

ХИМИЧЕСКИЕ БАРЬЕРЫ

1. ВТОРИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ

Вещества, синтезируемые растением, но не являющиеся необходимыми для поддержания жизни. Они придают окраску цветкам, специфические запахи, обладают биологической активностью. Часто из-за них растения используются в медицине.

Разнообразные химические соединения образуют эшелонированную оборону из нескольких барьеров, каждый из которых отсекает определенные группы потенциальных патогенов

Число вторичных метаболитов растений (Wink, 1988)

| Соединения | Число известных структур |
|--------------------------------|---------------------------------|
| Монотерпены | 1000 |
| Сесквитерпены | 1500 |
| Дитерпены | 1000 |
| Тритерпены / стероиды | 800 |
| Тетратерпены | 350 |
| Поликетиды | 700 |
| Полиацетилены | 750 |
| Флавоноиды | 1200 |
| Фенилпропаноиды | 500 |
| Амины | 100 |
| Алкалоиды | 7000 |
| Небелковые аминокислоты | 400 |
| Цианогенные глюкозиды | 50 |
| Гликозиноляты | 100 |

ФИТОНЦИДНЫЙ БАРЬЕР

В экстрактах летучих веществ эвкалипта обнаружено 270 органических соединений: органические кислоты, эфиры, альдегиды, терпеноиды, фенолы, соединения с S и N.

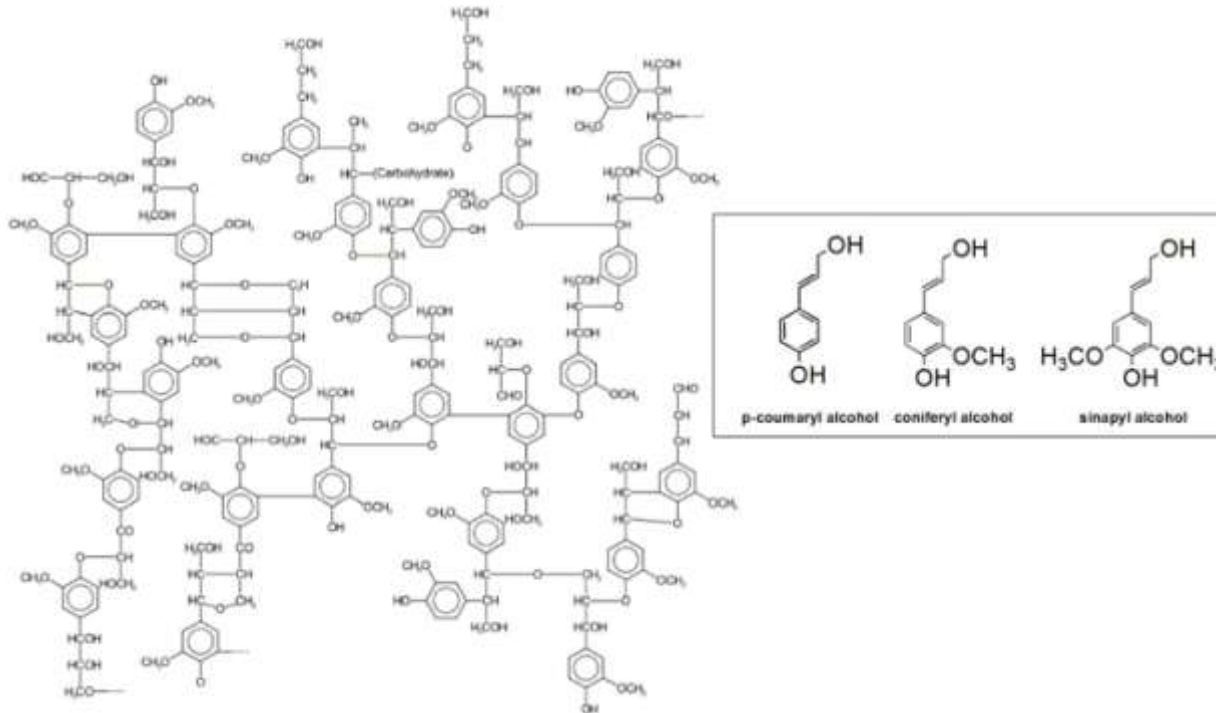
От корневой гнили, вызываемой *Phytophthora cinnamomi*, фитонциды эвкалипта не защищают.

Австралийская акация *P. cinnamomi* не поражается, т.к. ее фитонциды подавляют развитие этого патогена.

Барьер клеточной стенки

Во вторичной клеточной стенке откладывается полимер *лигнин*. Он препятствует диффузии в клетки растения метаболитов патогенов, может замуровывать (лигнифицировать) грибные гифы и обладает прямой токсичностью для микроорганизмов.

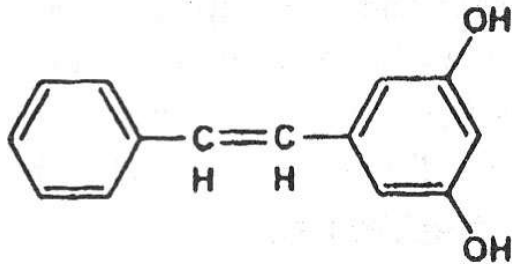
Лигнин может откладываться в живой ткани в ответ на инфекцию.



Барьер из мертвых клеток

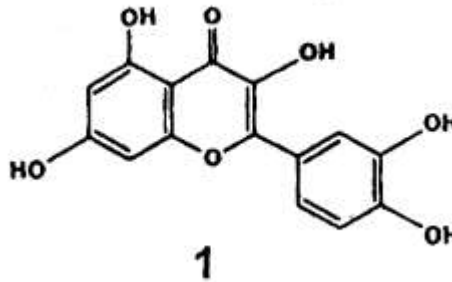
Живые ткани многих растений окружены покровами, состоящими из мертвых клеток

Кора деревьев

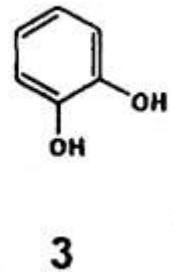
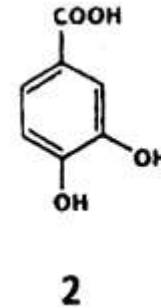


Пиносильвин

Чешуя луковиц



Кверцетин



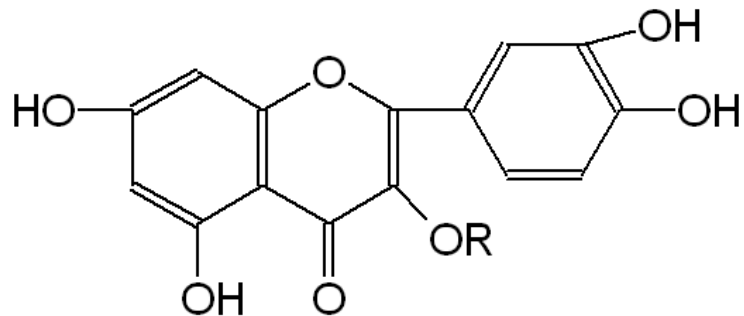
Барьер из мертвых клеток

Живые ткани многих растений окружены покровами, состоящими из мертвых клеток

В чешуе лука в вакуолях находится нетоксичный гликозид кверцитрин

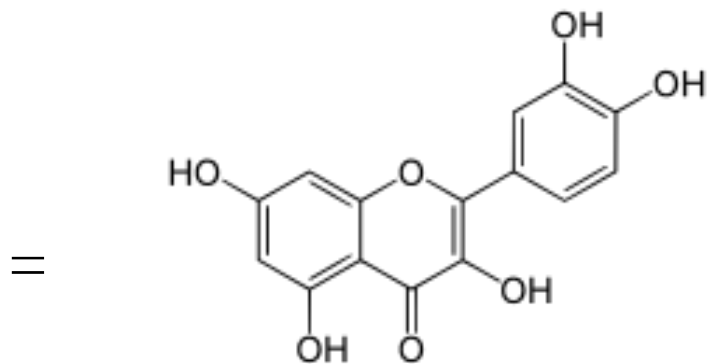
В той же живой клетке чешуи лука в лизосомах или в клеточной стенке находится фермент глюкозидаза. Они пространственно разделены с кверцитрином.

При разрушении (отмирании) клетки глюкозидаза приходит во взаимодействие с кверцитрином. Получается кверцетин, который фенолоксидазами расщепляется до высокотоксичных фенолов протокатеховой кислоты и о-катехола



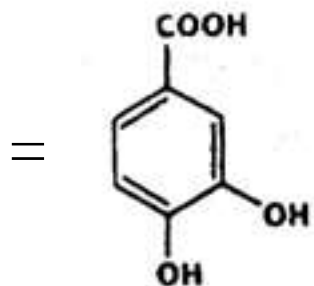
R - L-рамноза – кверцитрин

+ ГЛЮКОЗИДАЗА =

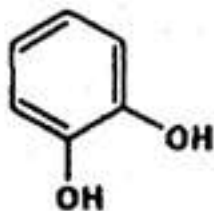


кверцетин

+ ФЕНОЛОКСИДАЗЫ =



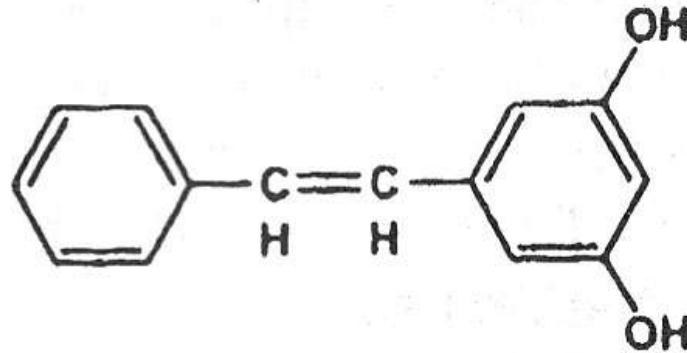
протокатеховой
кислоты



о-катехол

– **ВЫСОКОТОКСИЧНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ**

В мертвых клетках коры хвойных находится
токсичный дифенол пиносильвин



Пиносильвин

БАРЬЕР В ЖИВЫХ КЛЕТКАХ

Большинство антимикробных соединений в живых клетках гликозилированы

1) гликозиды менее токсичны, чем их агликоны, и поэтому не повреждают клетки, в которых находятся;

2) будучи растворимыми в воде, гликозиды легко транспортируются к инфицированным местам.

Обычно гликозиды находятся в вакуолях и отделены от остальных клеточных компартментов мембранным барьером.

При повреждении внутриклеточных мембран содержимое вакуоли выливается в цитоплазму, где оно вступает в контакт с ферментами, отщепляющими сахарные остатки и осуществляющими различные модификации агликонов.

Таким образом, агликоны в живых клетках – это готовое к отражению атаки, но «незаряженное оружие».

Для его зарядки и стрельбы по цели необходимо повреждение клеточных мембран, вызванное заражением или механическим повреждением клетки.



Классификация гликозидов основана на химическом строении их агликонов

Фенольные глюкозиды.

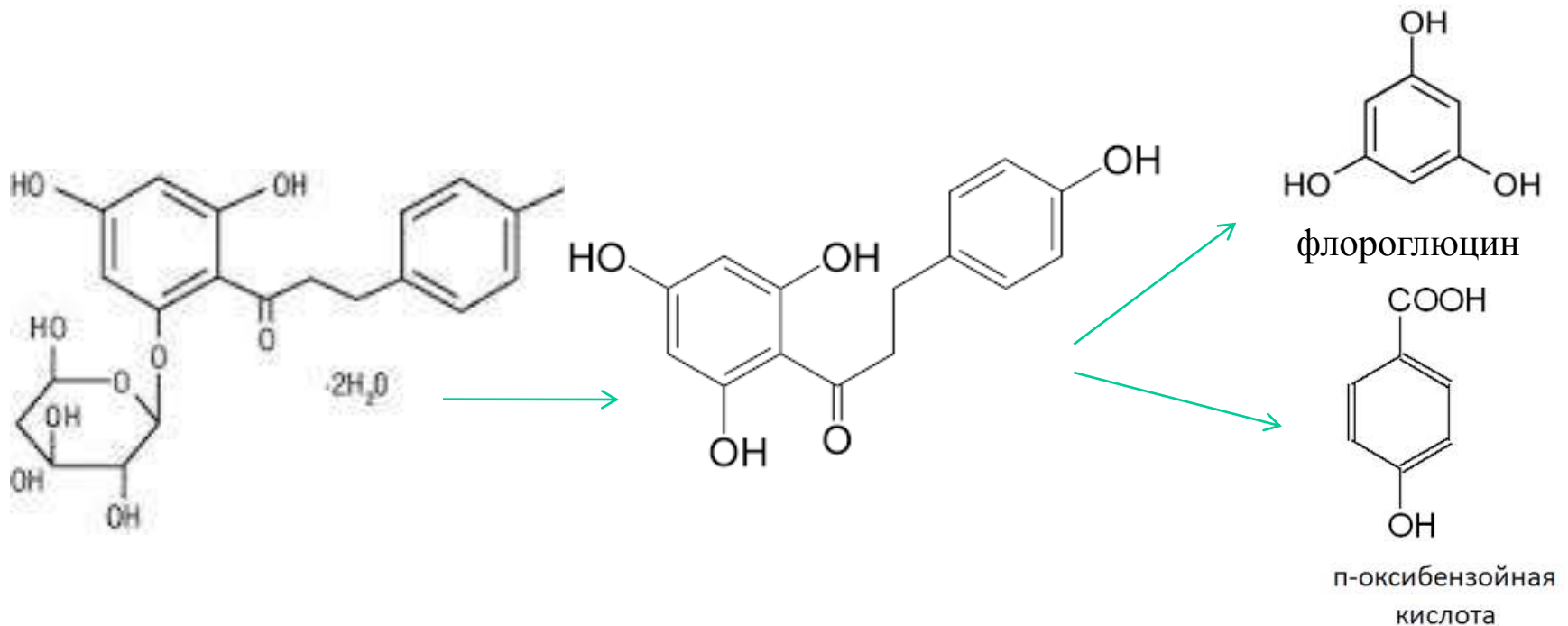
В качестве агликонов служат производные фенолов.

Многие фенолы:

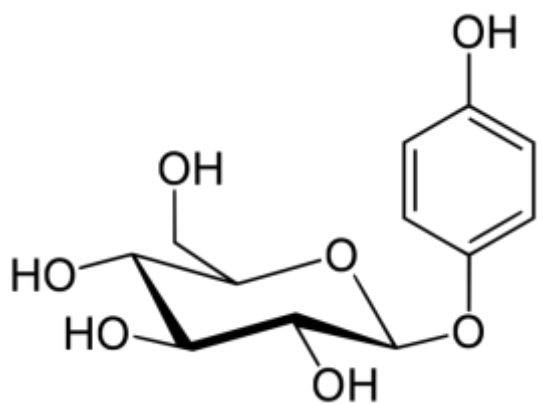
- обладают антимикробным действием и блокируют развитие фитопатогенов;
- служат «строительным материалом» в синтезе лигнина и укреплении клеточной стенки;
- регулируют гормональную деятельность растения, играющую важную роль в развитии патогенных организмов;
- индуцируют гены катаболизма бактерий и гены, требующиеся для паразито-хозяйственных взаимоотношений.

В листьях яблони фенольный гликозид *флоризин* накапливается до 3-7% к весу сухих листьев. При механическом повреждении листьев и заражении их грибами происходит отщепления сахара, а затем серия химических реакций с образованием флороглюцина, флоретиновой кислоты, β -оксибензойной кислоты.

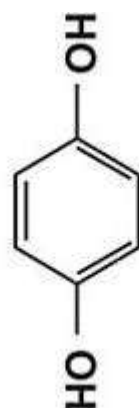
Ни одной из этих соединений не токсично для возбудителя парши яблони *Venturia inaequalis*, но может подавлять развитие гниlostных грибов из родов *Penicillium* и *Aspergillus*.



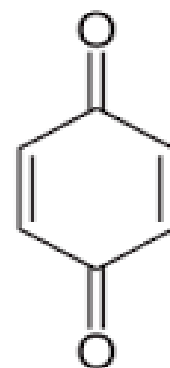
Фенольный гликозид груши *арбутин* β -глюкозидазами хозяина или паразитов расщепляется до глюкозы и агликона *гидрохинона*, который через серию окислительных реакций превращается в *р-бензохинон*. С образованием гидрохинона связана устойчивость груши серьезному заболеванию – бактериальному ожогу (возбудитель *Erwinia amylovora*).



арбутин

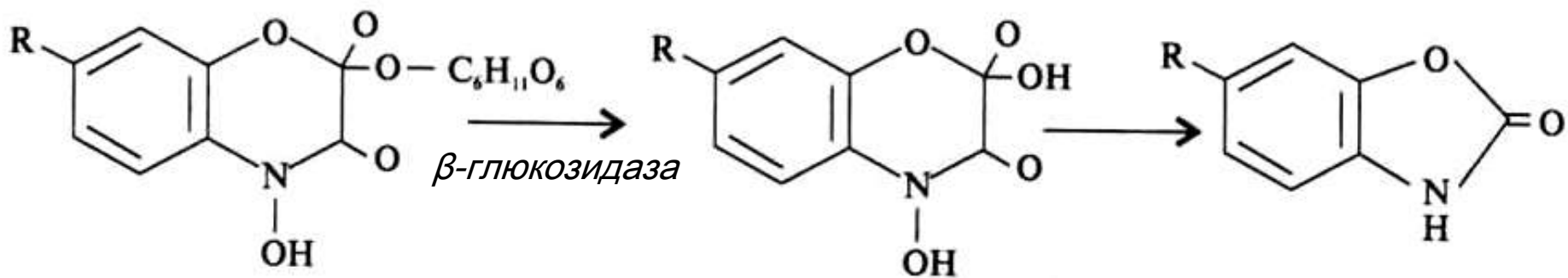


гидрохинон



р-бензохинон

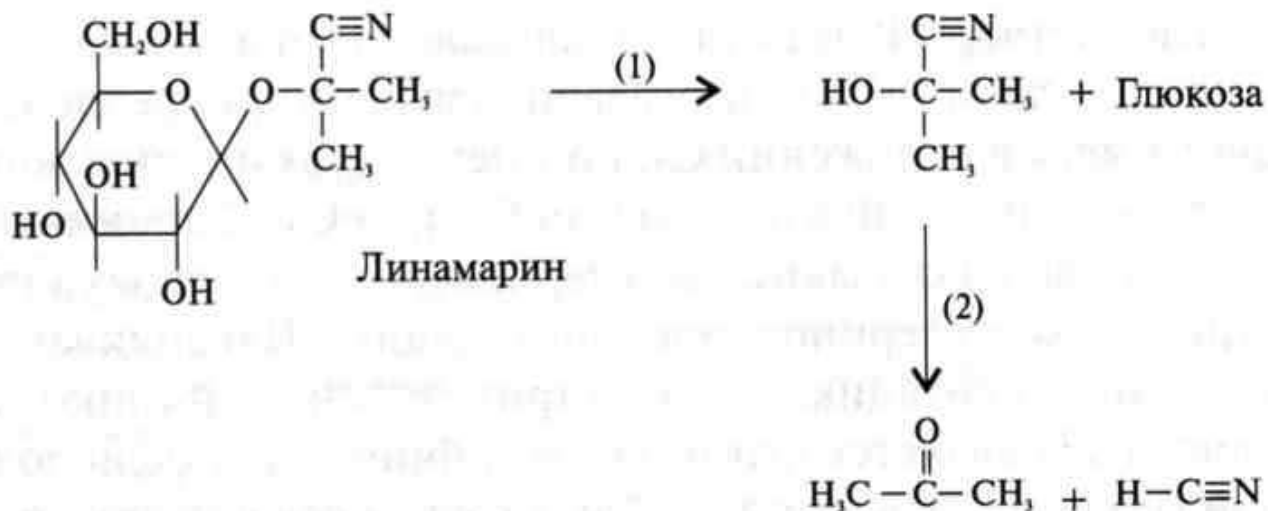
У различных видов злаков (пшеницы, ржи, кукурузы) описаны гликозиды *бензоксазолиноны*, агликоны которых – циклические *гидроксаматы* содержат наряду с фенольным циклом азотсодержащий. Фермент β -глюкозидаза локализован в клеточной стенке, разрушение которой патогеном вызывает появление агликонов *бензоксазинов*, токсичных для ржавчинных грибов, возбудителей снежных плесеней, тлей и других патогенов.



Цианогенные гликозиды.

У более 800 видов растений из 670 семейств (сорго, лядвенца, проса, льна и других) в процессе прорастания семян из аминокислот (тирозина, валина, лейцина, изолейцина) синтезируются цианогенные глюкозиды. – дурринин, линамарин, лотаустролин, амигдалин.

Ферменты, осуществляющие поэтапное превращение аминокислоты в цианогенный агликон, находятся на внутриклеточных мембранах

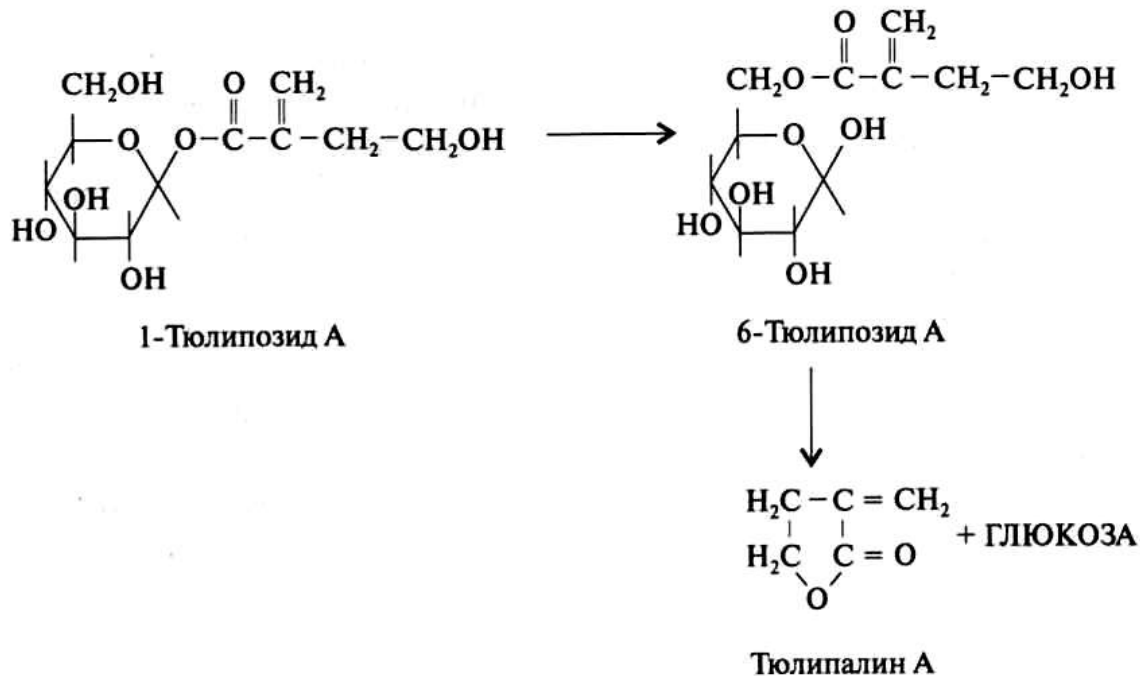


Пути деградации гликозида линамарина с образованием синильной кислоты:

1 — β-глюкозидаза; 2 — оксинитрилаза

Гликозиды алифатических соединений.

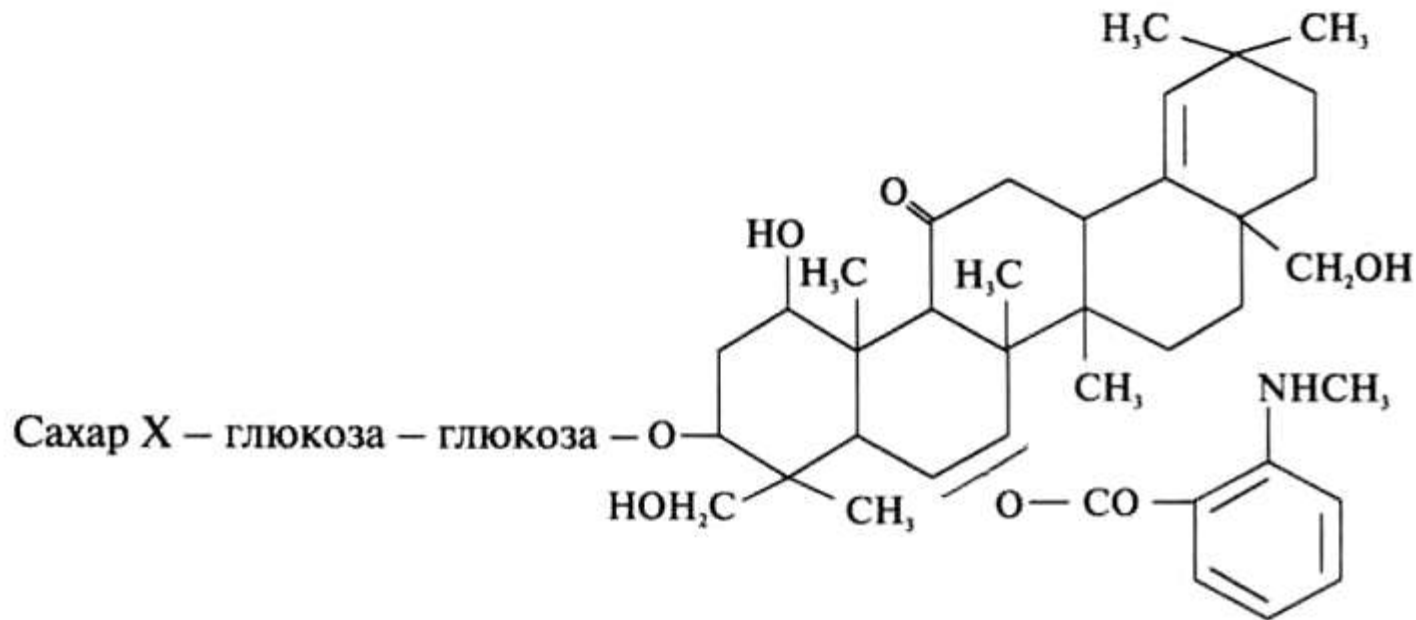
В разных органах тюльпанов накапливаются гликозиды *тюлопозиды* (их содержание в пестиках превышает 32% сухого веса), которые после отщепления сахарных остатков β -глюкозидазами, замыкаются в лактонный цикл, очень токсичный вследствие высокой реакционной способности (связывается по месту двойных связей с SH-группами белков).



Деградация гликозида тюльпана тюлопозида в клетках, зараженных *Botrytis cinerea*

Терпеноидные гликозиды и гликоалкалоиды.

Тритерпеноиды и стероиды образуют с сахарами гликозиды, образующие в воде мыльноподобные растворы и названные сапонинами (от латинского *sapo* – мыло). Сапонины очень ядовиты, так как связываются со стеринами в мембранах. К этой группе относятся гликоалкалоиды картофеля *соланин*, *чакоин*, *демиссин* и томата *томатин*.



Сапонин овса авенацин

Тиогликозиды.

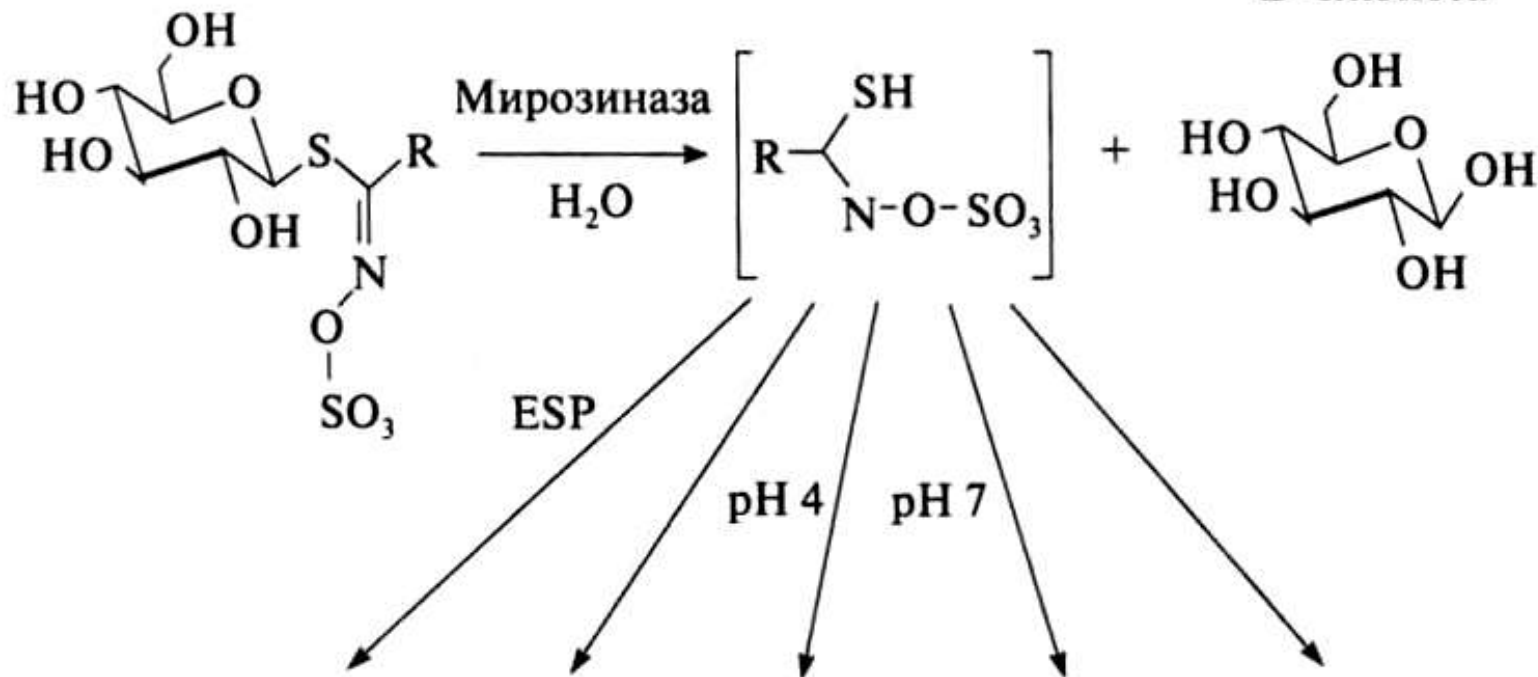
У растений из семейств крестоцветных и каперцевых в гликозидах агликон связан с сахаром не через атом кислорода, а через атом серы.

Подобные тиогликозиды называют *горчичными маслами* или *гликозинолятами*. Они

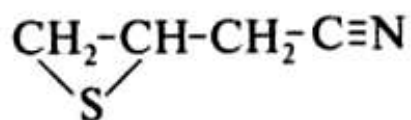
накапливаются в вакуолях, но при повреждении тонопласта специфические ферменты (мирозиназа и другие) отщепляют сахар, после чего в клетке возникают различные модификации агликонов с образованием высоко токсичных продуктов

Гликозиноляты

D-Глюкоза



Эпителионитрил



Тиоцианаты



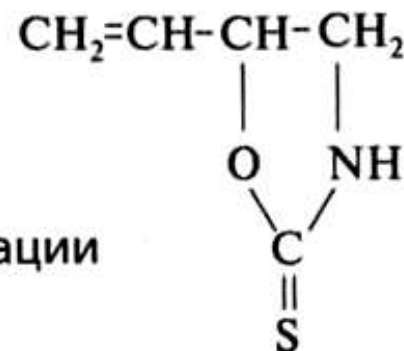
Нитрилы



Изотиоцианаты



Оксазолидин-тион



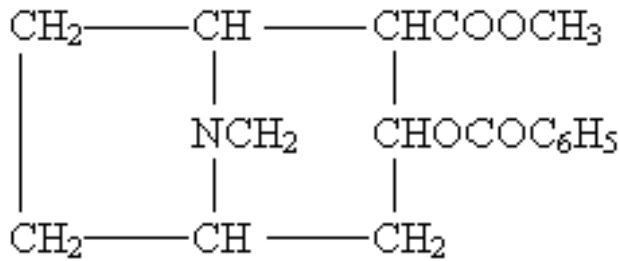
Тиогликозид крестоцветных и продукты его деградации

Алкалоиды

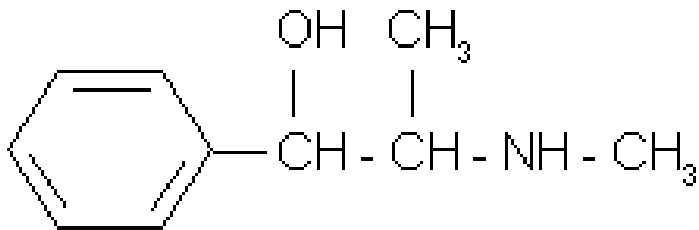
Азотсодержащие гетероциклические соединения, содержащиеся в клеточном соке многих растений. Они нерастворимы, но обычно находятся в форме водорастворимых солей. В зависимости от химической природы азотистого гетероцикла алкалоиды разделяют на несколько групп:

- 1) производные пиридина,**
- 2) производные пирролидина,**
- 3) производные хинолина и изохинолина (хинин, морфин),**
- 4) производные индола (алкалоиды спорыньи),**
- 5) производные пурина (кофеин, теобромин),**
- 6) комбинированные алкалоиды (никотин содержит группы пиридина и пирролидина).**

Большинство алкалоидов - сильные нервно-паралитические яды, высоко токсичные для позвоночных и беспозвоночных. Обладают защитным действием против насекомых, но многие алкалоиды токсичны и для бактерий и грибов



кокаин



эфедрин

(фенилметиламинопропанол)



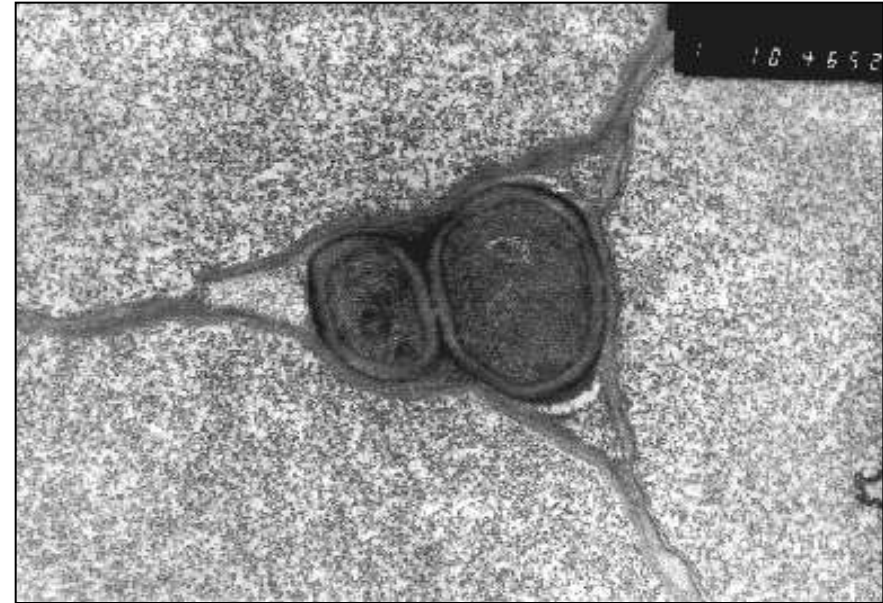
Аминоксилоты.

В растениях обнаружено около 200 различных небелковых аминоксилот; некоторые из них токсичны. В частности, накапливающийся в бобовых растениях (до 5% веса сухих семян) аналог аргинина L-канаванин, очень токсичен для микроорганизмов (в том числе грибов) и животных (в том числе насекомых и нематод) и, как полагают является фактором защиты от вредителей и возбудителей болезней. Многие аминоксилоты необходимы в синтезе алкалоидов.

Преодоление химического барьера паразитами

1. Биотрофные паразиты,

Воздействуют на клетки мягко, «интеллигентно», и не повреждают внутриклеточные мембраны.

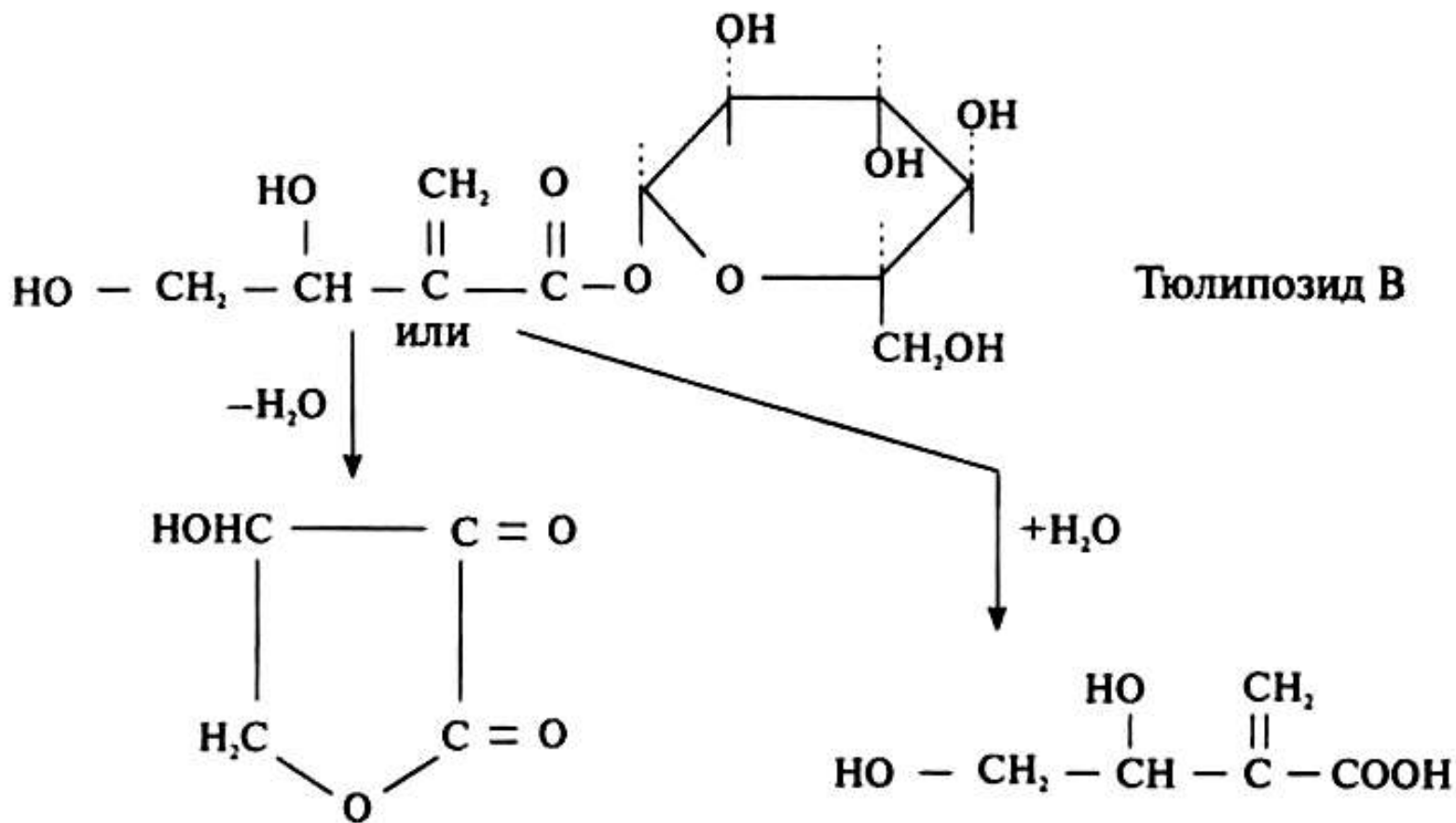


2. Изменение сайта, чувствительного к токсическому действию агликона.

Синильная кислота (цианид), высвобождающаяся из цианогенных гликозидов, - сильнейший дыхательный яд, блокирующий цитохромоксидазную дыхательную цепь в митохондриях.

У паразита лядвенца (*Lotus* spp.) гриба *Stemphylium loti* в присутствии цианида происходит активизация ферментов альтернативного, нечувствительного к цианиду дыхания.

3. Модификация токсических веществ до менее токсичных



Тюлопозид В

Botrytis cinerea

Botrytis tulipae

Локализованный в корнях овса сапонин авенацин защищает корни от заражения возбудителем офиоблезной корневой гнили *Geotrichum graminis*. Штаммы этого гриба, способные заражать овес (*G. graminis* var. *avenae*), имеют специфичный фермент β -глюкозидгидролазу – авенациназу, отщепляющую сахарные остатки и переводящую авенацин в нерастворимую менее токсичную форму.

Трансформация гена, кодирующего авенациназу, в геном сапротрофного гриба *Neurospora crassa* сделала его нечувствительным к авенацину.

Инактивация гена транспозонным мутагенезом у штамма *G. graminis* var. *avenae* привела к потере способности деградировать авеницин и заражать овес, при сохранении патогенность к не продуцирующей авенацина пшенице.

Penicillium corymbiferum, в отличие от других пенициллов, вызывает гниль чеснока благодаря наличию фермента аллиинлиазы, разлагающего фитонцид чеснока аллиин.

Многие штаммы насекомых и грибов выработали способность разлагать алкалоиды и использовать продукты распада в качестве углеродного и азотного питания .

Адаптации фитопатогенов заставляют растения вырабатывать новые и новые формы защитных веществ. По-видимому, гонкой вооружений обусловлено огромное разнообразие вторичных метаболитов, приведенное в таблице.

Специализированные патогены в ходе коэволюции с растениями не только приобрели толерантность ко многим летучим токсическим веществам, но даже стали использовать их.

В ответ на механическое повреждение тканей в растениях табака индуцируется продукция никотина – нейротоксина, токсичного для большинства насекомых. Однако гусеницы специализированной к табаку бабочки *Manduca sexta* во-первых, индуцирует низкий уровень никотина, во-вторых, толерантна к нему, и в-третьих, использует его для собственной защиты от паразитических ос.

Микробиологические барьеры.

У сельскохозяйственных растений обнаружено не менее 220 видов эндофитных бактерий, принадлежащих к 71 роду, а также огромное число видов грибов.

Многие из них (а, возможно, все) оказывают как прямое (вследствие поставки биологически активных веществ), так и косвенное положительное влияние на рост растений, в частности, благодаря защите своего хозяина от потенциально патогенных организмов.

К этому надо добавить бактерии и грибы ризосферы, ризо- и филлопланы.

Сумчатые грибы – эндофиты мелкозерных злаков образуют ядовитые алкалоиды, которые накапливаются в зараженных растениях и защищают их от травоядных млекопитающих, насекомых, слизней и некоторых фитопатогенных грибов.

Индолдитерпены (лолитремы)

Группа треморогенных нейротоксинов, вызывающие отравления скота ("ryegrass staggers")

Эргоалкалоиды

(в частности, эрговалин)

ответственны за т.н. «tall fescue toxicosis»

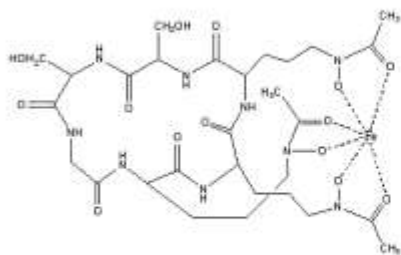
Пирролпипразины

(перамин)

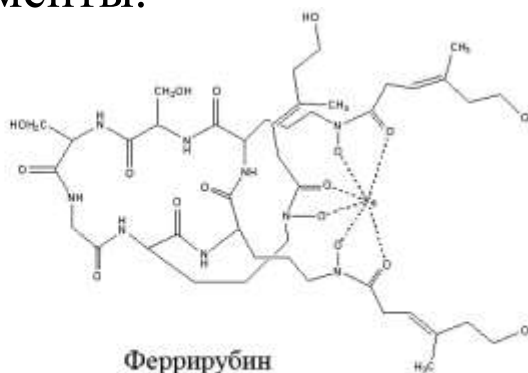
инсектицидное действие

1. Конкуренция за источники питания.

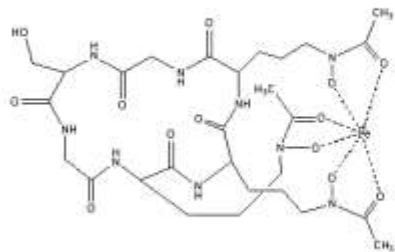
В почвах, бедных железом, бактериальные сидерофоры, обладающие гораздо более высоким сродством к железу, чем грибные, могут активно препятствовать поступлению железа в грибные клетки и тем самым ингибировать железосодержащие ферменты.



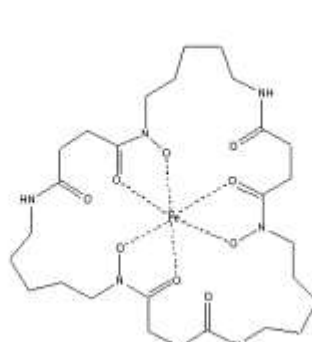
Феррихризин



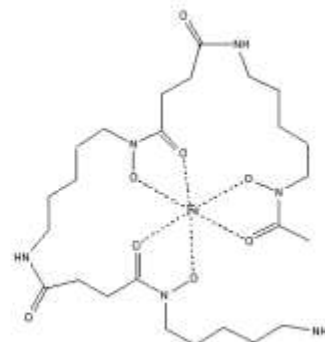
Феррирубин



Феррикроцин



Ферриксантин E



Ферриксантин B

Сидерофоры захватывают нерастворимый Fe^{3+} , встраивают в свою молекулу, после чего железо с сидерофором переносится в цитоплазму.

2. Прямой антагонизм.

Многие бактерии из родов *Pseudomonas*, *Bacillus*, а также грибы из родов *Trichoderma*, *Tolyposcladium* и других образуют противогрибные антибиотики, такие как феназины, флороглюцины, пилoluteорин, пирролнитрил, оомицин А, триходермины и другие. Они обладают фунгицидным и фунгистатическим действием.

Некоторые виды бактерий, в частности, многие мицелиальные бактерии – актиномицеты обладают набором хитиноподобных ферментов, разрушающих хитин – важнейший компонент клеточных стенок грибов, и тем самым вызывают гибель мицелия.

3. Индукция защитных свойств растений.

Ризосферные микроорганизмы не только непосредственно препятствуют развитию потенциально-патогенной микобиоты, но своими метаболитами индуцируют у растений серию защитных реакций, которые приводят к возникновению системной приобретенной устойчивости (SAR) и, тем самым, снижают восприимчивость к развитию фитопатогенов.