

УДК 632.51:631.52

## РЕЗИСТЕНТНІСТЬ РОСЛИН ДО АУКСИНОПОДІБНИХ ГЕРБІЦИДІВ У ЗВ'ЯЗКУ З ОСОБЛИВОСТЯМИ МЕХАНІЗМУ ЇХ ФІТОТОКСИЧНОЇ ДІЇ

Ж.З. ГУРАЛЬЧУК, Є.Ю. МОРДЕРЕР

*Інститут фізіології рослин і генетики Національної академії наук України  
03022 Київ, вул. Васильківська, 31/17  
e-mail: azhanna@ukr.net*

Висвітлено проблеми, пов'язані з розвитком і поширенням резистентності рослин до ауксиноподібних гербіцидів (АПГ). Обговорено останні досягнення у розкритті механізмів дії природного й синтетичних ауксинів, можливі шляхи формування резистентності рослин до АПГ.

*Ключові слова:* ауксиноподібні гербіциди, резистентність, сайти дії.

Хімічний метод боротьби з бур'янами значно полегшив процес вирощування сільськогосподарських культур. Разом з тим застосування різних гербіцидів супроводжується появою дедалі більшої кількості видів і популяцій рослин, стійких до їх дії. Нині в світі виявлено 467 випадків резистентності до гербіцидів у 249 видів рослин (144 дводольних і 105 однодольних) [18]. Це може мати значні негативні наслідки, адже ефективність контролювання небажаної рослинності у посівах знижується. При цьому, з одного боку, подальше застосування гербіцидів, до яких виникла резистентність, призводить до збільшення чисельності стійких рослин у популяціях, з іншого — для боротьби з такими рослинами підвищують норми витрат препаратів, що в кінцевому підсумку має негативні економічні та екологічні наслідки. Водночас вивчення механізмів резистентності сприяє поглибленню знань про механізми дії та селективність гербіцидів, відкриває шляхи для вдосконалення хімічного методу контролювання бур'янів.

**Цільова й нецільова резистентність до гербіцидів.** У рослин розрізняють цільову й нецільову резистентність до гербіцидів, що відповідно пов'язана або ж не пов'язана із сайтом дії. За цільової резистентності, коли сайтом дії гербіциду є певний фермент, резистентність може бути зумовлена мутацією одного гена, який кодує цей фермент [33]. Унаслідок мутації може лімітуватися зв'язування гербіциду з ферментом, що ослаблює інгібувальну дію гербіциду. Альтернативним механізмом цільової резистентності може бути надпродукування цього ферменту (надекспресія чи ампліфікація гена).

Нецільова резистентність, що не пов'язана із сайтом дії, зумовлена активуванням систем, які перешкоджають потраплянню гербіциду до цього сайту, через зменшення поглинання чи транслокації гербіциду, збільшення його секвестрування (компартаментації), підвищення рівня метаболічної детоксикації гербіциду [68]. Нецільова резистентність,

особливо якщо вона пов'язана з детоксикацією гербіциду цитохром-Р<sub>450</sub>-монооксигеназами, як правило, регулюється багатьма генами (є полігенною) і може забезпечувати резистентність до гербіцидів з іншими механізмами дії [6, 46]. Однак глутатіон-S-трансфераза, що опосередковує нецільову стійкість абутилону (*Abutilon theophrasti* Medic.) до триазину, успадковується як єдиний ядерний ген [1].

Доведено, що чинником виникнення цільової резистентності є селекційний тиск гербіцидів на популяції бур'янів, пов'язаний з перманентним застосуванням гербіцидів із певним механізмом фітотоксичності [6]. Уперше появу біотипів рослин, резистентних до гербіцидів, було помічено у 1970-ті роки в розплідниках хвойних, де упродовж багатьох років для знищення бур'янів застосовували гербіцид із групи *сим*-триазинів симазин [60]. У резистентного біотипу жовтозілля звичайного сформувалася стійкість не лише до симазину, а й до атразину та інших *сим*-триазинів. Його стійкість зумовлена мутацією хлоропластного гена, що кодує білок, з яким зв'язуються *сим*-триазини. Відтоді серед багатьох видів бур'янів (як однодольних, так і дводольних) було виявлено 73 біотипи, резистентні до *сим*-триазинів [18], стійкість яких виникла в результаті аналогічної мутації того ж гена. Найбільше резистентних біотипів — 158, або майже третину загальної їх кількості, виявлено до гербіцидів інгібіторів ферменту ацетолактатсинтази (АЛС). Це зумовлено тим, що препарати зазначеної групи найефективніші з нині відомих груп гербіцидів. За норм внесення від одиниць до десятків грамів діючої речовини на гектар вони контролюють широкий спектр видів бур'янів і є селективними до значної кількості культур, що зумовлює широкомасштабне застосування саме цих препаратів. Дещо менш поширена (47 біотипів) резистентність до іншого комерційно успішного класу гербіцидів — інгібіторів ферменту ацетил-КоА-карбоксилази (АКК), які є ефективним засобом контролювання злакових бур'янів. З моменту появи у 1990-ті роки й подальшого поширення посівів трансгенних культур, стійких до неселективного гербіциду гліфосату, виявлено 35 біотипів бур'янів, резистентних до нього [18].

Водночас резистентність бур'янів до ауксиноподібних гербіцидів (АПГ) формувалась доволі повільно. На сьогодні виявлено лише 32 резистентних до АПГ біотипи бур'янів [18], хоча це найстаріша група гербіцидів і їх широко застосовують у посівах багатьох культур уже майже 70 років [5, 55], що значно перевищує тривалість застосування гербіцидів інших класів. За структурою вони подібні до природного фітогормону індолілоцтової кислоти (ІОК). Їх поділяють на групи залежно від розміщення в молекулі залишку карбоксильної кислоти та типу ароматичної групи, зокрема, похідні хлорфеноксикарбонових кислот (2,4-дихлорфеноксіоцтова кислота (2,4-Д), 2-метил-4-хлорфеноксіоцтова кислота (МСРА), 2,4-дихлорфеноксимасляна кислота (2,4-ДМ)), бензойної кислоти (дикамба, хлорамбен та ін.), піридинкарбонової кислоти (піклорам, клопіралід, триклопір, флуороксипір тощо), хінолінкарбонової кислоти (квінклорак, квінметак) [12].

Якщо для триазинових гербіцидів, гліфосату, гербіцидів інгібіторів АКК та АЛС дослідження механізмів цільової резистентності спиралося на попередні дані біохімічних досліджень сайтів їх дії, то для АПГ механізм фітотоксичності до останнього часу залишався нез'ясованим, хоча було накопичено величезний масив даних щодо впливу цих гербіцидів на рослини. Вважалось, що фітотоксична дія АПГ зумовлена

дезорганізацією системи фітогормональної регуляції [39], однак сайт дії та молекулярний механізм фітотоксичного впливу АПГ не були визначені. Тому дослідження успадкування й механізму резистентності до АПГ розглядали як один зі шляхів встановлення механізму дії цих гербіцидів.

**Чинники, що визначають вірогідність виникнення та швидкість поширення цільової й нецільової резистентності.** На виникнення резистентних до гербіцидів популяцій бур'янів може впливати багато чинників, до яких належать як генетичні (початкова частота резистентних алелів, наявних у популяції, домінування алелів, здатність до виживання особин, які містять ген стійкості), так і біологічні особливості виду (життєвий цикл, здатність до утворення насіння, тип схрещування), структура гербіциду, його взаємодія з сайтом, на який він спрямований, залишкова активність гербіциду, доза й тривалість його застосування [33].

Якщо стійкість до гербіциду забезпечує один ген з основним ефектом, вона може поширюватися в популяції значно швидше порівняно зі стійкістю, що надають кілька генів [33]. Полігенна стійкість розвивається в результаті адитивного ефекту кількох алелів, кожен з яких чинить індивідуальні незначні ефекти [38]. Накопичуватись ці алелі в особин можуть у кількох поколіннях.

Якщо резистентність до гербіцидів пов'язана з рецесивним алелем, вона розвивається й поширюється доволі повільно, оскільки чутливі гетерозиготні й гомозиготні домінантні фенотипи елімінуються в разі застосування гербіцидів, до яких розвивається резистентність [22]. Це властиво перехреснозапильним видам, бо у самоzapильних алелі, що забезпечують резистентність до гербіцидів, можуть швидко поширюватися, так як самоzapилення збільшує частоту гомозигот за рахунок гетерозигот [33]. У літературі описано небагато випадків, коли рецесивний ген відповідає за успадкування резистентності до гербіцидів, вони характерні для невеликої кількості гербіцидів і передусім були виявлені у самоzapильних видів [35]. Це стосується резистентності до квінклораку в підмаренника несправжнього (*Galium spurium* L.) [62], тріалату — у вівсюга звичайного [30], трифлураліну — у мишію зеленого (*Setaria viridis* L.) [21], а також до піклорама й клопіраліду у волошки літньої (*Centaurea solstitialis* L.) — остання є перехреснозапильною [52].

Найчастіше розвиток резистентності до гербіциду визначають алелі з повним або частковим домінуванням [47]. Наприклад, один повністю домінантний алель визначає резистентність до дикамби, 2,4-Д і піклорама в гірчиці дикої (*Brassica kaber* (DC.) Wheeler) [23, 25]. Водночас стійкість до дикамби у віниччя справжнього (*Kochia scoparia* Schrad.) визначається одним алелем із високим ступенем домінування [45]. Один кодомінантний алель відповідає за резистентність до 2,4-Д у салату дикою (*Lactuca serriola* L.) [50]. Принаймні два гени з адитивними ефектами задіяні у резистентності до МСРА у жабрію звичайного (*Galeopsis tetrahit* L.) [67].

У гірчиці дикої, яку дослідники широко використовують як модельну рослину для визначення фізіологічних, біохімічних і молекулярних аспектів резистентності до АПГ, були знайдені біотики, високорезистентні до піклорама й дикамби та помірно резистентні до 2,4-Д, МСРА [17]. При цьому між резистентними і чутливими до АПГ рослинами відмінностей у поглинанні, транспортуванні чи метаболізмі вказаних гербіцидів не виявлено [42]. За обробки піклорамом чутливі біотики продукували більше етилену, ніж резистентні [16, 42]. Було зроблено

припущення, що піклорам індукує *de novo* синтез АЦК-синтази у чутливих, але не у резистентних біотипів [16]. У результаті досліджень, проведених із майже ізогенними лініями гірчиці польової, встановлено, що за відсутності обробки гербіцидом резистентні до АПГ лінії продукували значно менше біомаси і насіння порівняно з чутливими. Водночас маса резистентних рослин, що вижили після обробки піклорамом, вірогідно не відрізнялася від маси резистентних рослин, які гербіцидом не обробляли [36]. У зв'язку з більшою життєздатністю чутливих ліній гірчиці за відсутності тиску добору чутливі рослини можуть перевершити резистентні так, що популяція з домінантними резистентними особинами зміниться на популяцію з чутливішими рослинами (тобто відбудеться зворотний добір) [33]. Темпи зворотного добору можуть залежати від ступеня життєздатності резистентних рослин і частоти резистентних алелів у популяції.

У підмаренника несправжнього також не виявлено відмінностей у поглинанні, транслокації, кореневій ексудації чи метаболізмі квінклораку в рослин чутливих і резистентних до нього популяцій [63], проте за обробки цим гербіцидом значно підвищувались рівні етилену та АБК у чутливих біотипів, на відміну від резистентних. У волошки літньої резистентність до піридинових гербіцидів клопіраліду та піклорама також не була зумовлена відмінностями в їх поглинанні, переміщенні чи метаболізмі. За застосування цих гербіцидів чутливі біотики волошки продукували більше етилену порівняно з резистентними, хоча це могло бути пов'язане, зокрема, з процесами старіння [12]. Резистентність до МСРА у жабрію звичайного не була наслідком змін у його поглинанні, проте могла бути зумовлена меншою транслокацією та вищою інтенсивністю метаболізму в коренях [67].

Якщо, за аналогією з іншими рослинами, раніше припускали, що в редьки дикої резистентність до 2,4-Д і МСРА визначається одним ядерним геном, то подальшими дослідженнями доведено, що в цього виду бур'яну резистентність є кількісною ознакою, яка пов'язана також із домінуванням алелів мінорних цитоплазматично успадковуваних генів [7]. В експериментах із використанням міченого МСРА автор праці [7] не виявив відмінності в метаболізмі [<sup>14</sup>C]МСРА між резистентними і чутливими рослинами. Однак через 72 год після обробки гербіцидом швидкість його виділення коренями значно зростала у резистентного біотипу порівняно з чутливим, що може робити внесок у прояв резистентності рослин до МСРА [7]. Дослідженнями Гоггін та співавт. [10] встановлено відсутність транспортування [<sup>14</sup>C]2,4-Д з листків редьки дикої у двох резистентних біотипів. Взавши до уваги те, що відмінностей між резистентними і чутливим біотипами в поглинанні чи секвеструванні гербіциду не було, та на основі результатів інгібіторного аналізу зроблено припущення, що в цих біотипів резистентність до 2,4-Д може бути зумовлена змінами активності транспортера ауксину АВСВ-типу, що знаходиться у плазматичній мембрані і відповідає за полегшення дальнього транспорту ауксину по флоемі.

**Механізми дії ауксинів.** Різноманітність механізмів резистентності до АПГ можна пояснити особливостями механізму дії цих гербіцидів. Підґрунтям для розуміння впливу АПГ на рослини стали значні успіхи в розкритті механізмів дії на рослини природного ауксину, яких було досягнуто останнім часом. Показано, що в сприйнятті та проведенонні ауксинового сигналу беруть участь два типи рецепторів: мембранний і

внутришньоклітинні. Мембранний білок АВР1 (auxin-binding protein 1) виконує функції рецептора, який відповідає лише за швидкі ауксинзалежні реакції (наприклад, зміни іонної проникності мембран чи набухання протопластів) [53, 61]. Згодом було встановлено, що рецепторами ауксину є F-бокс-білки убіквітинлігазного, так званого SCF<sup>TIR/AFB</sup> комплексу, до яких належить, зокрема, TIR1 (transport inhibitor response 1) [29].

Слід зазначити, що ауксинзалежні гени є тригерами більшості процесів, які контролює цей гормон. Багато генів, індукованих ауксином, регулюються шляхом взаємодії факторів генної транскрипції двох класів: ауксинзалежних факторів транскрипції ARFs (auxin response factors) і репресорів ауксинового сигналу — Aux/IAA (auxin/indole-3-acetic acid transcriptional repressors of auxin-regulated gene expression). ARFs зв'язуються з ауксинзалежними елементами в промоторах ауксинзалежних генів. За низького (допорогового) рівня ауксину репресор Aux/IAA формує гетеродимер з ІОК-залежним фактором транскрипції ARF, це блокує експресію ауксинзалежних генів [4, 15]. За підвищеної концентрації ІОК, яка спостерігається внаслідок *de novo* синтезу ІОК або вивільнення її із запасних кон'югатів [31], F-бокс-білок TIR1 мітить ауксиновий репресор для убіквітинування й подальшого протеолізу 26S протеасомою. У деградації репресора Aux/IAA та активуванні ARF бере участь вищезгаданий протеїновий комплекс SCF<sup>TIR/AFB</sup>, задіяний у шляху деградації протеїнів через убіквітинування. Саме внаслідок формування гормон-рецепторного комплексу ІОК-TIR1 відбуваються впізнавання, зв'язування, убіквітинування та гідроліз репресора ауксинового сигналу Aux/IAA. Результати кристалографічних досліджень підтвердили, що зв'язування ІОК та інших синтетичних ауксинів із TIR1 не змінює його конформації, але промотує взаємодію з протеїнами Aux/IAA родини [59]. Молекула ауксину заповнює порожнину між двома протеїнами і створює безперервну гідрофобну основу, тобто діє як «клей», забезпечує сполучення між SCF<sup>TIR/AFB</sup> комплексом і репресором Aux/IAA [59], що важливо для деградації протеїну-репресора. Після зняття репресії ауксинзалежні фактори транскрипції ARFs забезпечують транскрипцію генів, що регулюються ІОК [2, 54, 59].

Ауксинові репресори містять 4 консервативних домени, один із яких — домен II, відповідає за нестабільність цих протеїнів. Домен II містить амінокислотний мотив GWPPV (G — гліцин; W — триптофан; P — пролін; V — валін), який і розпізнається рецептором TIR1 у SCF<sup>TIR/AFB</sup> комплексі [11, 28]. Спорідненість зв'язування ІОК та синтетичних ауксинів із рецептором TIR1 різна: серед трьох досліджених ауксинів вона найвища для ІОК, проміжна — для НОК і найнижча — для 2,4-Д [15]. Крім того, показано, що в *Arabidopsis* є 5 гомологів TIR1, так звані AFB1—AFB5, кожен з яких може зв'язуватись з ауксином, але з різною спорідненістю [3]. Протеїни Aux/IAA — представники невеликої родини, яка налічує 29 членів. Оскільки протеїни репресора Aux/IAAs формують частину комплексу рецептор-ліганд, їх можна розглядати як ауксинові корецептори. Домени II цих протеїнів беруть безпосередню участь у взаємодії з TIR1/AFB рецепторами. Ефективне зв'язування ауксину потребує його взаємодії з ауксиновим корецепторним комплексом, що включає TIR1 і Aux/IAA протеїни. При цьому різні комбінації пар протеїнів TIR1/AFB1—AFB5 і Aux/IAA можуть формувати корецепторні комплекси з різною спорідненістю до зв'язування ауксинів [3]. Зокрема

встановлено, що AFB5—Aux/IAA корецептор вибірково зв'язує АПГ піклорам.

Останнім часом значну увагу приділяють вивченню генів, що кодуєть білки, які керують клітинним циклом, ролі ауксинів та їх рецепторів у регуляції поділу клітин. За перебіг клітинного циклу відповідає багатокомпонентна регуляторна система, що включає контрольовану транскрипцію, протеїн-протеїнові взаємодії, процеси фосфорилювання/дефосфорилювання, а також деградацію протеїнів [64]. Вибірною деградація ключових регуляторних протеїнів убіквітинпротеасомною системою є механізмом, який функціонує з високою точністю і забезпечує коректний перехід між фазами клітинного циклу [19, 37]. Відомо, що у ссавців SCF<sup>SKP2</sup>, тобто E3 убіквітинлігазний комплекс відіграє головну роль у контролюванні стабільності багатьох регуляторів клітинного циклу [9]. У *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh виявлено два подібні протеїни — SKP2A і SKP2B (S-phase kinase associated proteins) [43], що містять F-бок (структурний мотив приблизно з 50 амінокислот, який слугує для взаємодії з іншими білками). При цьому показано, що SKP2A контролює стабільність принаймні двох транскрипційних факторів, пов'язаних із клітинним поділом (E2FC, DPB) [27, 44], тоді як SKP2B відповідає за деградацію інгібітора циклінзалежної кінази KRP1 [49]. Встановлено, що SKP2A деградує шляхом убіквітинування [27]. В цьому процесі задіяний ауксин, який сприяє деградації SKP2A [27]. Блокування ауксинового сигналу, навпаки, приводить до збільшення вмісту цього протеїну.

Пізніше було показано [26], що ауксин здатний зв'язуватися з SKP2A, але не з його близьким (ідентичність понад 80 %) гомологом SKP2B. З використанням комп'ютерного аналізу дослідники ідентифікували новий сайт зв'язування з ауксином у SKP2A. Вони довели, що мутації амінокислотних залишків цього сайту зменшували здатність до зв'язування SKP2A з ауксином і призводили до виникнення форм SKP2A, які не деградували. На додачу надекспресія SKP2A мутанта не промотувала клітинний поділ у кореневій меристемі, можливо через те, що мутація призводила до втрати здатності до деградації репресорів клітинного циклу [26]. Подібно до дії ауксину як молекулярного «клею», що поліпшує взаємодію між протеїнами TIR1 і Aux/IAA, він також посилює взаємодію між SKP2A і DPB чи E2FC, що необхідно для їх деградації, але, на відміну від TIR1, видається, що SKP2A може сам деградувати за високого рівня ауксину [26, 44]. Крім того, встановлено, що мутація в *SKP2A* забезпечує ауксинрезистентний ріст коренів, ефект, який є адитивним до *tir1-1* мутантного фенотипу [26]. Це вказує на те, що SKP2A також бере участь у відгуку на ауксин. Цікаво, що природний ауксин (ІОК) промотує швидшу деградацію SKP2A порівняно з 2,4-Д чи НУК [26]. SKP2A зв'язується з ауксином і міг би діяти як його рецептор, подібно до TIR1-Aux/IAA корецепторів. Однак ще мало відомо про передачу сигналів за допомогою SKP2A, необхідні детальніші дослідження того, чи відповідає SKP2A класичним критеріям рецептора [24].

Отже, контролем клітинного циклу значною мірою керує точно визначена в часі деградація ключових регуляторів. На відміну від передачі сигналів за допомогою TIR1/AFB шляху, в результаті якого активується транскрипція генів-мішеней, SKP2A шлях веде до швидкої деградації ключових регуляторів і може бути сполучною ланкою між ауксинами і контролем клітинного циклу, що на сьогодні вивчено досить слабо [54].

**Механізм фітотоксичної дії АПГ.** Ключовим моментом, який вірогідно зумовлює гербіцидну активність синтетичних ауксинів, є те, що до числа генів, експресія яких ініціюється в результаті убіквітинзалежної деградації репресора, спричиненої підвищенням концентрації ауксину, входить і ген, що кодує сам репресор. Такий негативний зв'язок означає, що фізіологічно нормальним станом є або відсутність експресії ауксинзалежних генів, або короткочасне періодичне зняття репресії. За наявності АПГ, які порівняно з ІОК менше піддаються деградації та інактивації, негативний зв'язок не спрацьовує, внаслідок чого відбувається перманентна експресія ауксинзалежних генів, які, зокрема, відповідають за синтез етилену й АБК, що й зумовлює дезорганізацію системи фітогормональної регуляції.

Оброблена АПГ рослина страждає від постійно підвищеного рівня ауксинової сигналізації і виявляє класичні симптоми спочатку неконтрольованого росту тканин і епінастії, а потім інгібування росту і загибелі [10, 12]. Якщо раніше вважали, що епінастії у рослин спричинені високим рівнем етилену, то нині доведено, що за обробки 2,4-Д вони відбуваються внаслідок посттрансляційних модифікацій актину цитоскелета та порушення його структури в результаті окиснення гідроксильними радикалами, які генеруються через підвищену активність ксантиндегідрогенази [40, 51].

Етилен може брати участь в індукованому 2,4-Д старінні рослин [41]. Іншим наслідком надпродукування етилену може бути утворення ціаніду, який є інгібітором багатьох ферментів, зокрема цитохром-*c*-оксидази, рибулозобісфосфаткарбоксилази, нітрат- чи нітритредуктази, каталази, пероксидази тощо [12, 13]. Такий ефект спостерігається наприклад у разі застосування квінклораку, що разом із дводольними бур'янами, на які головним чином спрямована дія АПГ, контролює також злакові бур'яни. Вважають, що саме збільшення вмісту ціаніду відіграє ключову роль у забезпеченні симптомів гербіцидної дії у чутливих злаків [12]. У відповідь на зростання рівня етилену активується синтез абсцизової кислоти, зокрема через надекспресію генів *NCED1*, які кодують ключові регуляторні ферменти синтезу АБК [48]. АБК спричинює закриття продихів та інгібування фотосинтезу, внаслідок чого зменшується накопичення маси рослини і може стимулюватись утворення АФК, що призводить до пошкодження й загибелі клітин [41]. Вміст жасмонової та саліцилової кислот також може змінюватись за дії 2,4-Д [8, 14].

**Можливі механізми виникнення резистентності до АПГ.** Взв'язавши до уваги останні досягнення в розкритті механізмів дії природного та синтетичних ауксинів на рослини, можна окреслити деякі можливі шляхи виникнення резистентності до АПГ. Один із них стосується змін у перцепції АПГ, зокрема їх зв'язування з мембранним рецептором АВР1. Так, показано, що в чутливого до АПГ біотипу гірчиці дикої (*Brassica kaber*) ауксинзв'язувальний протеїн АВР1 містить як низько-, так і високоспоріднений сайти, тоді як у резистентного виявлено лише один сайт зв'язування з низькою спорідненістю до ауксину [66]. Цим зумовлений слабкіший відгук резистентних рослин на застосування ауксину. Крім того, за обробки піклорамом фізіологічні реакції (подовження клітин, утворення бічних коренів) АВР1-антисмислової лінії тютюну, де протеїн АВР1 не виявлявся специфічними антитілами, й надекспресувальної АВР1 лінії *Arabidopsis* відрізнялись між собою та були аналогічними

відповідно резистентному і чутливому до АПГ біотипам гірчиці дикої [34]. Можливі точкові мутації рецептора призводитимуть до слабкішої реакції рослин на гіперконцентрацію аусину, але є ймовірність того, що такі мутації знижуватимуть життєздатність, оскільки вони зачіпають важливий регуляторний ланцюг.

Розвитку резистентності до АПГ можуть сприяти і мутації генів, що кодують внутрішньоклітинні рецептори ауксинів — F-бокс-білок TIR1 або його гомологи AFB. Це спостерігалось, зокрема, у *afb5* мутантних рослин *Arabidopsis*, що виявляли стійкість до піклорама [65]. Змінами в ауксиновому рецепторі AFB могла бути зумовлена і рецесивна мутація, яка забезпечила піридинспецифічну резистентність у біотипу волошки літньої [65].

Крім того, логічно припустити, що резистентність може виникати внаслідок підвищення жорсткості негативного зворотного зв'язку, який перешкоджає перманентній експресії ауксинзалежних генів. Підтверджують це припущення наявні в літературі поодинокі дані про те, що в *Arabidopsis* мутації амінокислотного мотиву GWPPV дегрона репресора Aux/IAA призводять до його стабілізації й ослаблення відгуку на ауксин [59]. У результаті мутацій репресорів Aux/IAA вони не деградують і, таким чином, блокують транскрипцію ауксинзалежних генів. Крім того, не виключена можливість і ампліфікації генів, які кодують репресори ауксинового сигналу Aux/IAA. Це також має посилювати жорсткість негативного зворотного зв'язку і призводити до підвищення резистентності рослин до АПГ. Такий ефект, зокрема, спостерігали у рису, в якого над-експресія двох генів репресорів Aux/IAA (*OsIAA1* та *OsIAA2*) призводила до значного зростання резистентності до 2,4-Д [56, 57].

Резистентність до АПГ може бути зумовлена також змінами у зв'язуванні з протеїном SKP2A, що призводить до деградації факторів DRB і E2FC, пов'язаних із клітинним поділом, зокрема переходом клітин від однієї фази до іншої, а також із гіпотетичною самодеградацією SKP2A за високих рівнів аусину. Зокрема показано, що точкова мутація ауксинзв'язувального сайту, зумовлена заміною лейцину на серин у положенні 128, призводила до втрати здатності SKP2A зв'язуватись з ауксином і виникнення форм SKP2A, які не деградували [26].

Крім того, резистентність до АПГ гербіцидів можуть спричинювати кількісні зміни швидкості надходження, транспорту та детоксикації АПГ у рослинах. Насамперед слід зазначити, що 2,4-Д, як і ІОК, надходять у клітину активно, за допомогою протеїнів-переносників, тоді як більшість інших гербіцидів — пасивно [58]. Зокрема вважають, що 2,4-Д поглинається клітиною за допомогою переносника AUX1 та експортується з клітини іншим переносником — PDR9 [20, 32]. Можна припустити, що мутації, які б зачіпали процес розпізнавання 2,4-Д чи деяких інших АПГ протеїнами-переносниками або інші процеси, що впливають на швидкість їх транспортування до клітини чи дальній транспорт, могли б спричинити резистентність до цих гербіцидів [35].

Описані вище мутації зачіпають важливі регуляторні ланки і зменшують виживаність рослин. Так, на окремих видах показано, що резистентні до АПГ рослини менш життєздатні, характеризуються меншими масою і насінневою продуктивністю [36], що може бути одним із пояснень низьких темпів поширення резистентності до АПГ порівняно з гербіцидами інших класів. Крім того, невелика частота, з якою трапляються резистентні до АПГ біотици, може бути зумовлена низькою час-



тотою появи резистентних особин (і алелів резистентності) в природних популяціях бур'янів, а також відносно невеликим тиском добору, який чинять АПГ, у зв'язку з тим, що в багатьох випадках їх застосовують сумісно або по чергово з іншими гербіцидами, здебільшого вони мають низьку залишкову активність у ґрунті.

Отже, незважаючи на значний прогрес, досягнутий у вивченні дії природного ауксину та АПГ, точні механізми, які забезпечують виникнення й поширення резистентності до гербіцидів цього класу, остаточно не з'ясовані. У зв'язку з цим перспективними є подальші дослідження механізмів дії природних і синтетичних ауксинів на рослини для з'ясування причин виникнення резистентності до АПГ на молекулярно-генетичному, фізіологічному й біохімічному рівнях (як на рівні клітини, так і на рівні цілого організму).

1. Anderson R.N., Gronwald J.W. Noncytoplasmic inheritance of triazine tolerance in velvetleaf (*Abutilon theophrasti*) // Weed Sci. — 1987. — 35. — P. 496–498.
2. Badescu G.O., Napier R.M. Receptors for auxin: will it all end in TIRs? // Trends Plant Sci. — 2006. — 11. — P. 217–223.
3. Calderon-Villalobos L.I.A., Lee S.C., Oliveira de C. et al. A combinatorial TIR1/AFB–Aux/IAA co-receptor system for differential sensing of auxin // Nature Chem. Biol. — 2012. — 8, N 5. — P. 477–485.
4. Chapman E.J., Estelle M. Mechanism of auxin-regulated gene expression in plants // Annu. Rev. Genet. — 2009. — 43. — P. 265–285.
5. Cobb A.H., Reade J.P.H. Herbicides and Plant Physiology. — 2nd ed. — Oxford, UK: Wiley-Blackwell, 2010. — P. 286.
6. Delye C., Jasieniuk M., Le Corre V. Deciphering the evolution of herbicide resistance in weeds // Trends Genet. — 2013. — 29. — P. 649–658.
7. Di Meo N.L. Understanding the Inheritance and Mechanism of Auxinic Herbicide Resistance in Wild Radish (*Raphanus raphanistrum* L.) / Thesis for the degree of Master of Science in Environmental Biology. — Ontario: University of Guelph, 2012. — 111 p.
8. Fode B., Siemsen T., Thurow C. et al. The *Arabidopsis* GRAS protein SCL14 interacts with class II TGA transcription factors and is essential for the activation of stress-inducible promoters // Plant Cell. — 2008. — 20. — P. 3122–3135.
9. Frescas D., Pagano M. Deregulated proteolysis by the F-box proteins SKP2 and beta-TrCP: Tipping the scales of cancer // Nat. Rev. Cancer. — 2008. — 8. — P. 438–449.
10. Goggin D.E., Cawthray G.R., Powles S.B. 2,4-D resistance in wild radish: reduced herbicide translocation via inhibition of cellular transport // J. Exp. Bot. — 2016. — doi:10.1093/jxb/erw120.
11. Grey W.M., del Pozo J.C., Walker L. et al. Identification of an SCF ubiquitin-ligase complex required for auxin response in *Arabidopsis thaliana* // Genes Dev. — 1999. — 13. — P. 1678–1691.
12. Grossmann K. Auxin herbicides: current status of mechanism and mode of action // Pest. Manag. Sci. — 2010. — 66. — P. 113–120.
13. Grossmann K. Mediation of herbicide effects by hormone interactions // J. Plant Growth Regul. — 2003. — 22. — P. 109–122.
14. Grossmann K., Rosenthal C., Kwiatkowski J. Increases in jasmonic acid caused by indole-3-acetic acid and auxin herbicides in cleavers (*Galium aparine*) // J. Plant Physiol. — 2004. — 161. — P. 809–814.
15. Guilfoyle T. Sticking with auxin // Nature. — 2007. — 446, N 5. — P. 621–622.
16. Hall J.C., Alam S.M.M., Murr D.P. Ethylene biosynthesis following foliar application of picloram to biotypes of wild mustard (*Sinapis arvensis* L.) susceptible or resistant to auxinic herbicides // Pest. Biochem. Physiol. — 1993. — 47. — P. 36–43.
17. Heap I.M., Morrison I.N. Resistance to auxin-type herbicides in wild mustard (*Sinapis arvensis* L.) populations in western Canada // Annual Meeting of Weed Science Society of Amer. — 1992. — Abstract 32. — P. 164.
18. Heap I. The International Survey of Herbicide Resistant Weeds // Available at www.weed-science.org. Accessed 03/30, 2016.
19. Hershko A. The ubiquitin system for protein degradation and some of its roles in the control of the cell-division cycle (Nobel lecture) // Angew. Chem. Int. Ed. Engl. — 2005. — 44. — P. 5932–5943.

20. Ito H., Gray W.M. A gain-of-function mutation in the *Arabidopsis* pleiotropic drug resistance transporter PDR9 confers resistance to auxinic herbicides // *Plant Physiol.* — 2006. — **142**. — P. 63–74.
21. Jasieniuk M., Brule-Babel A.L., Morrison I.N. Inheritance of trifluralin resistance in green foxtail (*Setaria viridis*) // *Weed Sci.* — 1994. — **42**. — P. 123–127.
22. Jasieniuk M., Brule-Babel A.L., Morrison I.N. The evolution and genetics of herbicide resistance in weeds // *Ibid.* — 1996. — **44**. — P. 176–193.
23. Jasieniuk M., Morrison I.N., Brule-Babel A.L. Inheritance of dicamba resistance in wild mustard (*Brassica kaber*) // *Ibid.* — 1995. — **43**. — P. 192–195.
24. Jones A.M., Sussman M.R. A binding resolution // *Plant Physiol.* — 2009. — **150**. — P. 3–5.
25. Jugulam M., McLean M.D., Hall J.C. Inheritance of picloram and 2,4-D resistance in wild mustard (*Brassica kaber*) // *Weed Sci.* — 2005. — **53**. — P. 417–423.
26. Jurado S., Abraham Z., Manzano C. et al. The *Arabidopsis* cell cycle F-box protein SKP2A binds to auxin // *Plant Cell.* — 2010. — **22**. — P. 3891–3904.
27. Jurado S., Diaz-Trivino S., Abraham Z. et al. SKP2A, an F-box protein that regulates cell division, is degraded via the ubiquitin pathway // *Plant J.* — 2008. — **53**. — P. 828–841.
28. Kepinski S., Leyser O. Auxin-induced SCF<sup>TIR1</sup>-Aux/IAA interaction involves stable modification of the SCF<sup>TIR1</sup> complex // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2004. — **101**. — P. 12381–12386.
29. Kepinski S., Leyser O. The *Arabidopsis* F-box protein TIR1 is an auxin receptor // *Nature.* — 2005. — **435**. — P. 446–451.
30. Kern A.J., Myers T.M., Jasieniuk M. et al. Two recessive gene inheritance for triallate resistance in *Avena fatua* L. // *J. Hered.* — 2002. — **93**. — P. 48–50.
31. Ludwig-Muller J. Auxin conjugates: their role for plant development and in the evolution of land plants // *J. Exp. Bot.* — 2011. — **62**. — P. 1757–1773.
32. Marchant A., Kargul J., May S.T. et al. AUX1 regulates root gravitropism in *Arabidopsis* by facilitating auxin uptake within root apical tissues // *EMBO J.* — 1999. — **18**. — P. 2066–2073.
33. Mithila J., Godar A.S. Understanding genetics of herbicide resistance in weeds: Implications for weed management // *Adv. Crop Sci. Tech.* — 2013. — **1**, N 4: 115. — doi:10.4172/2329–8863.1000115.
34. Mithila J., Hall J.C. Comparison of ABP1 over-expressing *Arabidopsis* and under-expressing tobacco with an auxinic herbicide-resistant wild mustard (*Brassica kaber*) biotype // *Plant Sci.* — 2005. — **169**. — P. 21–28.
35. Mithila J., Hall J.C., Johnson W.G. et al. Evolution of resistance to auxinic herbicides: historical perspectives, mechanisms of resistance, and implications for broadleaf weed management in agronomic crops // *Weed Sci.* — 2011. — **59**. — P. 445–457.
36. Mithila J., McLean M.D., Chen S., Hall J.C. Development of near-isogenic lines and identification of markers linked to auxinic herbicide in wild mustard (*Sinapis arvensis*) // *Pest. Manag. Sci.* — 2012. — **68**. — P. 548–556.
37. Nakayama K.I., Nakayama K. Ubiquitin ligases: Cell-cycle control and cancer // *Natl. Rev. Cancer.* — 2006. — **6**. — P. 369–381.
38. Neve P., Powles S.B. High survival frequencies at low herbicide use rates in populations of *Lolium rigidum* result in rapid evolution of herbicide resistance // *Heredity.* — 2005. — **95**. — P. 485–492.
39. Overbeec van J. Survey of mechanisms of herbicide action // *The Physiology and Biochemistry of Herbicides* / Ed. L.J. Audus. — New York: Academic Press, 1964. — P. 387–399.
40. Pazmino D.M., Rodriguez-Serrano M., Sanz M. et al. Regulation of epinasty induced by 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in pea and *Arabidopsis* plants // *Plant Biol.* — 2013. — **16**. — P. 809–818.
41. Pazmino D.M., Romero-Puertas M.C., Sandalio L.M. Insights into the toxicity mechanism of and cell response to the herbicide 2,4-D in plants // *Plant Signal. Behav.* — 2012. — **7**, N 3. — P. 425–427.
42. Peniuk M.G., Romano M.L., Hall J.C. Physiological investigations into the resistance of wild mustard (*Sinapis arvensis* L.) biotype to auxinic herbicide // *Weed Res.* — 1993. — **33**. — P. 431–440.
43. del Pozo J.C., Boniotti M.B., Gutierrez C. *Arabidopsis* E2F<sub>c</sub> functions in cell division and is degraded by the ubiquitin-SCF (AtSKP2) pathway in response to light // *Plant Cell.* — 2002. — **14**. — P. 3057–3071.
44. del Pozo J.C., Diaz-Trivino S., Cisneros N., Gutierrez C. The balance between cell division and endoreplication depends on E2FC-DPB, transcription factors regulated by the ubiquitin-SCF-SKP2A pathway in *Arabidopsis* // *Ibid.* — 2006. — **18**. — P. 2224–2235.
45. Preston C., Belles D.S., Westra P.H. et al. Inheritance of resistance to the auxinic herbicide dicamba in kochia (*Kochia scoparia*) // *Weed Sci.* — 2009. — **57**. — P. 43–47.

46. Preston C. Inheritance and linkage of metabolism-based herbicide cross-resistance in rigid ryegrass (*Lolium rigidum*) // *Ibid.* — 2003. — **51**. — P. 4–12.
47. Preston C., Mallory-Smith C.A. Herbicide resistance in world grains: biochemical mechanisms, inheritance, and molecular genetics of herbicide resistance in weeds. — CRC Press, Inc, Boca Raton, Florida, USA, 2001.
48. Raghavan C., Ong E.K., Dalling M.J., Stevenson T.W. Regulation of genes associated with auxin, ethylene and ABA pathways by 2,4-dichlorophenoxyacetic acid in *Arabidopsis* // *Funct. Integr. Genomics.* — 2006. — **6**. — P. 60–70.
49. Ren H., Santner A., del Pozo J.C. et al. Degradation of the cyclin-dependent kinase inhibitor KRP1 is regulated by two different ubiquitin E3 ligases // *Plant J.* — 2008. — **53**. — P. 705–716.
50. Riar D.S., Burke I.C., Yenish J.P. et al. Inheritance and physiological basis for 2,4-D resistance in prickly lettuce (*Lactuca serriola* L.) // *J. Agric. Food Chem.* — 2011. — **59**, N 17. — P. 9417–9423.
51. Rodriguez-Serrano M., Pazmino D.M., Sparkes L. et al. 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid promotes S-nitrosylation and oxidation of actin affecting cytoskeleton and peroxisomal dynamics // *J. Exp. Bot.* — 2014. — **65**. — P. 4783–4793.
52. Sabba R.P., Ray I.M., Lownds N., Sterling T.M. Inheritance of resistance to clopyralid and picloram in yellow starthistle (*Centaurea solstitialis*) is controlled by a single nuclear recessive gene // *J. Hered.* — 2003. — **94**. — P. 523–527.
53. Sauer M., Kleine-Vehn J. Auxin binding protein1: the outsider // *Plant Cell.* — 2011. — **23**. — P. 2033–2043.
54. Sauer M., Robert S., Kleine-Vehn J. Auxin simply complicated // *J. Exp. Bot.* — 2013. — **64**. — P. 2565–2577.
55. Song Y. Insight into the mode of action of 2,4-dichlorophenoxyacetic acid (2,4-D) as an herbicide // *J. Integr. Plant Biol.* — 2014. — **56**, N 2. — P. 106–113.
56. Song Y., Xu Z.F. Ectopic overexpression of an auxin/indole-3-acetic acid (Aux/IAA) gene OsIAA4 in rice induces morphological changes and reduces responsiveness to auxin // *Int. J. Mol. Sci.* — 2013. — **14**. — P. 13645–13656.
57. Song Y., You J., Xiong L. Characterization of OsIAA1 gene, a member of rice Aux/IAA family involved in auxin and brassinosteroid hormone responses and plant morphogenesis // *Plant Mol. Biol.* — 2009. — **70**. — P. 297–309.
58. Sterling T.M., Hall J.C. Mechanism of action of natural auxins and the auxinic herbicides // *Herbicide Activity: Toxicology, Biochemistry and Molecular Biology* / R.M. Roe, J.D. Burton, R.J. Kuhr. eds. — Amsterdam, the Netherlands: IOS Press, 1997. — P. 111–141.
59. Tan X., Calderon-Villalobos L.I., Sharon M. et al. Mechanism of auxin perception by the TIR1 ubiquitin ligase // *Nature.* — 2007. — **446**. — P. 640–645.
60. Timmons F.L. A history of weed control in the United States and Canada // *Weed Sci.* — 1970. — **18**. — P. 294–307.
61. Tomas A., Paponov I., Perrot-Rechenmann C. Auxin binding protein 1: Functional and evolutionary aspects // *Trends Plant Sci.* — 2010. — **15**. — P. 436–446.
62. Van Eerd L.L., McLean M.D., Stephenson G.R., Hall J.C. Resistance to quinclorac and ALS-inhibitor herbicides in *Galium spurium* is conferred by two distinct genes // *Weed Res.* — 2004. — **44**. — P. 355–365.
63. Van Eerd L.L., Stephenson G.R., Kwiatkowski J. et al. Physiological and biochemical characterization of quinclorac and resistance in a false cleavers (*Galium spurium*) biotype // *J. Agric. Food Chem.* — 2005. — **53**. — P. 1144–1151.
64. Verkest A., Manes C.L.D., Vercruyse S. et al. The cyclin-dependent kinase inhibitor KRP2 controls the onset of the endoreduplication cycle during arabidopsis leaf development through inhibition of mitotic CDKA; 1 kinase complexes // *Plant Cell.* — 2005. — **17**. — P. 1723–1736.
65. Walsh T.A., Neal R., Merlo A.O. et al. Mutations in an auxin receptor homolog AFB5 and in SGT1b confer resistance to synthetic picolinate auxins and not to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid or indole-3-acetic acid in *Arabidopsis* // *Plant Physiol.* — 2006. — **142**. — P. 542–552.
66. Webb S.R., Hall J.C. Auxinic herbicide-resistant and herbicide-susceptible wild mustard (*Sinapis arvensis* L.) biotypes: effect of herbicides on seedling growth and auxin-binding activity // *Pest. Biochem. Physiol.* — 1995. — **52**. — P. 137–148.
67. Weinberg T., Stephenson G.R., McLean M.D., Hall J.C. MCPA (4-chloro-2-ethylphenoxyacetate) resistance in hemp-nettle (*Galeopsis tetrahit* L.) // *J. Agr. Food Chem.* — 2006. — **54**. — P. 9126–9134.
68. Yu Q., Powles S. Metabolism-based herbicide resistance and cross-resistance in crop weeds: a threat to herbicide sustainability and global crop production // *Plant Physiol.* — 2014. — **166**, N 3. — P. 1106–1118.

Отримано 15.06.2016

РЕЗИСТЕНТНОСТЬ РАСТЕНИЙ К АУКСИНОПОДОБНЫМ ГЕРБИЦИДАМ В СВЯЗИ С ОСОБЕННОСТЯМИ МЕХАНИЗМА ИХ ФИТОТОКСИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ

*Ж.З. Гуральчук, Е.Ю. Мордерер*

Институт физиологии растений и генетики Национальной академии наук Украины, Киев

Освещены проблемы, связанные с развитием и распространением резистентности растений к ауксиноподобным гербицидам (АПГ). Обсуждены последние достижения в раскрытии механизмов действия природного и синтетических ауксинов, возможные пути формирования резистентности растений к АПГ.

PLANT RESISTANCE TO AUXINIC HERBICIDES RELATED TO THE PECULIARITIES OF MECHANISM OF THEIR PHYTOTOXIC ACTION

*Zh.Z. Guralchuk, Ye.Yu. Morderer*

Institute of Plant Physiology and Genetics, National Academy of Sciences of Ukraine  
31/17 Vasylkivska St., 03022, Kyiv, Ukraine

The article is devoted to coverage of issues related to the development and spread of resistance of plants to auxinic herbicides. The latest advances in uncovering the mechanisms of action of natural and synthetic auxins and possible ways of plant resistance to auxinic herbicides are discussed.

*Key words:* auxinic herbicides, resistance, sites of action.