

УДК. 632.651+632.938+581.2:577.115.3

ЭЛИСИТОРНАЯ АКТИВНОСТЬ ХИТОЗАНА И АРАХИДОНОВОЙ КИСЛОТЫ: СХОДСТВО И РАЗЛИЧИЕ

© 2012 г. Н. И. Васюкова, Н. Г. Герасимова, Г. И. Чаленко, О. Л. Озерецковская

Институт биохимии им. А.Н. Баха РАН

e-mail: vasyukova@inbi.ras.ru

Поступила в редакцию 19.04.2011 г.

Элиситоры, хитозан и арахидоновая кислота, индуцировали однотипные защитные ответы у клубней картофеля, стимулируя процессы раневой репарации, а также вызывая образование фитоалексинов, ингибиторов протеиназ и активных форм кислорода. Однако хитозан индуцировал защитный потенциал растительных тканей в концентрациях на порядок больших, чем арахидоновая кислота. Защитное действие хитозана определялось двумя параметрами: способностью индуцировать иммунные ответы в тканях растений и оказывать токсическое действие на развитие патогенов, вызывающих фитофтороз и фузариоз, тогда как элиситорный эффект арахидоновой кислоты зависел только от ее способности вызывать защитный потенциал в растительных тканях.

Метаболиты фитопатогенов, вызывающие устойчивость растений к болезням, ранее назывались индукторами [1], однако широкое использование этого термина привело к необходимости заменить название индукторы термином элиситоры (от английского слова “to elicit” – вызывать, выявлять) [2].

В настоящее время под термином “элиситоры” имеются в виду метаболиты фитопатогенов, индуцирующие у растений комплекс защитных ответов. К числу элиситоров принадлежат многие соединения (белки, гликопротеиды, олигосахариды, жирные кислоты), в том числе хитозан и арахидоновая кислота (АК), которые и являются предметом исследования настоящей работы.

Хитозан присутствует в клеточных стенках многих грибов, в том числе патогенных. По строению этот элиситор является β -1,4-связанным полимером глюкозамина. В последнее время его называют веществом XXI века, поскольку сейчас трудно определить какую-либо сферу человеческой деятельности, где бы ни применялся хитозан либо его производные [3]. Особое значение принадлежит хитозану в сельскохозяйственном производстве, где он является альтернативой токсическим пестицидам, нарушающим экологическое равновесие в биосфере. Важную роль выполняет хитозан в оздоровлении сельскохозяйственных земель, поскольку этот глюкозаминовый полимер стимулирует развитие почвенных грибов и актиномицетов, являющихся антагонистами фитопатогенных грибов. Под воздействием хитозана повышается урожай, улучшается его качество, повышается устойчивость растений к биотическим и абиотическим стрессам. Этот полимер

природного происхождения не накапливается в почве, тканях растений, животных и человека, легко деградирует в природной среде. Ранее проведенные исследования позволили установить, что наибольшей элиситорной активностью обладал хитозан с мол. массой 5 кДа и степенью дезацетилирования 85% [4].

Другой элиситор, АК – полиеновая жирная кислота С-20 ряда, широко распространен в животном мире, тогда как в растениях его наличие ограничено. Так, АК отсутствует в тканях высших наземных растений, но обнаруживается в составе липидов мхов, папоротников и водорослей, а также некоторых грибов [5]. Среди последних особый интерес представляют оомицеты, к которым относятся фитопатогены родов *Phytophthora* и *Pythium*, содержащие более 15% АК и эйкозапентаеновой кислоты от суммы липидов мицелия. Эти полиеновые кислоты обнаружены как в составе всех кислотных липидов, так и в неомыляемых липидах возбудителя фитофтороза [6, 7]. Показано, что до 90% экзогенно добавленной к клубням картофеля С¹⁴-меченой АК уже в течение 2 ч обнаруживается в составе фосфолипидов картофеля [8], вытесняя свойственные растениям линоленовую, линолевую и олеиновую кислоты. Поскольку АК для растений является чужеродным соединением, то возможно, что ее включение в состав фосфолипидов может вызывать в картофеле активирование новых сигнальных систем, результатом чего является репрограммирование защитных ответов.

Возникает вопрос, однотипны ли защитные ответы, вызываемые в растениях столь различными по строению и происхождению элиситорами, как хитозан и АК? В связи с этим цель работы –

исследовать насколько сходны защитные реакции, индуцируемые обоими элиситорами, а также в определении, не является ли защитный эффект хитозана и АК результатом полного или частичного ингибирования ими роста и развития фитопатогена.

Из множества защитных ответов, которые могут быть индуцированы элиситорами, предметом настоящего исследования явились способность хитозана и АК:

- репарировать механически пораненные ткани растений;
- вызывать образование индуцированных антибиотиков – фитоалексинов;
- индуцировать накопление ингибиторов протеиназ;
- стимулировать генерацию активных форм кислорода.

МЕТОДИКА

В работе использовали клубни картофеля *Solanum tuberosum* L. сорта “Юбилей Жукова” и расу 1.3 оомицета *Phytophthora infestans* (Mont.) de Vuzy, совместимую с данным сортом.

В качестве элиситоров применяли арахидоновую кислоту (АК) (“Sigma” США), а также водорастворимый хитозан с мол. массой 5 кДа и степенью дезацетилирования 85%, любезно предоставленный нам профессором В.П. Варламовым (Центр “Биоинженерия” РАН). Суспензию АК готовили в стерильной воде путем интенсивного встряхивания на приборе “Миксер ВП” (Россия).

Испытание способности АК и хитозана индуцировать фитоптороустойчивость (элиситорная активность) и стимулировать интенсивность процесса раневой репарации (репарационная активность) исследовали на дисках, вырезанных из клубней картофеля. Верхнюю поверхность дисков обрабатывали АК или хитозаном, взятыми в различных концентрациях.

Элиситорная активность. Поверхность дисков через 2 ч после обработки элиситорами инфицировали суспензией зооспор расы 1.3 *P. infestans* плотностью 10^4 зооспор/мл. Диски помещали в кристаллизаторы, внутренние стенки которых выстилали фильтровальной бумагой, смоченной водой. Влажность контролировали на протяжении проведения опыта. Степень инфицирования дисков картофеля возбудителем фитоптороза оценивали микроскопически через 72 ч, подсчитывая число слоев клеток, в которые проникли гифы патогена.

Репарационная активность. Залечивание механических поранений определяли на поверхности

дисков, обработанных АК и хитозаном, взятых в различных концентрациях (без инфицирования патогеном) и помещенных в условия, способствующие образованию раневой перидермы. О скорости процесса репарации судили по образованию вторичной меристемы (пробкового камбия) – феллогена на 3 сут после поранения, тогда как интенсивность образования раневой перидермы в тот же срок оценивали по числу ее клеточных рядов.

Ингибиторы протеиназ (ИП). На поверхности срезов клубней картофеля вырезали лунки, в которые помещали растворы испытуемых элиситоров. Через 48 ч диффузаты собирали и анализировали на содержание ИП, которое определяли по степени подавления протеолитической активности химотрипсина, используя в качестве субстрата 1%-ный раствор казеина. За единицу ферментативной активности принимали количество фермента, в условиях эксперимента, приводящее к увеличению величины D_{280} на 1 единицу в течение 1 мин. За единицу ингибиторной активности принимали содержание ИП, которое подавляло 1 ед. ферментативной активности.

Ришитин. Фитоалексин (ФА) картофеля, ришитин, определяли в диффузатах клубней. Для этого на поверхности ломтика клубня вырезали лунки, которые промывали проточной водой, подсушивали, а затем в них вносили растворы элиситоров. Через 48 ч диффузаты из лунок собирали, центрифугировали при 1000 g в течение 20 мин и далее пятикратно экстрагировали равным объемом н-гексана. Гексановый слой отделяли и лиофильно высушивали. К сухому остатку добавляли концентрированную серную кислоту (1 : 3) и определяли интенсивность развивающейся окраски на спектрофотометре при 530 нм. Результаты пересчитывали по калибровочной кривой, построенной по чистому ришитину, и выражали в мкг на 1 мл диффузата [9].

Активность каталазы. На торцевую поверхность дисков клубней картофеля наносили по 50 мкл раствора элиситора или воды (в контрольных вариантах). Диски инкубировали во влажных камерах в течение 2, 15 и 24 ч. Верхний слой ткани диска толщиной 1 мм отбрасывали. Из следующего слоя (1–2 мм) готовили ацетоновые препараты, которые экстрагировали 70 мМ К-Na-фосфатным буфером (pH 7.0) или 20 мМ ТЭА-буфером (pH 7.4), содержащим 1 мМ ЭДТА и 5 мМ аскорбат натрия, а затем центрифугировали при 17000 g в течение 10 мин. В супернатанте определяли активность каталазы по падению оптической плотности пероксида водорода на спектрофотометре при 240 нм в течение 5 мин после начала реакции при 37°C [10]. Удельную активность каталазы выражали в мкмоль H_2O_2 мг⁻¹ белка мин⁻¹

Таблица 1. Элиситорная активность хитозана в дисках клубней картофеля, инфицированных *P. infestans*

| Вариант | Концентрация хитозана, г/мл | Глубина проникновения гиф <i>P. infestans</i> , слои, $M \pm \Delta$ | % от контроля |
|-----------------|-----------------------------|--|---------------|
| Контроль (вода) | — | 26.7 ± 1.1 | 100 |
| Хитозан | 2×10^{-4} | 24.3 ± 1.3 | 91 |
| | 1.5×10^{-4} | 21.4 ± 0.8 | 80 |
| | 10^{-4} | 20.5 ± 0.9 | 77 |
| | 10^{-5} | 22.4 ± 0.7 | 84 |
| | 10^{-6} | 24.0 ± 1.7 | 90 |
| | 10^{-7} | 25.9 ± 0.7 | 97 |

Таблица 2. Элиситорная активность АК в дисках клубней картофеля, инфицированных *P. infestans*

| Вариант | Концентрация АК, г/мл | Глубина проникновения гиф <i>P. infestans</i> , слои, $M \pm \Delta$ | % от контроля |
|-----------------|-----------------------|--|---------------|
| Контроль (вода) | — | 26.9 ± 3.9 | 100 |
| АК | 10^{-4} | 33.6 ± 2.7 | 125 |
| | 10^{-6} | 33.3 ± 4.2 | 124 |
| | 10^{-7} | 24.2 ± 3.5 | 90 |
| | 10^{-8} | 17.8 ± 1.5 | 60 |
| | 10^{-9} | 22.6 ± 3.4 | 84 |
| | 10^{-10} | 26.5 ± 2.7 | 99 |
| | 10^{-11} | 27.0 ± 3.3 | 100 |
| | 10^{-12} | 26.9 ± 3.1 | 100 |
| | 10^{-14} | 27.0 ± 3.0 | 100 |

Содержание белка. В диффузатах белок определяли по методу Bradford, используя в качестве стандарта БСА [11].

Токсическое действие элиситоров. Препараты АК и хитозана использовали для оценки их токсического действия на грибах *P. infestans* и *Fusarium culmorum* (W. G. Sm.). Водный раствор испытуемого элиситора смешивали с суспензией зооспор или макроконидий патогенов (v/v), 0.5 мкл смеси наносили на предметное стекло и помещали в условия, необходимые для их прорастания. Через 24 ч прорастание зооспор фитогоры и макроконидий фузариума оценивали микроскопически, измеряя с помощью окулярной линейки длину проросших гиф.

Статистическая обработка. Результаты статистически обрабатывали по Стьюденту с вероятностью безошибочного прогноза 0.95. В таблицах приведены значения средней арифметической M и абсолютной максимальной погрешности Δ .

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Элиситорную активность хитозана и АК оценивали по их способности задерживать развитие фитогороза в клубнях картофеля. Оптимальная элиситорная активность, вызываемая хитозаном, проявлялась при концентрации 10^{-4} г/мл (табл. 1). Защитный эффект хитозана в этой дозе составлял 23%. Падение или наоборот возрастание концентрации хитозана от точки его наивысшей элиситорной активности приводило к ее уменьшению.

Максимальную элиситорную активность АК наблюдали при ее чрезвычайно низкой концентрации, равной 10^{-8} г/мл (табл. 2). В этой дозе защитный эффект АК составлял 40% от контрольного варианта. По мере понижения концентрации элиситорная активность АК исчезала. Повышение концентрации до 10^{-4} г/мл вызывало некротизацию тканей дисков и большую площадь распространения гриба. Следует подчеркнуть, что элиситорная активность АК зависит от физиологического состояния клубней картофеля и изме-

Таблица 3. Влияние хитозана на процесс раневой репарации в тканях клубней картофеля

| Вариант | Концентрация хитозана, г/мл | Феллоген, % от контроля | Число рядов перидермы, $M \pm \Delta$ | % от контроля |
|-----------------|-----------------------------|-------------------------|---------------------------------------|---------------|
| Контроль (вода) | — | 100 | 1.28 ± 0.03 | 100 |
| Хитозан | 2×10^{-4} | 121 | 1.36 ± 0.04 | 106 |
| | 1.5×10^{-4} | 138 | 1.33 ± 0.02 | 104 |
| | 10^{-4} | 150 | 1.45 ± 0.01 | 113 |
| | 10^{-5} | 115 | 1.23 ± 0.03 | 96 |
| | 10^{-6} | 102 | 1.31 ± 0.05 | 102 |
| | 10^{-7} | 101 | 1.24 ± 0.01 | 97 |

Таблица 4. Влияние АК на процесс раневой репарации в клубнях картофеля

| Вариант | Концентрация АК, г/мл | Феллоген, % от контроля | Число рядов перидермы, $M \pm \Delta$ | % от контроля |
|-----------------|-----------------------|-------------------------|---------------------------------------|---------------|
| Контроль (вода) | — | 100 | 1.13 ± 0.05 | 100 |
| АК | 10^{-4} | 0 | 0.76 ± 0.02 | 67 |
| | 10^{-6} | 22 | 0.75 ± 0.02 | 66 |
| | 10^{-7} | 211 | 1.20 ± 0.01 | 106 |
| | 10^{-8} | 233 | 1.47 ± 0.03 | 130 |
| | 10^{-9} | 201 | 1.42 ± 0.05 | 126 |
| | 10^{-10} | 111 | 1.12 ± 0.02 | 99 |
| | 10^{-11} | 99 | 1.10 ± 0.01 | 97 |
| | 10^{-12} | 100 | 1.15 ± 0.02 | 102 |
| | 10^{-14} | 100 | 1.14 ± 0.03 | 101 |

няется от 10^{-6} г/мл в сентябре до 10^{-10} – 10^{-9} г/мл в мае–июне [12]. Настоящая работа проводилась в марте месяце.

Одним из защитных эффектов, индуцируемых элиситорами, является репарация механических поранений растительных тканей. Способность к раневой репарации широко распространена в мире растений. Покровы растительных тканей, как естественные, так и раневые, защищают растения от проникновения патогенов, излишнего испарения и неблагоприятных условий среды.

Механические поранения неизбежны при уборке, транспортировке и загрузке клубней картофеля в хранилище, поэтому скорость и интенсивность процессов заживления поранений являются важными условиями сохранения урожая картофеля. Быстрый и интенсивный процесс репарации во многом определяет защищенность всего растения или его органа, поскольку позволяет закрыть пораненные участки тканей от возможного проникновения инфекции.

Полученные результаты свидетельствовали о том, что под воздействием хитозана и АК ускоряется образование и укрепляются защитные свой-

ства раневых покровов клубней картофеля (табл. 3 и 4). Оптимальной концентрацией хитозана, интенсивно залечивающей места механических поранений, является доза 10^{-4} г/мл (табл. 3). При этой дозировке большинство содержащих крахмал клеток паренхимы клубней картофеля, прилегающих к зоне поранения, превращались в меристематические, образуя вторичный камбий – феллоген, продуцирующий ряды раневой перидермы. АК по сравнению с хитозаном обладала более выраженными репарационными свойствами: в концентрации 10^{-8} г/мл элиситор более чем вдвое стимулировал формирование феллогена, образующего перидерму (табл. 4). Уменьшение концентрации элиситора постепенно сводило на нет репарационную активность, тогда как возрастание его дозировки приводило к некротизации клеток клубней.

Способность хитозана и АК стимулировать процессы раневого заживления клубней картофеля связана со свойством этих элиситоров индуцировать образование ингибиторов протеиназы (ИП), что является одним из критериев сигнальной системы репарации. Установлено, что хитозан

и особенно АК индуцировали выделение ИП в диффузаты клубней картофеля (рис. 1). При этом индуцирующая активность АК заметно превосходила соответствующую способность хитозана. Возможно, что большая активность АК связана со свойствами образующихся из нее простагландинов (в картофеле обнаружена циклооксигеназа) [13], участвующих в сигнальных системах животных, которые по биологической активности близки к сигнальным октадеcanoидам в тканях растений.

К числу защитных ответов растений, индуцированных элиситорами, принадлежит их способность вызывать образование низкомолекулярных антибиотиков – фитоалексинов (ФА) [14]. Под воздействием элиситоров и несовместимых патогенов происходит некротизация растительных тканей. Предполагается, что ФА синтезируются в здоровых клетках, прилегающих к области некроза, откуда перемещаются в некротизированные, где накапливаются до количеств, токсичных для патогена. Известно, что основными ФА картофеля являются его сесквитерпеноидные производные – ришитин и любимин [15, 16]. Согласно нашим результатам, особенно высокой способностью индуцировать ришитин обладала АК, которая в концентрации 200 мкг/мл индуцировала этот ФА в количестве 40 мкг/мл диффузата:

| АК (мкг/мл) | Ришитин (мкг/мл диффузата) |
|-------------|----------------------------|
| 1 | 0 |
| 5 | 0 |
| 10 | 2 |
| 25 | 4 |
| 50 | 20 |
| 100 | 20 |
| 200 | 40 |
| 400 | 45 |
| 600 | 47 |
| 1000 | 65 |

Хитозан вызывал образование того же количества ришитина в диффузатах, но в концентрациях, в 10 раз больше, чем АК (табл. 5).

В настоящее время считается, что одним из начальных механизмов фитоиммунитета является образование активных форм кислорода – супероксидных и гидроксильных свободных радикалов, пероксид водорода, а также синглетного кислорода. Эти продукты не только выступают в качестве прямых токсикантов для патогенов, но и являются участниками сигнальных систем растений [17]. Показано [18], что в клубнях под действием АК образовывался супероксидный радикал кислорода, который ингибировался супероксиддисмутазой

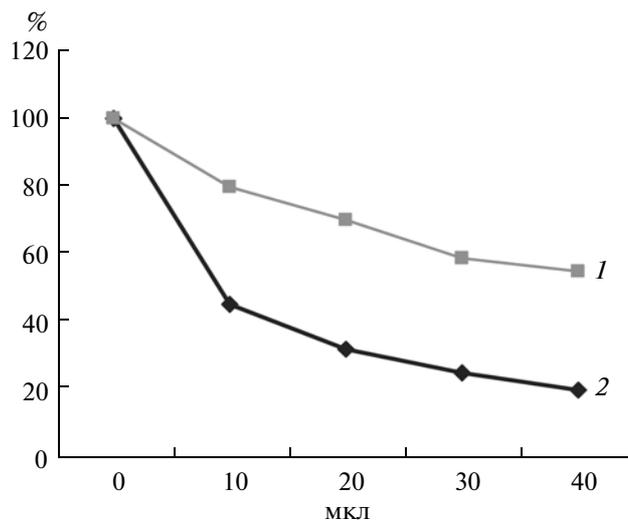


Рис. 1. Индукция ИП хитозаном (1) и АК (2) в диффузатах клубней картофеля. По оси абсцисс – объем (мкл) диффузатов клубней, подавляющих активность 1 мкг химотрипсина. По оси ординат – остаточная протеолитическая активность фермента, % от исходной.

(СОД). Диффузаты из обработанных АК (10^{-8} М) клубней картофеля ингибировали рост гиф возбудителя фитофтороза. Добавление СОД к диффузатам ослабляло фунгитоксическое действие, что свидетельствовало о наличии супероксида. Предполагается, что в диффузат выделяются предшественники супероксида, которые служат источником его образования.

Одним из ферментов, препятствующих образованию активных форм кислорода (АФК), служит каталаза, которая разлагает пероксид водорода

Таблица 5. Индукция ришитина хитозаном в диффузатах клубня картофеля

| Хитозан, кДа | Концентрация хитозана, мкг/мл | Ришитин, мкг/мл диффузата |
|--------------|-------------------------------|---------------------------|
| 5 | 100 | 0 |
| | 1000 | 8 |
| | 3000 | 40 |
| 24 | 100 | 0 |
| | 1000 | 2 |
| | 3000 | 13 |
| 200 | 100 | 0 |
| | 1000 | 0 |
| | 3000 | 0 |

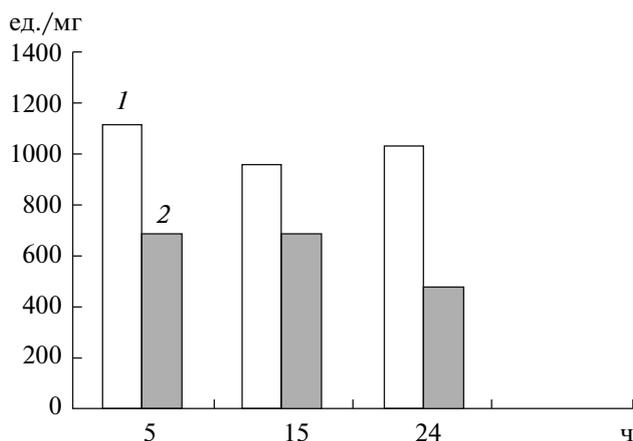


Рис. 2. Активность каталазы в дисках клубней картофеля после их обработки водой (контроль) и хитозаном (10^{-4} г/мл). По оси абсцисс – сроки инкубации дисков, ч. По оси ординат – удельная активность каталазы, ед./мг белка. 1 – Контроль (вода), 2 – хитозан.

да – наиболее стабильную форму АФК. Поэтому предполагают, что пероксид водорода способен играть роль вторичного мессенджера в тканях растений [19]. Накопление этого соединения вызывает окислительный взрыв, инициирующий процесс формирования иммунного ответа растений. Отсюда следует, что подавление активности каталазы может влиять на иммунный статус растительных клеток. Наши данные показали, что под воздействием хитозана в клетках клубня картофеля инактивируется каталаза, что может приводить к экспрессии защитных генов под влиянием накапливающегося пероксида водорода и повышению устойчивости растений. Установлено, что уже через 15 ч после предобработки дисков клубней хитозаном активность этого фермента значительно снижалась по сравнению с контролем, а при экспозиции в течение 24 ч происходило максимальное инактивирование каталазы (рис. 2).

Полученные результаты продемонстрировали, что оба исследованных элиситора индуцируют одни и те же защитные ответы у клубней картофеля. И хитозан, и АК стимулировали у клубней процессы репарации, образование ФА, ИП, а также способствовали возникновению окислительного взрыва. Можно предположить, что различие в индуцирующей активности обоих элиситоров носит количественный характер, так как хитозан индуцирует защитный потенциал растительных тканей в концентрациях на порядок больших, чем АК.

Однако о качественной однотипности защитных ответов трудно судить, не определяя непосредственное воздействие обоих элиситоров на патоген в условиях *in vitro*. С этой целью изучили влияние

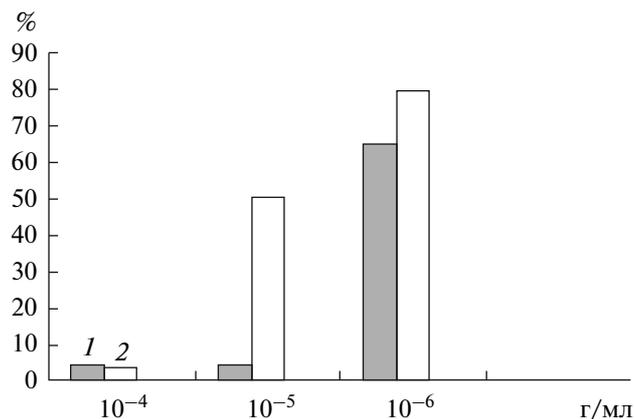


Рис. 3. Влияние хитозана (г/мл) на длину ростковой трубки зооспор *P. infestans* (1) и макроконидий *F. culmorum* (2).

элиситоров в различных концентрациях на длину ростковых трубок, образующихся после прорастания зооспор возбудителя фитофтороза или макроконидий возбудителя фузариоза (рис. 3 и 4).

Возбудитель фитофтороза был использован в работе, поскольку именно этот патоген применялся в экспериментах для определения элиситорной активности. Кроме того, один из исследованных элиситоров, а именно АК, не является чужеродным для возбудителя фитофтороза, поскольку известно, что патогены класса оомицетов, к числу которых принадлежит *P. infestans*, отличаются высоким содержанием полиеновых жирных кислот, в частности АК. Наоборот, хитозан чужероден для возбудителя фитофтороза, поскольку клеточные

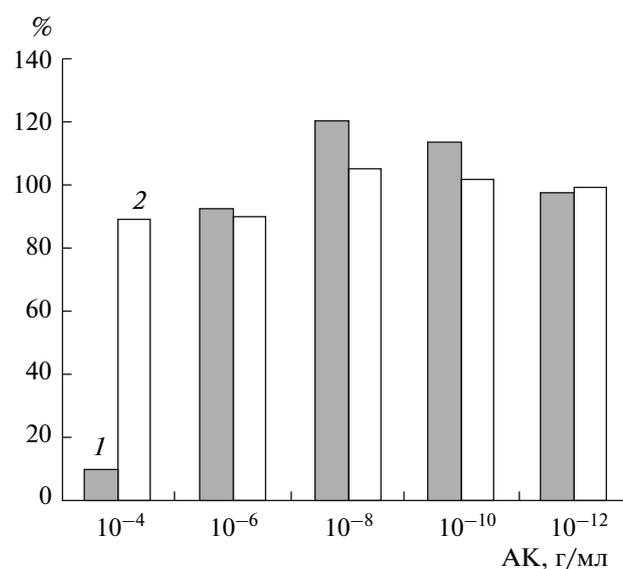


Рис. 4. Влияние АК на длину ростковой трубки зооспор *P. infestans* (1) и макроконидий *F. culmorum* (2).

стенки оомицетов или совсем не имеют его в своем составе, или содержат хитозан только в виде следов. Структурным элементом клеточных стенок и цитоплазматического содержимого фитотрофы служат β -глюканы [20]. *F. culmorum* в этом отношении прямо противоположен фитотрофу, поскольку его мицелий и макроконидии содержат хитозан, но не содержат АК. Именно поэтому данные грибы интересны для определения их чувствительности к использованным в работе элиситорам.

Показано, что хитозан полностью ингибировал прорастание зооспор *P. infestans* в концентрации 10^{-4} и 10^{-5} г/мл, однако по мере снижения дозы элиситора ингибирующий эффект ослабевал (рис. 3). Уже при использовании 10^{-6} г/мл хитозана часть зооспор возбудителя фитотрофа прорастала, образуя гифы длиной, составляющей примерно 65% от контрольного варианта. Вместе с тем установлено, что хитозан подавляет прорастание макроконидий возбудителя фузариоза, в несколько меньшей степени, чем ингибировал прорастание зооспор оомицета (рис. 3). Так, в дозировке 10^{-5} г/мл хитозан полностью угнетал прорастание зооспор фитотрофа, тогда как 50% макроконидий возбудителя фузариоза при этой же концентрации способны прорасти. В целом можно заключить, что хитозан ингибировал прорастание спор и рост гиф обоих патогенов, независимо от того, содержат ли они β -глюканы или хитозан.

Иная картина была получена при изучении воздействия АК на процесс прорастания фитопатогенов (рис.4). Данное соединение практически не подавляет прорастание зооспор фитотрофы и макроконидий фузариума и только при самой высокой концентрации, 10^{-4} г/мл, вызывающей некроз тканей картофеля, прорастание фитотрофы почти полностью ингибируется, тогда как макроконидии *F. culmorum* продолжают прорасти, причем длина образовавшихся ростковых трубок составляла 85% от контрольного варианта.

Подытоживая сказанное, нельзя не отметить, что элиситорная активность хитозана отличается от действия АК. Согласно полученным данным, защитное действие АК зависит только от ее способности индуцировать в растительной ткани защитные ответы и не связано с ее свойством подавлять жизнедеятельность фитопатогенов (возбудителей фитотрофа и фузариоза). Напротив, защитный эффект хитозана определялся двумя параметрами: способностью индуцировать иммунные ответы в тканях растений, с одной стороны, и оказывать токсическое действие на развитие патогена, с другой. Последнее дает основание полагать, что в случае защиты картофеля от фитотрофа и фузариоза хитозан действует скорее как биопестицид, в отличие от элиситора типа арахидоновой кислоты.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Cruickshank I.A.M., Perrin D.R. // Life Science. 1968. V. 7. P. 449–458.
2. Keen N.T. // Phytopathology. 1972. V. 62. P. 1365–1366.
3. Озерецковская О.Л., Васюкова Н.И., Зиновьева С.В. // Хитин и хитозан. Получение, свойства и применение. М.: Наука. 2002. С. 280–360.
4. Васюкова Н.И., Зиновьева С.В., Ильинская Л.И., Переход Е.А., Чаленко Г.И., Герасимова Н.Г., Ильина А.В., Варламов В.П., Озерецковская О.Л. // Прикл. биохимия микробиол. 2001. Т. 37. № 1. С. 115–122.
5. Ильинская Л.И., Озерецковская О.Л. // Прикл. биохимия и микробиол. 1998. Т. 34. № 5. С. 467–479.
6. Hohl H.R., Stoessl P. // Can. J. Bot. 1976. V. 54. P. 900–912.
7. Hoppe H.H., Humme B., Heitefuss R. // Phytopathol. Z. 1980. V. 97. P. 85–88.
8. Huang Y., Hedgeson P., Sequeira L. // Mol. Plant-Microbe Interact. 1989. V. 2. № 3. P. 132–138.
9. Озерецковская О.Л., Савельева О.Н., Давыдова М.А., Васюкова Н.И., Чалова Л.И. // Методы современной биохимии. 1975. М.: Наука. С. 74–77.
10. Luck H. Methods of Enzymatic Analysis. N.Y. L.: Acad. Press. 1971. P. 183.
11. Bradford M.M. // Anal. Biochem. 1976. V. 41. P. 248–254.
12. Чаленко Г.И., Ильинская Л.И., Озерецковская Л.И. // Прикл. биохимия и микробиол. 2001. Т. 34. № 3. С. 355–358.
13. Авдюшко С.А., Чалова Л.И., Озерецковская О.Л., Чаленко Г.И., Имбс А.Б., Латышев Н.А., Безуглов С.Г., Безуглов В.В., Бергельсон Л.Д. // Доклады АН СССР. 1987. Т. 296. № 4. С. 1012–1014.
14. Метлицкий Л.В., Озерецковская О.Л. // Фитоалексины. М.: Наука. 1973. 175 с.
15. Чалова Л.И., Васюкова Н.И., Озерецковская О.Л., Метлицкий Л.В. // Прикл. биохимия и микробиол. 1971. Т. 7. № 1. С. 55–58.
16. Метлицкий Л.В., Озерецковская О.Л., Чалова Л.И., Васюкова Н.И., Давыдова М.А. // Микология и фитопатология. 1971. Т. 5. С. 263–371.
17. Аверьянов А.А. // Успехи совр. биологии. 1991. Т. 111. С. 722–737.
18. Ильинская Л.И., Переход Е.А., Чаленко Г.И., Герасимова Н.Г., Романенко Е.Н., Зиновьева С.В., Озерецковская О.Л. // Физиология растений. 2000. Т. 47. № 4. С. 516–523.
19. Гамалей И.А., Клубин И.В. // Цитология. 1996. Т. 38. С. 1233–1247.
20. Bartnicki-Garcia S. // Ann. Rev. Microbiol. 1968. V. 22. № 2. P. 87–108.

Elicitor Activity of Chitosan and Arachidonic Acid: Their Similarity and Distinction

N. I. Vasyukova, N. G. Gerasimova, G. I. Chalenko, and O. L. Ozeretskovskaya

Bach Institute of Biochemistry, Russian Academy of Sciences, Leninskii pr. 33, Moscow, 119071 Russia

e-mail: vasyukova@inbi.ras.ru

Received April 19, 2011

Abstract—Two elicitors—chitosan and arachidonic acid—induced the same defense responses in potatoes, stimulating the processes of wound reparation and inducing the formation of phytoalexins, inhibitors of proteinase, and active forms of oxygen. However, chitosan induced the defense potential of plant tissues at concentrations higher than those of arachidonic acid. The protective action of chitosan was defined by two parameters, i.e., the ability to induce the immune responses in plant tissues and to exhibit a toxic effect on the pathogen development, causing late blight and seedling blight, whereas the elicitor effect of arachidonic acid depended on its ability to induce the defense potential of plant tissues only.