

7. *Cameron R.K., Dixon R., Lamb C.* Biologically induced systemic acquired resistance in *Arabidopsis thaliana* // *Plant J.* - 1994.- N 5.- P. 715-725.
8. *Dangl J. L.* Applications of *Arabidopsis thaliana* to outstanding issues in plant-pathogen interactions // *Int. Rev. Cytology.* - 1993. –Т. 144. - P. 53-83.
9. *Durner J., Shah J., Klessig D.F.* Salicylic acid and disease resistance in plants // *Trends Plant Sci.* – 1997. – N 2. – P. 266-274.
10. *Neuenschwander U., Lawton K., Ryals J.* Systemic acquired resistance. 1996.- New York: Chapman & Hall.- P. 81-106.
11. *Ebel J., Cosio E.G.* Elicitors of plant defense responses // *Int. Rev. Cytology.*- 1994. –Т. 148. - P. 1-36.
12. *Озерецковская О.Л.* Индуцирование устойчивости растений биогенными элиситорами фитопатогенов // *Прикл.биохим. и микробиол.* -1994. –Т. 30, N 3. - С. 325-339.
13. *Dmitriev A.P.* Induction of systemic resistance in plants // *Cytology and Genetics.* – 2004. – N5. – P. 72-81.

Резюме

Рослини здатні розпізнавати певні метаболіти патогена (т.зв. індуктори або еліситори) та реагувати на його вторгнення активацією каскаду захисних реакцій. На цьому базується метод індукування природної стійкості рослин біогенними індукторами, що дозволяє уникати забруднення навколишнього середовища, пов'язаного з широким використанням пестицидів. Розглянуто дані про молекулярні аспекти взаємодії фітопатогенних мікроорганізмів з рослиною-хазяїном.

Растения способны распознавать особые метаболиты патогена (т.н. индукторы или элиситоры) и реагировать на его вторжение активацией каскада защитных реакций. На этом базируется метод индуцирования естественной устойчивости растений биогенными индукторами, который позволяет избежать загрязнения окружающей среды, связанного с широким использованием пестицидов. Рассмотрены сведения о молекулярных аспектах взаимоотношений фитопатогенных микроорганизмов с растением-хозяином.

Plants are capable to recognize the penetrating pathogen and to respond to his invasion by activation of the set of defense responses. That is the base for a new method of systemic acquired resistance (SAR) in plants by biotic inducers derived from the pathogens. The method is allowed to avoid contamination of the environment caused by intensive usage of pesticides. The review summarizes data on molecular aspects of plant-pathogen interactions.

ДЬЯЧЕНКО Л.Ф.¹, ТОЦЬКИЙ В.М.¹, ФАЙТ В.І.², ТОПТИКОВ В.А.¹

¹*Одеський національний університет ім. І.І.Мечникова*

Україна 65026, Одеса вул. Дворянська 2, e-mail: caphgen@ukr.net

²*Селекційно-генетичний інститут УААН, Україна, 65036 Одеса, Овідіопольська дор., 3*

ЕКСПРЕСИВНІСТЬ МНОЖИННИХ ФОРМ ДЕЯКИХ ФЕРМЕНТІВ У ТКАНИНАХ РОСЛИН ОЗИМОЇ ПШЕНИЦІ З РІЗНИМИ ГЕНАМИ ФОТОПЕРІОДИЗМУ

Фотоперіодична чутливість значною мірою визначає рівень адаптації рослинного організму до конкретних умов вирощування. М'яка пшениця є рослиною довгого дня, але її сорти дуже поліморфні щодо реакції на скорочення тривалості світового періоду від майже нейтральних до дуже чутливих генотипів [1, 2]. Більшість

сучасних сортів слабо або середньо чутливі до фотоперіоду, що обумовлено присутністю 1-2 домінантних алелів генів *Ppd* [3, 4]. Відмінності між генотипами за фотоперіодичною чутливістю проявляються вже на початкових етапах розвитку рослини [5]. Зазначені відмінності мають прямий ефект на рівень морозостійкості конкретних генотипів [6, 7]. Сильна фотоперіодична чутливість затримує розвиток зачатків репродуктивних органів восени та підвищує рівень стійкості генотипу до стресових умов в період перезимівлі. Слабка фотоперіодична чутливість, навпаки, прискорює розвиток, але такі посіви більше гинуть від морозів [1]. Фотоперіодична нейтральність домінує, тому сильна реакція на скорочений день обумовлена рецесивними алелями генів фотоперіодизму.

Відомо, що домінантні алелі генів *Ppd* виявляють плейотропний ефект на ряд агрономічних ознак пшениці, наприклад на морозостійкість, врожайність, висоту рослин та ін. [6, 7]. Адаптаційна здібність рослин пов'язана зі змінами генної експресії багатьох структурних та регуляторних генів, зокрема ферментів. Тому метою даної роботи є з'ясування змін у функціонуванні деяких генів ферментів та вплив на цей процес домінантних і рецесивних генів фотоперіодизму в геномі сорту Миронівська 808 при загартуванні рослин в природних умовах.

Матеріали і методи

Матеріалом досліджень слугували рослини озимої пшениці сорту Миронівська 808 та її майже ізогенні по генах фотоперіодизму лінії, які створені у відділі генетики Селекційно-генетичного інституту [8]. Сорт Миронівська 808 є носієм тільки рецесивних алелів генів *Ppd* і має генотип *Ppd-A1b Ppd-B1b Ppd-D1b* [3]. Генотипи ліній Миронівська 808-*Ppd-A1a* та Миронівська 808-*Ppd-B1a* можуть бути позначені відповідно : *Ppd-A1a Ppd-B1b Ppd-D1b* та *Ppd-A1b Ppd-B1a Ppd-D1b*. Посів проводили 1.10.2006 р. Рослинний матеріал для визначення ферментів (зелені листки) відбирали через сім діб протягом десяти тижнів, починаючи з п'ятої доби після сходів (25.10.06). Температурні умови вирощування у вказаний проміжок часу сприяли проходженню загартовування рослин в природних умовах (м. Одеса).

Екстрагування ферментів (пероксидаза – ПО, фенолоксидаза – ФО, цитохромоксидаза - ЦХО, супероксиддисмутаза – СОД, естераза), розподіл їх в поліакриламідному гелі та візуалізацію смуг провадили за методиками, що наведені раніше [9]. Електрофореграми аналізували за програмою АнаИС, за допомогою якої для кожної форм досліджуваного ферменту визначали експресивність (площу та інтенсивність забарвлення відповідної смуги в гелі в умовних одиницях) та частку питомої щільності кожної смуги на денситограмі у відсотках. Статистичний, кореляційний та дисперсійний аналіз результатів провадили за програмами Microsoft Excel.

Результати та обговорення

Електрофоретичний розподіл множинних молекулярних форм пероксидази та цитохромоксидази представлено на рис.1. ПО в гелі поділяється на 11, а ЦХО – на 10 смуг з різною рухливістю та інтенсивністю забарвлення, що корелює з експресивністю ферментів. Смуги нумерували, починаючи з № 1 як найбільш рухливої форми. На п'ятий тиждень від початку відбору листків для аналізу, коли середня температура повітря була нижчою 10 °С, спостерігається підвищення експресивності обох ферментів. Таке підвищення при загартуванні рослин стосується переважної більшості форм ферменту, але особливо це помітно у форм 5 та 7 -10 у пероксидази і 3, 5, 9 у цитохромоксидази. Схожі зміни експресивності відбувалися і з боку інших досліджуваних ферментів. Якісної різниці між спектрами досліджуваних ферментів у сорту Миронівська 808 та у її майже ізогенних по генах *Ppd* ліній не спостерігається.

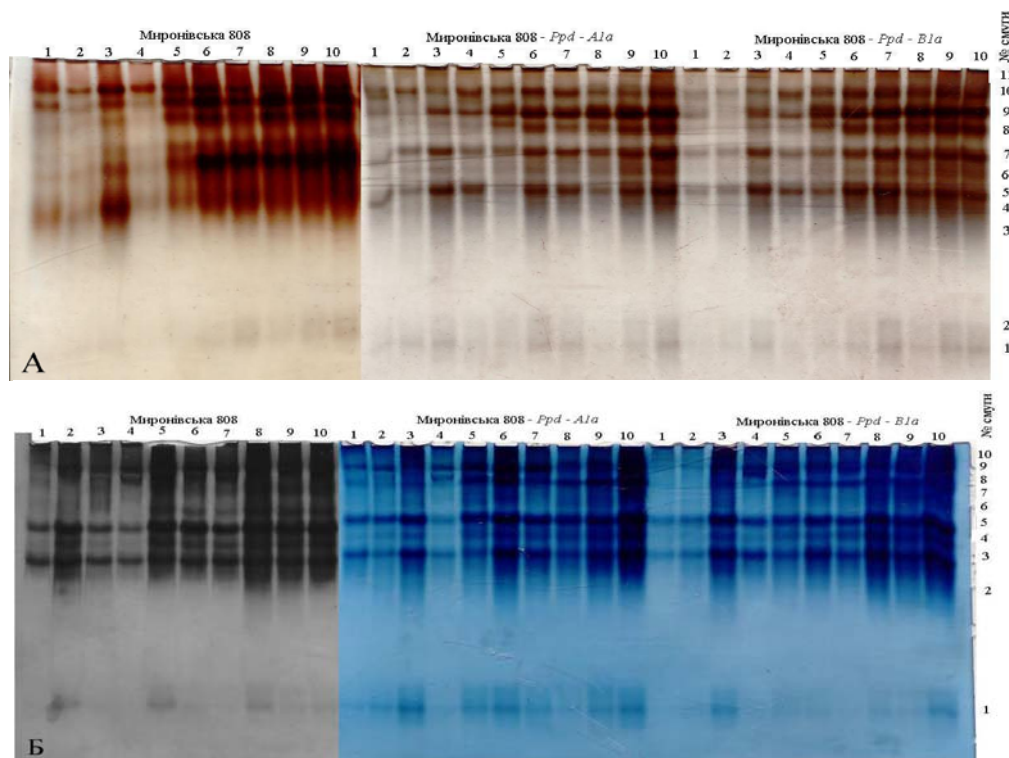


Рис. 1. Електрофоретичні спектри пероксидази (А) і цитохромоксидази (Б) в рослинах сорту Миронівська 808 та її майже ізогенних лініях при загартування рослин в польових умовах (1 - 10 – тижні дослідження)

Загальна експресивність досліджуваних ферментів при загартуванні рослин пшениці змінюється неоднаково (рис. 2). Майже у всіх випадках вона зростає, інколи не змінюється і в жодному варіанті досліду не спостерігається зменшення цього показника. Показник експресивності максимально зростає у випадку фенолоксидази : в рослинах Миронівської 808 – на 424 % порівняно з незагартованими рослинами, в рослинах Миронівської 808-*Ppd-A1a* на 250 %, а у рослин лінії Миронівська 808-*Ppd-B1a* – на 155 %. Експресивність ЦХО змінюється по-іншому: у ізогенних ліній наприкінці загартування вона однакова і вдвічі перевищує експресивність цього ферменту в рослинах сорту Миронівська 808. Експресивність ПО підвищується практично однаково у всіх трьох генотипів рослин. Загальна експресивність СОД и, особливо естерази, майже не змінюється в процесі загартовування рослин.

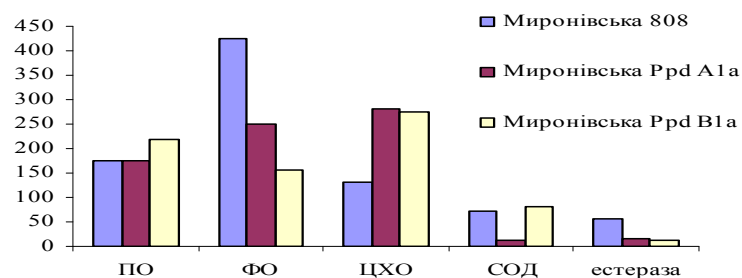


Рис. 2. Зміни загальної експресивності ферментів при загартовуванні рослин пшениці в польових умовах (відсотки від експресивності до загартування)

Заміна в геномі Миронівської 808 рецесивних генів фотоперіодизму на домінуючі призводить до помітних змін експресивності та питомої ваги досліджуваного ферменту у загальному ензимному спектрі (таблиця 1). Ці зміни залежать як від алеля генів фотоперіодизму, так і від досліджуваного ферменту. Дисперсійний аналіз даних експресивності та відсоткових часток окремих форм показав, що перенос в геном Миронівської 808 домінуючих генів фотоперіодизму призводить до вірогідної різниці між трьома ге-

Таблиця 1

Вплив загартування рослин Миронівської 808 та її ліній на окремі показники досліджуваних ферментів

Генотип	Фермент	Кількість форм	Кількість форм, експресивність яких корелює з загартуванням		Кількість форм, частка яких корелює з загартуванням		Сумарна експресивність	Дисперсійний аналіз*	t-тест**
			↑	↓	↑	↓			
Миронівська 808	ПО	11	11	-	-	3	↑	P ≤ 0,46	
Миронівська- <i>Ppd A1a</i>	ПО	11	6	-	1	4	↑		P ≤ 0,42
Миронівська- <i>Ppd B1a</i>	ПО	11	11	-	1	2	↑		P ≤ 0,001
Миронівська 808	ФО	10	7	-	3	3	↑	P ≤ 0,001	
Миронівська- <i>Ppd A1a</i>	ФО	10	9	-	2	2	↑		P ≤ 0,001
Миронівська- <i>Ppd B1a</i>	ФО	10	8	-	3	3	↑		P ≤ 0,001
Миронівська 808	ЦХО	10	6	1	2	3	↑	P ≤ 0,012	
Миронівська- <i>Ppd A1a</i>	ЦХО	10	8	-	1	3	↑		P ≤ 0,02
Миронівська- <i>Ppd B1a</i>	ЦХО	10	2	-	3	3	↑		P ≤ 0,16
Миронівська 808	СОД	11	6	-	2	2	↑	P ≤ 0,001	
Миронівська- <i>Ppd A1a</i>	СОД	11	-	-	1	-	-		P ≤ 0,001
Миронівська- <i>Ppd B1a</i>	СОД	11	7	-	2	3	↑		P ≤ 0,001
Миронівська 808	Естераза	11	3	-	2	3	↑	P ≤ 0,002	
Миронівська- <i>Ppd A1a</i>	Естераза	11	-	-	-	-	-		P ≤ 0,001
Миронівська- <i>Ppd B1a</i>	Естераза	11	1	3	-	2	-		P ≤ 0,025

*Значення P для дисперсійного комплексу по трьом генотипам для кожного ферменту

**Попарне порівняння окремої ізогенної лінії з Миронівською 808

нотипами по усіх ферментах за виключенням пероксидази. Парний двовибірковий t-тест для середніх також свідчить про вірогідну різницю між змінами у функціонуванні ферментів у рекурентного генотипу та його майже ізогенними лініями. В протилежність цьому вірогідної різниці між самими лініями зазначеним методом не виявлено. В цілому заміщення алеля *Ppd-B1b* на алель *Ppd-B1a* або не змінює, або збільшує досліджувані показники порівняно з контрольними рослинами, а заміщення рецесивного гену *Ppd-A1b* на домінуючий *Ppd-A1a* зменшує рівень змін експресивності досліджуваних ферментів у відповідь на загартування низькими температурами. Як свідчать дані інших авторів [6-7], вказані домінуючі алелі неоднаково впливають на ряд важливих агрономічних ознак, тобто розрізняються інтенсивністю плейотропного ефекту, що підтверджується і в даному дослідженні.

Висновки.

1. В тканинах незагартованих і загартованих рослин пшениці не виявлено відмінностей в електрофоретичному розподілі окремих ізоформ досліджуваних ферментів.
2. Загартування рослин пшениці призводить до змін у функціонуванні досліджуваних ферментів, що відзначається значним підвищенням їх експресивності та змінами кількісних співвідношень між окремими ізоформами ферментів.
3. Майже ізогенні по генах *Ppd* лінії Миронівської 808 за експресією досліджуваних ферментів вірогідно відрізняються від своєї рекурентної батьківської форми.
4. При загартуванні рослин домінуючий алель *Ppd-B1a* переважно сприяє збільшенню експресивності досліджуваних ферментів порівняно з алелями *Ppd-B1b* або *Ppd-A1a*.

Література

1. Файт В.І. Морозостійкість і урожайність окремих сортів озимої м'якої пшениці // Вісник аграрної науки. – 2005. – №11. – С. 25-29.
2. Стельмах А.Ф., Литвиненко В.І., Файт В.І. Яровизаційна потреба та фоточутливість сучасних генотипів озимої м'якої пшениці // Зб. наук. праць СГІ-НАЦ НАІС. – Одеса, 2004. – Вип.5 (45). – С. 118-127.
3. Файт В.І., Федорова В.Р. Ідентифікація сортів озимої м'якої пшениці за генами фотоперіодичної чутливості // Зб. наук. праць СГІ – НАЦ НАІС. – Одеса. – 2007. – Вип. 9(49). – С. 9-21.
4. Гончаров Н.П. Генетический контроль фотопериодической реакции у мягкой пшеницы // С.-х. біологія. – 1986. - № 11. – С. 84-90.
5. Стельмах А.Ф., Мартынюк В.Р. Эффекты доминантных генов *Ppd* по особенностям органогенеза у озимой мягкой пшеницы // Цитология и генетика. - 1998. – Т. 32, №6. – С. 27-34.
6. Worland A.J., Borner A., Korzun V. et al. The influence of photoperiod genes on the adaptability of European winter wheat // Euphytica. – 1998. – V. 100. - P. 385-394.
7. Файт В.І., Федорова В.Р. Влияние различий генов *Ppd* на агрономические признаки озимой мягкой пшеницы // Цитология и генетика. – 2007. – Т. 37, №5. - С. 69-76.
8. Файт В.І., Стельмах А.Ф., Мартынюк В.Р., Воронин А.Н. Создание изогенных по локусам *Ppd1-3* линий мягкой пшеницы // Науч.-тех. бюл. СГИ. – 1997. – №1(87). – С. 18-21.
9. Дьяченко Л.Ф., Топтиков В.А., Міресь С.Л., Бабаянц Л.Т., Тоцький В.М. Множинні молекулярні форми деяких оксидоредуктаз і резистентність м'якої пшениці до фузаріозу // Вісник ОНУ. – 2001. – Т. 6, №1. – С. 59-66.

Резюме

Досліджували електрофоретичні спектри пероксидази, супероксиддисмутази, фенолоксидази, цитохромоксидази і естераз в листках пшениці сорту Миронівська 808 та її майже ізогенних по генах *Ppd* ліній. При загартуванні рослин в польових умовах домінуючі гени *Ppd-A1a* та *Ppd-B1a* неоднаково впливали на зміни експресивності окремих ізоформ ферментів.

Исследовали электрофоретические спектры пероксидазы, супероксиддисмутазы, фенолоксидазы, цитохромоксидазы и эстераз в листках линий пшеницы сорта Мироновская 808 и ее почти изогенных по генам *Ppd* линий. При закаливании растений в полевых условиях доминантные гены *Ppd-A1a* и *Ppd-B1a* по-разному влияли на изменения экспрессивности отдельных изоформ ферментов.

The electrophoretic spectra of multiple molecular forms of peroxidase, superoxide desmutase, phenoloxidase, cytochromoxidase and esterase in winter *Ppd* nearisogenic lines of v. Mironovskaya 808 have been studied. During autumn vernalization in the field some isoforms of enzyme expression in nearisogenic lines differentiated from recurrent genotype.

ЕВТУШЕНКОВ А.Н., АГАБОЗОРГИ С.

Белорусский государственный университет.

Беларусь, 220030, Минск, проспект Независимости, 4 e-mail: evtushenkov@bsu.by

ВИРУЛЕНТНЫЕ СВОЙСТВА МУТАНТОВ БАКТЕРИЙ *ERWINIA ATROSEPTICA* ПО ГЕНАМ СИСТЕМЫ СЕКРЕЦИИ III ТИПА

Бактерии *Erwinia carotovora subsp. atroseptica* способны поражать растения как в период вегетации, вызывая сосудистый бактериоз “черную ножку” картофеля, так и