборки из предшественников субъединиц. Для выяснения этого вопроса был использован ингибиторный анализ.

**Уровни регуляции накопления лектина в проростках пшеницы при засолении.** В качестве ингибитора транскрипции многие исследователи часто используют кордицепин, который эффективно подавляет не только синтез РНК, но и полиаденилирование мРНК [Glazer, 1976]. Для оценки ингибиторной активности кордицепина (КЦ) на синтез РНК в клетках пшеницы *in vivo* был использован метод фракционирования РНК в 6 %-м полиакриламидном геле с последующей автордиографией, который показал, что 50 мг/л КЦ подавляет включение  $^{14}\text{C}$ -уридина в РНК более чем на 70 %.

Исследование совместного влияния засоления и КЦ на динамику содержания АЗП проводили на интактных проростках пшеницы сорта Саратовская 29 (рис. 29а). Эти данные демонстрируют заметное отличие в характере индуцированного засолением накопления лектина по времени и уровню от данных, приведенных на рис. 28, вероятно, связанное с различием использованных в опытах двух разных модельных систем (корни проростков, которые, судя по данным Raikhel et al. [1984], являются одним из главных мест синтеза и локализации

лектина в вегетирующих растениях, и целые проростки) двух разных сортов мягкой яровой пшеницы.



**Рис. 29. Влияние кордицепина (а) и циклогексимида (б) на индуцированное 2 %-м NaCl накопление АЗП в интактных проростках пшеницы сорта Саратовская 29**

Значительное увеличение в уровне АЗП в интактных проростках в сравнении с контролем вызывает 2 %-й NaCl, причем присутствие в среде КЦ не препятствует индукции этого процесса в течении первых 8,5 ч, после чего уровень АЗП резко снижается [Безрукова, 1997]. Ранее с использованием КЦ наличие запасных форм лектиновых мРНК было показано в прорастающих зародышах пшеницы [Peumans, Stinissen, 1983], тогда как результаты этих опытов указывают на существование пула резервных лектиновых мРНК также и в проростках пшеницы, которые могут служить матрицами для синтеза новых молекул АЗП в чрезвычайных ситуациях, например при воздействии стрессовых факторов среды.

Важно отметить, что индуцированное экзогенной АБК (в обычных условиях) накопление АЗП в корнях проростков также некоторое время может быть независимым от транскрипции, что выявлено с использованием КЦ [Шакирова и др., 2000б], и, вероятно, это может указывать на участие эндогенной АБК, содержание которой при засолении существенно возрастает, в регуляции повышения содержания лектина не только за счет индукции экспрессии гена АЗП и усиления синтеза лектиновых мРНК, но и за счет ранее синтезированных мРНК АЗП.

В начале этой главы были приведены данные, свидетельствующие о том, что в ходе своего синтеза АЗП претерпевает сложный посттрансляционный процессинг, этапы которого были прослежены с использованием полученных к предшественникам АЗП антител, не преципитирующих зрелый белок [Mansfield et al., 1988], поэтому можно думать, что антитела к зрелому АЗП преимущественно узнают именно его, тогда как гликозилированные предшественники не узнаются ими как АЗП. Это послужило основанием для проведения опытов по выяснению возможности в условиях засоления регуляции накопления лектина в проростках пшеницы также и за счет ускорения созревания его предшественников, т.е., на посттрансляционном уровне.

С использованием циклогексимида, который в концентрации 10 мг/л за один час подавляет синтез тотального белка почти на 90 %, было выявлено, что в течение первых 4 часов индуцированное засолением накопление АЗП наблюдается в условиях выключенной трансляции и не зависит от новообразования лектина (рис. 26б). Таким образом, вызванное засолением увеличение содержания лектина может происходить за счет ранее синтезированных предшественников.

Следовательно, количественные изменения лектина в вегетирующих растениях пшеницы при стрессовых воздействиях могут контролироваться не только на транскрипционном, но и



посттранскрипционном и посттрансляционном уровнях. Такая ситуация вполне возможна, поскольку лектин пшеницы является присущим для растений на протяжении всего онтогенеза и, скорее всего, определенный резерв лектиновых мРНК и предшественников АЗП всегда присутствует в клетках, что еще раз указывает на жизненную важность этого белка для растений пшеницы. Наличие разных путей регуляции количественного уровня АЗП, включая индукцию экспрессии его гена, а также накопление этого белка в корнях проростков в присутствии ингибиторов транскрипции и трансляции выявлены для АБК [Шакирова и др., 2000б]. Поэтому можно предполагать, что стресс-индуцируемое накопление АБК является лимитирующим в реализации разных уровней регуляции повышения лектина в растениях пшеницы в стрессовых условиях.

Однако, к сожалению, мы не располагаем пока прямым доказательством участия эндогенной АБК в регуляции вызванного засолением накопления АЗП, так же, вероятно, как и другими неблагоприятными факторами. Для этой цели может служить ингибитор синтеза АБК флуридон, использование которого позволило четко продемонстрировать необходимость этого гормона в накоплении лектина в корешках проростков пшеницы при воздействии засухи и осмотического шока [Cammue et al., 1989].

Суммируя приведенные в этой главе материалы, можно заключить, что стресс-индуцированному накоплению АЗП предшествует увеличение уровня АБК, которая участвует в регуляции синтеза и содержания лектина в вегетирующих растениях пшеницы в стрессовых ситуациях. Важно подчеркнуть, что обнаруженные закономерности проявляются в ответ на такие разные воздействия, как грибной патогенез, обработка препаратами, повышающими устойчивость к грибным болезням, засуха и осмотический шок, засоление, гипертермия и дефицит влаги, что позволяет отнести их к неспецифическим защитным реакциям пшеницы.

Вместе с тем если защитная функция АЗП в растениях пшеницы в ходе грибного патогенеза в связи с его сродством к мономеру и олигомерам хитина вполне понятна, то участие его в ответных реакциях на воздействие абиотических стрессовых факторов объяснить сложнее. Поскольку ген АЗП, как и гены ряда стрессовых белков с четко выраженными защитными свойствами, в частности, относящимися к группе LEA, является *rab* геном, индукция которого регулируется АБК, можно предположить, что лектин включается в АБК-контролируемую антистрессовую программу, и в этом случае АЗП можно рассматривать

как бы в качестве сопровождающего стрессовые белки и своеобразного маркера развития защитных реакций.

В то же время этот белок, резкое накопление которого происходит при разных неблагоприятных ситуациях, может иметь большое значение для ослабленных в этих условиях растений пшеницы, поскольку он является экскретируемым белком, и, выделяясь в корневой чехлик и наружную среду, может предохранять ризосферу, например, от возможной почвенной инфекции. Кроме того, в связи со способностью выделяться в окружающую среду нельзя исключить его участия в усилении при стрессе регенерации меристематической ткани корней, митотическая активность которой чутко реагирует на изменения внешних условий существования.

Об этом могут свидетельствовать данные об активации под влиянием экзогенного АЗП деления клеток меристематической зоны корней, объема клеток, как и в целом размера и массы проростков пшеницы [Безрукова и др., 2000]. Более того, этими же авторами получены данные о предотвращении под влиянием предобработки АЗП вызванного засолением среды падения митотического индекса меристематических клеток корней проростков. Безусловно, все это указывает на интригующую роль лектина в жизни растений пшеницы и ставит вопрос о ее дальнейшем изучении.

Ряд результатов, представленных в данной главе, получен при финансовой поддержке РФФИ, гранты № 01-04-48483 и № 00-15-997899.

## ГЛАВА 6. ФИТОГОРМОНЫ СТЕРОИДНОЙ ПРИРОДЫ, ПОВЫШАЮЩИЕ УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ

Давно существовало мнение, что ауксины, цитокинины, гиббереллины, АБК и этилен не исчерпывают весь набор фитогормонов в природе. По аналогии с гормонами животных, можно было ожидать, что будут найдены новые группы фитогормонов пептидной и стероидной природы [Кулаева, 1982]. Сейчас уже получено немало экспериментальных доводов в пользу существования в растениях пептидов, претендующих на роль фитогормонов [Муромцев, Данилина, 1996; Gehring, 1999], и прежде всего это, вероятно, относится к системину [Jacinto et al., 1999; Schaller, 1999; Ryan, 2000].

Высвобождаясь из мест поранения листьев томата, 18-аминокислотный олигопептид системин, может транспортироваться по растению и вовлекаться в системную сигнальную трансдукцию в ответ на это повреждение. По аналогии с пептидными гормонами животных системин синтезируется из предшественника просистемина при участии протеаз. Механизмы регуляторного действия системина интенсивно изучаются; так, он включается в системную регуляцию синтеза более 20 защитных генов в растениях томата [Ryan, 2000] в ответ на повреждение разнообразными вредителями, патогенами, поранением или абиотическими стрессовыми факторами, причем при индукции экспрессии, например гена *LapA* системин действует синергически с АБК, тогда как в сигнальную индукцию других генов включается метилжасмонат, этилен и другие регуляторы роста [Chao et al., 1999].

Однако, если в отношении функциональной значимости для растений предполагаемых гормонов пептидной природы в принципе еще много вопросов, то в отношении стероидов их можно считать вполне решенными.

Впервые информация о ростстимулирующей активности липидной фракции, выделенной из пыльцы рапса (*Brassica napus*), которая проявлялась в стимуляции роста в длину второго междоузлия фасоли (типично гиббереллиновый эффект) одновременно с его искривлением, разбуханием и растрескиванием (особый ответ), появилась в работе Mitchell et al. [1970]. Позднее из липидной фракции пыльцы рапса было выделено кристаллическое вещество стероидной природы, получившее название брассинолид (БР), установлены его структурная формула и молекулярное строение [Grove et al., 1979].

В настоящее время в растениях идентифицировано более 40 близких к БР стероидов, различающихся по структуре и уровням биологической активности, из которых более 30 хорошо охарактеризованы, включая два конъюгата [Sakurai, Fujioka, 1993; Creelman, Mullet, 1997; Khripach et al., 2000]. Все эти соединения объединены в одну группу природных полиоксистероидов, получившую название brassinosteroids (БС), представляют собой производные 5- $\alpha$ -холестана и характеризуются структурным сходством со стероидными гормонами животных эстрогена, тестостерона, эдизона [Mandava, 1988; Sakurai, Fujioka, 1993; Хрипач и др., 1995; Sasse, 1997; Altmann, 1999; Bishop, Yokota, 2001].

БС являются характерными соединениями для всего царства растений [Sakurai, Fujioka, 1993; Adam, Petzold, 1994; Yokota et al., 1994; Sasse, 1997]. За исключением корней, в которых БС пока не детектируются биохимически, они обнаруживаются почти из всех органах растений, но относительно высокий уровень БС регистрируется (от 5 до 190 нг/г сырой массы) в генеративных органах [Creelman, Mullet, 1997; Altmann, 1999]. О способности БС к дистанционному транспорту по растению свидетельствуют данные о транслокации экзогенных меченных БС из корня в побег в рисе, огурце и пшенице, скорее всего, с ксилемным соком [Sasse, 1997; Bishop, Yokota, 2001]. Пока мало известно о тканеспецифичности БС и их субклеточной локализации [Altmann, 1999].

На сегодняшний день имеются многочисленные данные, свидетельствующие о разнообразии проявлений физиологических эффектов brassinosteroids на различные растительные организмы, которые включают сведения об их ярко выраженном ростстимулирующем, а также защитном действии по отношению к широкому спектру неблагоприятных воздействий, что позволяет рассматривать их в качестве очень эффективных и многообещающих эндогенных регуляторов роста и развития растений. Подробный анализ таких работ приведен в обзорах Хрипача и др. [1995], Кораблевой и Платоновой [1995], Прусаковой и Чижовой [1996], Altmann [1999], а также Khripach et al. [2000]. Всестороннему обсуждению этих данных и посвящена настоящая глава работы.

## **Механизмы действия brassinosteroids**

***Ростстимулирующая активность brassinosteroids.*** Освоение химического синтеза БС и их аналогов в количествах, необходимых для

биологических исследований, способствовало появлению работ, посвященных изучению механизмов их действия и возможных функций в растении. Ярko выраженный ростстимулирующий эффект brassinosterоидов был выявлен уже с момента их открытия, поэтому естественным было исследование их действия в тест-системах для «классических» фитогормонов. Хотя в ряде специфичных для ауксинов, гиббереллинов, цитокининов и этилена биотестах они проявляли очень высокую активность [Yopp et al., 1981; Mandava et al., 1981; Artecа et al., 1983; Takematsu et al., 1982; Katsumi, 1985; Wada et al., 1985], в других – не оказывали действия или даже имели противоположный эффект [Mandava et al., 1981; Yopp et al., 1981; Sala, Sala, 1985; Eun et al., 1989]. Причем, во всех исследованных биотестах БС были активны в чрезвычайно низких концентрациях ( $10^{-6}$ – $10^{-12}$  М) [Sakurai, Fujioka, 1993], что отличает их не только от регуляторов субстратного действия, но и от других групп фитогормонов.

Необходимо отметить, что при анализе ростстимулирующего действия БС на растительные организмы встречается много противоречивых данных [Прусакова, Чижова, 1996], что, скорее всего, связано с различием чувствительности растительных объектов, действующих концентраций разных БС, сроками обработки и, наконец, структурой самих БС [Khripach et al., 2000]. Например, при изучении действия разных по структуре БС на прирост биомассы и активность метаболизма клеток хлореллы был выстроен ряд БС по их биологической активности: brassinolid > 24-эпibrassinolid > гомобрassinolid > кастастерон > 24-эпикастастерон > гомокастастерон [Baigus, Czerpak, 1998]. Действительно, при анализе многочисленных данных по активности БС в биотестах максимальной активностью характеризуется brassinolid, однако в полевых опытах – 24-эпibrassinolid и 28-гомобрassinolid, и именно эти БС считаются наиболее эффективными для практического использования [Khripach et al., 2000].

Для выявления ростстимулирующего действия brassinosterоидов используют специфические для них биотесты. Первый из них, связанный со стимуляцией роста второго междоузлия фасоли, был рассмотрен выше [Mitchell et al., 1970], причем ауксины и цитокинины в этом тесте не проявляли своего действия, а гиббереллины вызывали только удлинение междоузлий и действовали в гораздо больших концентрациях. Более чувствительным к воздействию brassinolida по сравнению с этим тестом является биотест по оценке скорости роста эпикотилей маша, который позволяет выявить его стимулирующий эффект в концентрации  $10^{-10}$  М и ниже [Gregory,

Mandava, 1982]. Кроме того, для выявления активности БС часто используют чрезвычайно чувствительный тест по изменению угла отклонения листовой пластинки риса от влагалища листа [Wada et al., 1981]. Таким образом, БС обладают высокой физиологической активностью в ряде специфических для них биотестов.

Экзогенная обработка БС изолированных органов, их отрезков или целых растений вызывает сильную активацию роста как за счет усиления деления клеток, так и их растяжения [Mandava, 1988]. Стимулирующий эффект БС на деление клеток наиболее четко показан при использовании модельных систем. Например, 24-эпибрассинолид (ЭБ) существенно ускоряет деление изолированных протопластов китайской капусты [Sasse, 1997]. В зависимости от соотношения ауксина и цитокинина в среде культивирования изолированных протопластов мезофилла листа петунии выявлены интересные закономерности ускорения пролиферации при обработке 10–100 нМ брассинолидом [Oh, Clouse, 1998]. Разные БС в области концентраций от  $10^{-12}$ – $10^{-8}$  стимулируют деление клеток хлореллы [Bajguz, Czerpak, 1999].

Влияние БС на активацию элонгации клеток как в модельных системах (на этом основаны биотесты по выявлению их активности), так и целых растениях показано достаточно хорошо [Mitchell et al., 1970; Sasse, 1985; Mandava, 1988; Dahse et al., 1990; Zurek et al., 1994; Zurek, Clouse, 1994; Clouse et al., 1996; Azpiroz et al., 1998; Lee et al., 2000]. В ряде тест-систем выявлен синергический эффект ИУК и БС, аддитивный эффект на элонгацию клеток гиббереллина и БР [Katsumi, 1985]. Таким образом, БС, взаимодействуя с другими фитогормонами, вовлекаются в регуляцию ростовых процессов, и, по всей видимости, существенное значение в проявлении регуляторной функции имеет влияние БС на эндогенный гормональный статус растений [Eun et al., 1989; Zurek et al., 1994; Ковалев, 1998; Шакирова, 1999; Khripach et al., 2000]. Обсуждению этого вопроса будет посвящен самостоятельный раздел главы.

Как известно, одной из первых регистрируемых реакций растительной клетки на обработку экзогенными фитогормонами-активаторами ростовых процессов является гиперполяризация мембран и активация протонной помпы. БС-индуцируемое растяжение клеток также сопровождается выбросом протонов и гиперполяризацией клеточных мембран [Cao, Chen, 1995], и это, вероятно, связано с активацией мембранной АТФ-азы [Katsumi, 1985], поскольку БР способен активировать АТФ-азу в системе *in vitro* [Sasse, 1997]. Не исключено, что влияние БС на протонную помпу опосредовано через

модификацию липидного окружения АТФ-азного комплекса [Dahse et al., 1990], так как липидный состав мембранной фракции, выделенной из обработанных БР семядолей огурца, характеризуется повышенным процентом ненасыщенных жирных кислот [Katsumi, 1985].

Интенсивность ростовых процессов находится в четкой зависимости от активности белково-нуклеинового обмена клеток. Действительно, ингибиторы синтеза РНК и белка снимают стимуляцию индуцированного БС роста отрезков эпикотилей маша [Mandava et al., 1987]. Известны данные об активации ДНК- и РНК-полимераз, а также синтеза ДНК, РНК в растениях фасоли под влиянием обработки БС, причем возрастание активности РНК-полимеразы I способствует увеличению объема белоксинтезирующего аппарата и усилению синтеза белка [Kalinich et al., 1985]. Обработка брассинолидом гипокотилей и эпикотилей сои, а также проростков арабидопсиса вызывает активацию транскрипции более 50 генов и усиление синтеза полипептидов [Clouse et al., 1992; Clouse, 1997]. Инкубирование отрезков листьев пшеницы на гомобрассинолиде ( $10^{-6}$  М,  $10^{-8}$  М) приводит не только к активации тотального синтеза белка, но и увеличению спектра синтезируемых белков [Кулаева и др., 1989; Бурханова и др., 1991].

К числу вызываемых БС физиологических ответов растений относятся стимуляция фотосинтетической активности клеток, повышение уровня растворимых белков и углеводов [Braun, Wild, 1984; Ковалев, 1998; Vardhini, Rao, 1999; Прусакова и др., 2000], модуляция активности ферментативной системы растений. Так, показано возрастание активности растворимой инвертазы в изолированных семядолях риса [Beinhauer et al., 1990] и клеточно-стеночной инвертазы в суспензионной культуре клеток томата [Goetz et al., 2000], карбоксилазы в листьях пшеницы [Braun, Wild, 1984] и семядолях растущих в темноте проростков арабидопсиса [Nagata et al., 2000], нитратредуктазы и глютаминсинтетазы [Sairam, 1994], АТФ-азы и других ферментов при воздействии БС на разнообразные растительные объекты [Прусакова, Чижова, 1996; Sasse, 1997; Altmann, 1999; Прусакова и др., 2000].

Имеются убедительные доводы в пользу участия БС в дифференциации сосудов ксилемы: в наномолярных концентрациях БС увеличивают формирование элементов трахеид обработанных ауксином и цитокинином отрезков топинамбура до десяти раз, причем экстрагирование БС из камбиальной части сосны подтверждает роль эндогенных БС в ксилемной дифференцировке [Clouse, 1997]. Интересным подходом в выяснении роли эндогенных БС в развитии и

дифференцировке растений является использование в опытах ингибитора синтеза БС, брассиназола [Asami et al., 2000; Nagata et al., 2000; Bishop, Yokota, 2001]. Растущие в темноте проростки арабидопсиса после обработки брассиназолом приобретали морфологические особенности растений, растущих на свету, а именно: короткий гипокотиль, широкие семядоли и истинные листья, хотя необработанные растения не развивали листовых примордий; более того, в семядолях опытных растений наблюдалось формирование мембран тилакоидов – первого этапа дифференцировки пластид, а также повышение уровня рибулозо-1,5-бисфосфат карбоксилазы [Nagata et al., 2000]. Эти результаты указывают на новую предполагаемую функцию эндогенных БС в регуляции роста, развития и дифференцировки растений.

Таким образом, БС – эндогенные регуляторы роста – включаются в регуляцию разнообразных процессов жизнедеятельности растений, т.е. характеризуются множественными проявлениями физиологического действия и отвечают всем критериям фитогормонов.

Вместе с тем, несмотря на присутствие БС в тканях растений, значительное усиление ростовых ответов и специфических физиологических изменений при крайне низких концентрациях БС, их способности передвигаться по растению и участвовать в регуляции роста, развития и дифференцировки растений, фитогормональный статус БС еще совсем недавно не был общепринятым [Kende, Zeevaart, 1997; Creelman, Mullet, 1997]. (Хотя к чести отечественных фитогормонологов БС уже давно причислены к самостоятельному классу фитогормонов [Муромцев и др., 1987]). Однако к настоящему времени благодаря использованию БС-дефицитных и БС-нечувствительных мутантов, позволивших проводить исследования молекулярных механизмов физиологического действия БС, получены убедительные доказательства необходимости этой новой группы фитогормонов в регуляции роста, развития и дифференцировки растений и что брассиностероиды принадлежат к уникальной группе эндогенных регуляторов роста фитогормональной природы [Sasse, 1997; Clouse, 1997; Altmann, 1999; Goetz et al., 2000], более того, высказывается мнение о лидирующей роли БС среди фитогормонов [Khripach et al., 2000].

***Молекулярно-генетический анализ действия брассиностероидов.***  
К настоящему времени в распоряжении исследователей имеется большая коллекция БС-мутантов арабидопсиса, гороха и томата, которые подразделяются на два класса: БС-дефектные, содержащие



гены, кодирующие факторы, вовлекающиеся в разные этапы по пути биосинтеза БС, и БС-нечувствительные, характеризующиеся потерей активности факторов, участвующих в первичном восприятии БС-сигнала, компонентов сигнальной трансдукции, или эффекторов, ответственных за экспрессию компонентов, участвующих в ответе на БС, использование которых позволяет выявить драматические отклонения от нормального развития растений, и лишь экзогенное внесение БС может вернуть их в норму [Altmann, 1999; Kripach et al., 2000; Bishop, Yokota, 2001].

Использование этих мутантов позволяет выявить спектр индуцируемых БС генов, вовлекающихся в механизмы действия БС, оценить необходимость их реализации в проявлении физиологических эффектов этих гормонов [Clouse et al., 1996; Nomura et al., 1997; Creelman, Mullet, 1997; Clouse, 1997; Azpiroz et al., 1998; Altmann, 1999; Asami et al., 2000; Bishop, Yokota, 2001].

К числу первых клонированных и охарактеризованных генов специфически регулируемых БС в зоне растяжения эпикотилей сои относится ген *BRU1*, обладающий высокой гомологичностью с геном, кодирующим ксилотрансглюкозилазу (КЭТ), локализованную в клеточной стенке настурции [Zurek, Clouse, 1994]. Эти исследования являются очень перспективными в плане изучения молекулярных механизмов регуляторного действия БС на ростовые процессы и взаимодействия их при этом с ауксинами, цитокининами, гиббереллинами (ГК), а также АБК, роль которых в элонгации растительных клеток хорошо известна. Так, было показано, что зеатин, ИУК, ГК, несмотря на то, что они вызывали удлинение эпикотилей сои (правда, значительно меньшее, чем при обработке БР), снижали в отличие от БР уровень экспрессии *BRU1*, что свидетельствует о том, что возрастание экспрессии этого гена – результат обработки эпикотилей БР, а не растяжения [Zurek, Clouse, 1994].

Изучение взаимодействия ауксина и БР в регуляции элонгации стеблей проводили с использованием в качестве маркера гена малой ауксин-зависимой РНК (*SAUR15A*) и ауксин-нечувствительного мутанта томата [Zurek et al., 1994]. Инкубирование гипокотилей нормальных растений томата на ауксине вызывало их удлинение, при этом уже в течение часа наблюдалась индукция экспрессии *SAUR15A* гена, тогда как в мутантных растениях транскрипты этого гена не обнаруживались и отсутствовала элонгация в ответ на ИУК. БР стимулировал элонгацию гипокотилей обоих генотипов томата в равной степени, однако индукция экспрессии этого гена наблюдалась лишь спустя несколько часов [Zurek et al., 1994].

Так, в удлиняющихся эпикотилиях гороха гомологичный томатному ген *SAUR6B* экспрессировался под влиянием БР спустя 18 ч, при этом увеличения уровня свободной ИУК в тканях эпикотилей не происходило [Zurek et al., 1994]. Результаты этой работы четко демонстрируют факт независимой от ауксина регуляции БР экспрессии семейства генов *SAUR*.

Вместе с тем ростовой ответ обработанных БС растительных клеток связан с регуляцией углеводного обмена. Так, добавление БС к автотрофной суспензионной культуре клеток томата приводит к специфическому повышению активности клеточностеночной инвертазы, которое коррелирует с индукцией мРНК внешнеклеточной инвертазы *Lin6*, тогда как активность внутриклеточных инвертаз не изменяется [Goetz et al., 2000]. Опыты с проростками томатов свидетельствуют о том, что локализованный БС-зависимый ростовой ответ в элонгирующей зоне гипокотилия сопровождается специфической индукцией *Lin6* мРНК, что демонстрирует роль БС в регуляции апопластного транспорта углеводов [Goetz et al., 2000].

Клонирование генов, кодирующих участвующие в модификации компонентов клеточной стенки ферменты, КЭТаз и экспанзинов [Fry, 1995; Bishop, Yokota, 2001], позволяют проводить прямую оценку влияния гормонов-активаторов роста на их синтез и активность. Ксилоглюканы входят в состав гемицеллюлозного компонента первичной клеточной стенки, поэтому КЭТазы вполне могут способствовать ее разрыхлению и участвовать таким образом в росте растяжением, хотя попытка выявить прямой эффект этих ферментов на разрыхление клеточных стенок в выделенном препарате успеха не принесла, зато экспанзины оказались активными в модификации клеточных стенок в этом тесте [Clouse, 1997].

Следовательно, значение КЭТаз в разрыхлении клеточной стенки не определено, но, поскольку эти ферменты широко распространены и относятся к дифференциально регулируемому мультигенному семейству, можно полагать, что они играют важную роль в самых критических процессах, связанных с клеточными стенками растений. К ним, вероятно, можно отнести регуляцию включения новых ксилоглюканов для укрепления стенки в ходе растяжения [Clouse, 1997]. Эти данные указывают на полноправное вовлечение БС в сложную картину гормональной регуляции экспрессии генов, продукты которых задействованы в ростовом ответе растительных клеток. Однако было бы важно определить влияние ростстимулирующих фитогормонов БС, ИУК и ГК на уровень активности участвующих в изменении состояния клеточных стенок ферментов экспанзинов.

Совокупность приведенных здесь данных со всей убедительностью свидетельствует о принадлежности brassinosterоидов к фитогормонам, изучение молекулярных механизмов действия которых представляет общебиологическую проблему, поскольку оно может способствовать расширению знаний о системе гормональной регуляции жизнедеятельности не только растительных организмов, но и, вероятно, выявлению общих систем регуляции в живой природе в связи с тем, что brassinosterоиды являются структурными аналогами стероидных гормонов животных.

### **Влияние brassinosterоидов на гормональный статус растений**

Поскольку brassinosterоиды характеризуются ярко выраженным ростстимулирующим эффектом, можно было ожидать его активное вмешательство в эндогенную гормональную систему растений. Действительно, имеется немало данных, полученных на разных растительных объектах как модельных системах, так и целых растениях в онтогенезе, которые свидетельствуют об их влиянии на содержание разных групп фитогормонов [Eun et al., 1989; Курапов, 1996; Ковалев, 1998; Шакирова, 1999], хотя нужно заметить, что они также очень противоречивы.

Одним из первых эффектов, который был обнаружен при действии brassinosterоидов на этиолированные hypocotили фасоли, это усиление продукции этилена [Yopp et al., 1979], которая резко возрастала в присутствии ИУК [Arteca et al., 1983]. Увеличение биосинтеза этилена под влиянием brassinolidи выявлено и в других объектах [Кораблева и др., 1998].

Поскольку известно, что в образовании этилена участвует ауксин [Abeles, 1966], логично было предположить, что эффект БС на этиленопродукцию может быть опосредован повышением под их влиянием эндогенного уровня ауксина [Yopp et al., 1979; Arteca et al., 1983]. Однако заметных изменений под влиянием БР в содержании ИУК не было выявлено, хотя не исключено, что он может повышать активность ауксина, например, в междоузлиях фасоли, не изменяя его концентрации [Cohen, Meudt, 1983]. В эпикотилиях сои наблюдалось даже уменьшение уровня свободной ИУК при обработке БР [Zurek et al., 1994]. В то же время имеются сведения о стимуляции под влиянием brassinolidи увеличения уровня ИУК в hypocotилиях кабачка [Eun et al., 1989], тогда как значительных изменений в продукции этилена в них обнаружено не было.

Таким образом, о зависимости между изменением эндогенного ауксина и способностью к продукции этилена у обработанных brassinosterоидами растений, вероятно, говорить однозначно нельзя.

Относительно влияния БС на содержание других фитогормонов данные также противоречивы. Так, имеются сведения о повышении под действием ЭБ содержания АБК в меристемах клубней картофеля [Кораблева, Платонова, 1995]. В то же время при обработке отрезков гипокотилей кабачка наблюдается тенденция к снижению под влиянием обработки brassinолидом количества АБК в них [Eun et al., 1989]. Предпосевная обработка семян и растений ячменя ЭБ снижала содержание АБК [Ковалев, 1998], тогда как листья обработанных растений характеризовались повышенным содержанием гиббереллинов и цитокининов.

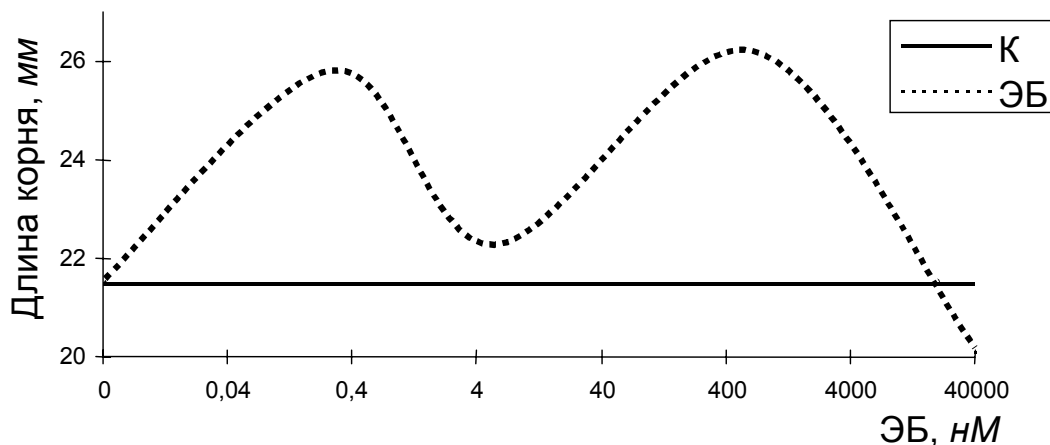
Интересно привести данные по влиянию эпибрасинолида на баланс всех классов фитогормонов в растениях ячменя, озимой пшеницы и картофеля [Курапов, 1996]. В растениях озимой пшеницы, обработанных ЭБ в конце трубкования, наблюдалось многократное увеличение уровня ИУК, тогда как его влияния на изменение уровня других фитогормонов обнаружено не было. В то же время в растениях ячменя, наряду с большим накоплением ИУК, имело место некоторое увеличение в разные сроки в ходе 30 дней опыта уровня гиббереллинов, цитокининов и этилена. В растениях картофеля максимально возрастал под влиянием этого фитогормона уровень гиббереллинов, а увеличение в содержании цитокининов, ИУК и АБК было незначительным.

Следовательно, трудно выявить какое-либо сходство ответа гормонального статуса растений на экзогенную обработку БС. Это может быть связано с различием органов и тканей, использованных в работах, разнообразием растительных объектов, их возраста (фаз онтогенеза), различием схем обработок отличающихся по структуре БС, а также продолжительности инкубации на фитогормоне растительного материала. В связи с этим интересно проанализировать данные по влиянию ЭБ на баланс фитогормонов в молодых растениях яровой мягкой пшеницы.

***Влияние 24-эпибрасинолида на содержание фитогормонов в проростках пшеницы.*** В предварительных опытах были отобраны две оптимальные в стимуляции роста проростков концентрации ЭБ, 0,4 нМ и 0,4 мкМ (рис. 30).

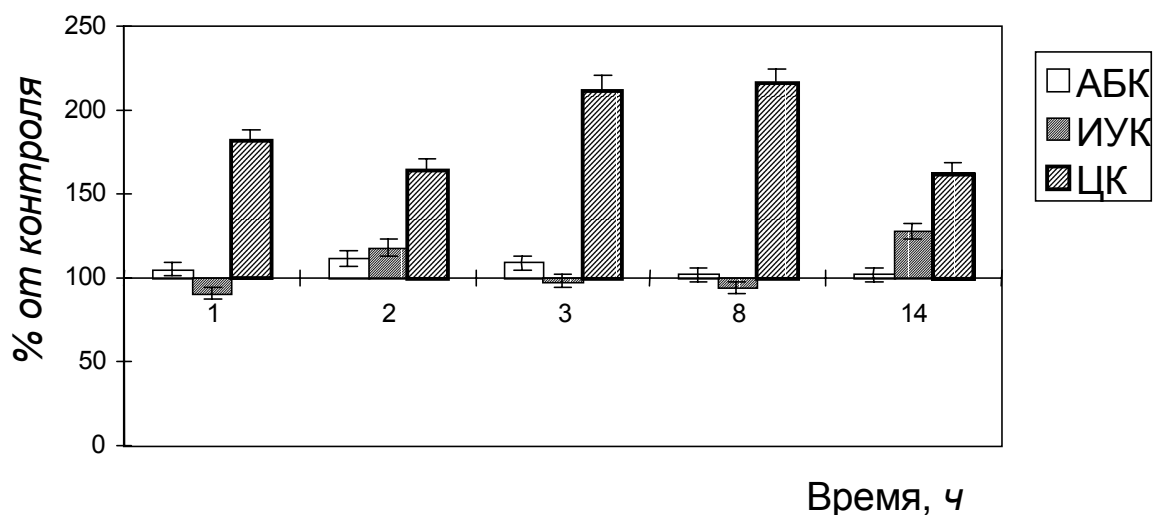
Наличие двух максимумов действующих концентраций ЭБ выявлено также для растений ячменя и картофеля [Бокебаева, 1991;

Кораблева, Платонова, 1995], как и гомобрассинолида для растений пшеницы [Кулаева и др., 1989].



**Рис. 30.** Подбор оптимальных в стимуляции роста 3-суточных проростков пшеницы концентраций 24-эпибрассинолида. Семена перед посевом замачивали в растворах ЭБ в течение 3 часов. Контрольные семена замачивали в дистиллированной воде

Для того, чтобы выяснить природу ростстимулирующей активности ЭБ в проростках пшеницы важно было исследовать его влияние на гормональный баланс в них. Данные, приведенные на рис. 31, свидетельствуют об отсутствии какого-либо заметного влияния 0,4 мкМ ЭБ на содержание ИУК и АБК в корнях проростков пшеницы на протяжении всего опыта. Аналогичные результаты получены



**Рис. 31.** Влияние 0,4 мкМ 24-эпибрассинолида на баланс ИУК, АБК и цитокининов в корнях 4-суточных проростков пшеницы сорта Московская 35

М.В. Безруковой и А.М. Авальбаевым и при обработке проростков 0,4 нМ ЭБ.

Однако, можно видеть (см. рис. 31), что уже через час от момента воздействия ЭБ в корнях проростков наблюдается почти 2-кратное накопление цитокининов, которое поддерживается на протяжении всего опыта. ЭБ вызывает стойкое накопление цитокининов также и в надземной части, правда с 1-часовым лаг-периодом [Безрукова, 1997], что позволяет предполагать возможность влияния ЭБ на синтез цитокининов в корнях. Таким образом, ЭБ в проростках, не вызывая каких-либо существенных изменений в балансе ИУК и АБК, индуцирует увеличение уровня цитокининов. Можно думать, что физиологическая активность ЭБ в растениях пшеницы в первую очередь связана с концентрационными изменениями этой группы фитогормонов, обладающих широким спектром действия.

Следовательно, брассиностероиды могут оказывать быстрое воздействие в целом на гормональный статус растений, вызывая изменения в содержании тех или иных фитогормонов, в комплексе с которыми они, вероятно, участвуют в регуляции разнообразных процессов в растительном организме.

### **Антистрессовое действие брассиностероидов**

Способность БС и их структурных аналогов в ничтожно малых концентрациях стимулировать рост и развитие растений оказалась весьма привлекательной для попытки их практического применения в растениеводстве в качестве регуляторов роста. Эти работы проводились на таких ценнейших сельскохозяйственных культурах, как пшеница, ячмень, рис, картофель и др. [Хрипач и др., 1995; Кораблева, Платонова, 1995; Прусакова, Чижова, 1996; Nazra, Pore, 1998; Прусакова и др., 2000; Khripach et al., 2000].

С самых первых опытов применения БС в агрономической практике было продемонстрировано их ярко выраженное защитное действие. БС повышают устойчивость растений к низкой и высокой температурам [Mandava, 1988; Кулаева и др., 1989; Seki, Katsumi, 1994; Dhabhadel et al., 1999], засухе [Ковалев, 1998; Прусакова и др., 2000], водному стрессу [Sairam, 1994], засолению [Бокебаева, 1991; Ковалев, 1998; Шакирова, Безрукова, 1998], аноксии [Ершова, Хрипач, 1996], повреждающему действию гербицидов [Takematsu et al., 1982], воздействию патогенов [Кораблева, Платонова, 1995; Altmann, 1999], регулируют поступление ионов в клетки растений и предотвращают

таким образом накопление тяжелых металлов и радиоактивных элементов в растениях, растущих в зонах загрязнения поллютантами [Khripach et al., 2000]. Все это в совокупности предполагает участие БС в регуляции формирования неспецифических адаптивных механизмов [Кораблева, Платонова, 1995].

Предполагается, что влияние БС на устойчивость растений к холоду и засолению связано с его действием на структуру и функции мембран [Кораблева, Платонова, 1995]. Увеличение под влиянием БС устойчивости к охлаждению и аноксии связывают с защитой целостности мембран и мембраносвязанных структур [Seki, Katsumi, 1994; Ершова, Хрипач, 1996], в том числе и ядерных [Прусакова, Чижова, 1996]. Показано, что ЭБ предотвращает нарушение ультраструктуры клеток мезофилла листа в условиях засоления среды [Бокебаева, 1991].

Влияние БС на устойчивость к тепловому шоку можно связать с повышением термостабильности белоксинтезирующей системы. Как уже отмечалось, первым прямым указанием на изменение под влиянием БС экспрессии генов в клетках растений является работа О.Н. Кулаевой и др. [1989]. Так, гомобрассинолид в условиях нормальной температуры значительно активировал синтез белка в листьях пшеницы и изменял спектр синтезируемых белков, некоторые из которых по молекулярной массе соответствуют БТШ. Обработка гормоном листьев пшеницы увеличивала порог чувствительности белкового синтеза к гипертермии на несколько градусов, т.е. гомобрассинолид увеличивал термоустойчивость белкового синтеза, которая сопровождалась повышением термоустойчивости мембран и белоксинтезирующей системы клеток в целом [Кулаева и др., 1989]. С индукцией под влиянием ЭБ синтеза БТШ связывают термотолерантность также проростков рапса и томата [Dhaubhadel et al., 1999].

Способность ЭБ при предпосевной обработке повышать всхожесть семян пшеницы, вероятно, связанную с активацией  $\alpha$ -амилазы, увеличивать оводненность растений, повышать осмотическое давление клеточного сока и интенсивность фотосинтеза имеет важное значение в проявлении засухоустойчивости пшеницы [Прусакова и др., 2000].

БС повышают продуктивность растений, увеличивают урожай и, важно отметить, улучшают его качество у разнообразных сельскохозяйственных культур, особенно в условиях неблагоприятных факторов среды [Хрипач и др., 1995; Прусакова, Чижова, 1996; Ковалев, 1998; Вильдфлуш и др., 2000; Khripach et al., 2000; Прусакова и др., 2000]. Так, предпосевная обработка семян БР способствует снижению

потери продуктивности пшеницы в условиях засухи [Shilling, Shiller, 1990; Прусакова и др., 1993; 2000]. Опрыскивание растений БС повышает продуктивность сорго [Xu et al., 1994] и пшеницы [Sairam, 1994] при водном стрессе и засухе.

ЭБ повышает адаптационные способности растений ячменя в условиях дефицита влаги и засоления, которые проявляются в усилении фотосинтетической активности, ростовых и формообразовательных процессов, приводящих в конечном счете к увеличению продуктивности этой культуры, причем важную регуляторную роль в повышении адаптации отводится индуцированному ЭБ усилению продукции этилена в стрессовых условиях [Ковалев, 1998]. В этой работе показано, что обработка растений картофеля в начале цветения ЭБ способствует прибавке урожая за счет увеличения числа и массы клубней.

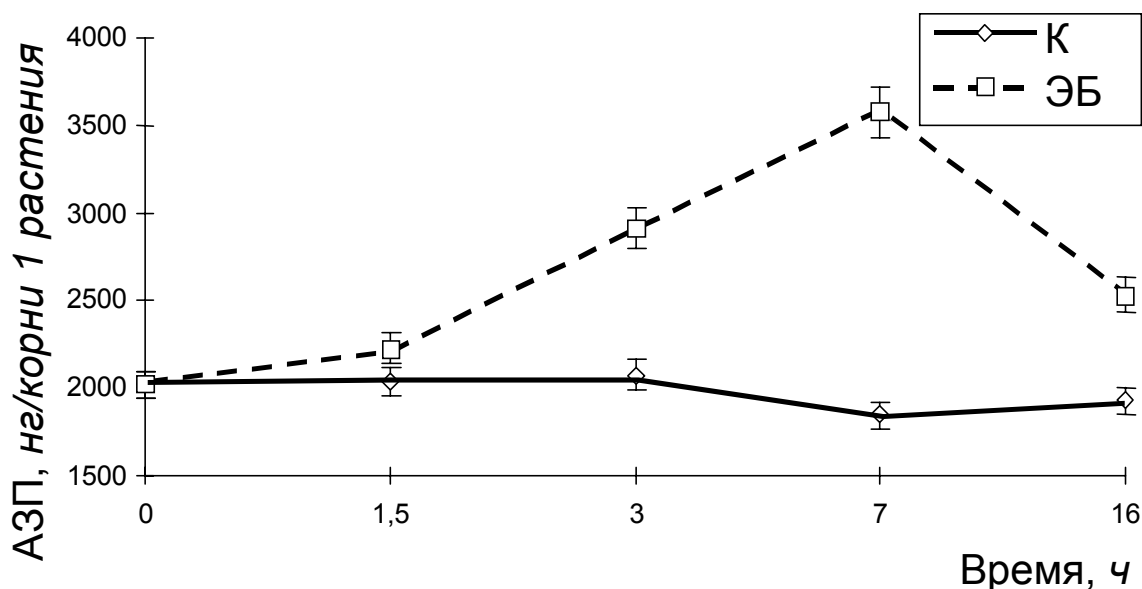
Обработка ЭБ способствует повышению урожая яровой пшеницы и картофеля, при этом отмечено, что использование гормона позволяет снизить дозу внесения минеральных удобрений на 30 % [Вильдфлуш и др., 2000].

БС повышают устойчивость растений картофеля, пшеницы, ячменя, огурца и других культур к разнообразным фитопатогенам в ряде случаев даже эффективнее, чем традиционно используемые в борьбе с возбудителями грибных болезней фунгициды, более того, они оказывают защитное действие на растения при вирусной инфекции [Кораблева, Платонова, 1995; Прусакова, Чижова, 1996; Khripach et al., 2000]. Интересно в связи со способностью повышения под влиянием БС устойчивости к патогенезу обсудить данные об индуцируемом БР гене *BR1*, кодирующем богатую лейцином рецептор-подобную киназу (LRR-RLK), предположительная функция которой заключается в передаче сигналов, ответственных за регуляцию процессов развития, которые, вероятно, включают сообщение между клетками или узнавание растением патогенов [Altmann, 1999], а также модуляции под влиянием БС активности PR-белков [Szekeres et al., 1996].

Таким образом, предобработка растений БС способствует снижению повреждающего действия неблагоприятных факторов разной природы, что указывает на их участие в развитии реакций, способствующих преадаптации растений к возможным стрессовым ситуациям. К таким реакциям, например, можно отнести индукцию накопления известного осмопротектанта пролина в листьях ячменя [Бокебаева, 1991] или лектина в корнях проростков пшеницы, [Шакирова, Безрукова, 1998], участвующего, как рассматривалось в главе 5, в развитии неспецифических защитных реакций пшеницы.



Данные, приведенные на рис. 32, демонстрируют почти двукратное возрастание уровня АЗП в корнях проростков, обработанных ЭБ, причем ЭБ, напомним (см. рис. 31), не вызывает изменений в содержании АБК, что свидетельствует о независимой от АБК регуляции эпибрассинолидом уровня лектина. При этом накопление этого белка, вероятно, является результатом его синтеза, поскольку ЭБ индуцирует в корнях проростков пшеницы экспрессию гена АЗП [Шакирова и др., 2000в].



**Рис. 32. Влияние 0,4 мкМ ЭБ на индуцицию накопления лектина в 4-суточных проростках пшеницы**

Эти результаты указывают, во-первых, на существование альтернативных путей гормональной регуляции уровня лектина в проростках пшеницы, а, во-вторых, свидетельствуют о возможности участия, помимо АБК также и ЭБ в развитии реакций, способствующих преадаптации пшеницы к неблагоприятным воздействиям, в защиту от которых мобилизуется лектин.

Вместе с тем ЭБ снижает вызванное засолением резкое накопление как АБК, так и лектина в корнях проростков пшеницы (рис. 33 и 34). Почти 50 %-е предотвращение увеличения уровня АБК и АЗП в корнях проростков, подвергнутых воздействию 2 %-го NaCl, вероятно, свидетельствует о снижении под влиянием предобработки ЭБ степени повреждающего эффекта стрессового фактора на растения. В пользу этого предположения говорят данные по росту корней проростков, обработанных ЭБ, а затем перенесенных на среду, содержащую 2 %-й NaCl.

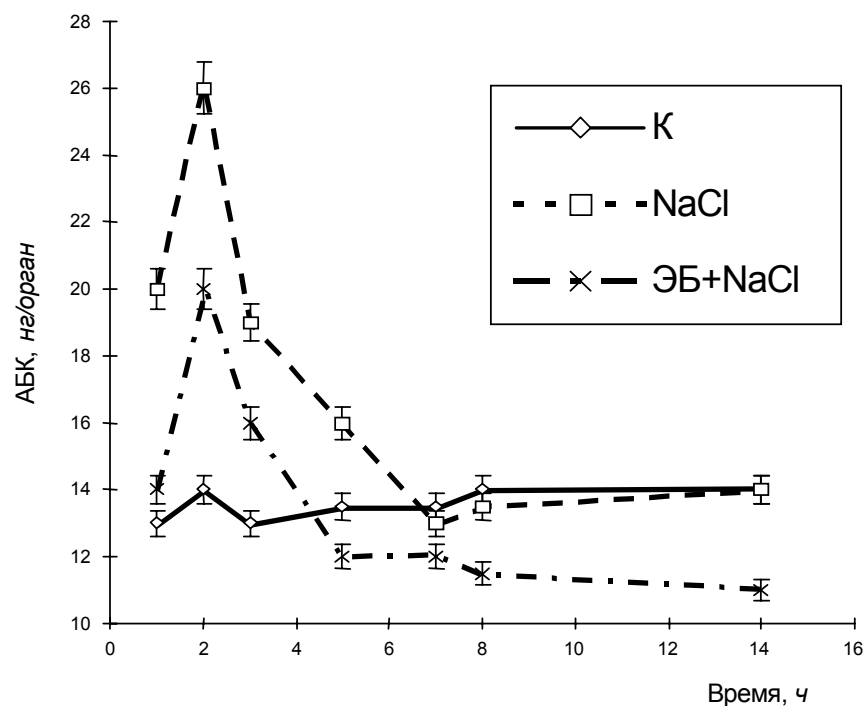


Рис. 33. Изменение под влиянием предобработки 0,4 мкМ ЭБ содержания АБК в корнях 4-суточных проростков пшеницы при воздействии 2 %-го NaCl. Контроль – необработанные ЭБ и 2 %-м NaCl проростки

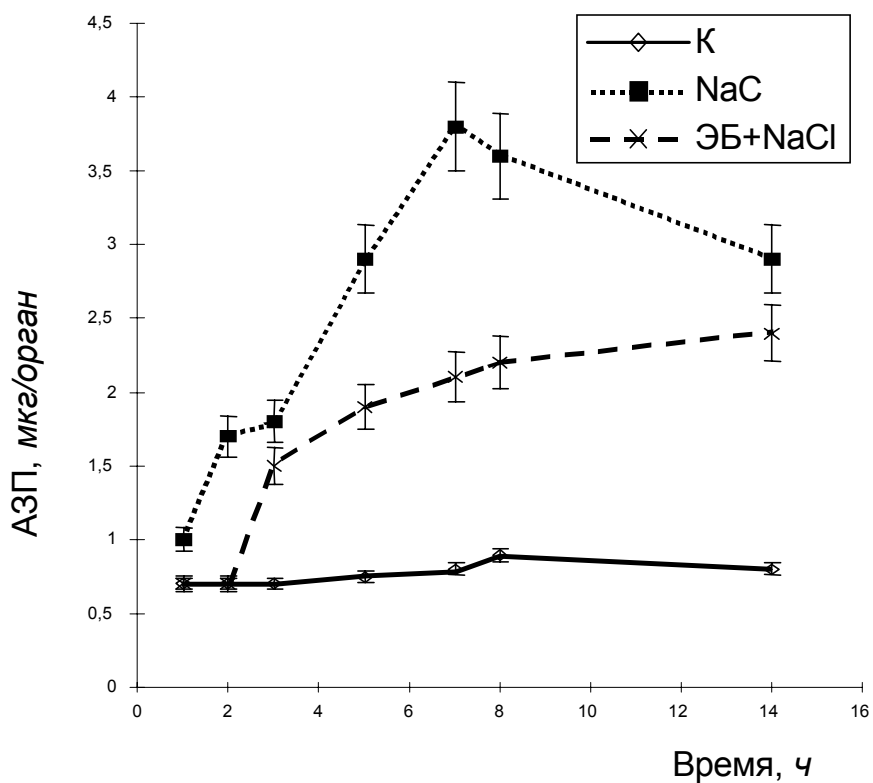
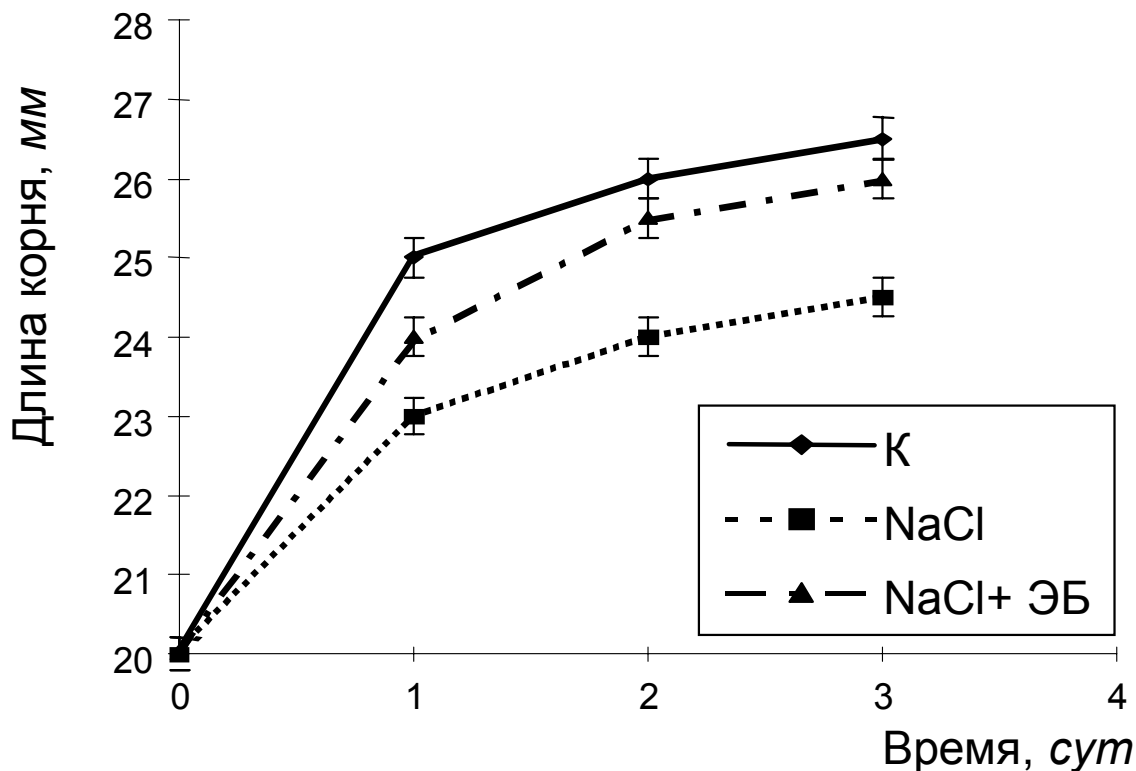


Рис. 34. Динамика уровня лектина в корнях проростков пшеницы сорта Московская 35, необработанных или обработанных 0,4 мкМ ЭБ в условиях 2 %-го NaCl. Контроль – необработанные ЭБ и NaCl проростки

Из рис. 35 видно, что засоление вызывает торможение роста корней в сравнении с контролем, но предобработка ЭБ, хотя и не предотвращает стресс-индуцированное ингибирование их роста, заметно его снижает, что, очевидно, свидетельствует о явном антистрессовом действии ЭБ на растения пшеницы в условиях засоления.



**Рис. 35.** Динамика роста корней 4-суточных проростков пшеницы сорта Московская 35 и предобработанных в течение 24 ч 0,4 мкМ ЭБ или необработанных ЭБ при воздействии 2 %-го NaCl. Контролем служили необработанные ЭБ и 2 %-м NaCl растения.

Следовательно, ЭБ в корнях 4-суточных проростков пшеницы, вызывает очень быстрое значительное накопление цитокининов на фоне отсутствия его действия на баланс ИУК и АБК, что позволяет связывать проявление физиологических эффектов БС на растения пшеницы, в том числе, возможно, и антистрессового, с этой группой фитогормонов, характеризующихся очень широким спектром действий на растительные объекты. Безусловно, важно попытаться выяснить наличие взаимосвязи этой пары фитогормонов в регуляции роста и развития растений, а также в проявлении защитного действия. Но хочется подчеркнуть возможность независимой от АБК индукции ЭБ синтеза лектина, белка, играющего важную роль в защите пшеницы от

воздействия неблагоприятных факторов среды разной природы. Мы уже обсуждали индуцирование транскрипции независимо БР и ИУК одного и того же гена (*SAUR15A*), белковый продукт которого лимитирует элонгацию гипокотилей томата [Zurek et al., 1994]. Ген АЗП может служить еще одним примером независимой регуляции разными гормонами (АБК и ЭБ) его экспрессии.

Однако эти данные интересны с точки зрения существования возможности альтернативных путей регуляции антистрессовых программ в растениях, что представляет распространенное явление в жизни растений, как например, в случае независимой индукции системной устойчивости салициловой кислотой и, наряду с жасмонатом, этиленом [Pieterse, van Loon, 1999] или системинном, АБК, этиленом или жасмонатом [Chao et al., 1999].

Суммируя результаты, приведенные в этой главе, можно заключить, что способность БС и их аналогов в исключительно низких концентрациях стимулировать рост и развитие растений, повышать устойчивость к стрессовым условиям произрастания, увеличивать продуктивность растений характеризует их в качестве биорациональных, экологически безопасных регуляторов роста, уже нашедших практическое применение в растениеводстве [Прусакова, Чижова, 1996]. Кроме того, эти данные указывают на то, что экзогенные брассиностероиды могут эффективно действовать в растениях в качестве иммуномодуляторов при применении в оптимальных концентрациях и в специально подобранных стадиях развития растений, очевидно, различных в зависимости от культуры, условий произрастания, с учетом необходимых агротехнических приемов.

Пока вся цепь реакций по пути индуцирования БС неспецифической устойчивости и продуктивности растений далека от ясности, но их изучение диктует сама практика. Оно открывает новые перспективы в защите растений, основанной на применении в ничтожных количествах природного регулятора роста, способного заменить химические средства защиты растений, за которым будущее [Khripach et al., 2000].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Познание естественных механизмов защиты, лежащих в основе устойчивости растений к разнообразным стрессовым воздействиям, является одной из интригующих проблем фитофизиологов. На протяжении всего онтогенеза растительные организмы подвергаются воздействию изменяющихся условий произрастания, к которым они вынуждены адаптироваться в силу прикрепленности к конкретному месту обитания, развивая механизмы защиты, направленные на снижение уровня их негативного влияния, и, сохраняя свой жизненный потенциал, приспосабливаясь к ним. Очевидно, наряду со специфическими механизмами защиты, которые генетически закреплены и вырабатывались в отдельных экосистемах в ходе длительной эволюции, большое значение, особенно в начальный период стрессового воздействия, имеют общебиологические, т.е. универсальные защитные механизмы, которые могут, если не нейтрализовать, то, по крайней мере, снизить степень повреждения, вызываемого экстремальными факторами среды.

К числу неспецифических ответных реакций растений на воздействие разнообразных по природе стрессовых факторов относятся сдвиги в гормональном балансе, связанные не только с резким накоплением АБК, но и снижением содержания фитогормонов с явно выраженным ростстимулирующим эффектом, что является важным в переключении функциональной активности клеток с обычных на стрессовые программы. Не вызывает сомнения, что ключевая роль в ответе растений на неблагоприятные факторы среды принадлежит АБК, которая участвует в индукции экспрессии генов разнообразных шоковых и некоторых присущих норме белков, задействованных в защите целостности клеточных структур от повреждений, вызываемых этими факторами.

При анализе действия природных и синтетических регуляторов роста, обладающих антистрессовой активностью (биорегуляторы), выявляются общие закономерности их влияния на функционирование гормональной системы растений в неблагоприятных условиях. Предобработка пшеницы салициловой кислотой, картолином, бисолом 2 и байтаном индуцирует накопление АБК, что, по-видимому, способствует преадаптации растений к последующим стрессовым ситуациям и повышению их неспецифической устойчивости. При этом упомянутые биорегуляторы вызывают одновременно увеличение

содержания ИУК, что может обеспечивать протекание процессов метаболизма клеток на высоком уровне и предотвращать снижение продуктивности растений при стрессовых воздействиях. Справедливость этого положения подтверждается данными о торможении, вызванного грибным патогенезом, засолении, дефицитом влаги, резкого накопления АБК и предотвращении снижения уровня ИУК и цитокининов под влиянием обработки защитными соединениями.

К характерным проявлениям неспецифической устойчивости можно отнести торможение активности метаболических процессов в клетках, обеспечивающее сохранение функциональной целостности растений в стрессовых условиях, которое, однако, сопровождается потерей урожая.

Об активности метаболизма клеток можно судить по интенсивности синтеза белка в них, который чутко реагирует даже на незначительные изменения окружающей среды. Одним из важных показателей активности синтеза белка является анализ состояния трансляционного аппарата клеток. Стрессовые факторы биотической и абиотической природы вызывают деградацию белоксинтезирующего аппарата, что приводит к торможению скорости ростовых процессов в растениях, а это в свою очередь впоследствии неизбежно проявляется в снижении их продуктивности. Защитные реакции растений, индуцируемые цитокининами и синтетическими соединениями, имитирующими в ряде тест-систем свойства цитокининов, в условиях голодания, засухи и грибного патогенеза включают в себя сохранение активности трансляционного аппарата на высоком уровне. Предотвращение стресс-индуцируемого распада полисом под влиянием биорегуляторов вносит важный вклад в повышение устойчивости растений и снижение вызванного неблагоприятными факторами падения их продуктивности.

К неспецифическим ответным реакциям растений пшеницы можно отнести и накопление лектина (агглютиниона зародыша пшеницы), содержание которого в несколько раз возрастает при инфицировании возбудителями разных грибных болезней, засолении среды, тепловом шоке, дефиците влаги, осмотическом стрессе, и этому предшествует увеличение содержания АБК. Это позволяет отнести накопление лектина к АБК-контролируемым защитным реакциям растений на повреждающие воздействия, которое может служить маркером развития АБК-индуцируемых неспецифических механизмов устойчивости пшеницы. Вместе с тем повышение уровня лектина в обычных условиях под влиянием цитокинина, салициловой кислоты,

бисола 2, байтана (их эффект, вероятно, опосредован через вызываемое ими повышение уровня АБК) и 24-эпибрасинолида (независимо от АБК) может свидетельствовать о вовлечении этого белка в формирование индуцируемых этими соединениями защитных реакций растений пшеницы.

Совокупность данных литературы и собственного экспериментального материала позволила вскрыть общие закономерности в действии разных по природе повреждающих факторов внешней среды и разнообразных по структуре биорегуляторов на такие ключевые звенья метаболизма клеток растений пшеницы, как эндогенный баланс фитогормонов и уровень синтеза белка, которые обобщены в схеме на стр. 128.

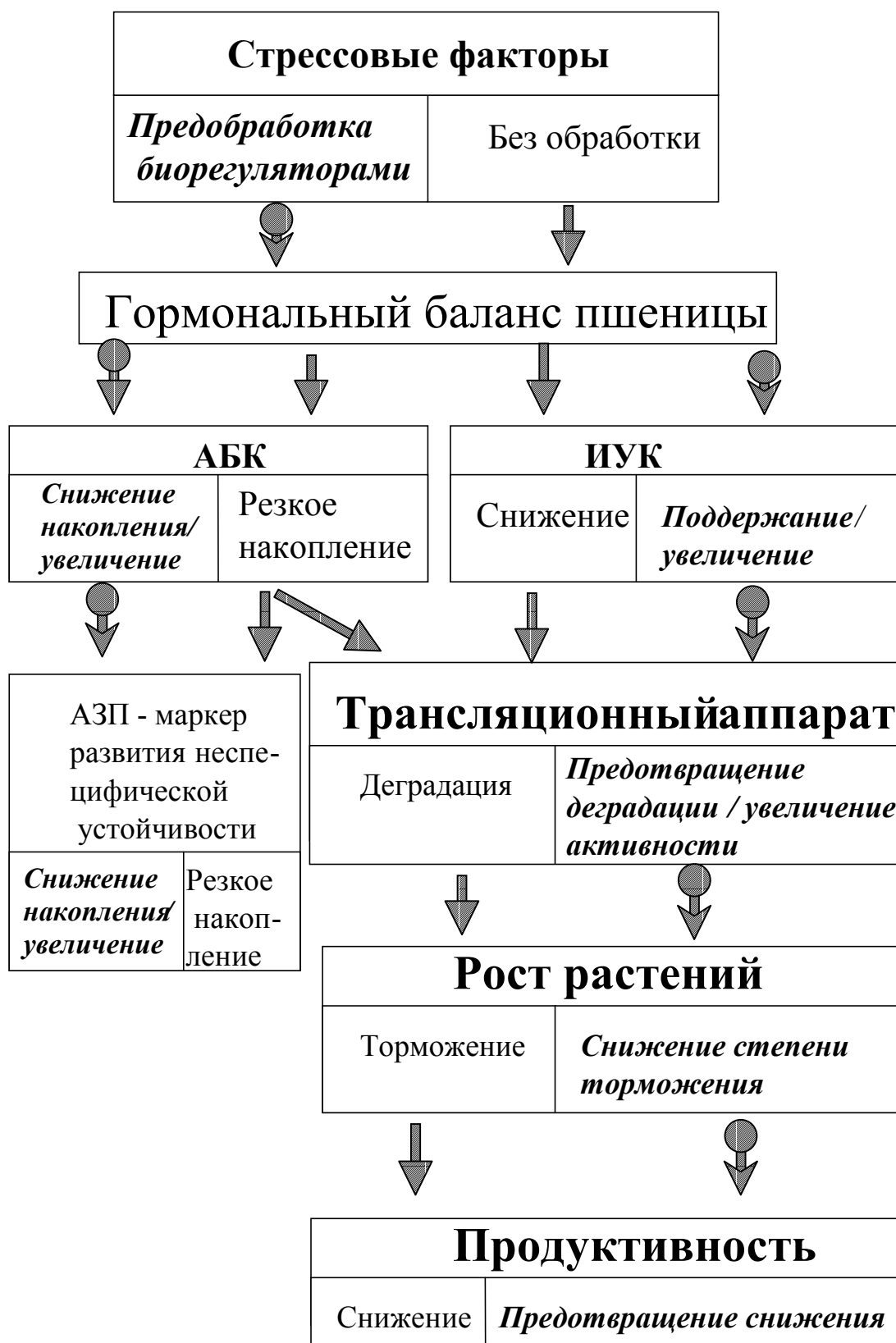
Индукция под влиянием биорегуляторов увеличения содержания АБК, что, вероятно, является проявлением слабого химического стресса, может приводить к включению, хоть и в меньшем масштабе, антистрессовых программ, способствующих преадаптации растений к возможным стрессовым воздействиям. Показателем их развития у растений пшеницы, по-видимому, может служить АЗП, количество которого заметно возрастает в ответ на обработку разными препаратами. Однако, судя по активности трансляционного аппарата и в конечном счете продуктивности растений, вызванное биорегуляторами увеличение уровня АБК и АЗП вполне благоприятно для пшеницы в связи с тем, что одновременно повышается и содержание ИУК, играющей важную роль в активации метаболических процессов, лежащих в основе роста растений.

В целом защитный эффект предобработки растений цитокинином, картолином, бисолом 2, байтаном, салициловой кислотой проявляется как на гормональном, так и трансляционном уровнях, а именно в предотвращении падения содержания ИУК и торможении резкого накопления АБК, вызываемых воздействием стрессовых факторов, а также деградации белоксинтезирующего аппарата, что, вероятно, напрямую связано с формированием высокой продуктивности растений в неблагоприятных условиях среды. Параллельно предобработка многими биорегуляторами тормозит стресс-индуцированное резкое накопление АЗП, что может свидетельствовать о снижении под их влиянием степени повреждающего действия неблагоприятных факторов.

Вместе с тем в ответ на неблагоприятные условия среды растения мобилизуют целый спектр разнообразных защитных реакций и очень часто бывает трудно вычленить из них общие и специфические. В этой

# Механизмы антистрессового действия биорегуляторов

●→ – растения, предобработанные биорегуляторами, → – без обработки





связи, на наш взгляд, необходимо проведение детального исследования всей цепи событий в клетках растений, развиваемых в ответ на экстремальный фактор.

Безусловно, сделанный в работе акцент на изучение сдвигов гормонального баланса растений в неблагоприятных условиях имеет важное значение, поскольку он касается эффективной системы эндогенной регуляции функционирования растительного организма в целом, однако каждый из составляющих ее фитогормонов обладает собственными механизмами их рецепции и трансдукции, которые еще находятся на стадии изучения. Однако уже сейчас ясно, что гормональные сигналы воспринимаются специальными факторами, эффекторами, способствующими включению генетических программ, лежащих в основе реализации этих сигналов, обеспечивающих все разнообразие физиологических ответов, вызываемых фитогормонами.

Познанию этих систем восприятия и трансформации гормональных сигналов способствует создание мутантных по синтезу и чувствительности к фитогормонам растений, а также трансгенных растений, которые могут позволить выявить не только зависимость протекания тех или иных процессов в конкретный период онтогенеза от наличия какого-либо гормона, но и прогнозировать влияние на них экзогенных гормонов, что имеет важное прикладное значение. При этом нельзя забывать, что одновременно в растении функционирует не только гормональная система, но и другие регуляторные системы (электрическая, метаболитная). Именно слаженность их работы в итоге и способствует гомеостатичности растений, а значит и снижению порога их чувствительности к неблагоприятным воздействиям. Отсюда следует, что только познание всей цепи ответных реакций растений на воздействие экзогенных регуляторов роста и стрессовых факторов может помочь в отборе оптимальных для защиты растений концентраций препаратов, выборе приемов и сроков обработки и всего комплекса технических рекомендаций.

Несмотря на то, что на сегодняшний момент знание структурно-функционального уровня организации защитных неспецифических реакций растений находится на стадии экспериментальных разработок, с определенной долей уверенности можно говорить о существовании комплекса физиологических ответов, лежащих в основе формирования устойчивости растений к действию самых разных по природе стрессовых факторов, которые можно использовать для характеристики, а в последующем и обоснования практического применения регуляторов роста нового поколения. К критериям эффективности биорегуляторов нового поколения может быть отнесено их влияние на

повышение устойчивости клеток растений в модельных системах к засолению среды, экстремальным температурам, дефициту влаги, о которой можно судить по интенсивности ростовых процессов в них, анализу сдвигов в гормональном балансе в норме и при воздействии стрессовых факторов, количественного уровня лектина, а также концентрационных изменений других соединений, задействованных в формировании защитных реакций. При оценке эффективности препаратов с фунгицидной и иммуностимулирующей активностью важно учитывать вызываемые ими изменения в содержании отдельных групп фитогормонов в растениях, поскольку в становлении взаимоотношения растения-хозяина и конкретных патогенов, различающихся по типу питания, именно им может принадлежать определяющее значение в успешности инфицирования.

Следовательно, детальное изучение естественных механизмов неспецифической устойчивости растений является крайне важным для управления их активностью с целью повышения гомеостатичности и продуктивности растений. Соответственно предобработка их биорегуляторами, характеризующимися высокой биологической активностью, а кроме того, что очень важно, не нарушающих экологическую ситуацию, может через воздействие на гормональный баланс реально оптимизировать обменные процессы в клетках, способствовать интенсификации защитно-приспособительных реакций в условиях неблагоприятных воздействий окружающей среды, включая синтез и накопление белков (стрессовых, PR-белков, лектинов) и других соединений, играющих важную роль в комплексной защите растений, содействовать их преадаптации к последующим стрессовым воздействиям физической, химической и биогенной природы и, таким образом, снижению уровня их повреждающего действия на ростовые процессы и в целом продуктивность растений.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Александров ВЯ* (1985) Реактивность клеток и белки. Л.: Наука 317с
- Александров ВЯ, Кислюк ИМ* (1994) Реакция растений на тепловой шок: физиологический аспект. Цитология 36: 5–59
- Ананиев Е, Шакирова ФМ, Клячко НЛ, Кулаева ОН* (1980) Влияние цитокинина на образование полисом из предсуществующих мРНК и рибосом. Докл. АН СССР 255: 508–510
- Андреев ЛН, Талиева МН* (1991) Физиологические аспекты иммунитета растений. Облигатный паразитизм. Цитофизиологические аспекты. М.: Наука 5-12
- Андреев ЛН, Талиева МН* (1996) Физиологически активные вещества во взаимоотношениях растения-хозяина и патогенного гриба. Физиол. растений 43: 661–666
- Баймиев АХ* (1999) Структура углеводсвязывающих пептидов лектина бобовых растений в связи с их различной хозяйской специфичностью при образовании симбиоза с клубеньковыми бактериями. Автореф....дис. канд. биол. наук. М. 24с
- Баскаков ЮА* (1984) Новые гербициды и регуляторы роста. Ж. Всес. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева 29: 22–39
- Баскаков ЮА* (1988) Новый антистрессовый препарат цитокининового типа действия. Агрохимия 4: 103–105
- Баскаков ЮА, Шаповалов АА, Жирмунская НМ, Овсянникова ТВ* (1981) О взаимосвязи рострегулирующей активности и фитотоксичности синтетических цитокининов. Докл. АН СССР 257: 1514–1516
- Безрукова МВ* (1997) Гормональная регуляция содержания лектина пшеницы в стрессовых условиях. Автореф....дис. канд. биол. наук. Уфа 24с
- Безрукова МВ, Сахабутдинова АР, Фатхутдинова РА и др.* (2001) Влияние салициловой кислоты на содержание гормонов в корнях и рост проростков пшеницы при водном дефиците. Агрохимия 2: 51–55
- Безрукова МВ, Шакирова ФМ* (1999) Влияние экзогенной обработки фитогормонами на динамику содержания лектина и абсцизовой кислоты в ходе прорастания семян пшеницы. Известия РАН. Сер. биол. 5: 629–933
- Блехман ГИ* (1987) Синтез белка в условиях стресса. Успехи совр. биол. 103: 340–353
- Блехман ГИ, Шеламова НА* (1992) Синтез и распад макромолекул в условиях стресса. Успехи. совр. биол. 112: 281–297
- Бокебаева ГА* (1991) Защитное действие брассиностероидов на растения ячменя при засолении. Автореф. дис. канд. биол. наук. М.: МГУ, 25с
- Бочарова МА, Трунова ТИ, Шаповалов АА, Баскаков ЮА* (1983) Влияние картолина на морозостойкость озимой пшеницы. Физиол. растений 30: 360–364
- Бурханова ЭА, Федина АБ, Баскаков ЮА, Кулаева ОН* (1984) Сравнительное изучение действия 6-бензиламинопурина, тидиазурина и картолина на рост интактных проростков тыквы. Физиол. растений 31: 13–17
- Бурханова ЭА, Федина АБ, Данилова НВ и др.* (1991) Влияние гомобрассинолида, интерферона человека и (2' 5' 0-5' 5' 0)- олигоаденилатов на синтез белка в листьях пшеницы. Биохимия 56: 1228–1240
- Бурханова ЭА, Федина АБ, Кулаева ОН* (1999) Сравнительное изучение влияния салициловой кислоты и (2'-5')-олигоаденилатов на синтеза белка в листьях табака при тепловом шоке. Физиол. растений 46: 16–22

- Бутенко РГ, Баскаков ЮА, Оголевец ИВ и др. (1982) Влияние картолина на морозостойкость культуры каллусной ткани озимой пшеницы. Докл. АН СССР 267: 253–255
- Вавилов НИ (1986) Иммуитет растений к инфекционным заболеваниям. М.: Наука 520с
- Вандерпланк Я (1981) Генетические и молекулярные основы патогенеза у растений. М.: Мир, 236 с
- Васецкая МН, Чигирев СМ (1986) Септориоз пшеницы. Защита растений 6: 17–18
- Васюк ВА (1995) Фитогормоны в системе растение фитопатогенный гриб. Укр. ботан. ж. 52: 505–514
- Васюк ВА, Андрианова ТВ, Мусатенко ЛИ (1996) Индолилуксусная кислота фитопатогенных грибов *Septoria tritici* rob ex Desm и *Stagonospora nodorum* (Berk) cast et germ (*Septoria nodorum* Berk). Укр. ботан. ж. 53: 215–218
- Васюкова НИ, Зиновьева СВ, Ильинская НГ и др. (1999) Салициловая кислота во взаимоотношениях томатов и галловой нематоды *Meloidygena incognita* (Kofoid and white) Chitwood, 1949. Докл. РАН 364: 843–845
- Веселов ДС (1999) Роль гормонов в быстрой реакции растений пшеницы на неблагоприятные воздействия. Автореф. ...дис. канд. биол. наук. Уфа, 22с
- Вильдфлуш ИР, Цыганов АР, Гурбан КА, Мастеров АС (2000) Эффективность комплексного применения минеральных удобрений и новых регуляторов роста при возделывании яровой пшеницы и картофеля на дерново-подзолистой почве. Агрохимия 4: 57–62
- Волюнец АП, Кароза СЭ, Сухова ЛС (1993а) Абсцизовая кислота как возможный фактор защиты ячменя при грибной инфекции. Докл. РАН 329: 380–382
- Волюнец АП, Пшеничная ЛА, Кароза СЭ, Манжелесова НЕ (1993б) О природе нарушения ауксинового обмена растений ячменя гельминто-спориозной инфекцией. Докл. АН Беларуси 39: 166–168
- Вонг М, Бакуйзен Р, Хеймоваара-Диикстра С и др. (1994) Роль абсцизовой кислоты и гиббереллина в проявлении покоя семян ячменя. Сравнение состояния покоя зародышей и клеток алейронового слоя. Физиол. растений 41: 659–667
- Генкель ПА (1982) Физиология жаро- и засухоустойчивости растений. М.: Наука 280с
- Генкель ПА, Сатарова НА, Творус ЕК (1972) Функциональная активность рибосом из адаптированных к засухе растений. Физиол. растений 19: 1041–1046
- Горбачева ЛА, Дударева НА, Салганик РИ (1991) Молекулярные механизмы устойчивости растений к патогенам. Успехи совр. биол. 111: 122–136
- Громова ББ-О, Патрикеева МВ, Житлева НА и др. (1990) Методика определения неспецифической устойчивости картофеля к возбудителю фитофтороза по лектинам листьев. Л.: ВИЗР, 12с
- Деревянкин АИ (1971) Видовая и сортовая устойчивость пшеницы к септориозу. Тр. Великолук. с.-х. ин-та 17: 7–9
- Джемилев УМ, Ямалеев АМ, Шакирова ФМ и др. (1990) О механизме действия бисола-2. Агрохимия 9: 121–128
- Дьяков ЮТ (1994) Молекулярно-генетические основы взаимоотношений растений с грибными и бактериальными инфекциями. Успехи совр. генетики 19: 25–48
- Едрева АМ (1991) Стрессовые белки растений: PR(b)-белки. Физиол. растений 38: 788–799
- Еркеев МИ, Гилязетдинов ШЯ, Вахитов ВА и др. (1989) Новый регулятор роста – Бисол 2. Регуляторы роста и развития растений. Материалы II Всес. конф. по регуляторам роста и развития растений. Киев: Наукова думка 219

- Ершова АН, Хрипач ВА (1996) Влияние эпибрассинолида на процессы перекисного окисления липидов *Pisum sativum* в нормальных условиях и при кислородном стрессе. Физиол. растений 43: 870–873
- Ефремов ДП, Каравайко НН, Кулаева ОН (1992) Влияние теплового шока и картолина-2 на рост проростков ячменя и содержание в них фитогормонов. Докл. РАН 323: 362–365
- Жирмунская НМ, Шаповалов АА (1987) Физиологические аспекты применения регуляторов роста для повышения засухоустойчивости растений. Агрохимия 6: 102–119
- Жолкевич ВН, Зубкова НК, Маевская СН и др. (1997) Взаимодействие теплового шока и водного стресса у растений. 2. Осморегуляция в листьях хлопчатника при последовательном действии кратковременной гипертермии и почвенной засухи. Физиол. растений 44: 613–623
- Жолкевич ВН, Пустовойтова ТН (1993) Роль листьев *Cucumis sativum* L. и содержание в них фитогормонов при почвенной засухе. Физиол. растений 40: 676–680
- Зауралов ОА (1997) Определение эффективности регуляторов роста для повышения холодоустойчивости теплолюбивых растений. Агрохимия 2: 71–75
- Зауралов ОА, Курова ЕА, Лукаткин АС (2000) Влияние цитокининовых препаратов и охлаждения на ростовые реакции растений кукурузы. Агрохимия 3: 55–59
- Захаренко ВА (1998) Экономическая эффективность химической защиты растений в условиях реформируемой экономики России. Агрохимия 10: 74–82
- Заякин ВВ, Нам ИЯ (1998) Стимуляция абсцизовой кислотой поступления ассимилятов из оболочки семени к развивающемуся зародышу люпина. Физиол. растений 45: 100–107
- Ильинская ЛИ, Васюкова НИ, Озерецковская ОЛ (1991) Биохимические аспекты индуцированной устойчивости и восприимчивости растений Итоги науки и техники. Сер. защита растений 7: 196с
- Ильинская ЛИ, Горенбург ЕВ, Чаленко ГИ, Озерецковская ОЛ (1996) Участие метилжасмоната в индуцировании устойчивости картофеля к возбудителю фитофтороза. Физиол. растений 43: 713–720
- Иосипенко ОА, Стадник ГИ, Игнатов ВВ (1996) Лектины корней проростков пшеницы в процессе взаимодействия растения с ассоциативными микроорганизмами рода *Azospirillum*. Прикл. биохим. и микробиол. 32: 458–461
- Кабузенко СН, Горшенков АВ, Володькина ЛС (1995) Влияние хлоридного засоления и цитокинина на митотическую активность корней пшеницы и кукурузы. Физиол. биохимия культ. растений 27: 31–35
- Кефели ВИ, Коф ЭМ, Власов ПВ, Кислин ЕН (1989) Природный ингибитор роста – абсцизовая кислота. М.: Наука 184с
- Киселева ИС, Сычева НМ, Каминская ОА, Михалева ОС (1998) Взаимосвязь роста колоса ячменя и поглощения ассимилятов с содержанием фитогормонов. Физиол. растений 45: 549–556
- Клячко НЛ (1985) Посттранскрипционная регуляция синтеза белка фитогормонами. Автореф. ... дис. д-ра биол. наук. М. 47с
- Клячко НЛ, Шрамм ИМ, Кулаева ОН (1987) Влияние тидиазулона и картолина на формирование полисом и рост изолированных семядолей тыквы. Физиол. растений 34: 319–323
- Кобыльский ГИ, Алибеков ОА, Герцог НМ (1990) Биосинтез индолилуксусной кислоты фитопатогенным грибом *Septoria nodorum* Berk. Вестн. с.-х. науки Казахстана 3: 37–39

- Ковалев ВМ (1998) О характере физиологических реакций при воздействии на растений экзогенных регуляторов роста химической и физической природы. С.-х. биология 1: 91–100
- Колесник ЛВ (1991) Синтез и возможные функции белков растений при сверхчувствительной реакции (Обзор). Физиол. растений 38: 1005–1013
- Колесниченко АВ, Побежимова ПТ, Войников ВК (2000) Характеристика низкотемпературного стресса у растений. Физиол. растений 47: 624–630
- Комарова ЭН, Трунова ТИ, Вискребенцева ЭИ (1999) Динамика лектиновой активности клеточных стенок апексов озимой пшеницы на протяжении первых суток закаливания. Физиол. растений 46: 159–163
- Конарев ВГ (1998) Морфогенез и молекулярно-биологический анализ растений. С.-Петербург. 370с
- Кораблева НП, Платонова ТА (1995) Биохимические аспекты гормональной регуляции покоя и иммунитета растений (Обзор). Прикл. биохим. и микробиол. 31: 103–114
- Кораблева НП, Платонова ТА, Догондзе МЗ (1998) Изменение биосинтеза этилена в меристемах клубней картофеля *Solanum tuberosum* L. под действием брассинолида. Докл. РАН 361: 113–115
- Королев НП (1984) Функции лектинов в клетках. Итоги науки и техники. Сер. общие проблемы физико-химической биол. 1. М.: ВИНТИ 351с
- Кудоярова ГР, Симонян МВ, Мустафина АР, Веселов СЮ (2000) Влияние дегидратации на содержание полирибосом, цитокининов и активность цитокининоксидазы в проростках кукурузы. Иммуноанализ регуляторов роста в решении проблем физиологии растений, растениеводства и биотехнологии. Материалы III конф. Уфа 115–121
- Кузнецов ВВ, Кимпел Дж, Гокджиян Дж, Ки Дж (1987) Элементы неспецифичности реакции генома растений при холодовом и тепловом стрессе. Физиол. растений 34: 859–868
- Кузнецов ВВ, Старостенко НВ (1993) Системы транспирации и белков теплового шока как факторы выживания растений при гипертермии. Физиол. растений 40: 270–272
- Кузнецов ВВ, Старостенко НВ (1994) Синтез белков теплового шока и их вклад в выживание интактных растений огурца при гипертермии. Физиол. растений 41: 374–380
- Кузнецов ВВ, Хыдыров БТ, Рощупкин БВ, Борисова НН (1990) Общие системы устойчивости хлопчатника к засолению и высокой температуре: факты и гипотезы. Физиол. растений 37: 987–996
- Кузнецов ВЛ, Шевякова НИ (1999) Пролин при стрессе: биологическая роль, метаболизм, регуляция. Физиол. растений 46: 321–336
- Кузьмина ГГ (1997) Баланс эндогенных ИУК и АБК в листьях и репродуктивных органах на поздних этапах онтогенеза. Физиол. растений 44: 769–774
- Кулаева ОН (1973) Цитокинины, их структура и функции. М.: Наука 253с
- Кулаева ОН (1982) Гормональная регуляция физиологических процессов у растений на уровне синтеза РНК и белка. ХЛ Тимирязевское чтение. М.: Наука 84с
- Кулаева ОН (1987) Гормональная регуляция транскрипции и трансляции у растений. Тр. 16-й конф. ФЕБО. М. 408–411
- Кулаева ОН (1994) Физиологическая роль абсцизовой кислоты. Физиол. растений. 41: 645–646
- Кулаева ОН, Бурханова ЭА, Федина АБ и др. (1989) Брассиностероиды в регуляции синтеза белка в листьях пшеницы. Докл. АН СССР 305: 1277–1279

- Кулаева ОН, Микулович ТП, Хохлова ВА (1991) Стрессовые белки растений. Современные проблемы биохимии. М.: Наука 174–190
- Кулаева ОН, Хохлова ВА, Фофанова ТА (1984) Цитокинины и абсцизовая кислота в регуляции роста и процессов внутриклеточной дифференцировки. Гормональная регуляция онтогенеза растений. М.: Наука 71–86
- Курапов ПБ (1996) Гормональный баланс растений. Методы его изучения и регулирования. Автореф. ... дис. д-ра биол. наук. М.: ТСХА 47с
- Лангольф ЭИ, Чулкина ВА (Ред) (1985) Оценка устойчивости яровой пшеницы к обыкновенной корневой гнили в Западной Сибири. Метод рекомендации. Новосибирск: СО ВАСХНИЛ 25с
- Лапина ЛП, Строгонов БП (1979) Локализация солей в клетках в связи с приспособлением растений к условиям засоления. Успехи совр. биол. 88: 93–107
- Лахтин ВМ (1986) Лектины – регуляторы метаболизма. Биотехнология 6: 66–79
- Лахтин ВМ (1987) Лектины в исследовании белков и углеводов. Итоги науки и техники. Сер. Биотехнология М.: ВИНТИ 288с
- Лахтин ВМ, Яковлева ЗМ (1987) Связывание лектина из зародышей пшеницы с поверхностью мицелия и спор *Helminthosporium sativum*. Изв. АН СССР. Сер. биол. 5: 792–795
- Луцик МД, Панасюк ЕН, Луцик АД (1981) Лектины. Львов: Вища школа 256с
- Любимова НВ (1991) Лектины в процессах межклеточного узнавания картофеля. Автореф. ... дис. д-ра биол. наук. М. 55с
- Любимова НВ, Салькова ЕГ (1988) Лектин-углеводное взаимодействие во взаимоотношениях растение – патоген. Прикл. биохим. и микробиол. 24: 595–606
- Любимова НВ, Щербухин ВД (1991) Процессы межклеточного узнавания и индуцирование устойчивости клубней картофеля к болезням (Обзор). Прикл. биохим. и микробиол. 27: 3–16
- Максимов ИВ, Ганиев РМ, Хайруллин РМ (2000) Изменение уровня ИУК, АБК и цитокининов в проростках пшеницы на начальных стадиях инфицирования патогенными грибами. Иммуноанализ регуляторов роста в решении проблем физиологии растений, растениеводства и биотехнологии. Материалы III конф. Уфа 164–168
- Максимов ИВ, Шакирова ФМ, Хайруллин РМ, Безрукова МВ (1996) Гормональный баланс ИУК/АБК в растениях пшеницы при инфицировании септориозом. Микология и фитопат. 30: 75–83
- Марков ЕЮ, Хавкин ЭЕ (1983) Лектины растений: предполагаемые функции. Физиол. растений 30: 852–867
- Медведев СС, Маркова ИВ (1991) Участие салициловой кислоты в гравитропизме у растений. Докл. АН СССР 316: 1014–1016
- Мелентьев АИ, Ямалеев АМ, Ибрагимов РИ, Исаев РФ (1986) Сродство к углеводам и лектиноподобная активность ингибиторов трипсина из семян пшеницы в связи с устойчивостью к фитопатогенным грибам. С.-х. биология 12: 52–54
- Мелехов ЕИ (1985) Принцип регуляции скорости процесса повреждения клетки и реакция защитного торможения метаболизма (РЗТМ). Журнал общей биол. 46: 174–189
- Мелехов ЕИ, Ефремова ЛК (1990) Влияние экзогенных фитогормонов на устойчивость растительных клеток к нагреву и 2,4-Д. Физиол. растений 37: 561–567
- Метлицкий ЛВ, Дьяков ЮТ, Озерецковская ОЛ (1986) Индукторно-супрессорная гипотеза фитоиммунитета. Журнал общей биол. XLVII: 748–758
- Метлицкий ЛВ, Озерецковская ОЛ (1985) Как растения защищаются от болезней. М.: Наука 192с

- Минькова СМ, Комарова ЭП (1987) О биохимических механизмах индуцированной триазоловыми фунгицидами устойчивости растений ржи к ржавчине. С.-х. биология 2: 70–74
- Миркин БМ, Усманов ИЮ, Наумова ЛГ (1999) Типы стратегий растений: место в системах видовых классификаций и тенденции развития. Ж. общей биол. LX: 581–595
- Митриченко АН (1999) Динамика содержания гормонов в проростках пшеницы при изменении температуры. Автореф. ...дис. канд. биол. наук. Уфа 22с
- Мосолов ВВ (1983) Белковые ингибиторы как регуляторы процесса протеолиза. М.: Наука 62с
- Муромцев ГС, Данилина ЕЭ (1996) Эндогенные химические сигналы растений животных. Сравнительный анализ. Успехи совр. биол. 116: 533–551
- Муромцев ГС, Чкаников ДИ, Кулаева ОН, Гамбург КЗ (1987) Основы химической регуляции роста и продуктивности растений. М.: Агропромиздат 383с
- Никитина ВЕ, Аленькина СА, Пономарева ЕГ, Савенкова НН (1996) Изучение роли лектинов клеточной поверхности азоспирилл во взаимодействии с корнями пшеницы. Микробиология 65: 165–170
- Никитина ВЕ, Галкин МА, Котусов ВВ и др. (1987) Влияние лектина пшеницы на азотфиксирующую активность *Azospirillum brasilense*. Прикл. биохим. и микробиол. 23: 389–392
- Николаева МГ (1993) Участвует ли абсцизовая кислота в регуляции процессов формирования и покоя семян? Онтогенез 24: 83–91
- Обручева НВ, Зембднер Г, Дате В (1985) Эндогенная абсцизовая кислота в прорастающих семенах гороха. Докл. АН СССР 280: 254–256
- Озерецковская ОЛ (1999) Индуцирование устойчивости растений. Аграрная Россия 1: 4–9
- Озерецковская ОЛ, Роменская ИГ (1996) Олигосахарины как регуляторные молекулы растений (Обзор). Физиол. растений 43: 743–752
- Пахомова ВМ (1995) Основные положения современной теории стресса и неспецифический адаптационный синдром у растений. Цитология 37: 66–91
- Пахомова ВМ, Чернов ИА (1996) Некоторые особенности индуктивной фазы неспецифического адаптационного синдрома растений. Известия РАН. Сер. биол. 6: 705–715
- Полевой АВ, Танкелюн ОВ, Полевой ВВ (1997) Быстрая дистанционная передача сигнала о локальном стрессовом воздействии у проростков кукурузы. Физиол. растений 44: 645–651
- Полевой ВВ (1989) Физиология растений. М.: Высшая школа 464с
- Проценко МА (1996) Роль реакций, связанных с формированием растительной клетки, при действии биотрофного гриба на клетку-хозяина (Обзор). Физиол. растений 43: 765–772
- Проценко МА, Ладыженская ЭП, Кораблева НП и др. (1993) Возбудитель фитофтороза *Phytophthora infestans* (Mont) De Bary вмешивается в функционирование рострегулирующей системы клеток картофеля. Физиол. растений 40: 225–229
- Прусакова ЛД, Чижова СИ (1996) Роль брассинолидов в росте, устойчивости и продуктивности растений. Агрохимия 11: 137–150
- Прусакова ЛД, Чижова СИ (1998) Применение производных триазола в растениеводстве. Агрохимия 10: 37–44
- Прусакова ЛД, Чижова СИ (1999) Исследования в области физиологически активных соединений. Агрохимия 9: 12–21



- Прусакова ЛД, Чижова СИ, Агеева ЛФ и др. (2000) Влияние эпибрасинолида и экоста на засухоустойчивость и продуктивность яровой пшеницы. *Агрохимия* 3: 50–54
- Прусакова ЛД, Чижова СИ, Хрипач ВА и др. (1991) Влияние брасиностероидов на рост, развитие и продуктивность зерновых злаковых культур. Экологические аспекты регуляции роста и продуктивности растений. Ярославль 266–271
- Пустовойтова ТН (1981) Стрессовые воздействия и изменение уровня регуляторов роста растений. Рост растений и дифференцировка. М.: Наука 225–244
- Пустовойтова ТН, Баврина ТВ, Ложникова ВН, Жданова НЕ (1997) Использование трансгенных растений для выяснения роли цитокининов в устойчивости к засухе. Докл. РАН 354: 702–704
- Пыжикова ГВ (1984) Септориозы зерновых культур. М.: Колос 54с
- Ракитина ТЯ, Власов ПВ, Жалилова ФХ, Кефели ВИ (1994) Абсцизовая кислота и этилен в мутантах *Arabidopsis thaliana*, различающихся по устойчивости к ультрафиолетовой (УФ-Б) радиации. Физиол. растений 41: 682–686
- Рассел Г (1982) Селекция растений на устойчивость к вредителям и болезням. М.: Колос 8с
- Рахманкулова ЗФ, Усманов ИЮ (2000) Морфофизиологические параметры проростков пшеницы устойчивых и высокопродуктивных сортов в норме и при стрессе. Физиол. растений 47: 608–613
- Родченко ОП, Маричева ЭА, Акимова ГП (1988) Адаптация растущих клеток корня к пониженным температурам. Новосибирск: Наука 152с
- Савич ИМ (1989) Пероксидазы – стрессовые белки растений. Успехи соврем. биол. 107: 406–417
- Сарват М, Кузнецов ВВ, Кулаева ОН (1993) Повышение устойчивости проростков пшеницы под влиянием картолина 2 к тепловому шоку. Докл. РАСХН 1: 9–12
- Сахабутдинова АР, Безрукова МВ, Фатхутдинова РА, Шакирова ФМ (2000) Анализ баланса ИУК и АБК в обработанных салициловой кислотой проростках пшеницы при засолении среды в связи с их ростом. Иммуноанализ регуляторов роста в решении проблем физиологии растений, растениеводства и биотехнологии. Материалы III конф. Уфа 184–188
- Селье Г (1972) На уровне целого организма. М.: Наука 122с
- Строгонов БП (1973) Метаболизм растений в условиях засоления. XXXIII Тимирязевское чтение. М.: Наука 51с
- Султонов Ю, Аксенова ВА, (1978) Белоксинтезирующая активность рибосом инфицированных тканей растений. Биол. науки 11: 99–104
- Таланова ВВ, Титов АФ, Боева НП (1999) Влияние ионов кадмия и свинца на рост и содержание пролина и АБК в проростках огурца. Физиол. растений 46: 164–167
- Талиева МН, Филимонова МВ (1992) О паразитической специализации видов рода *Botrytis* в свете новых экспериментальных данных. Ж. общей биол. 53: 225–231
- Тарчевский ИА (1993) Катаболизм и стресс у растений. 52-е Тимирязевское чтение. М.: Наука 80с
- Тарчевский ИА (2000) Элиситор-индуцируемые сигнальные системы и их взаимодействие. Физиол. растений 47: 321–331
- Тарчевский ИА, Максюткова НН, Яковлева ВГ, Гречкин АН (1999) Янтарная кислота – миметик салициловой кислоты. Физиол. растений 46: 23–25
- Тимофеева ОА, Хохлова ЛП, Трифонова ТВ и др. (1999) Индуцированные модификаторами цитоскелета изменения активности лектинов при адаптации растений к низким температурам и обработке АБК. Физиол. растений 46: 181–186

- Титов АФ, Дроздов СН, Таланова ВВ, Акимов В (1987) О механизмах повышения теплоустойчивости растений при краткосрочном и длительном действии высоких температур. Физиол. растений 34:173–178
- Трапезников ВК, Иванов ИИ, Тальвинская НГ (1999) Локальное питание растений. Уфа: Гилем 260с
- Трошина НБ, Максимов ИВ, Исаев РФ, Ямалеев АМ (1992) Влияние возбудителей грибных болезней на функциональную активность ядер пшеницы. Микология и фитопатол. 26: 148–152
- Трошина НБ, Селимов ФА, Хафизов ВП и др. (1991) Влияние соединений триазола на морфометрические и цитохимические характеристики *Bipolaris sorokiniana* (Sacc) Shoem и *Fusarium graminearum* Schwabe. Микология и фитопатол. 25: 416–418
- Удовенко ГВ (1979) Механизмы адаптации растений к стрессам. Физиол. биохимия культ. растений 11: 99–107
- Удовенко ГВ, Драгавцев ВА, Волкова АМ и др. (1998) Реакция разных генотипов яровой мягкой пшеницы на засуху при различных температурных режимах вегетации. С.-х. биология 3: 60–68
- Урманцев ЮА, Гудсков НЛ (1986) Проблема специфичности и неспецифичности ответных реакций растений на повреждающие воздействия. Журнал общей биол. XLVII: 337–349
- Урманцев ЮА, Пронина НД (1986) Проблема устойчивости растений в трудах ПА Генкеля. Физиол. растений 33: 793–801
- Усманов ИЮ, Кудоярова ГР, Мартынова АВ и др. (1990) Соотношение индолилуксусной и абсцизовой кислот у растений с разным типом адаптивных стратегий. Физиол. биохимия культ. растений 22: 65–68
- Хайруллин РМ, Шакирова ФМ, Безрукова МВ, Ямалеев АМ (1992) Накопление лектина и абсцизовой кислоты в проростках пшеницы под воздействием препаратов аминокислотного ряда бисола 2 и базурана. Новые средства и методы защиты растений. Уфа: УрО РАН 112–117
- Хайруллин РМ, Шакирова ФМ, Максимов ИВ и др. (1993) Изменение содержания лектина, абсцизовой и индолилуксусной кислот в растениях пшеницы, инфицированных *Septoria nodorum* Berk. Физиол. биохимия культ. растений 25: 138–144
- Хайруллин РМ, Юсупова ЗР, Максимов ИВ (2000) Защитные реакции пшеницы при инфицировании грибными патогенами. 1. Взаимодействие анионных пероксидаз пшеницы с хитином, хитозаном и телиоспорами *Tilletia caries*. Физиол. растений 47: 108–113
- Хрипач ВА, Жабинский ВН, Лахвич ФА (1995) Перспективы практического применения брассиностероидов – нового класса фитогормонов. С.-х. биология 1: 3–11
- Чернядьев ИИ (1997) Фотосинтез растений в условиях водного стресса и протекторное влияние цитокининов (Обзор). Прикл. биохимия и микробиол. 33: 5–17
- Чигрин ВВ (1986) Физиолого-биохимическая регуляция совместимости клеток высшего растения и биотрофного патогена на примере взаимодействия пшеницы и возбудителя стеблевой ржавчины. Ж. общей биол. XLVII: 310–327
- Чкаников ДИ (1996) Использование различий химического состава фитопатогенных грибов и растений при изучении их взаимоотношений. Физиол. растений 43: 671–678
- Чкаников ДИ, Артеменко ЕН, Гринченко СГ (1990) О роли индолил-3-уксусной кислоты в патогенезе стеблевой и бурой ржавчины. Физиол. растений 37: 591–595
- Чулкина ВА (1985) Корневые гнили хлебных злаков. Новосибирск: Наука 189с

- Шакирова ФМ* (1999) Участие фитогормонов и лектина пшеницы в ответе растений на стрессовые воздействия. Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. С-ПбГУ 44с
- Шакирова ФМ* (2000) Салициловая кислота – индуктор устойчивости растений (Обзор). *Агрохимия* 11: 87–95
- Шакирова ФМ, Авальбаев АМ, Безрукова МВ, Гималов ФР* (2000б) Уровни гормональной регуляции синтеза лектина в проростках пшеницы. Иммуноанализ регуляторов роста в решении проблем физиологии растений, растениеводства и биотехнологии. Материалы III конф. Уфа 13–18
- Шакирова ФМ, Безрукова МВ* (1997) Индукция салициловой кислотой устойчивости пшеницы к засолению среды. *Известия РАН Сер. биол.* 2: 149–153
- Шакирова ФМ, Безрукова МВ* (1998) Изменение уровня АБК и лектина в корнях проростков пшеницы под влиянием 24-эпибрасинолида и засоления. *Физиол. растений* 45: 451–455
- Шакирова ФМ, Безрукова МВ, Авальбаев АМ* (2000) Гормональная регуляция содержания лектина в корнях проростков пшеницы. *Докл. РАН* 370: 696–697
- Шакирова ФМ, Безрукова МВ, Сахабутдинова АР* (2000а) Влияние салициловой кислоты на урожайность яровой пшеницы и баланс фитогормонов в растениях в онтогенезе. *Агрохимия* 5: 52–56
- Шакирова ФМ, Безрукова МВ, Хайруллин РМ* (1993) Стимуляция увеличения уровня лектина в проростках пшеницы под влиянием солевого стресса. *Известия РАН Сер. биол.* 1: 143–145
- Шакирова ФМ, Безрукова МВ, Шаяхметов ИФ* (1995) Влияние теплового стресса на динамику накопления АБК и лектина в культуре клеток пшеницы. *Физиол. растений* 42: 700–702
- Шакирова ФМ, Клячко НЛ, Кулаева ОН* (1983) Гормональная регуляция экспрессии растительного генома на посттранскрипционном уровне. *Геном растений, структура и экспрессия*. Уфа: БФ АН СССР 189–197
- Шакирова ФМ, Конрад К, Клячко НЛ, Кулаева ОН* (1982) Связь между действием цитокинина на рост изолированных семядолей тыквы и синтезом в них РНК и белка. *Физиол. растений* 29: 52–61
- Шакирова ФМ, Кудоярова ГР, Ямалеев АМ, Еркеев МИ* (1985) Влияние картолина на белоксинтезирующий аппарат растений пшеницы в связи с устойчивостью к мучнистой росе. *Физиол. растений* 32: 396–400
- Шакирова ФМ, Максимов ИВ, Хайруллин РМ и др.* (1994) О влиянии септориоза колоса на динамику накопления лектина и содержание фитогормонов в развивающихся зерновках пшеницы. *Физиол. биохимия культ. растений* 26: 40–45
- Шакирова ФМ, Трошина НБ, Ямалеев АМ* (1989) Влияние байтана на функциональную активность ДНК и синтез белка в листьях в связи с устойчивостью пшеницы к корневым гнилям. *Микология и фитопатол.* 23: 269–273
- Шакирова ФМ, Хайруллин РМ, Безрукова МВ и др.* (1992) Содержание лектина в семенах разных видов пшеницы. *Физиол. биохимия культ. растений* 24: 73–78
- Шакирова ФМ, Хайруллин РМ, Ямалеев АМ* (1990) Сравнительный анализ содержания лектина и абсцизовой кислоты в проростках пшеницы, инфицированных корневыми гнилями. Иммуноферментный анализ регуляторов роста растений. Применение в физиологии растений и экологии. Уфа: БНЦ УрО АН СССР 38–41
- Шаренкова ХА, Селиванкина СЮ, Романко ЕГ и др.* (1983) Активация картолином РНК-полимеразы в листьях ячменя при действии засухи. *Физиол. растений* 30: 1042–1044

- Шаяхметов ИЕ, Гилязетдинов ШЯ, Нугуманов ФХ (2000) Эколого-экономическая стратегия защиты зерновых культур от болезней и сорняков в Башкортостане. Достижения науки и техники 6: 10–13
- Шаяхметов ИФ, Шакирова ФМ (1996) Формирование соматических эмбриоидов в суспензионной культуре клеток пшеницы в присутствии АБК. Физиол. растений 43: 101–103
- Шевелуха ВС, Кулаева ФМ, Шакирова ФМ и др. (1983) Влияние картолина на белоксинтезирующий аппарат листьев ячменя в условиях засухи. Докл. АН СССР 271: 1022–1024
- Ямалеев АМ, Мухсинов ВХ, Исаев РФ и др. (1980) Активность ингибиторов протеаз и устойчивость пшеницы к возбудителю твердой головни. С.-х. биология 1: 143–147
- Ямалеев АМ, Мелентьев АИ, Ямалеева АА (1988) О значении лектинов в защитной реакции растений пшеницы к пыльной головне. С.-х. биология 5: 43–44
- Ямалеев АМ, Серезкина ВГ, Трошина НБ (1990) Цитологическое исследование влияние иммуностимуляторов аминного ряда на развитие гриба *Puccinia graminis* f. s. tritici. Микология и фитопатол. 24: 216–220
- Ямалеев АМ, Яруллина ЛГ, Шакирова ФМ и др. (1989) Влияние байтана на содержание индолилуксусной и абсцизовой кислот в листьях пшеницы при заражении корневыми гнилями. Физиол. растений 36: 397–403
- Abeles FB (1966) Auxin stimulation of ethylene evolution. Plant Physiol. 41: 585–592
- Adam G, Petzold U (1994) Brassinosteroide – eine neue. Phytohormon-Gruppe? Naturwissenschaften 81: 210–217
- Alexander D, Goodman RM, Gut-Rella M et al. (1993) Increased tolerance to two Oomycete pathogens in transgenic tobacco expressing pathogenesis-related protein 1a. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90: 7327–7331
- Allen AK, Neuberger A, Sharon N (1973) The purification, composition and specificity of wheat-germ agglutinin. Biochem J. 131: 155–162
- Altmann T (1999) Molecular physiology of brassinosteroids revealed by the analysis of mutants. Planta 208: 1–11
- Alvarez ME (2000) Salicylic acid in the machinery of hypersensitive cell death and disease resistance. Plant Mol. Biol. 44: 429–442
- Amitai-Zeigerson H, Scolnik CA, Bar-Zvi D (1995) Tomato Asr1 mRNA and protein are transiently expressed following salt stress, osmotic stress and treatment abscisic acid. Plant Sci. 110: 205–213
- Anderson MD, Prasad TK, Martin BA, Stewart CR (1994) Differential gene expression in chilling-acclimated maize seedlings and evidence for the involvement of abscisic acid in chilling tolerance. Plant Physiol. 105:331–339
- Angra R, Mandahar CL, Gulati F (1990) The possible involvement of cytokinins in the pathogenicity of *Helminthosporium maydis*. Mycopathologia 109:177–182
- Araoz R, Lebert M, Hader D-P (1998) Translation activity under ultraviolet radiation and temperature stress in the cyanobacterium *Nostoc* sp. Photochem. Photobiol. 47: 115–120
- Arteca RN, De-Sheng T, Shlagnhauser C, Mandava NB (1983) The effect of brassinosteroid on auxin-induced ethylene production by etiolated mung bean segments. Physiol. Plant. 59: 539–544
- Asami T, Min YK, Nagata N et al. (2000) Characterization of brassinazole, a triazole-type brassinosteroid biosynthesis inhibitor. Plant Physiol. 123: 93–100
- Azpiroz R, Wu Y, LoCascio JC, Feldmann KA (1998) An arabidopsis brassinosteroid-dependent mutant is blocked in cell elongation. Plant Cell 10: 219–230
- Bajguz A, Czerpak R (1998) Physiological and biochemical role of brassinosteroids and their structure-activity relationship in the green alga *Chlorella vulgaris* Beijerinck (*Chlorophyceae*). J. Plant Growth. Reg. 17: 131–139

- Barciszewski J, Rattan SIS, Siboska G, Clark BFC (1999) Kinetin – 45 years on. *Plant Sci.* 148: 37–45
- Barkai-Golan R, Mirelman D, Sharon N (1978) Studies on growth inhibition by lectins of *Penicilla* and *Aspergilli*. *Arch. Microbiol.* 116: 119–124
- Barraqueta-Egea P, Schauz K (1983) The influence of phytolectins on spore germination of *Tilletia caries*, *Puccinia graminis* and *Aspergillus flavus*. *Z. für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* 90: 488–495
- Barratt DHP (1986) Modulation by abscisic acid of storage protein accumulation in *Vicia faba* L cotyledons cultured *in vitro*. *Plant Sci.* 46: 159–167
- Bartinicki-Garcia S (1968) Cell wall chemistry, morphogenesis, and taxonomy of fungi. *Annu. Rev. Microbiol.* 22: 87–108
- Basha EM, Waters ER, Vierling E (1999) *Triticum aestivum* cDNAs homologous to nuclear-encoded mitochondrion-localized small shock proteins. *Plant Sci.* 141: 93–99
- Bednarek SY, Wilkins TA, Dombrowski JE, Raikhel NV (1990) A carboxyl-terminal propeptide is necessary for proper sorting of barley lectin to vacuoles of tobacco. *Plant Cell* 2: 1145–1155
- Beinhauer K, Andreas W, Greuzburg D *et al.* (1990) Brassinosteroids-induced stimulation of growth and invertase activity in radish cotyledons. *Int. Workshop Brassinosteroids Chemistry, Bioactivity, Application. Inst. Plant Biochem. Halle 1*: 22
- Bent AF (1996) Plant disease resistance genes: function meets structure. *Plant Cell* 8: 1757–1771
- Bewley JD (1997) Seed germination and dormancy. *Plant Cell* 9: 1055–1066
- Binns AN (1994) Cytokinin accumulation and action: biochemical, genetic, and molecular approaches. *Annu. Rev. Plant Mol. Biol.* 45: 173–196
- Bishop GJ, Yokota T (2001) Plant steroid hormones, brassinosteroids: current highlights of molecular aspects on their synthesis/metabolism, transport, perception and response. *Plant Cell Physiol.* 42: 114–120
- Blackman SA, Oberndorf RL, Leopold AC (1993) ABA induced LEA proteins and desiccation tolerance in developing soybean seeds. *Plant Physiol.* 102: 6–12.
- Bleecker AB (1999) Ethylene perception and signalling: an evolutionary perspective. *Trends Plant Sci.* 4: 269–274
- Bohnert HJ, Nelson DE, Jensen RG (1995) Adaptation to environmental stresses. *Plant Cell* 7: 1099–1111
- Bonetta D, McCourt P (1998) Genetic analysis of ABA signal transduction pathways. *Trends Plant Sci.* 3: 231–235
- Bonham-Smith PC, Kapoor M, Bewley JD (1987) Establishment of thermotolerance in maize by exposure to stresses other than a heat shock does not require heat shock protein synthesis. *Plant Physiol.* 86: 575–580
- Bonham-Smith PC, Kapoor M, Bewley JD (1988) Exogenous application of abscisic acid or triadimefon affected the recovery of *Zea mays* seedlings from heat shock. *Physiol. Plant.* 73: 27–30
- Bostock RM, Quatrano RS (1992) Regulation of *Em* gene expression in rice. *Plant Physiol.* 98: 1356–1363
- Bouckaert J, Hamelryck T, Wyns L, Loris R (1999) Novel structures of plants lectins and their complexes with carbohydrates. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 9: 572–577
- Bousquet JF, Touraud G, Piollat MT, Bosch U (1990) ABA accumulation in wheat heads inoculated with *Septoria nodorum* in the field condition. *J. Agron. Crop. Sci.* 165: 297–300
- Bradshaw-Rose JJ, Whatley MH, Coplin DL *et al.* (1981) Agglutination of *Erwinia stewartii* strains with a corn agglutinin: correlation with extracellular polysaccharide production and pathogenicity. *Appl. Environmental Microbiol.* 42: 344–350

- Brambl R, Gade W* (1985) Plant seed lectin disrupt growth of germinating fungal spores. *Physiol. Plant.* 64: 402–408
- Braun P, Wild A* (1984) The influence of brassinosteroid on growth and parameters of photosynthesis of wheat and mustard plants. *J. Plant Physiol.* 116: 189–285
- Bray EA* (1993) Molecular responses to water deficit. *Plant Physiol.* 103: 1035–1040
- Broecaert WF, Van Parijs J, Leyns F et al.* (1989) A Chitin-binding lectin from stinging nettle rhizomes with antifungal properties. *Science* 245: 1100–1102
- Bronnimann A* (1982) Entwicklung der Kenntnisse über *Septoria nodorum* Berk im Hinblick auf die Toleranz – oder Resistenzzüchtung bei Weizen. *Neth. J. Agric. Sci.* 30: 47–69
- Brownleader MD, Hopkins J, Mobasheri A et al.* (2000) Role of extensin peroxidase in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) seedling growth. *Planta* 210: 668–676
- Burden RS, Clark T, Holloway PJ* (1987) Effect of sterol biosynthesis-inhibiting fungicides and plant growth regulators on the sterol composition of barley plants. *Pestic Biochem. Physiol.* 27: 289–300
- Busk PK, Pages M* (1998) Regulation of abscisic acid-induced transcription. *Plant Mol. Biol.* 37: 425–435
- Cammue BHA, Broeckart WF, Peumans WJ* (1990) Wheat germ agglutinin in wheat seedling roots induction by elicitors and fungi. *Plant Cell Rept.* 9: 264–267
- Cammue BPA, Broecaert WF, Kellens TS et al.* (1989) Stress-induced accumulation of wheat germ agglutinin and abscisic acid in roots of wheat seedlings. *Plant Physiol.* 91: 1432–1435
- Cammue BPA, Raikhel NV, Peumans WJ* (1988) Occurrence and synthesis of isolectins in different tissues of wheat. *Biochem. Physiol. Pflanzen* 183: 379–387
- Cammue BPA, Stinissen HM, Peumans WJ* (1985) Lectin in vegetative tissues of adult barley plants grown under field conditions. *Plant Physiol.* 78: 384–387
- Cao H, Chen S* (1995) Brassinosteroid-induced rice lamina joint inclination and its relation to indole-3-acetic acid and ethylene. *Plant Growth Regul.* 16: 189–196
- Carr JP, Klessing DF* (1989) The pathogenesis-related proteins of plants. *Genetic engineering: principles and methods*. Ed. JK Setlow. N. Y.: Plenum Press 65–109
- Caruso C, Chilosi G, Caporale C et al.* (1999) Induction of pathogenesis-related proteins in germinating wheat seeds infected with *Fusarium culmorum*. *Plant Sci.* 140: 87–97
- Cellier F, Clarke AE, Gleeson PA et al.* (1978) Characterization and localization of  $\beta$ -lectins in lower and higher plants. *Aust. J. Plant Physiol.* 5: 707–722
- Chadha K, Brown SA* (1974) Biosynthesis of phenolic acids in tomato plants infected with *Agrobacterium tumefaciens*. *Can. J. Bot.* 52: 2041–2046
- Chai TY, Didierjean L, Burkard G, Genot G* (1998) Expression of a green tissue-specific 11 kDa prolin-rich protein gene in bean in response to heavy metals. *Plant Sci.* 133: 47–56
- Chaloupkova K, Smart CC* (1994) The abscisic acid induction of novel peroxidase is antagonized by cytokinin in *Spirodela polyrrhiza* L. *Plant Physiol.* 105: 497–504
- Chao WS, Gu Y-Q, Paulot V et al.* (1999) Leucine aminopeptidase RNAs, proteins, and activities increase in response to water deficit, salinity, and the wound signals systemin, methyl jasmonate, and abscisic acid. *Plant Physiol.* 120: 979–992
- Chen CCS, Plant AL* (1999) Salt-induced protein synthesis in tomato roots: the role of ABA. *J. Exp. Botany* 50: 677–687
- Chen Z, Iyer S, Caplan A et al.* (1997) Differential accumulation of salicylic acid-sensitive catalase in different rice tissues. *Plant Physiol.* 114: 193–201
- Chen Z, Malamy J, Henning J et al.* (1995) Induction, modification, and transduction of salicylic acid signal in plant defence responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92: 4134–4137
- Chen Z, Silva H, Klessing DF* (1993) Active oxygen species in the induction of plant systemic acquired resistance by salicylic acid. *Science* 262: 883–1886

- Chrispeels MJ, Raikhel NV (1991) Lectins, lectin genes and their role in plant defence. *Plant Cell* 3: 1–9
- Ciopruga J, Gozia O, Tudor R et al. (1999) *Fusarium* sp. growth inhibition by wheat germ agglutinin. *Biochim. Biophys. Acta* 1428: 424–432
- Citores L, De Benito F, Iglesias R, Jimenez P (1996) Isolation and characterization of a new non-toxic two-chain ribosome-inactivating protein from fruits of elder (*Sambucus nigra* L.). *J. Exp. Botany* 47: 1577–1585
- Clark RAC, Kuster B, Benallal M et al. (1999) Characterisation of tissue-specific oligosaccharides from rat brain and kidney membrane preparation enriched in Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase. *Glycoconjugate J.* 16: 437–456
- Cleland CF, Tanaka O (1979) Effect of daylength on the ability of salicylic acid to induce flowering in the long-day plant *Lemna gibba* G3 and the short-day plant *Lemna paucicostata* 6746. *Plant Physiol.* 64: 421–424
- Close TJ (1997) Dehydrins: A commonality in the response of plants to dehydration and low temperature. *Physiol. Plant.* 100: 291–296
- Clouse SD (1997) Molecular genetic analysis of brassinosteroid action. *Physiol. Plant.* 100: 702–709
- Clouse SD, Langford M, McMorris FC (1996) A brassinosteroid-insensitive mutant in *Arabidopsis thaliana* exhibits multiple defects in growth and development. *Plant Physiol.* 111: 671–678
- Clouse SD, Zurek DM, McMorris FC, Baker ME (1992) Effect of brassinolide on gene expression in elongating soybean epicotyls. *Plant Physiol.* 100: 1377–1383
- Cohen A, Moses MS, Plant AL, Bray EA (1999) Multiple mechanism control the expression of abscisic acid (ABA)-requiring genes in tomato plants exposed to soil water deficit. *Plant Cell Environm.* 22: 989–998
- Cohen JD, Meudt WJ (1983) Investigations on the mechanism of the brassinosteroid response. 1. Indole-3-acetic acid metabolism and transport. *Plant Physiol.* 72: 691–694
- Collinge DB, Slusarenko AJ (1987) Plant gene expression in response to pathogens (Review). *Plant Mol. Biol.* 9: 389–412
- Conrath U, Chen Z, Ricigliano JR, Klessing DF (1995) Two inducers of plant defence responses, 2,6-dichloroisonicotinic acid and salicylic acid, inhibit catalase activity in tobacco. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92: 7143–7147
- Coquoz J-L, Buchala A, Metraux J-P (1998) The biosynthesis of salicylic acid in potato plants. *Plant Physiol.* 117: 1095–1101
- Cornels H, Ichinose Y, Barz W (2000) Characterization of cDNAs encoding two glycine-rich proteins in chickpea (*Cicer arietinum* L.): accumulation in response to fungal infection and other stress factors. *Plant Sci.* 154: 83–88
- Creelman RA, Mullet JE (1997) Oligosaccharins, brassinolides, and jasmonates: nontraditional regulators of plant growth, development, and gene expression. *Plant Cell* 9: 1211–1223
- Creelman RA, Mullet JE (1997a) Biosynthesis and action of jasmonates in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48: 355–381
- Cutler AJ, Krochko JE (1999) Formation and breakdown of ABA. *Trends Plant Sci.* 4: 472–477
- Dahse I, Sack H, Bernstein M et al. (1990) Effects of (22S,23S) homobrassinolide and related compounds on membrane potential and transport of *Egeria* leaf cells. *Plant Physiol.* 93: 1268–1261
- Dangl J (1998) Plants just say NO to pathogens. *Nature* 394: 525–527
- Delaney TP, Friedrich L, Ryals JA (1993) *Arabidopsis* signal transduction mutant defective in chemically and biologically induced disease resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92: 6602

- Deleu C, Coustaut M, Niogret M-F, Larher F (1999) Three new osmotic stress-regulated cDNAs identified by differential display polymerase chain reaction in rapeseed leaf discs. *Plant Cell Environm.* 22: 979–989
- Desikan R, Hagenbeek D, Neill SJ, Rock CD (1999) Flow cytometry and surface plasmon resonance analyses demonstrate that the monoclonal antibody JIM19 interact with a rice cell surface component involved in abscisic acid signalling in protoplasts. *FEBS Letts.* 456: 257–262
- Dey PM, Brownleader MD, Pantelides AT et al. (1997) Extensin from suspension-cultured potato cells: a hydroxyproline-rich glycoprotein, devoid of agglutinin activity. *Planta* 202: 179–187
- Dhaubhadel S, Chaudhary S, Dobinson K et al. (1999) Treatment with 24-epibrassinolide, a brassinosteroid, increases the basic thermotolerance of *Brassica napus* and tomato seedlings. *Plant Mol. Biol.* 40: 333–342
- Dixon RA (1986) Host antifungal agents. *Nature* 324: 303–304
- Dixon RA, Palva NL (1995) Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell* 7: 1085–1097
- Doares SH, Syrovets T, Weiler EW, Ryan CA (1995) Oligogalacturonides and chitosan activate plant defensive gene through the octadecanoid pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92: 4095–4098
- Does MP, Cornelissen BJC (1999) A chimeric of *Urtica dioica* agglutinin and tobacco chitinase display both agglutination and chitinase activity. *Plant Sci.* 148: 121–129
- Dong X (1995) Finding the missing pieces in the puzzle of plant disease resistance. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92: 7137–7139
- Du H, Klessing DF (1997) Identification of a soluble, high-affinity salicylic acid-binding protein in *Tobacco*. *Plant Physiol.* 113: 1319–1327
- Du H, Klessing DF (1997a) Role for salicylic acid in the activation of defence responses in catalase-deficient transgenic tobacco. *Mol. Plant. Micr. Interaction* 10: 922–925
- Dunlap JR, Binzel ML (1994) Is indole-3-acetic acid part of the signal mechanism regulating salinity stress in tomato? *Plant Physiol.* 105(s): 24
- Dure LS III, Crouch M, Harada J et al. (1989) Common amino acid sequence domains among the LEA proteins of higher plants. *Plant Mol. Biol.* 12: 475–486
- Durner J, Klessing DF (1996) Salicylic acid is a modulator of tobacco and mammalian catalases. *J. Biol. Chem.* 271: 28492–28501
- Durner J, Shah J, Klessing DF (1997) Salicylic acid and disease resistance in plants. *Trends Plant Sci.* 2: 266–274
- Ebrahim-Nesbat F, Rohringer R, Heitefuss R (1982) Ultrastructural and histochemical studies on mildew of barley (*Erysiphe graminis* DC f s: hordei Marchal). II Host cell penetration, papillae, and haustorial apparatus in the fifth leaf of susceptible plants. *Phytopath. Z.* 105: 248–264
- Edelman GM, Wang JL (1978) Binding and functional properties of concanavalin A and its derivatives. III Interactions with indoleacetic acid and other hydrophobic ligands. *J. Biol. Chem.* 253: 3016–3022
- Edwards R (1994) Conjugation and metabolism of salicylic acid in tobacco. *Plant Physiol.* 143: 609–614
- Enyedi AJ, Yalpani N, Silverman P, Raskin I (1992) Localization, conjugation and function of salicylic acid in tobacco during the hypersensitive reaction to tobacco mosaic virus. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89: 2480–2484
- Espinosa JF, Asensio JL, Garsia JL et al. (2000) NMR investigation of protein-carbohydrate. Binding studies and refine three-dimensional solution structure of the complex between the B domain of wheat germ agglutinin and N,N',N''-triacylchitotriose. *Eur. J. Biochem.* 267: 3965–3978



- Etzler ME* (1986) Distribution and function of plant lectins. The lectins: Properties, functions and applications in biology and medicine. Ed. I Liener. Orlando: Academic Press 371–435
- Etzler ME, Kalsi G, Ewing NN al* (1999) A nod factor binding lectin with apyrase activity from legume roots. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96: 5856–5861
- Eun J-S, Karaishi S, Sakurai N* (1989) Changes in level of auxin and abscisic acid and the evolution of ethylene in squash hypocotyls after treatment with brassinolide. *Plant Cell Physiol.* 30: 807–810
- Ferens-Sieczkowska M, Karczewska J, Morawiecka B* (1989) The lectin level and the effect of abscisic acid on hemagglutinating activity during rye germination. *Acta Soc. Bot. Pol.* 58: 343–350
- Ferguson IB, Lurie S, Bowen JH* (1994) Protein synthesis and breakdown during heat shock of culture pear (*Pyrus communis* L.) cells. *Plant Physiol.* 104: 1429–1437
- Fletcher RA, Arnold V* (1986) Stimulation of cytokinins and chlorophyll synthesis in cucumber cotyledons by triadimefon. *Physiol. Plant.* 66: 197–201
- Fletcher RA, Hofstra G* (1985) Triadimefon a plant multiprotectant. *Plant Cell Physiol.* 26: 775–780
- Fletcher RA, Hofstra G* (1987) Triazoles as plant stress protectants. *Highlights Agr. Res.* 10: 12–14
- Fosket DE, Tefer DA* (1978) Hormonal regulation on of growth in culture plant cells. *In vitro* 14: 63–75
- Fraissinet-Tachet L, Baltz R, Chong J et al.* (1998) Two tobacco genes induced by infection, elicitor and salicylic acid encode glucosyltransferases acting on phenylpropanoids and benzoic acid derivatives, including salicylic acid. *FEBS Letts.* 437: 319–323
- Franco E, Alessandrelli S, Masojidek Jet al.* (1999) Modulation of D1 protein turnover under cadmium and heat stresses monitored by [<sup>35</sup>S] methionine incorporation. *Plant Sci.* 144: 53–61
- Fry SC* (1995) Polysaccharide-modifying enzymes in the plant cell wall. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 46: 497–520
- Gaffney T, Friedrich L, Vernooij B et al.* (1993) Requirement of salicylic acid for the induction systemic acquired resistance. *Science* 261: 754–756
- Gallie DR* (1993) Posttranscriptional regulation of gene expression in plants. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 44: 77–105
- Gaudino RJ, Pikkard CS* (1997) Cytokinin induction of RNA-polymerase-I transcription in *Arabidopsis thaliana*. *J. Biol. Chem.* 272: 6799–6804
- Gehring CA* (1999) Natriuretic peptides – a new class of plant hormones? *Annals Bot.* 83: 329–334
- Genoud T, Metraux J-P* (1999) Crosstalk in plant cell signalling: structure and function of the genetic network. *Trends Plant Sci.* 4: 503–507
- Gibson DM, Sharon SI, House KJ* (1982) A comparison of soybean agglutinin in cultivars resistant and susceptible to *Phytophthora megasperma* var *sojae* (Race 1). *Plant Physiol.* 70: 560–566
- Glass ADM* (1973) Influence of phenolic acids on ion uptake: I. Inhibition of phosphate uptake. *Plant Physiol.* 51: 1037–1041
- Glazer RI* (1976) The action of cordycepin on nascent nuclear RNA and poly(A) synthesis in regenerating liver. *Biochem. Biophys. Acta* 418: 160–166
- Goetz M, Godt DE, Roitrsch T* (2000) Tissue-specific induction of the mRNA for an extracellular invertase isoenzyme of tomato by brassinosteroids suggests a role for steroid hormones in assimilate partitioning. *Plant J.* 22: 515–522

- Gordon DR, Czerwinski-Mowers D, Marchand J *et al.* (1998) Endocytosis by the corneal endothelium. I. Regulation of binding and transport of hemiproteins and peroxidase-conjugated lectins across the tissue. *Histochemistry Cell Biol.* 110: 251–262
- Gorlach J, Volrath S, Knauf-Beiter G *et al.* (1996) Benzothiadiazol, a novel class of inducers of systemic acquired resistance, activates gene expression and disease resistance in wheat. *Plant Cell* 8: 629–643
- Graham TL, Graham MY (1991) Cellular coordination of molecular responses in plant defence. *Mol. Plant Micr. Interact.* 4: 415–422
- Gregory LE, Mandava NB (1982) The activity and interaction of brassinolide and gibberellic acid in mung bean epicotyls. *Physiol. Plant.* 54: 239–243
- Grove DM, Spenser GF, Rohwedder WK *et al.* (1979) Brassinolide, a plant growth-promoting steroid isolated from *Brassica napus* pollen. *Nature* 281: 216–217
- Guan L, Scandalios JG (1995) Developmentally related responses of maize catalase gene to salicylic acid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92: 5930–5954
- Hamelryck TW, Loris R, Bouckaert J, Dao-Thi MN (1999) Carbohydrate binding, quaternary structure and a novel hydrophobic binding site in two legume lectin oligomers from *Dolichos biflorus*. *J. Mol. Biol.* 5: 1161–1177
- Hammond-Kosack KE, Gones JDG (1996) Resistance gene dependent plant defence responses. *Plant Cell* 8: 1773–1791
- Hare PD, Cress WA, van Staden J (1999) Proline synthesis and degradation: a model system for elucidating stress-related signal transduction. *J. Exp. Bot.* 50: 413–434
- Harpham NJ, Berry AW, Holland MG *et al.* (1996) Ethylene binding sites in higher plants. *Plant hormone signal perception and transduction*. Eds. AR Smith *et al.*: Kluwer Acad Publ: Dortrecht etc. 119–125
- Hazra BG, Pore S (1998) Brassinosteroids, new class of phytohormones. *J. Ind. Chem. Society* 75: 746–757
- Heese-Peck A, Cole RN, Borkhsenius ON *et al.* (1995) Plant nuclear pore complex proteins are modified by novel oligosaccharides with terminal N-acetylglucosamine. *Plant Cell* 7: 1459–1471
- Heese-Peck A, Raikhel NV (1998) A glycoprotein modified with terminal N-acetylglucosamine and localized at the nuclear rim shows sequence similarity to aldose-1-epimerases. *Plant Cell* 10: 599–612
- Hernandez JA, Jimenez A, Multineaux P, Sevilia F (2000) Tolerance of pea (*Pisum sativum* L) to long-term salt stress is associated with induction of antioxidant defences. *Plant Cell Environm.* 23: 853–862
- Hincha DK, Bakaltcheva I, Schmitt JM (1993) Galactose-specific lectins protect isolated thylakoids against freeze-thaw damage. *Plant Physiol.* 103: 59–63
- Hincha DK, Pfuller U, Schmitt JM (1997) The concentration of cryoprotective lectins in mistletoe (*Viscum album* L) leaves is correlated with leaf frost hardiness. *Planta* 203: 140–144
- Ho DTH (1980) Hormonal and genetic regulation of  $\alpha$ -amylase synthesis in barley aleurone cells. *Genome organization and expression in plants*. Ed. CJ Leaver. N. Y.; L.: Plenum Press 147–157
- Hoffmann-Benning S, Kende H (1992) The role of abscisic acid and gibberellin in the regulation of growth in rice. *Plant Physiol.* 99: 1156–1161
- Holappa LD, Walker-Simmons MK (1995) The wheat abscisic acid-responsive protein kinase mRNA, PKABA1, is up-regulated by dehydration, cold temperature, and osmotic stress. *Plant Physiol.* 108: 1203–1210
- Holmberg L, Nygard O (1996) Depurination of A4256 in 28 S rRNA by the ribosome-inactivating proteins from barley and ricin results in different ribosome conformations. *J. Mol. Biol.* 259: 81–94

- Hong SW, Jon JH, Kwak JM, Nam HG (1997) Identification of a receptor-like protein kinase gene rapidly induced by abscisic acid, dehydration, high salt, and cold treatments in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol.* 113: 1203–1212
- Hoyos ME, Zhang S (2000) Calcium-independent activation of salicylic acid-induced protein kinase and 40-kilodalton protein kinase by hyperosmotic stress. *Plant Physiol.* 122: 1355–1363
- Hsu F, Kleier D (1990) Phloem mobility of xenobiotics. 3. Sensitivity of unified model to plant parameters and application to patented chemical hybridizing agents. *Weed Sci.* 38: 315–323
- Hughes MA, Dunn MA (1996) The molecular biology of plant acclimation to low temperature. *J. Exp. Botany* 47: 296–305
- Hughes RK, Dickerson AG (1990) Auxin regulation of *Phaseolus vulgaris* to a fungal elicitor. *Plant Cell Physiol.* 31: 667–675
- Hurkman W, Tanaka CK (1987) The effects of salt on the pattern of protein synthesis in barley roots. *Plant Physiol.* 83: 517–524
- Hurkman W, Tanaka CK (1996) Effect of salt stress on germin gene expression in barley roots. *Plant Physiol.* 110: 971–977
- Hwang DL, Yang WK, Foard DE (1978) Rapid release of protease inhibitors from soybeans. Immunochemical quantitation and parallels with lectins. *Plant Physiol.* 61: 30–34
- Iseli-Gamboni B, Boller T, Neuhaus J-M (1998) Mutation of either of two essential glutamates converts the catalytic domain of tobacco class I chitinase into a chitin-binding lectin. *Plant Sci.* 134: 45–51
- Ishige F, Yamazaki K, Mori H, Imaseki H (1991) The effect of ethylene on the coordinated synthesis of multiple proteins: accumulation of an acidic chitinase and a basic glycoprotein induced by ethylene in leaves of azuki bean, *Vigna angularis*. *Plant Cell Physiol.* 32: 681–691
- Ishikawa M, Robertson AJ, Gusta L (1995) Comparison of viability tests for assessing cross-adaptation to freezing, heat and salt stresses induced by abscisic acid in bromegrass (*Bromus inermis* leys) suspension culture cells. *Plant Sci.* 107: 83–93
- Isla MI, Vattuone MA, Sampietro AR (1991) Proteinaseous inhibitor from *Solanum tuberosum* invertase. *Phytochemistry* 30: 739–743
- Ismail A, Hall AE, Close TJ (1999) Allelic variation of a dehydrin gene cosegregates with chilling tolerance during seedling emergence. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 96: 13556–13570
- Jacinto T, McCurl B, Ryan CA (1999) Wound-regulation and tissue specificity of the tomato prosystemin promoter in transgenic tobacco plants. *Plant Sci.* 14: 155–159
- Jackson M (1993) Are plants hormones involved in root to shoot communication? In: *Advanced in Botanical Research* 19 Ed. JA Callow Academic Press 103–187
- Jackson M (1997) Hormones from roots as signal for the shoots of stressed plants Elsevier Trends J. 2: 22–28
- Jonson KD, Daniels D, Dowler MJ, Rayle DL (1974) Activation of *Avena* coleoptile cell wall glycosidases by hydrogen ions and auxin. *Plant Physiol.* 53: 222–228
- Jouanin L, Bonade-Bottino M, Girard C et al. (1998) Transgenic plants for insect resistance. *Plant Sci.* 131: 1–11
- Jung J-L, Fritting B, Hahne G (1993) Sunflower (*Helianthus annuus* L) pathogenesis-related proteins. Induction by aspirin (acetylsalicylic acid) and characterization. *Plant Physiol.* 101: 873–880
- Kakimoto T (1998) Cytokinin signalling. *Curr. Opin. Plant Biol.* 1: 399–403
- Kalinich JF, Mandava NB, Todhunter JA (1985) Relationship of nucleic acid metabolism to brassinolide-induced responses in beans. *J. Plant Physiol.* 120: 207–221

- Katsumi M (1985) Interaction of a brassinosteroid with IAA and GA<sub>3</sub> in the elongation of cucumber hypocotyl sections. *Plant Cell Physiol.* 26: 615–625
- Katz A, Thulke OU, Conrath U (1998) A benzothiadiazole primes parsley cells for augmented elicitation of defence responses. *Plant Physiol.* 117: 1333–1339
- Kauss H, Jeblick W (1996) Influence of salicylic acid on the induction of competence for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> elicitation. Comparison of ergosterol with other elicitors. *Plant Physiol.* 111: 755–763
- Kawano T, Sahashi N, Takahashi K *et al.* (1998) Salicylic acid induces extracellular superoxide generation followed by an increase in cytosolic calcium ion in tobacco suspension culture: the earliest events in salicylic acid signal transduction. *Plant Cell Physiol.* 39: 721–730
- Kende H, Zeevaart JAD (1997) The five «classical» plant hormones. *Plant Cell* 9: 1197–1210
- Khripach V, Zhabinskii V, de Groot A (2000) Twenty years of brassinosteroids: steroidal plant hormones warrant better crops for the XXI century. *Annals Bot.* 86: 441–447
- Kiraly Z, Ersek T, Barna B, Adam A, Gullner G (1991) Pathophysiological aspects of plants disease resistance. *Acta Phytopath. Entomol. Hungarica* 26: 233–250
- Klyachko NL, Ananiev E, Kulaeva ON (1979) Effect of 6-benzylaminopurine and abscisic acid on protein synthesis in isolated pumpkin cotyledons. *Physiol Vegetale* 17: 607–617
- Knogge W (1996) Fungal infection of plants. *Plant Cell* 8: 1711–1722
- Kobayashi K, Fukuda M, Igarashi D, Sunaoshi M (2000) Cytokinin-binding proteins from tobacco callus share homology with osmotin-like protein and an endochitinase. *Plant Cell Physiol.* 41: 148–157
- Kolattukudy PE, Rogers LM, Li D *et al.* (1995) Surface signalling in pathogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92: 4080–4087
- Kuc J (1982) Induced immunity to plant disease. *BioSci.* 32: 854–860
- Kudoyarova G, Veselov D, Symonyan M *et al.* (2001) Fast shoot responses to root treatment. Are hormones involved? Recent advances of Plant root structure and function. Eds. O. Gasparikova *et al.* Dordrecht etc.: Kluwer Acad Publ. 85–92
- Kuznetsov VV, Herrmann RG, Kulaeva ON, Oelmüller R (1998) Cytokinin stimulates and abscisic acid inhibits greening of etiolated *Lupinus luteus* cotyledons by affecting the expression of the light-sensitive protochlorophyllide oxidoreductase. *Mol. Gener. Genetics* 259: 21–28
- Kuznetsov VV, Rakitin VYu, Borisova NN, Rotschupkin BV (1993) Why does heat shock increase salt resistance in cotton plants? *Plant Physiol. Biochem.* 31: 181–188
- Lamb C, Dixon RA (1997) The oxidative burst in plant disease resistance. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48: 251–275
- Lang V, Mantyla E, Welin B *et al.* (1994) Alterations in water status, endogenous abscisic acid content, and expression of *rab18* gene during the development of freezing tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol.* 104: 1341–1349
- Lawton KA, Potter ShL, Ukness S, Ryals J (1994) Acquired resistance signal transduction in *Arabidopsis* is ethylene independent. *Plant Cell* 6: 581–588
- Leach JE, Cantrell MA, Sequerira L (1982) Hydroxyproline-rich bacterial agglutinin from potato. Extraction, purification, and characterization. *Plant Physiol.* 70: 1353–1358
- Lee H-I, Leon J, Raskin I (1995) Biosynthesis and metabolism of salicylic acid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92: 4076–4079
- Lee S, Woffenden BJ, Beers EP, Roberts AW (2000) Expansion of cultures *Zinnia* mesophyll cells in response to hormones and light. *Physiol. Plant.* 108: 216–222
- Leon J, Lawton MA, Raskin I (1995) Hydrogen peroxide stimulates salicylic acid biosynthesis in tobacco. *Plant Physiol.* 108: 1673–1678

- Leung J, Giraudat J (1996) Absciscic acid signal transduction. *Annu. Rev. Plant Mol. Biol.* 49: 199–222
- Levinsh G, Valcina A, Ozola D (1995) Induction of ascorbate peroxidase activity in stressed pine (*Pinus sylvestris* L) needles: a putative role for ethylene. *Plant Sci.* 112: 167–173
- Li A, Heath C (1990) Effect of plant growth regulators on the interactions between bean plants and rust fungi non-pathogenic on beans. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 37: 245–254
- Lis H, Sharon H (1986) Lectins as molecules and as tools. *Annu. Rev. Biochem.* 55: 35–67
- Long ShR (1996) Rhizobium symbiosis: nod factors in perspective. *Plant Cell* 8: 1885–1898
- Lord JM (1985) The structure and synthesis of plant lectins. *New Phytol.* 101: 351–366
- Lord JM, Hartley MR, Robertson LM (1991) Ribosome inactivating proteins of plants. *Semin. Cell Biol.* 2: 15–22
- Loris R, Hamelryck T, Bouckaert J, Wyns L (1998) Legume lectin structure. *Biochim. Biophys. Acta* 1383: 9–36
- Lui D, Raghothama KG, Hasegawa PM *et al.* (1994) Osmotin overexpression in potato delays development of disease symptoms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91: 1888–1892
- Mandava NB (1988) Plant growth-promoting brassinosteroids. *Annu. Rev. Plant Physiol.; Plant Mol. Biol.* 39: 23–52
- Mandava NB, Sasse JM, Yopp JH (1981) Brassinolide, a growth promoting steroidal lactone. II. Activity in selected gibberellin and cytokinin bioassays *Physiol Plant.* 53: 453–514
- Mandava NB, Thompson MJ, Yopp JH (1987) Effects of selected putative inhibitors of RNA and protein synthesis on brassinosteroid-induced growth in mung bean epicotyls. *J. Plant Physiol.* 128: 63–68
- Mansfield MA, Peumans WJ, Raikhel NV (1988) Wheat germ agglutinin is synthesized as a glycosylated precursor. *Planta* 173: 482–489
- Mansfield MA, Raikhel NV (1990) Absciscic acid enhances the transcription of wheat-germ agglutinin mRNA without altering its tissue-specific expression. *Planta* 180: 548–554
- Marchesi VT (1972) Wheat germ (*Triticum vulgaris*) agglutinin. *Methods in Enzymology*. Ed. Ginsberg. N. Y.: Academic Press, 28: 354–356
- Mauch F, Mauch-Mani B, Boller T (1988) Antifungal hydrolases in pea tissue. II. Inhibition of fungal growth by combinations of chitinase and  $\beta$ -1,3-glucanase. *Plant Physiol* 88: 936–942
- Mauch-Mani B, Metraux J-P (1998) Salicylic acid and systemic acquired resistance to pathogen attack. *Annals Bot.* 82: 535–540
- Mauch-Mani B, Slusarenko AJ (1996) Production of salicylic acid precursors is a major function of phenylalanine ammonia-lyase in the resistance of *Arabidopsis* to *Peronospora parasitica*. *Plant Cell* 8: 203–212
- Mazau D, Esquerre-Tugaye MT (1986) Hydroxyprolin-rich glycoprotein accumulation in the cell walls of plants infected by various pathogens. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 29: 157–165
- Merkouropoulos G, Barnett DC, Shirsat AH (1999) The arabidopsis extensin gene is developmentally regulated, is induced by wounding, methyl jasmonate, absciscic and salicylic acid, and codes for a protein with unusual motifs. *Planta* 208: 212–219
- Metraux J-P, Signer H, Ryals J *et al.* (1990) Increase in salicylic acid at the onset of systemic acquired resistance in cucumber. *Science* 250: 1004
- Meyer A, Muller P, Semadeni G (1987) Air pollution and plant hormones. *Biochem. Physiol. Pflanz.* 182: 1–21
- Michael G, Beringer H (1980) The role of hormones in yield formation. *Physiol. Aspects Crop Prod. Bern.* 85–66

- Mikolajczyk M, Awotunde OS, Muszynska G *et al.* (2000) Osmotic stress induces rapid activation of a salicylic acid-induced protein kinase and a homolog of protein kinase ASK1 in tobacco cells. *Plant Cell* 12: 165–178
- Milborrow B (1974) The chemistry and physiology of abscisic acid. *Annu. Rev. Plant Physiol.* 25: 259–307
- Mirelman D, Galun E, Sharon N, Lotan R (1975) Inhibition of fungal growth by wheat germ agglutinin. *Nature* 256: 414–416
- Mishkind D, Raikhel NV, Palevits BA, Keegstra K (1982) Immunocytochemical localization of wheat germ agglutinin in wheat. *J. Cell Biol.* 92: 753–764
- Mishkind M, Keegstra K, Palevitz A (1980) Distribution of wheat germ agglutinin in young wheat plants. *Plant Physiol.* 66: 950–955
- Mishra A, Choudhuri MA (1999) Effect of salicylic acid on heavy metal-induced membrane deterioration mediated by lipoxygenase in rice. *Biol. Plant.* 42: 409–415
- Mitchell JW, Mandava N, Worley JF *et al.* (1970) Brassins – a new family of plant hormones from rape pollen. *Nature* 225: 1065–1066
- Molders W, Buchala A, Metraux J-P (1996) Transport of salicylic acid in tobacco necrosis virus-infected cucumber plants. *Plant Physiol.* 112: 787–792
- Montero E, Cabot C, Sibole J *et al.* (1994) Effect of salinity on leaves of *Phaseolus vulgaris* var. Contender in different states of expansion. *Plant Physiol.* 105(s): 110
- Moons A, Bauw G, Prinsen E *et al.* (1995) Molecular and physiological responses to abscisic acid and salts in roots of salt-sensitive and salt-tolerant Indica rice varieties. *Plant Physiol.* 107: 177–186
- Moons A, Prinsen E, van Montagu M (1997) Antagonistic effect of abscisic acid and jasmonates on salt stress-inducible transcripts in rice roots. *Plant Cell* 9: 2243–2259
- Morris K, Mackerness SA-H, Page T *et al.* (2000) Salicylic acid has a role in regulating gene expression during leaf senescence. *Plant J.* 23: 677–685
- Morris P-Ch (1989) Endogenous abscisic acid and wheat germ agglutinin content in wheat grains during development. *Physiol. Plant.* 77: 507–511
- Muneharu E, Akie T, Hiromi H (1994) Secretion of basic and acidic chitinases from salt-adapted and unadapted winged bean cells. *Physiol. Plant.* 92: 90–94.
- Murphy AM, Chivasa S, Singh DP, Carr J (1999) Salicylic acid-induced resistance to viruses and other pathogens: a parting of the ways? *Trends Plant Sci.* 4: 155–160
- Nagata N, Min YK, Nakano T *et al.* (2000) Treatment of dark-grown *Arabidopsis thaliana* a brassinosteroid-biosynthesis inhibitor, brassinazol, induces some characteristics of light-grown plants. *Planta* 211: 781–790
- Nagata Y, Burger MM (1974) Wheat germ agglutinin. Molecular characteristics and specificity for sugar binding. *J. Biol. Chem.* 249: 3116–3122
- Neuenschwander U, Vernooij B, Friedrich L *et al.* (1995) Is hydrogen peroxide a second messenger of salicylic acid in systemic acquired resistance. *Plant J.* 8: 227–233
- Neumann D, Nover L, Parthier B *et al.* (1989) Heat shock and other stress response systems of plants. *Biol. Zentralblatt* 108: 1–156
- Nhiri M, Bakrin N, Bakrin N *et al.* (2000) Posttranslational regulation of phosphoenolpyruvate carboxylase during germination of *Sorghum* seeds: influence of NaCl and I-malate. *Plant Sci.* 151: 29–37
- Nomura T, Nakayama M, Reid JB *et al.* (1997) Blockage of brassinosteroid biosynthesis and sensitivity causes dwarfism in garden pea. *Plant Physiol.* 113: 31–37
- Oda T, Nakamura A, Okamoto T *et al.* (1998) Lectin-induced enhancement of superoxide anion production by red tide phytoplankton. *Marine Biol.* 131: 383–390
- O'Donnell PJ, Calvert C, Atzorn R *et al.* (1996) Ethylene as a signal mediating the wound response of tomato plants. *Science* 247: 1914–1917

- Oh M-H, Clouse SD (1998) Brassinolide affects the rate of cell division in isolated leaf protoplasts of *Petunia hybrida*. Plant Cell Rept. 17: 921–924
- Oka Y, Chet I, Spiegel Y (1997) An immunoreactive protein to wheat-germ agglutinin antibody is induced in oat roots following invasion of cereal cyst nematode *Heterodera avenae*, and Jasmonate. Mol. Plant Micr. Interact. 10: 961–969
- Ozawa R, Arimura G, Takabayashi J et al. (2000) Involvement of jasmonate- and salicylate-related signalling pathways for the production of specific herbivore-induced volatiles in plants. Plant Cell Physiol. 41: 391–398
- Paldi E, Racz I, Lasztity D (1999) Effect of long period of low temperature exposure on protein synthesis activity in wheat seedlings. Plant Sci. 149: 59–62
- Pallas J, Paiva N, Lamb C, Dixon R (1996) Tobacco plants epigenetically suppressed in phenylalanine ammonia-lyase expression do not develop systemic acquired resistance in response to infection by tobacco mosaic virus. Plant J. 10: 281–293
- Parbery DC (1996) Trophism and ecology of family associated with plants. Biol. Rev. 71: 473–927
- Pareek A, Singla SL, Kush AK, Grover A (1997) A Distribution patterns of HSP 90 protein in rice. Plant Sci. 125: 221–230
- Peberdy JF (1989) Fungal cell walls. A review. Biochem. cell wall membranes in fungi. Eds. J Kuhn, AJ Trinci, MJ Jung et al. Berlin: Springer Verlag 5–21
- Pegg GF (1985) Pathogenic and non pathogenic microorganisms and insects. Encycl. Plant Physiol. Berlin: Springer Verlag 599p
- Penninckx IAMA, Eggermont K, Terras RG et al. (1996) Pathogen-induced systemic activation of a plant defesin gene in arabidopsis follows a salicylic acid-independent pathway. Plant Cell 8: 2309–2323
- Peumans WJ (1984) Biochemistry, cell-biology, physiology, biosynthesis and function of gramineae lectins. ProefschriftLeuven: Katholike uni. Lab. voor Pflatenbiochemie 211p
- Peumans WJ, Roy S, Barre A (1998) Elderberry (*Sambucus nigra*) contains truncated Neu5Ac (δ #945; – 2,6) Gal/GalNAc-binding type 2 ribosome-inactivating proteins. FEBS Letts. 425: 35–39
- Peumans WJ, Stinissen HM (1983) Gramineae lectins: occurrence, molecular biology and physiological function. Chemical Taxonomy, Molecular Biology, and Function of Plant Lectins. Eds: IJ Goldstein, ME Etzler N. Y.: Alan R Liss INC. 99–116
- Peumans WJ, Stinissen HM, Carlier A (1982) A genetic basis for the origin of six different isolectins in hexaploid wheat. Planta 154: 562–567
- Peumans WJ, Van Damme EJM (1995) Lectins as plant defence proteins. Plant Physiol. 109: 347–352
- Pieterse CMJ, van Loon LC (1999) Salicylic acid-independent plant defence pathways. Trends Plant Sci. 4: 52–58
- Piola F, Label P, von Aderkas P, Rohr R (1998) Effects of endogenous ABA level and temperature on cedar (*Cedar libani Loudon*) bud dormancy *in vitro*. Plant Cell Rept. 18: 279–283
- Pla M, Huguet G, Verdaguer D et al. (1998) Stress proteins co-expressed in suberized and lignified cells and in apical meristems. Plant Sci. 139: 49–57
- Ponstein AS, Bres-Vloemans SA, Sela-Buurlage MB et al. (1994) A novel pathogen- and wound-inducible tobacco (*Nicotiana tabacum*) protein with antifungal activity. Plant Physiol. 104: 109–118
- Poschenrider G, Huber SJ (1982) Interaction of wheat germ agglutinin (lectin) with microconidia of *Fusarium poae*. Z. fur Pflanzenk Pflanzenschutz 89: 194–199
- Poupet A, Cardin L, Bettachini B, Beck D (1990) Effect of cytokinin on the accumulation of pathogenesis related proteins (PR1a protein) *in vitro* propagated *Nicotiana tabacum* shoots. Physiol. Veget. 311: 239–246

- Puri KD, Surolia A (1994) Amino acid sequence of the winged bean (*Psophocarpus tetragonolobus*) basic lectin. Adenine binding and identification of the active-site tryptophan residue. J. Biol. Chem. 269: 30917–30926
- Quarrie SA (1989) Absciscic acid as a factor in modifying drought resistance. Environ. Stress Plants. Biochem. Physiol. Mech. NATO Adv. Res. Workshop. Norwich Aug. 2–7 (1987) Berlin etc. 27–37
- Quatrano RS, Hopkins R, Raikhel NV (1983) Control of the synthesis and localization of wheat germ agglutinin during embryogenesis. Chemical taxonomy, molecular biology, and function of plant lectins. Eds. IJ Goldstein, ME Etzler. N. Y.: Alan R Liss INC. 117–130
- Rademacher W, Grabe JE (1984) Hormonal changes in developing kernels of two spring wheat differing in storage capacity. Ber. Deutch Bot. Ges. 97: 167–181
- Rai K, Sharma SS, Sharma S (1986) Reversal of ABA-induced stomatal closure by phenolic compounds. J. Exp. Bot. 37: 129–134
- Raikhel NV, Mishkind ML, Palevitz BA (1984) Characterization of a wheat germ agglutinin-like lectin from adult wheat plants. Planta 162: 55–61
- Raikhel NV, Palevitz BA, Haigler CH (1986) Absciscic acid control of lectin accumulation in wheat seedlings and callus cultures. Plant Physiol. 80:167–171
- Raikhel NV, Pratt LH (1987) Wheat germ agglutinin accumulation in coleoptiles of different genotypes of wheat. Localization by monoclonal antibodies. Plant Cell Rept. 6: 146–149
- Raikhel NV, Quatrano RS (1986) Localization of wheat germ agglutinin in developing wheat embryos and these cultured in absciscic acid. Planta 168: 433–440
- Raikhel NV, Wilkins TA (1987) Isolation and characterization of a cDNA clone encoding wheat germ agglutinin. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84: 6745–6749
- Ramagopal S (1987) Salinity stress induced tissuespecific proteins in barley seedlings. Plant Physiol. 84: 324–331
- Raskin I (1992) Role of salicylic acid in plants. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 43: 439–463
- Raskin I, Ehmann A, Melander WR, Meeuse BJD (1987) Salicylic acid: A natural inducer of heat production. Science 237: 1601–1602
- Rasmussen JB, Hammerschmidt R, Zook MN (1991) Systemic induction of salicylic acid accumulation in cucumber after inoculation with *Pseudomonas syringae*. Plant Physiol. 97: 1342–1347
- Raz V, Fluhr R (1992) Calcium requirement for ethylenedependent responses. Plant Cell 4: 1123–1130
- Reday MN, Strzlezyk E (1989) Influence of plant growth and virulence of *Rhizoctonia solani* (Kuhn) pathogenic to groundnut seedling (*Arahis hipogea* L var TMV 2). J. Phytopathol. 125: 187–191
- Ribaut JM, Pilet PE (1994) Water stress and indolyl-acetic acid content of maize roots. Planta 193: 502–507
- Rice RH, Etzler ME (1975) Chemical modification and hybridization of wheat germ agglutinins. Biochemistry 14: 4093–4099
- Robertson AJ, Ishikawa M, Gusta L, MacKenzie SL (1994) Absciscic acid-induced heat tolerance in *Bromus inermis* Leyss cell-suspension culture. Plant Physiol. 105: 181–190
- Rodrigues-Pousada R, Vav Caeneghem W, Chauvaux N et al. (1999) Hormonal cross-talk regulates the *Arabidopsis thaliana* 1-aminocyclopropane-1-carboxylate synthase gene 1 in a developmental and tissue-dependent manner. Physiol. Plant. 105: 312–320
- Romani RJ, Hess BM, Leslie C (1989) A Salicylic acid inhibition of ethylene production by apple discs and other plant tissues. Plant Growth Reg. 8: 63–69



- Ronchi A, Farina G, Gozzo F, Tonelli C (1997) Effect of triazolic fungicide on maize plant metabolism: modification of transcript abundant in resistance-related pathways. *Plant Sci.* 130: 51–62
- Roney JM, Hoad G (1989) Compensation in growth and photosynthesis of wheat (*Triticum aestivum* L) following early inoculation with *Septoria nodorum* (Berk). *New Phytol.* 113: 513–521
- Rouleau M, Marsolais F, Richard M *et al.* (1999) Inactivation of brassinosteroid biological activity by a salicylate-inducible steroid sulfotransferase from *Brassica napus*. *J. Biol. Chem.* 274: 20925–20930
- Roy R (1997) Recent development in the rational design of multivalent glycoconjugates. *Top. Curr. Chem.* 187: 241–274
- Rudiger H (1997) Structure and function of plant lectins. *Glycosciences. Status and perspectives.* Eds. HJ Gabius, S Gabius. London etc.: Chapman&Hall IT 415–438
- Ryals J, Uknes S, Ward E (1994) Systemic acquired resistance. *Plant Physiol.* 104: 1109–1112
- Ryals JA, Neuenschwander UH, Willits MG *et al.* (1996) Systemic acquired resistance. *Plant Cell* 8: 1809–1819
- Ryan C (1994) Oligosaccharide signal: from plant defence to parasite offence. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91: 1–2
- Ryan CA (2000) The systemic signalling pathways: differential activation of plant defensive genes. *Biochim. Biophys. Acta* 1477: 112–121
- Sairam RK (1994) Effect of homobrassinolide application on metabolic activity and grain yield of wheat under normal and water-stress conditions. *J. Agron. Crop Sci.* 173: 11–16
- Sakurai A, Fujioka S (1993) The current status of physiology and biochemistry of brassinosteroids: A review. *J. Plant Growth Reg.* 13: 147–159
- Sala C, Sala F (1985) Effects of brassinosteroid on cell division and enlargement in cultured carrot (*Daucus carota* L) cells. *Plant Cell Rept.* 4: 114–191
- Samajova O, Samaj J, Volkmann D, Edelmann HG (1998) Occurrence of osmiophilic particles is correlated to elongation growth of higher plants. *Protoplasma* 202: 185–191
- Sasse JM (1985) The place of brassinolide in the sequential response to plant growth regulators in elongating tissue. *Physiol. Plant* 63: 303–308
- Sasse JM (1997) Recent progress in brassinosteroid research. *Physiol. Plant.* 100: 696–701
- Schaller A (1999) Action of proteolysis-resistant systemin analogues in wound signalling. *Phytochemistry* 47: 605–612
- Schetz JA, Anderson PA (1995) Glucosylation patterns of membrane proteins of the jellyfish *Cyanea capillata*. *Cell Tissue Res.* 279: 315–321
- Schilling G, Schiller C (1990) Influence of brassinosteroids on organ relations and enzyme activities of sugar-beet plants. *Int. Workshop Brassinosteroids Chemistry, Bioactivity, Application Inst. Plant Biochem. Halle, Gr. 1:* 20
- Schlumbaum A, Mauch F, Vogeli U, Boller T (1986) Plant chitinases are potent inhibitors of fungal growth. *Nature* 324: 365–367
- Schmulling T, Schafer S, Romanov G (1997) Cytokinins as regulators of gene expression. *Physiol. Plant.* 100: 505–519
- Schneider-Muller S, Kurosaki F, Nishi A (1994) Role of salicylic acid and intracellular  $Ca^{2+}$  in the induction of chitinase activity in carrot suspension culture. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 45: 101–109
- Seki M, Katsumi M (1994) Protective actions of brassinolide against chilling induced injuries. *Plant Physiol.* 105(s): 141
- Seskar M, Shulaev V, Raskin I (1998) Endogenous methyl salicylate in pathogen-inoculated tobacco plants. *Plant Physiol.* 116: 387–392

- Shakirova FM, Avalbaev AM, Bezrukova MV, Gimalov FR* (2001) Induction of WGA synthesis by abscisic and gibberellic acids in roots of wheat seedlings. *Plant Growth Regul.* (in press)
- Shakirova FM, Bezrukova MV, Shayakhmetov IF* (1996) Effect of heat shock on dynamics of ABA and WGA accumulation in wheat cell culture. *Plant Growth Reg.* 19: 85–87
- Showalter AM* (1993) Structure and function of plant cell wall proteins. *Plant Cell* 5: 9–23
- Shulaev V, Silverman P, Raskin I* (1997) Airborne signalling by methyl salicylate in plants pathogen resistance. *Nature* 382: 718–721
- Shulaev V, Leon J, Raskin I* (1995) Is salicylic acid a translocated signal of systemic acquired resistance in tobacco? *Plant Cell* 7: 1691–1701
- Silverman P, Seskar M, Kanter D et al.* (1995) Salicylic acid in rice Biosynthesis, conjugation, and possible role. *Plant Physiol.* 108: 633–639
- Simmons CR, Litts JC, Huang N, Rodriguez RL* (1992) Structure of rice  $\beta$ -glucanase gene regulated by ethylene, cytokinin, wounding, salicylic acid and fungal elicitors. *Plant Mol. Biol.* 18: 33–45
- Singh NK, Handa AK, Hasegawa PM, Bressan RA* (1985) Proteins associated with adaptation of cultured tobacco cells to NaCl. *Plant Physiol.* 79: 126–137
- Singh NK, La Rosa PC, Handa AK et al.* (1987) Hormonal regulation of protein synthesis associated with salt tolerance in plant cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84: 739–743
- Singh PS, Bhaglal P, Bhullar SS* (2000) Wheat germ agglutinin (WGA) gene expression and ABA accumulation in the developing embryos of wheat (*Triticum aestivum*) in response to drought. *Plant Growth Reg.* 30: 145–150
- Singla SL, Pareek A, Grover A* (1997) Yeast HSP 104 homologue rice HSP110 is developmentally- and stress-regulated. *Plant Sci.* 125: 211–219
- Skriver K, Mundy J* (1990) Gene expression in response to abscisic acid and osmotic stress. *Plant Cell* 2: 503–512
- Smith JJ, Raikhel NV* (1989) Nucleotide sequences of cDNA clones encoding wheat germ agglutinin isolectins A and D. *Plant Mol. Biol.* 13: 601–603
- Smith-Becker J, Marois E, Huguet EJ et al.* (1998) Accumulation of salicylic acid and 4-hydroxybenzoic acid in phloem fluids of cucumber during systemic acquired resistance is preceded by a transient increase in phenylalanine ammonia-lyase activity in petioles and stems. *Plant Physiol.* 116: 231–238
- Spadaro-Tank JP, Etzler ME* (1988) Heat shock enhances the synthesis of lectin-related protein in *Dolichos biflorus* cell suspension cultures. *Plant Physiol.* 88: 1131–1135
- Spilatro SR, Cochran GR, Walker RE et al.* (1996) Characterization of a new lectin of soybean vegetative tissues. *Plant Physiol.* 110: 825–834
- Stinissen HM, Chrispeels MJ, Peumans WJ* (1985) Biosynthesis of lectin in roots of germinating and adult cereal plants. *Planta* 164: 278–286
- Stinissen HM, Peumans WJ, Carlier AR* (1982) *In vivo* synthesis and processing of cereal lectins. *Plant Mol. Biol.* 1: 277–290
- Sugino M, Hibino T, Tanako Y et al.* (1999) Overexpression of DnaK from a halotolerant cyanobacterium *Aphanathece halophytica* acquires resistance to salt stress in transgenic tobacco plants. *Plant Sci.* 146: 81–88
- Szekeres M, Nemeth K, Koncz-Kalman Z et al.* (1996) Brassinosteroids rescue the deficiency of CYP90, a cytochrome P450, controlling cell elongation and de-etiolation in *Arabidopsis*. *Cell* 85: 171–182
- Tabaci-Aghdaci SR, Harrison P, Pearce RS* (2000) Expression of dehydration-stress-related genes in the crowns of wheat grass species [*Lophopyrum elongatum* (Host) A Love and *Agropyron desertorum* (Fisch Ex Link) Schult] having contrasting acclimation to salt, cold and drought. *Plant Cell Environm.* 23: 561–571

- Takahashi H, Chen Z, Liu Y, Klessing DF (1997) Development of necrosis and activation of disease resistance in transgenic tobacco plants with several reduced catalase levels. *Plant J.* 11: 993–1005
- Takematsu T, Takenchi Y, Koguchi M (1982) New plants growth regulators Brassinolide analogues: their biological effects and application to agriculture and biomass production. *Chem. Regul. Plants* 18: 2–15
- Taverner E, Letham DS, Wang J *et al.* (1999) Influence of ethylene on metabolism in relation to *Petunia corolla* senescence. *Phytochemistry* 51: 341–347
- Tenhaken R, Rubel C (1997) Salicylic acid is needed in hypersensitive cell death in soybean but does not act as a catalase inhibitor. *Plant Physiol.* 115: 291–298
- Teramoto H, Momotani E, Takeba G, Tsuji H (1994) Isolation of cDNA clone for a cytokinin-repressed gene in excised cucumber cotyledons. *Planta* 193: 573–579
- Tester M (1999) The control of long-distance K<sup>+</sup> transport by ABA. *Trends Plant Sci.* 4: 5–6
- Toyama T, Teramoto H, Takeba G, Tsuji H (1995) Cytokinin induces a rapid decrease in the levels of mRNAa for catalase 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase, lectin and other unidentified proteins in etiolated cotyledons of cucumber. *Plant Cell Physiol.* 36: 1349–1359
- Toyoda K, Miki K, Ichinose Y *et al.* (1995) Plant lectins induce the production of a phytoalexin in *Pisum sativum*. *Plant Cell Physiol.* 36: 799–807
- Triboi E, Leblevenec L (1995) Temperature effects on grain growth and protein fraction accumulation in winter wheat. *J. Exp. Bot.* 46(s): 3
- Trione EJ, Sayvedra-Soto LA (1988) Wheat development enhanced by hormone syndrom. *Bot. Gaz.* 149: 317–324
- Triplett BA, Quatrano RS (1982) Timing, localization, and control of wheat germ agglutinin synthesis in developing wheat embryos. *Developm. Biol.* 91: 491–496
- Tupy J, Suss I, Rihova V (1986) RNA synthesis and ribosome status in pollen tube growth of *Nicotiana tabacum* L; Effects of external pH. *J. Plant Physiol.* 123: 467–474
- Uknes S, Mauch-Mani B, Moyer M *et al.* (1992) Acquired resistance in *Arabidopsis*. *Plant Cell* 4: 645–656
- Umekawa H, Kondon K, Ffujihara M *et al.* (1990) Interaction of Tora-mama (*Phaseolus vulgaris*) lectin with indole derivatives. *Agric. Biol. Chem.* 4: 3295–3299
- Urao TT, Yamaguchi-Shinozaki KK, Shinozaki KK (2000) Two-component systems in plant signal transduction. *Trends Plant Sci.* 5: 67–74
- Van der Bulcke C, Bauw G, De Rucke R *et al.* (1990) The role of vacuolar and secreted pathogenesis-related B (1-3)-glucanases and chitinases in the defense response of plants. *Bull. Soc. Bot. Fr.* 137: 51–63
- Van Eijsden R, Diaz C, de Pater BS, Kijne G (1995) Sugar-binding activity of pea (*Pisum sativum*) lectin is essential for heterologous infection of transgenic white clover hairy roots by *Rizobium leguminosarum* biovar viciae. *Plant Mol. Biol.* 29: 431–439
- Van Loon LC (1985) Pathogenesis-related proteins. *Plant Mol. Biol.* 4: 111–116
- Van Loon LC, Antoniw JF (1982) Comparison of the effect of salicylic acid and ethephon with virusinduced hypersensitivity and acquired resistance in tobacco. *Neth. Plant Pathol.* 88: 237–256
- Vardhini B, Rao SSR (1999) Effect of brassinosteroids on nodulation and nitrogenase activity in groundnut (*Arachis hypogaea* L). *Plant Growth Reg.* 28: 165–167
- Vernooij B, Friedrich L, Morse A *et al.* (1994) Salicylic acid is not the translocated signal responsible for inducing systemic acquired resistance but is required in signal transduction. *Plant Cell* 6: 959–965
- Verret JA, Hoffman GM, Amberger A (1987) Auswirkungen der Infektion durch *Septoria nodorum* in verschiedenen eut wicklung Stadien des Weizens auf die Produktionsleistung. *Z. Pflanzenkrankh.* 94: 283–300

- Verret JA, Hoffmann GM (1986) The distribution of nitrogen in plant organs after infection of wheat with *Septoria nodorum*. Med. Fac. Land Rijksuni Genet. 51: 581–588
- Vierling E (1991) The role of heat shock proteins in plants. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 42: 579–620
- Visser K, Kijne JW, Wang M (1999) GTP binding activity of membrane proteins in isolated barley embryo is enhanced by abscisic acid. Plant Sci. 148: 139–145
- Vogeli-Lange R, Hansen-Gehri A, Boller T, Meins F Jr (1988) Induction of the defence-related glucanohydrolases,  $\beta$ -1,3-glucanase and chitinase, by tobacco mosaic virus infection of tobacco leaves. Plant Sci. 54: 171–176
- Wada K, Kondo H, Marumo S (1985) A simple bioassay for brassinosteroids: a wheat leaf-unrolling test. Agric. Biol. Chem. 49: 2249–2300
- Wada K, Marumo S, Ikekawa N et al. (1981) Brassinolide and homobrassinolide promotion of lamina inclination of rice seedlings. Plant Cell Physiol. 22: 323–325
- Walker-Simmons M (1987) ABA levels and sensitivity in developing wheat embryos of sprouting resistant and susceptible cultivars. Plant Physiol. 84: 61–66
- Ward ER, Uknes SJ, Williams SC, et al. (1991) Coordinate gene activity in response to agents that induce systemic acquired resistance. Plant Cell 3: 1085
- Watanabe K, Honjo E, Tsukamoto T, Funatsu G (1992) Fluorescence studies on the interaction of adenine with ricin A-chain. FEBS Lett. 304: 249–251
- Wendehenne D, Durner J, Chen Z, Klessing DE (1998) Benzothiadiazole, an inducer of plant defenses, inhibits catalases and ascorbate peroxidase. Phytochemistry 47: 651–657
- Wilkins TA, Bednarek SY, Raikhel NV (1990) Role of propeptide glucan in post-translational processing and transport of barley lectin to vacuoles in transgenic tobacco. Plant Cell 2: 301–313
- Williams J, Bulman MP, Neill SJ (1994) Wilt-induced ABA biosynthesis, gene expression and down-regulation of rbcS mRNA level in *Arabidopsis thaliana*. Physiol. Plant. 91: 177–182
- Williamson JD, Quatrano RS (1988) ABA regulation of two classes of embryo-specific sequences in mature wheat embryos. Plant Physiol. 86: 208–215
- Williamson JD, Stoop JMH, Massel MO et al. (1995) Sequence analysis of a mannitol dehydrogenase cDNA from plants reveals a function for the pathogenesis-related protein ELI3. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 92: 7148–7152
- Wisniewski M, Webb R, Baksamo R et al. (1999) Purification, immunolocalization, cryoprotective, and antifreeze activity of PCA60: A dehydrin from peach (*Prunus persica*). Physiol. Plant. 105: 600–608
- Wollgiehn R, Neumann D (1995) Stress response of tomato cell cultures to toxic metals and heat shock: differences and similarities. J. Plant Physiol. 146: 736–742
- Woloshuk CP, Meulenhoff JS, Sela-Buurlage M et al. (1991) Pathogen-induced proteins with inhibitory activity toward *Phytophthora infestans*. Plant Cell 3: 619–628
- Wright CS (1987) Refinement of the crystal structure of wheat germ agglutinin isolectin 2 at 1.8 Å resolution. J. Mol. Biol. 194: 501–529
- Wright HT, Sandrasegham G, Wright CS (1991) Evolution of a family of N-acetylglucosamine binding proteins containing the disulfide-rich domain of wheat germ agglutinin. J. Mol. Evol. 33: 283–294
- Xiong L, Ishitani M, Zhu J-K (1999) Interaction of osmotic stress, temperature, and abscisic acid in the regulation of gene expression in arabidopsis. Plant Physiol. 119: 205–211
- Xu Y, Chang P-FL, Liu D et al. (1994) Plant defense genes are synergistically induced by ethylene and methyl jasmonate. Plant Cell 6: 1077–1085
- Yadav BS, Mandahar CL (1981) Secretion of cytokinin-like substances *in vivo* and *in vitro* by *Helminthosporium sativum* and their role in pathogenesis. J. Plant Diseases and Protection 88: 726–733

- Yakovleva LA, Cheredova EP, Karavaiko NN* (1997) Cytokinin and cytokinin-binding sites in transgenic potato plants. *Plant Growth Reg.* 21: 71–73
- Yakovleva LA, Klueva NY, Kulaeva ON* (1992) Phosphorylation of ribosome proteins as a mechanism of phytohormone regulation protein synthesis in plants. *Signals in plant Development*. Eds. J Krekule, F Seidlova 169–172
- Yalpani N, Enyedi AJ, Leon J, Raskin I* (1994) Ultraviolet light and ozone stimulate accumulation of salicylic acid, pathogenesis related proteins and virus resistance in tobacco. *Planta* 193: 372–376
- Yalpani N, Leon J, Lawton MA, Raskin I* (1993) Pathway of salicylic acid biosynthesis in healthy and virus-inoculated tobacco. *Plant Physiol.* 103: 315–321
- Yokota T, Nakayama M, Wakisaka T, Schmidt J, Adam G* (1994) 3-dehydroteasterone, a 3,6-diketobrassinosteroid as a possible biosynthetic intermediate of brassinolide from wheat grain. *Biosci. Biotech. Biochem.* 58: 1183
- Yopp JH, Colclasure GC, Mandava N* (1979) Effects of brassin-complex on auxin and gibberellin mediated events in the morphogenesis of the etiolated bean hypocotyl. *Physiol. Plant.* 46: 247–254
- Yopp JH, Mandava NB, Sasse JM* (1981) Brassinolide, a growth promoting steroidal lactone. I. Activity in selected auxin bioassays. *Physiol. Plant.* 53: 445–497
- Yu D, Xie Z, Chen C et al.* (1999) Expression of tobacco class II catalase gene activates the endogenous homologous gene and is associated with disease resistance in transgenic potato plants. *Plant Mol. Biol.* 39: 477–488
- Yuko O, Shigemi S, Taka M et al.* (1995) Enhanced hypersensitive reaction of tobacco plants transformed with a small GTP-binding proteins. *J. Cell Biochem.* 19a(s): 158
- Zaluzec EJ, Zaluzec MM, Olsen KW, Pavkovic SF* (1991) Crystallization and preliminary X-ray analysis of peanut agglutinin-N6-benzylaminopurine complex. *J. Mol. Biol.* 219: 151–153
- Zhang W, Peumans W, Barre A et al.* (2000) Isolation and characterization of a Jacalin-related mannose-binding lectin from salt-stressed rice (*Oryza sativa*) plants. *Planta* 210: 970–978
- Zhu-Salzman K., Salzman R.A., Koiwa H. et al.* (1998) Ethylene negatively regulates local expression of plant defence lectin genes. *Physiol. Plant.* 104: 365–372
- Zurek DM, Clouse SD* (1994) Molecular cloning and characterization of a brassinosteroid-regulated gene from elongating soybean (*Glycine max* L.) epicotyls. *Plant Physiol.* 104: 161–170
- Zurek DM, Rayle DL, McMorris TC, Clouse SD* (1994) Investigation of gene expression, growth kinetics, and wall extensibility during brassinosteroid-regulated stem elongation. *Plant Physiol.* 104: 505–513

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	3
ГЛАВА 1. МЕХАНИЗМЫ НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ К НЕБЛАГОПРИЯТНЫМ ФАКТОРАМ РАЗНОЙ ПРИРОДЫ.....	6
ОБЩИЕ ПРЕДСТАВЛЕНИЯ О НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ К СТРЕССОВЫМ ВОЗДЕЙСТВИЯМ .....	6
РОЛЬ АБК В НЕСПЕЦИФИЧЕСКОЙ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ.....	12
МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ К ФИТОПАТОГЕНАМ.....	18
БЕЛКИ, СВЯЗАННЫЕ С ПАТОГЕНЕЗОМ .....	22
ЛЕКТИНЫ В ЗАЩИТНЫХ РЕАКЦИЯХ ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ РАСТЕНИЙ.....	24
ГЛАВА 2. РОЛЬ БЕЛОКСИНТЕЗИРУЮЩЕГО АППАРАТА В ПОВЫШЕНИИ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ ЦИТОКИНИНА И ДРУГИХ СОЕДИНЕНИЙ, ОБЛАДАЮЩИХ ЦИТОКИНИНОВОЙ АКТИВНОСТЬЮ.....	32
ВЛИЯНИЕ ГОЛОДАНИЯ И ЦИТОКИНИНА НА ДИНАМИКУ РОСТА И КИНЕТИКУ СБОРКИ ПОЛИСОМ В ИЗОЛИРОВАННЫХ СЕМЯДОЛЯХ .....	33
ПОВЫШЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ К СТРЕССОВЫМ ФАКТОРАМ СРЕДЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ КАРТОЛИНА .....	38
ВЛИЯНИЕ БИСОЛА 2 И БАЙТАНА НА СОСТОЯНИЕ ТРАНСЛЯЦИОННОГО АППАРАТА ИНФИЦИРОВАННЫХ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ .....	43
ГЛАВА 3. САЛИЦИЛОВАЯ КИСЛОТА КАК ИНДУКТОР УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ.....	48
РОЛЬ PR-БЕЛКОВ В РАЗВИТИИ ИНДУЦИРОВАННОЙ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТОЙ СИСТЕМНОЙ ПРИОБРЕТЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ.....	49
МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ И ЕЕ ФУНКЦИИ.....	54
ВЛИЯНИЕ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА УСТОЙЧИВОСТЬ ПШЕНИЦЫ.....	59

ГЛАВА 4. РОЛЬ ФИТОГОРМОНОВ В ПРОЯВЛЕНИИ УСТОЙЧИВОСТИ ПШЕНИЦЫ К СТРЕССОВЫМ ВОЗДЕЙСТВИЯМ .....	66
ЗАВИСИМОСТЬ ГОРМОНАЛЬНОГО ОТВЕТА РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ НА ИНФИЦИРОВАНИЕ РАЗЛИЧНЫМИ ВОЗБУДИТЕЛЯМИ ГРИБНЫХ БОЛЕЗНЕЙ .....	66
ВЛИЯНИЕ ПРЕПАРАТОВ, ОБЛАДАЮЩИХ СВОЙСТВАМИ ЦИТОКИНИНОВ, НА БАЛАНС ИУК И АБК В РАСТЕНИЯХ ПШЕНИЦЫ ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ.....	71
ИЗМЕНЕНИЯ В СОСТОЯНИИ ГОРМОНАЛЬНОЙ СИСТЕМЫ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ ПОД ВЛИЯНИЕМ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ В УСЛОВИЯХ ВОЗДЕЙСТВИЯ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ .....	75
ГЛАВА 5. АГГЛЮТИНИН ЗАРОДЫША ПШЕНИЦЫ И УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ К НЕБЛАГОПРИЯТНЫМ УСЛОВИЯМ.....	84
ФУНКЦИИ ЛЕКТИНА ПШЕНИЦЫ.....	86
УЧАСТИЕ ЛЕКТИНА В ПРОЯВЛЕНИИ УСТОЙЧИВОСТИ ПШЕНИЦЫ К ГРИБНЫМ ПАТОГЕНАМ.....	90
УЧАСТИЕ ЛЕКТИНА В АБК-КОНТРОЛИРУЕМЫХ ЗАЩИТНЫХ РЕАКЦИЯХ ПШЕНИЦЫ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ АБИОТИЧЕСКИХ СТРЕССОВЫХ ФАКТОРОВ.....	98
ГЛАВА 6. БРАССИНОСТЕРОИДЫ – НОВЫЙ КЛАСС ФИТОГОРМОНОВ, ПОВЫШАЮЩИХ УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ.....	107
МЕХАНИЗМЫ ДЕЙСТВИЯ БРАССИНОСТЕРОИДОВ .....	108
ВЛИЯНИЕ БРАССИНОСТЕРОИДОВ НА ГОРМОНАЛЬНЫЙ СТАТУС РАСТЕНИЙ.....	115
АНТИСТРЕССОВОЕ ДЕЙСТВИЕ БРАССИНОСТЕРОИДОВ .....	118
ЗАКЛЮЧЕНИЕ .....	125
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....	131
ОГЛАВЛЕНИЕ.....	158

Научное издание

**Фарида Миннихановна Шакирова**

**НЕСПЕЦИФИЧЕСКАЯ  
УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ  
К СТРЕССОВЫМ ФАКТОРАМ  
И ЕЕ РЕГУЛЯЦИЯ**

Редактор: *Л.Н. Скальдина*  
Компьютерная верстка: *И.И. Иванов*

Лицензия № 0160 от 22 марта 1996 г. Код 95 3000  
Подписано в печать с оригинал-макета 16.03.2001  
Формат 60х84<sup>1</sup>/<sub>16</sub>. Бумага книжно-журнальная  
Гарнитура «Таймс»  
Усл.печ.л. 9,30. Уч.-изд.л. 12,09  
Тираж 150 экз. Заказ № 14а  
Цена договорная

Издательство «Гилем»  
450054, г.Уфа, пр.Октября,71



Отпечатано на множительном участке Башкирского университета  
450074, г. Уфа, ул. Фрунзе, 32. Тел. (3472)236–710