

УДК 577.15:632.7

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ГИДРОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ НАСЕКОМЫХ-ФИТОФАГОВ И БЕЛКОВЫХ ИНГИБИТОРОВ РАСТЕНИЙ (ОБЗОР)

© 2019 г. В. О. Цветков^{1, *}, Л. Г. Яруллина^{1, 2, **}

¹Башкирский государственный университет, Уфа, 450076 Россия

²Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, Уфа, 450054 Россия

*e-mail: zv347@yandex.ru

**e-mail: yarullina@bk.ru

Поступила в редакцию 17.12.2018 г.

После доработки 18.03.2019 г.

Принята к публикации 22.04.2019 г.

Рассмотрены и обобщены данные о протеолитических, целлюлолитических, пектолитических и амилолитических ферментах насекомых-вредителей и их ингибиторах из растений. Описана структура, физико-химические и функциональные свойства ферментов и ингибиторов. Анализ данных показал, что для создания альтернативы пестицидам актуален поиск возможных путей повышения активности ингибиторов гидролаз насекомых.

Ключевые слова: гидролитические ферменты, ингибиторы гидролаз, насекомые-вредители, защита растений

DOI: 10.1134/S0555109919050155

Повышение устойчивости сельскохозяйственных растений к болезням и вредителям является одной из важнейших проблем экологически безопасного растениеводства. Решению этой проблемы в значительной степени может способствовать понимание механизмов взаимоотношений растений с организмами-фитофагами. Гидролитические ферменты насекомых-вредителей и патогенных микроорганизмов являются важным звеном при их взаимодействии с растениями, поскольку обеспечивают эффективное расщепление растительных полимеров, составляющих основу кормового субстрата [1–4]. В тканях организмов-фитофагов выявлена активность различных типов гидролаз: катепсиноподобных и трипсиноподобных протеаз [1–4], эндоглюкозидаз [5, 6], целлобиогидролаз и β -глюкозидаз [7, 8], а также α -амилаз [9, 10].

Подавление активности гидролитических ферментов насекомых-вредителей представляет один из эффективных способов реализации механизмов защиты у растений [11, 12]. Известно, что в тканях различных видов растений обнаружены специфические ингибиторы, способные нейтрализовать действие пищеварительных ферментов насекомых [13–19]. Так, описано присутствие в растениях ингибиторов цистеиновых и сериновых протеаз [13–15], целлюлаз различной природы [16], пектиназ [17] и амилаз [18, 19]. В ответ на контакт с растением и поедание его насекомыми происходит интен-

сивное накопление ингибиторов гидролаз как в пораженных, так и интактных органах [11, 20–22].

Исследование гидролаз фитофагов и специфичных им ингибиторов из растительных тканей представляет интерес как с точки зрения познания молекулярных механизмов взаимодействия растений и организмов-фитофагов, так и с позиции поиска эффективных и экологически безопасных методов защиты культурных растений от насекомых-вредителей.

Протеолитические ферменты. В настоящее время среди гидролитических ферментов насекомых-фитофагов наибольшее количество экспериментальных данных получено о структуре и физиологических свойствах протеаз (табл. 1).

Цистеиновые протеазы. Эти протеазы играют важную роль в расщеплении растительной пищи у широкого круга жесткокрылых насекомых [23, 24]. Так, у колорадского жука протеолитические ферменты представлены, в основном, цистеиновыми протеиназами, близкими по свойствам катепсинам В и Н млекопитающих [14, 25, 26].

Большинство катепсиноподобных ферментов содержат в активном центре остаток цистеина, играющий роль нуклеофильной группы, и остаток гистидина, который входит в состав каталитического центра протеаз [27]. Данные ферменты характеризуются широкой специфичностью, однако часть из них расщепляет субстрат преиму-

Таблица 1. Сведения о некоторых гидролазах насекомых-вредителей и их ингибиторах из растений

Гидролазы и ингибиторы	Представители	Виды насекомых и растений	Молекулярная масса, Да	Ссылка
Цистеиновые протеазы	Катепсиноподобные цистеиновые протеазы	<i>Leptinotarsa decemlineata</i>	38000	[14, 25–28]
Сериновые протеазы	Химотрипсин-подобная протеиназа	<i>Coleoptera, Lepidoptera</i>	63000; 100000	[29]
	Карбоксипептидаза В	<i>Helicoverpa zea</i>	35000	[30]
Аспартатные протеазы	Катепсин D-подобная протеиназа	<i>Spodoptera exigua, Dysdercus peruvianus, Oulema melanopus</i>	42000	[32, 33]
Целлюлазы	GHF-5	<i>Mesosa myops</i>	36000	[49]
		<i>Nephotettix cincticeps</i>	40000	[50]
		<i>Apriona germari</i>	47000	[47]
	GHF-9	<i>Tribolium castaneum</i>	49500	[64]
	GHF-45	<i>Batocera horsfieldi</i>	25000	[46]
Пектиназы	Полигалактуроназа	<i>Sitophilus oryzae</i>	39000	[74]
Амилазы	Альфа-амилаза	<i>Tenebrio molitor</i>	50000	[81]
Ингибиторы сериновых протеаз	Кунитца	Различные виды	20000	[88, 92]
	Баумана - Бирк	Различные виды	8000 – 10000	[93–96]
	pot II	<i>Solanum tuberosum</i>	5500	[97]
	MTI2	<i>Sinapis alba</i>	7000	[98]
	MCTI	<i>Momordica charantia</i>	3000	[99, 100]
Ингибиторы цистеиновых протеаз	Цистатин-1	Различные виды	14000	[101]
		Различные виды	13000	[102–104]
Ингибиторы металлокарбоксипептидаз		<i>Solanum tuberosum, Solanum lycopersicum</i>	4000	[106, 107]
Ингибиторы целлюлаз	Фенольные соединения	Различные виды	более 10000	[108–112]
Ингибиторы пектиназ	БИПГ	Различные виды	40000	[113–122]
Лектиноподобные ингибиторы амилаз	α AI-1, α AI-2	<i>Vicia faba</i>	23000	[132]
Ноттиноподобные ингибиторы амилаз		<i>Amaranthus hypocondriacus</i>	3500	[130]
Ингибиторы амилаз типа Кунитца		<i>Hordeum vulgare, Triticum aestivum, Oryza sativa, Vigna unguiculata</i>	22000	[132, 133]
Пуротиониноподобные ингибиторы	SI α -1, SI α -2, SI α -3	<i>Sorghum bicolor</i>	5000	[134]
СМ-белки		<i>Gramineae</i>	13000 – 18000	[135]
Тауматиноподобные ингибиторы	Зеаматин	<i>Zea mays</i>	22000	[136–138]

шественно по определенным аминокислотным остаткам. Большая часть катепсиноподобных ферментов является эндопептидазами, а небольшая часть – карбокси- и аминопептидазы. Показано, что их активность ингибируется как синтетическими, так и природными ингибиторами. Как правило, эти ферменты локализованы в полости среднего кишечника насекомого, а рН-оптимум ферментативной активности у большинства из них находится в пределах рН 5–7 [28].

Сериновые протеазы. Подобная химотрипсину протеиназа жесткокрылых насекомых имеет оптимум активности при рН 5.5–6.5 и проявляет чувствительность к ингибиторам сериновых протеаз [29]. Преобладающий компонент, обуславливающий химотрипсин-подобную активность, представляет собой белок с молекулярной массой около 63 кДа, имеется также минорный компонент с молекулярной массой около 100 кДа. Оптимум рН для проявления ферментативной актив-

ности сериновых протеаз сильно различается у разных видов насекомых. В частности, известны сериновые протеазы чешуекрылых с оптимумом активности при щелочном pH (~10) [30]. В пищеварительной системе личинок колорадского жука обнаружены и экзопептидазы — протеазы, подобные карбоксипептидазе А и лейциновой аминоксипептидазе. Аминопептидазы в отличие от большинства пищеварительных протеаз локализованы в эпителиальной ткани.

Аспартатные протеазы. Сравнительно менее изучены аспартатные протеазы насекомых. Большинство из них характеризуется оптимумом протеолитической активности в кислой области pH (около 3–5) [31]. Катепсин D-подобная аспартатная протеиназа проявляет максимальную ферментативную активность при pH 4.5 [32, 33]. Известно, что данная протеиназа играет важную роль в первоначальном расщеплении белков растительной пищи, в частности, рибулозо-бис-фосфаткарбоксилазы-оксигеназы — мажорного белка листьев картофеля [34]. Последующее расщепление белков пищи осуществляется цистеиновыми (катепсин В- и Н-подобными) и сериновыми (подобными химоитрипсину) протеиназами.

Выделение протеолитических ферментов в полость кишечника насекомого зависит не столько от количества пищи, а от состава белков в ней. В выделении протеаз задействованы как непосредственное воздействие белков пищи на эпителиальные клетки средней кишки, так и гормональные эффекты, связанные с поступлением пищи в организм [35]. Ферменты образуются в клетках кишечника в мембранно-связанной форме и накапливаются в везикулах, которые, в свою очередь, связываются со структурами цитоскелета, а также выделяются эпителиальными клетками в форме особых комплексов [36], после чего протеазы перемещаются в просвет кишечника.

Целлюлолитические ферменты. Целлюлазы в тканях насекомых представлены целлюлазным комплексом, включающим три типа гидролаз (табл. 1). Это эндоглюканазы, гидролизующие β -1, 4 связи в цепи целлюлозы в случайном месте внутри молекулы, целлобиогидролазы или C_1 -целлюлазы, отщепляющие целлобизу с конца целлюлозных цепей, а также β -глюкозидазы и целлобиазы, отщепляющие глюкозу с нередуцирующего конца целлюлозной цепи [37, 38]. У насекомых имеется собственная целлюлаза и микробная целлюлаза симбиотических микроорганизмов (у различных родов — C_x - или C_1 -, или оба фермента одновременно) [39–41].

Целлюлазный комплекс бактерий включает эндоглюканазу, целлобиазу и целлобиогидролазу [42]. Известно, что бактерии способны синтезировать как связанные с клетками, так и внеклеточные формы ферментов. Целлюлозоразрушаю-

щие микроорганизмы используют два различных механизма расщепления целлюлозы [43, 44]. Большинство аэробных микроорганизмов выделяют молекулы целлюлаз, которые могут содержать углеводсвязывающий домен на N- или C-конце полипептидной цепи. Анаэробные микроорганизмы, как правило, образуют крупные (более 1000 кДа) мультиферментные комплексы — целлюлосомы, которые обычно прикрепляются к внешней поверхности клетки. У большинства целлюлаз, входящих в целлюлосомы, отсутствует углеводсвязывающий домен, однако он присутствует в связанном с целлюлазами белке скаффолдине. Анализ геномных последовательностей аэробных и анаэробных целлюлолитических бактерий показал, что существует также третий механизм, характеризующийся отсутствием как целлюлосом, так и углеводсвязывающих доменов в молекуле фермента [45]. Целлюлазы, как находящиеся в составе целлюлосом, так и свободно секретируемые, обладают высоким сходством структуры каталитических доменов и механизмов катализа.

Из разных видов насекомых было выделено как минимум шесть представителей эндоглюканаз. К ним относятся ферменты *Psacotha hilaris* [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/protein/928430643>] и *Batocera horsfieldi* (25 кДа) [46], *Apriona germari* (25 и 47 кДа) [47, 48], *Mesosa myops* (36 кДа) [49], *Nephotettix cincticeps* (40 кДа) [50] и *Nasutitermes takasagoensis* (47 кДа) [51, 52]. Две изоформы с молекулярными массами 41 и 42 кДа было выделены из *Reticulitermes speratus* [53, 54].

В настоящее время на основании сравнительного анализа аминокислотных последовательностей выделяют более 160 семейств гликозил-гидролаз, которые объединяют в 18 кланов [<http://www.cazy.org/Glycoside-Hydrolases.html>].

Эндоглюканазы ряда насекомых относятся к семейству гликозил-гидролаз, обозначенных как GHF-5 [49, 50, 55]. У представителей этого семейства присутствует общий структурный мотив $(\beta/\alpha)_8$ -бочонок [56, 57]. Также для большинства целлюлаз этого семейства характерно наличие консервативных аминокислотных остатков Arg79, His122, Asn169 и Glu170, служащих донорами протонов для расщепляемой β -1,4-гликозидной связи. Каталитический центр образуют His254, Tyr256 и Glu307, являющиеся нуклеофильными остатками и передающие гидроксильные остатки на расщепляемую гликозидную связь [58, 59]. В образовании каталитического центра принимают участие Arg79, His122, Asn169, Glu170 и Glu307. Такая структура характерна для эндоглюканаз всех исследованных насекомых. Следует отметить, что сходная структура описана и для целлюлаз бактерий, что позволило выдвинуть гипотезу о горизонтальном переносе генов данных ферментов [60].

Из ряда жуков были выделены эндогликоканазы, относящиеся к структурному семейству, обозначенному как GHF-45 [61, 62]. Исследования трехмерной структуры белков этого семейства показали наличие в их молекуле шести β -бочонков и трех α -спиралей. В качестве донора протонов для каталитического центра выступает Asp121, в качестве нуклеофильной группы Asp10, при этом они являются консервативными остатками.

Из некоторых насекомых были выделены гликозил-гидролазы структурного семейства GHF-9 и показано сходство трехмерной структуры их каталитического домена со структурой ряда эндо- и экзоцеллюлаз грибов [63–65]. Гликозил-гидролазы такого типа расщепляют остатки пятичленных сахаров целлюлозы до тетроз или триоз с обращением конфигурации аномального углерода, при этом в связывании каталитического центра с субстратом участвуют 18 аминокислотных остатков.

Многие эндогликоканазы насекомых-фитофагов известны как однодоменные белки, то есть содержат только каталитический домен, тогда как многие целлюлазы паразитических грибов содержат как каталитический, так и целлюлозосвязывающий домен, а также богатые остатками пролина, треонина и серина линкерные участки, соединяющие два домена [66, 67]. Кроме каталитического и целлюлозосвязывающего доменов, в структуре целлюлазы могут присутствовать и другие элементы, включая дополнительный каталитический домен, фибронектин III-подобные домены, а также повторяющиеся гидрофобные последовательности когезин–докеринового типа.

Пектолитические ферменты. Пектиназы представляют собой комплекс ферментов, который может быть разделен по характеру ферментативной активности, как минимум, на 7 групп (табл. 1) [68]. Общепринято разделять пектиназы на два больших класса – пектинметилэстеразы и пектиндеполимеразы, которые, в свою очередь, делятся на полигалактуроназы и пектазиды. Также выделяют протопектиназы, которые разрушают нерастворимый протопектин, и пектинтрансэлиминазы, способные расщеплять уронидные связи пектина без его предварительного деметоксилирования [69, 70].

В ряде работ показано присутствие у насекомых полигалактуроназы, приобретенной, как считают, в результате горизонтального переноса генов [71–73]. Сравнительный анализ генетических последовательностей свидетельствует, что наиболее вероятным источником генов для переноса являлись бактерии [72, 74].

Для пектиназы рисового долгоносика была установлена пространственная структура, в основе которой лежит правозакрученная спираль, образованная β -тяжами. Сравнительный анализ данной структуры позволил сделать заключение о

происхождении пектиназы рисового долгоносика от бактериального липопротеина [74].

Амилитические ферменты. Содержание и активность амилаз в тканях насекомых существенно зависит от природы пищевого субстрата и стадии развития насекомого [9, 75]. Одной из причин такой зависимости может быть влияние пищи на внутреннюю среду насекомого, в частности, на pH. Амилазы жесткокрылых проявляют наибольшую активность в кислой среде, двукрылых – в нейтральной, чешуекрылых – в щелочной [10, 76]. Поскольку экспрессия амилаз обеспечивается множественными копиями генов [10], то, по-видимому, это и позволяет регулировать специфичность их действия и физико-химические свойства для преодоления защитных свойств растений.

α -Амилаза колорадского жука функционирует в широком диапазоне значений pH (от 6.0 до 10.0) и температуры (от 25 до 45°C) с оптимумом около pH 6.5 и 37°C [9]. Максимальная амилитическая активность отмечена в переднем отделе кишечника колорадского жука, тогда как в среднем – она достаточно мала, а в заднем отсутствует. Так, α -амилаза капустницы имеет молекулярную массу 80 кДа, оптимум pH около 8.0 и оптимум температуры 35°C [77]. Оптимумы pH и температуры амилазы свекловичной тли составляют 7.0 и 40°C [78], личинок жуков-усачей – 5.2 и 35°C [81], криптолемуса, хищника червецов – 4.0 и 50°C для амилаз кишечника и 6.0 и 60°C амилаз головных желез [80]. Известна пространственная структура α -амилазы мучного хрущака. Этот белок с молекулярной массой около 50 кДа состоит из двух доменов, один из которых относится к семейству α/β -гидролаз, другой – β -гидролаз [81].

Значительное разнообразие физико-химических свойств амилаз насекомых, по-видимому, определяет различия в специфичности их действия и механизмах регуляции.

Ингибиторы протеаз. Наличие протеолитических ферментов важно для усвоения растительной пищи насекомыми-вредителями, поэтому они являются объектом атаки защитных систем растения [11, 82–85]. Известно, что при повреждении листьев томата и картофеля колорадским жуком в растениях наблюдается резкое повышение содержания ингибиторов трипсина и химотрипсина, а при длительном повреждении синтезируются также и ингибиторы цистеиновых и аспартачных протеиназ [14]. У ряда насекомых синтезируются протеазы, нечувствительные к растительным ингибиторам [86], что приводит к значительным повреждениям растений.

Повышение содержания ингибиторов протеаз в растении происходит, как правило, не за счет увеличения концентрации конститутивных соединений, а за счет синтеза их новых специальных форм [87]. Данные формы, образующиеся в

ответ на стресс, обладают значительно более высокой специфичностью по отношению к протеазам насекомого-вредителя, чем ингибиторы, постоянно присутствующие в тканях растения.

В настоящее время известно значительное количество ингибиторов протеаз из разных видов растений. Они составляют около 10–15 семейств, различающихся аминокислотной последовательностью и специфичностью по отношению к тому или иному классу протеаз [88]. Так, выделяют ингибиторы сериновых, цистеиновых, аспартатных и металлопротеаз [34].

Ингибиторы сериновых протеаз. Эти ингибиторы обнаружены и описаны для многих видов растений и, по-видимому, являются универсальным компонентом растительных тканей [89]. При этом ферменты данного типа преобладают в растениях. Ингибиторы сериновых протеаз являются конкурентными ингибиторами и действуют по практически одинаковому механизму [90]. Структура молекул сходна у многих их представителей. Так, как правило, активный центр располагается на неупорядоченной петле, стабилизированной дисульфидными связями [34, 91].

Наиболее подробно описаны растительные ингибиторы, названные ингибиторами типа Кунитца. Они представляют собой белки размером приблизительно 20 кДа, содержащие одну-две дисульфидные связи и один центр связывания с ферментом [88]. Эти ингибиторы имеют структуру бета-глобулы, содержащей от 10 до 12 антипараллельных бета-тяжей, соединенных длинными петлями. На одной из петель располагается активный центр, который может образовывать водородные связи с центром связывания фермента. Показано наличие в молекуле ингибитора двух консервативных остатков цистеина, формирующих дисульфидную связь и, таким образом, поддерживающих активный центр и ингибиторную активность белка [92].

Ингибиторы типа Баумана–Бирка. Распространенным семейством растительных ингибиторов сериновых протеаз протеиназ являются ингибиторы типа Баумана–Бирка. Они представляют собой белки с молекулярной массой около 8–10 кДа, богатые остатками цистеина и имеющие два центра связывания с ферментом. Полипептидная цепь ингибитора состоит из 71 аминокислотного остатка и стабилизирована семью дисульфидными связями [93]. Их молекулы содержат участок хорошо выявляемой области “ядра”, снаружи от которой расположены остатки цистеина, а также остатки серина, образующие центр связывания. N- и C-концевые участки белка сильно варьибельны, а центральная область является консервативной и встречается практически в неизменном виде у всех ингибиторов протеаз типа Баумана–Бирк [94–96].

Ингибиторы протеиназ картофеля типа II (pot II). Важнейшую роль в системе защиты растений семейства пасленовых от вредителей играет семейство, названное ингибиторами протеиназ картофеля типа II (pot II). Накопление ингибиторов этого семейства всегда происходит в ответ на инфицирование растения патогеном или его поранение. Для белков семейства pot II характерны такие феномены, как тандемная дупликация, обмен доменами и перестановка H- (тяжелых) и L- (легких) фрагментов. Известные члены этого семейства содержат от двух до девяти повторяющихся последовательностей, состоящих из примерно 50 аминокислотных остатков и включающих реакционный центр [97].

В семенах горчицы белой обнаружены два различных ингибитора трипсина МТ1 и МТ2. МТ1 имеет сходные характеристики с ингибитором трипсина типа Кунитца, а МТ2 является высокоактивным и термостабильным ингибитором и представляет собой полипептид, состоящий из 63 аминокислотных остатков, богатый остатками цистеина и глицина и не имеющий структурной гомологии с другими известными семействами ингибиторов сериновых протеаз из растений [98].

Ингибиторы семейства МСТ1 (*Momordica charantia* trypsin inhibitor). Ингибиторы этого семейства содержат примерно 30 аминокислотных остатков. Для них была установлена аминокислотная последовательность и пространственная структура [99, 100].

Известен бифункциональный ингибитор α -амилазы и трипсина из семян дагуссы (RATI), который состоит из 122 аминокислотных остатков и содержит пять дисульфидных мостиков. Была установлена его аминокислотная последовательность и пространственная структура [101].

Ингибиторы цистеиновых протеаз. К настоящему времени ингибиторы цистеиновых протеаз достаточно хорошо изучены у отдельных растений. ЯМР-исследования структуры одного из представителей этой группы ингибиторов, цистатина-1, показали наличие в молекуле хорошо выраженной основной глобулы, α -спирали и пяти антипараллельных β -листов [102]. Подобные структуры были найдены среди белков животных со сходной функциональной активностью. В ряде работ было показано наличие в одном и том же растении нескольких сходных по структуре и механизму действия ферментов, различающихся лишь константой ингибирования [103, 104]. Для растительных цистатинов характерно присутствие двух дисульфидных связей, расположенных в C-концевой области молекулы. Цистатины состоят из ~115 аминокислотных остатков и имеют молекулярную массу около 13 кДа.

Ингибиторы аспартатных протеаз. Эти ингибиторы по структуре близки к ингибиторам трипси-

на типа Кунитца из сои [34]. Большинство аспаратных протеаз из тканей различных видов животных имеют сходное молекулярное строение, которому соответствует специфическая структура их ингибиторов растительного происхождения. Центр связывания ингибитора располагается в участке молекулы, содержащем петлю между двумя β -тяжами [105].

Ингибиторы металлокарбокситепептидаз. Эти ингибиторы из картофеля и томата представляют собой пептиды с молекулярной массой ~4 кДа, функционирующие по конкурентному механизму и эффективно ингибирующие карбокситепептидазы как животных, так и микроорганизмов. Однако сериновые карбокситепептидазы грибов и растений не подвержены их действию [106, 107].

Ингибиторы целлюлаз. Ингибиторы целлюлолитических ферментов были найдены в органах растений различных семейств (в листьях, цветках, плодах, семенах и стеблях) [16, 108]. Природные ингибиторы целлюлаз характеризуются достаточно большой молекулярной массой (более 10 кДа), термостабильностью, устойчивостью при диализе и действии растворов слабых кислот и щелочей, а также веществ-осадителей (например, ТХУ) [109].

Ингибиторы целлюлаз представляют собой продукты полимеризации фенолов. Они часто обнаруживаются в растениях в комплексе с ингибиторами амилаз и пектиназ. Разные сорта одного и того же вида растений содержат неодинаковое количество ингибиторов целлюлаз, а целлюлазы различного происхождения различаются своей восприимчивостью к действию ингибиторов [110, 111]. Самая высокая активность танинов среди древесных пород отмечена у *Salix pentandra*, наряду с *Betula pendula*, *Betula nana*, *Betula pubescens*, *Salix caprea* и *Pinus sylvestris*. [112]. Способность подавлять активность экзогенных целлюлаз показана и для кумаровой, феруловой и синаповой кислот [108], а также для некоторых веществ углеводной природы. Так, из *Triticum aestivum* были выделены ингибиторы целлюлаз, представляющие собой олигосахариды, состоящие из смеси ксило- и глюкоолигосахаридов [108].

Взаимодействие растительных ингибиторов с целлюлазами насекомых (в отличие от микроорганизмов) изучено недостаточно, хотя можно предположить, что данные, полученные для микроорганизмов, могут быть применимы и для насекомых. Так, потенциальными ингибиторами целлюлаз насекомых (как и бактерий) являются природные гликозилированные флавоноиды [16]. Белковые фракции экстракта листьев *Azadirachta indica* и *Buxus sempervirens* подавляли активность эндогликаназ мучнистого жука [112].

Ингибиторы пектиназ. В растительных тканях присутствуют соединения, обладающие способностью замедлять ферментативный гидролиз пектинов. Они найдены как в вегетативных, так и

генеративных органах растений: в листьях, плодах, клубнях, стеблях и т.д. (табл. 1) [113]. Природные ингибиторы пектиназ характеризуются растворимостью в воде и органических растворителях, а также термостабильностью. Они полностью или частично инактивируют ферменты, расщепляющие пектины. Белки, ингибирующие полигалактуроназы патогенных микроорганизмов и насекомых-вредителей (**БИПГ**), встречаются как у одно-, так и у двудольных растений [114–117]. Показано усиление экспрессии генов БИПГ в ответ на поранение насекомыми [118, 119]. БИПГ причисляют к большому классу белков растений, принимающих участие в межмолекулярных взаимодействиях и включающих повторы, обогащенные остатками лейцина **LRR** (от leucine-rich repeat) [120]. Наличие этих повторов необходимо для образования подвижного структурного каркаса, обеспечивающего белок-белковое взаимодействие. Эластичность конструкции допускает некоторую модификацию формы рецепторного участка в зависимости от потребностей, подобно тому, как антитела могут слегка изменять конфигурацию при связывании с антигеном [114].

Работы с трансгенными растениями по блокированию или сверхэкспрессии генов подтверждают, что белкам с **LRR** отводится существенная роль в процессах роста и развития тканей растений, а также в их взаимодействии с атакующими организмами-фитофагами, поскольку многие продукты R-генов причисляют к данной группе [121]. Тем не менее, механизм функционирования этих белков изучен недостаточно. Белки с **LRR** имеют различную локализацию. Так, некоторые из них встречаются в цитозоле, другие находятся в плазматической мембране и обладают внутриклеточными и экстрацеллюлярными доменами. Белковый ингибитор полигалактуроназы относится к полностью экстрацеллюлярным белкам (eLRR). Присутствие БИПГ в апопласте подтверждается тем, что он экстрагируется из тканей методом вакуумной инфльтрации [114]. Подавляющая часть известных БИПГ представляет собой гликопротеины с молекулярной массой около 40 кДа. При этом на долю углеводов в их молекулах приходится 20% от общей массы [122]. В молекулах БИПГ из разных растений варьирует количество и положение сайтов гликозилирования, что, вероятно, может способствовать определению специфичности взаимодействия с лигандами. Степень гликозилирования одного и того же белка может зависеть от места его экспрессии [114]. Гены **rPGIP**, кодирующие БИПГ, были клонированы из разных видов растений и объединены по признаку значительно сходства в небольшие семейства [121].

Ингибиторы амилаз. Ингибиторы амилаз так же, как и ингибиторы протеиназ, обнаруживаются у растений различных семейств: злаковых (*Gramineae*), бобовых (*Fabaceae*), пасленовых (*So-*

lanaseae) и др. (табл. 1) [123, 124]. Ингибиторы белковой природы избирательно взаимодействуют с амилазами и образуют неактивные комплексы “амилаза – ингибитор” [125]. Известны также и бифункциональные ингибиторы (БФИ), которые способны взаимодействовать не только с α -амилазой, но одновременно и протеазами. Наиболее изученными БФИ являются ингибиторы α -амилазы и субтилизина из ячменя и пшеницы [124]. Известны также БФИ, действующие на протеиназу К и α -амилазу из пшеницы [127], α -амилазу и химоотрипсин из кукурузы [128], α -амилазу млекопитающих и трипсин [126]. С использованием методов кристаллографии и компьютерного моделирования показано, что в формировании комплекса амилаза – ингибитор амилазы участвуют водородные связи, ионные и в меньшей степени гидрофобные взаимодействия [129]. Ингибиторы α -амилазы используются растениями в качестве защитного механизма против насекомых-вредителей, а также патогенных микроорганизмов [129, 130]. На основании структурного сходства выделяют шесть различных семейств белковых ингибиторов α -амилаз растительного происхождения (AAI – alpha amylase inhibitors): лектиноподобные, ноттиноподобные, ингибиторы α -амилазы типа Кунитца, γ -пуротиониноподобные, СМ(chloroform-methanol)-белки и тауматиноподобные [131].

Лектиноподобные ингибиторы. В почках бобов идентифицируются два лектиноподобных ингибитора α -амилаз, обозначенные как α AI-1 и α AI-2. Эти белки проявляют различную специфичность по отношению к α -амилазам вследствие мутации в их первичной структуре. Так, α AI-1 ингибирует α -амилазы млекопитающих и некоторых насекомых, но не подавляет активность α -амилаз мексиканского долгоносика. Ингибитор α AI-2 активен по отношению к α -амилазам *Zabrotes subfasciatus*, но не ингибирует α -амилазы вышеперечисленных групп животных [132].

Ноттиноподобные ингибиторы. Основные ингибиторы α -амилаз, присутствующие в семенах *Amaranthus hypocondriacus* L., представляют собой полипептид, состоящий из 32 аминокислотных остатков с тремя дисульфидными мостиками. AAI подавляет активность α -амилаз *T. castaneum* и *Prostephanus truncates*, но не ингибирует α -амилазы млекопитающих [130].

Ингибиторы α -амилазы типа Кунитца. Эта группа ингибиторов встречается в таких зерновых культурах, как ячмень, пшеница и рис [132], а также в бобовых, в частности в вигне початковой [133]. Ингибиторы α -амилаз из *Vigna unguiculata* L. подавляют с разной интенсивностью активность α -амилаз млекопитающих и насекомых [133]. Ингибиторы α -амилазы/субтилизина (BASI) обладают бифункциональными свойствами, и именно они участвуют в защите растений и выступают в роли эндогенных регуляторов активности α -амилаз [132].

γ -Пуротиониноподобные ингибиторы. Представители этого семейства состоят из 47–48 аминокислотных остатков и обладают выраженной ингибирующей активностью по отношению к α -амилазам насекомых. Белки SI α -1, SI α -2 и SI α -3, выделенные из *Sorghum bicolor*, подавляют активность α -амилаз таракана и саранчи, но не действуют на α -амилазы слюны человека. Эта группа ингибиторов не ингибирует α -амилазы поджелудочной железы свиньи, ячменя и *Bacillus sp.* Все три изоформы содержат восемь остатков цистеина, образующих четыре дисульфидных мостика [134].

СМ-белки. Белки, растворимые в хлороформе и метаноле (СМ-белки), относятся к большому семейству белков семян злаковых (*Gramineae*), состоящих из 120–160 аминокислотных остатков и имеющих пять дисульфидных связей. СМ-белки обладают типичным α -амилаза/трипсин-доменом [135]. Эта структурная особенность определяет их способность подавлять активность как α -амилаз, так и трипсин-подобных ферментов [135].

Тауматиноподобные ингибиторы. Это семейство содержит белки с молекулярной массой около 22 кДа, гомологичные белку тауматину из плодов *Thaumatococcus daniellii* и подавляющие ферменты грибов, бактерий и насекомых [136]. Зеаматин, выделенный из кукурузы, является типичным представителем этого семейства ингибиторов. Он проявляет ингибирующую активность по отношению к α -амилазам насекомых, но не активен по отношению к α -амилазе млекопитающих. Структуру белка составляют 13 β -слоев, 11 из которых образуют β -сэндвич [137, 138]. Зеаматин применяется в качестве противогрибных препаратов, поскольку он обладает способностью связывать β -1,3-глюкан грибной клеточной стенки [131].

Таким образом, имеющиеся в настоящее время сведения о гидролитических ферментах насекомых и их ингибиторах из растений свидетельствуют о том, что подавление активности экзогенных гидролаз специфическими ингибиторами представляет один из эффективных способов реализации защитных свойств растительного организма против организмов-фитофагов. Можно предположить, что использование ингибиторов гидролаз в качестве биопестицидов окажется перспективным и экологически безопасным способом защиты растений от насекомых-вредителей и патогенных микроорганизмов. По сравнению с традиционными “химическими” пестицидами они действуют более специфично и оказывают меньшее отрицательное воздействие на окружающую среду. В то же время для биопестицидов остаются нерешенными вопросы их химической стойкости, а также биологической и экономической эффективности их использования [139]. Решением этих вопросов может быть создание препаратов, защитное действие которых будет основано на индукции синтеза ингибиторов гидролаз в растительных тканях.

Работа частично выполнялась по теме госзадания, № государственной регистрации АААА-А16-116020350027-7.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Hartl M., Giri A., Kaur H., Baldwin I. // *Plant Cell*. 2010. V. 22. № 12. P. 4158–4175.
- Schluter U., Benchabane M., Munger M., Kiggundu A., Vorster J., Goulet M., Cloutier C., Michaud D. // *J. Exp. Botany*. 2010. V. 61. № 15. P. 4169–4183.
- Pereira D., Ramos M., Souza D., Portela T., Guimaraes J., Madeira S., Freitas C. // *Plant Sci*. 2010. V. 179. № 4. P. 348–355.
- Jongsma M., Beekwilder J. // *Curr. Protein Pept. Sci*. 2011. V. 12. № 5. P. 437–447.
- Morrison M., Pope P., Denman S., McSweeney C. // *Curr. Opin. Biotechnol*. 2009. V. 20. № 3. P. 358–363.
- Pope P., Denman S., Jones M., Tringe S., Barry K., Malfatti S., McHardy A., Cheng A., Hugenholtz P., McSweeney C., Morrison M. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2010. V. 107. № 33. P. 14793–14798.
- Anand A., Vennison S., Sankar S., Prabhu D., Vasan P., Raghuraman T., Geoffrey C., Vendan S. // *J. Insect Sci*. 2010. V. 10. № 107. P. 1–20.
- Allardyce B., Linton S., Sa R. // *J. Exp. Biol*. 2010. V. 213. № 23. P. 2950–2957.
- Khorram M., Adab R., Yazdaniyan M., Jafarnia S. // *Adv. Env. Biol*. 2010. V. 4. № 1. P. 101–107.
- Da Lage J. // *Int. J. Insect Sci*. 2018. V. 10. P. 1–14.
- Heil M. // *Trends Plant Sci*. 2009. V. 14. № 7. P. 356–363.
- Shinya T., Hojo Y., Desaki Y., Christeller J.T., Okada K., Shibuya N., Galis I. // *Sci. Rep*. 2016. V. 1. № 6. P. 325–337.
- Конарев Ал.В. Современные системы защиты и новые направления в повышении устойчивости картофеля к колорадскому жуку. Т. 1. / Ред. Скрябин К.Г. и Новожилов К.В. М.: Центр “Биоинженерия” РАН, 2000. С. 35–40.
- Валуева Т.А., Мосолов В.В. // *Успехи биологической химии*. 2002. Т. 42. С. 193–216.
- Ma J., Zhao Q., Lu M., Wang J. // *Tree Genet. Genomes*. 2011. V. 7. № 2. P. 431–441.
- Sami A., Shakoori A. // *J. Med. Plants Res*. 2011. V. 5. № 2. P. 184–190.
- Lee O., Sathiyaraj G., Kim Y., In J., Kwon W., Kim J., Yang D. // *J. Ginseng Res*. 2011. V. 35. № 1. P. 1–11.
- Конарев Ал.В., Фомичева Ю.В. // *Биохимия*. 1991. Т. 56. № 4. С. 628–638.
- Sivakumar S., Mohan M., Franco O., Thayumanavan B. // *Pestic. Biochem. Phys*. 2006. V. 85. № 3. P. 155–160.
- Ryan C. // *Annu. Rev. Phytopathol*. 1990. V. 28. P. 425–449.
- Bruinsma M., Loon J., Dicke M. // *Plant Signal. Behav*. 2010. V. 5. № 3. P. 271–274.
- Zhou S., Lou Y.R., Tzin V., Jander G. // *Plant Physiol*. 2015. V. 169. № 3. P. 1488–1498.
- Ramos M., Grangeiro T., Freire E., Sales M., Souza D., Araujo E., Freitas C. // *Arthropod-Plant Interact*. 2010. V. 4. № 1. P. 57–67.
- Sojka D., Francischetti I., Calvo E., Kotsyfakis M. // *Adv. Exp. Med. Biol*. 2011. V. 712. P. 177–191.
- Edwards M., Gatehouse J., Gatehouse A. // *Insect Biochem. Molec*. 2010. V. 40. № 11. P. 785–791.
- Chi Y., Jing X., Lei J., Ahn J., Koo Y., Yun D., Lee S., Behmer S., Koiwa H., Zhu-Salzman K. // *J. Insect Physiol*. 2011. V. 57. № 3. P. 391–399.
- Варфоломеев С.Д., Пожумков А.Е. // *Вестн. Моск. ун-та*. 2000. Т. 41. № 3. С. 147.
- Gruden K., Popovic T., Cimerman N., Krizaj I., Strukelj B. // *Biol. Chem*. 2003. V. 384. № 2. P. 305–310.
- Novillo C., Castanera P., Ortego F. // *Arch. Insect Biochem*. 1997. V. 36. P. 181–201.
- Johnston K.A., Lee M.J., Gatehouse J.A., Anstee J.H. // *Insect Biochem*. 1991. V. 21. № 4. P. 389–397.
- Lawrence P., Koundal K. // *Eur. J. Biochem*. 2002. V. 5. № 1. <https://doi.org/10.2225/vol5-issue1-fulltext-3>
- Thie N., Houseman J. // *Insect Biochem*. 1990. V. 20. № 3. P. 313–318.
- Gacko M., Minarowska A., Karwowska A., Minarowski Ł. // *Folia Histochem. Cytobiol*. 2007. V. 45. № 4. P. 291–313.
- Brunelle F., Nguyen-Quoc B., Cloutier C., Michaud D. // *Insect Biochem. Physiol*. 1999. V. 42. № 1. P. 88–98.
- Sui Y., Wang J., Zhao X. // *Insect Mol. Biol*. 2009. V. 18. № 4. P. 443–452.
- Philippe R., Ralph S., Kulheim C., Jancsik S., Bohlmann J. // *New Phytologist*. 2009. V. 184. № 4. P. 865–884.
- Ueda M., Goto T., Nakazawa M., Miyatake K., Sakaguchi M., Inouye K.A. // *Comp. Biochem. Phys. B*. 2010. V. 157. № 1. P. 26–32.
- Llewellyn D., Marston T., Teutemacher K., Higgins J., Melgarejo T. // *Anim. Feed Sci. Tech*. 2010. V. 160. № 1–2. P. 39–48.
- Calderon-Cortes N., Quesada M., Watanabe H., Cano-Camacho H., Oyama K. // *Annu. Revs. Ecol. Evol. Syst*. 2012. № 43. P. 45–71.
- Douglas A. // *J. Chem. Ecol*. 2013. V. 39. № 7. P. 952–961.
- Fischer R., Ostafe R., Twyman R.M. // *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol*. 2013. V. 136. P. 51–64.
- Douglas A. // *Funct. Ecol*. 2009. V. 23. № 1. P. 38–47.
- Bayer E.A., Belaich J.P., Shoham Y., Lamed R. // *Annu. Rev. Microbiol*. 2004. V. 58. P. 521–554.
- Doi R.H., Kosugi A. // *Nat. Rev. Microbiol*. 2004. V. 2. P. 541–551.
- Wilson D. // *Ann. New York Acad. Sci*. 2008. V. 1125. P. 289–297.
- Mei H.Z., Xia D.G., Zhao Q.L., Zhang G.Z., Qiu Z.Y., Qian P., Lu C. // *Gene*. 2016. V. 576. № 1. P. 45–51.
- Lee S.J., Lee K.S., Kim S.R., Gui Z.Z., Kim Y.S., Yoon H.J., Kim I., Kang P.D., Sohn H.D., Jin B.R. // *Comp. Biochem. Phys. B*. 2005. V. 140. № 4. P. 551–560.
- Wei Y.D., Lee K.S., Gui Z.Z., Yoon H.J., Kim I., Zhang G.Z., Guo X., Sohn H.D., Jin B.R. // *Comp. Biochem. Phys. B*. 2006. V. 145. № 2. P. 220–229.
- Liu J., Song K., Teng H., Zhang B., Li W., Xue H., Yang X. // *Acta Biochim. Biophys. Sin*. 2015. V. 47. № 9. P. 741–748.
- Hattori M., Komatsu S., Noda H., Matsumoto Y. // *PLoS One*. 2015. V. 10. № 4. E0123671. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123671>
- Tokuda G., Watanabe H., Matsumoto T., Noda H. // *Zool. Sci*. 1997. V. 14. № 1. P. 83–93.
- Tokuda G., Watanabe H., Hojo M., Fujita A., Makiya H., Miyagi M., Arakawa G., Arioka M. // *J. Insect Physiol*. 2012. V. 58. № 1. P. 147–154.

53. Watanabe H., Nakamura M., Tokuda G., Yamaoka I., Scrivener A., Noda H. // *Insect Biochem. Mol. Biol.* 1997. V. 27. № 4. P. 305–313.
54. Itakura S., Masuta T., Tanaka H., Enoki A. // *J. Econ. Entomol.* 2006. V. 99. № 1. P. 123–128.
55. Rosso M., Favery B., Piotte C., Arthaud L., De Boer J., Hussey R. // *Mol. Plant Microbe Interact.* 1999. V. 12. № 7. P. 585–591.
56. Graham J., Clark M., Nadler D., Huffer S. // *Nat. Commun.* 2011. V. 2. № 1. P. 375.
57. Sharma P., Kaila P., Guptasarma P. // *FEBS J.* 2016. V. 283. № 23. P. 4340–4356.
58. Ducros V., Czjzek M., Belaich A., Gaudin C., Fierobe H., Belaich J. // *Structure.* 1995. V. 3. P. 939–949.
59. Liberato M.V., Silveira R.L., Prates E.T., de Araujo E.A., Pellegrini V.O., Camilo C.M., Kadowaki M.A., Neto Mde O., Popov A., Skaf M.S., Polikarpov I. // *Sci. Rep.* 2016. V. 6. P. 234–273.
60. Yan Y., Smant G., Stokkermans J., Qin L., Helder J., Baum T. // *Gene.* 1998. V. 220. № 1–2. P. 61–70.
61. Girard C., Jouanin L. // *Insect Biochem. Mol. Biol.* 1999. V. 29. № 12. P. 1129–1142.
62. Wei Y.D., Lee K.S., Gui Z.Z., Yoon H.J., Kim I., Je Y.H., Lee S.M., Zhang G.Z., Guo X., Sohn H.D., Jin B.R. // *Insect Biochem. Mol. Biol.* 2006. V. 36. № 6. P. 435–441.
63. Sakon J., Irwin D., Wilson D., Karplus P. // *Nat. Struct. Biol.* 1997. V. 4. № 7. P. 810–881.
64. Willis J.D., Oppert B., Oppert C., Klingeman W.E., Jurat-Fuentes J.L. // *J. Insect Physiol.* 2011. V. 57. № 2. P. 300–306.
65. Shelomi M., Watanabe H., Arakawa G. // *J. Insect Physiol.* 2014. V. 60. P. 25–30.
66. Beguin P., Aubert J. // *FEMS Microbiol.* 1994. Rev. 13. P. 25–58.
67. Behera B.C., Sethi B.K., Mishra R.R., Dutta S.K., Thatoi H.N. // *J. Genet. Eng. Biotechnol.* 2017. V. 15. № 1. P. 197–210.
68. Arunachalam C., Asha S. // *Adv. Biotech. J.* 2010. V. 9. № 561. P. 1–5.
69. Jayani R., Saxena S., Gupta R. // *Process Biochem.* 2005. V. 40. № 9. P. 2931–2944.
70. Карасева А.Н., Соснина Н.А., Минзанова С.Т., Миронов В.Ф., Рыжков Д.В., Карлин В.В., Щенаева О.В. // *Химия и технология растительных веществ. Материалы Всероссийской конф. Казань: ИОФХ им. А.Е. Арбузова КазНЦ РАН, 2002. С. 112–115.*
71. Shen Z., Denton M., Mutti N., Pappan K., Kanost M., Reese J., Reeck G. // *J. Insect Sci.* 2003. V. 3. № 24. P. 63.
72. Shen Z., Pappan K., Mutti N., He Q., Denton M., Zhang Y., Kanost M., Reese J., Reeck G. // *J. Insect Sci.* 2005. V. 5. № 21.
73. Shelomi M., Danchin E., Heckel D., Wipfler B., Bradler S., Zhou X., Pauchet Y. // *Sci. Rep.* 2016. V. 6. № 26388. <https://doi.org/10.1038/srep26388>
74. Teller D.C., Behnke C.A., Pappan K., Shen Z., Reese J.C., Reeck G.R., Stenkamp R.E. // *Acta Crystallogr. F.* 2014. V. 70. № 11. P. 1480–1484.
75. Shabarari M., Naseri B., Zibae A., Hajizadeh J. // *J. Crop Prot.* 2014. V. 3. № 2. P. 245–254.
76. Zang F., Zhu Y., Cohen A. // *Insect Biochem. Mol. Biol.* 2002. V. 32. № 4. P. 455–464.
77. Sharifloo A., Zibae A., Sendi J., Jahroumi K. // *Front. Physiol.* 2016. V. 7. P. 96.
78. Darvishzadeh A., Bandani A., Mousavi Q. // *Plant Protect. Scie.* 2013. V. 50. № 2. P. 84–89.
79. Patil N.K., Raut G.A., Gaikwad S.M. // *J. Entomol. Zool. Stud.* 2016. V. 4. № 5. P. 45–48.
80. Ahmadi F., Khani A., Ghadamyari M. // *Crop Prot.* 2012. № 1. P. 97–105.
81. Strobl S., Gomis-Ruth F.X., Maskos K., Frank G., Huber R., Glockshuber R. // *FEBS Lett.* 1997. V. 409. № 1. P. 109–114.
82. Конярев А.В. // *Современные системы защиты и новые направления в повышении устойчивости картофеля к колорадскому жуку. М.: Наука, 2000. С. 35–40.*
83. Яруллина Л.Г., Ахатова А.Р., Касимова Р.И. // *Физиология растений.* 2016. Т. 63. № 2. С. 205–217.
84. Hamza R. // *BMC Plant Biol.* 2018. V.25. № 18(1). Article number 24. <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1240-6>
85. War A.R., Taggar G.K., Hussain B., Taggar M.S., Nair R.M., Sharma H.C. // *AoB PLANTS.* 2018. V. 10. Article number ply037. <https://doi.org/10.1093/aobpla/ply037>
86. Machado S.W., de Oliveira C.F.R., Zério N.G., Parra J.R.P., Macedo M.L.R. // *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 2017. V. 95. № 4. <https://doi.org/10.1002/arch.21393>
87. Zhao Y., Botella M., Subramanian L., Ni X., Nielsen S., Bressan R., Hasegawa P. // *Plant Physiol.* 1996. V. 111. № 4. P. 1299–1306.
88. Major J., Constabel C. // *Plant Physiol.* 2008. V. 146. № 3. P. 888–903.
89. Viswanathan A., Kuriakose B., Bharadwaj S., Thomas G. // *Plant Mol. Biol. Report.* 2011. V. 29. № 4. P. 825–834.
90. Laluk K., Mengiste T. // *Plant J.* 2011. V. 68. № 3. P. 480–494.
91. Gourinath S., Alam N., Srinivasan A., Betzel C., Singh T. // *Acta Cryst.* 2000. V. 56. № 2. P. 287–293.
92. Mukhopadhyay D. // *J. Mol. Evol.* 2000. V. 50. № 3. P. 214–223.
93. Birk Y. // *Int. J. Pept. Protein Res.* 1985. V. 25. № 2. P. 113–131.
94. Caccialupi P., Ceci L., Siciliano R., Pignone D., Clemente A., Sonnante G. // *Food Chem.* 2010. V. 120. № 4. P. 1058–1066.
95. Prasad E., Dutta-Gupta A., Padmasree K. // *Phytochemistry.* 2010. V. 71. № 4. P. 363–372.
96. Muricken D., Gowda L. // *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.* 2011. V. 26. № 4. P. 553–560.
97. Kong L., Ranganathan S. // *BMC Bioinformatics.* 2008. № 9 (Suppl. 1). P. 22.
98. Volpicella M., Schipper A., Jongmsa M.A., Spoto N., Gallerani R., Ceci L.R. // *FEBS Letters.* 2000. V. 468. № 2–3. P. 137–141.
99. Laure H., Faca V., Izumi C., Padovan J., Greene L.G. // *Phytochemistry.* 2006. № 67. P. 362–370.
100. Huang B., Ng T.B., Fong W.P., Wan C.C., Yeung H.W. // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 1999. V. 31. № 6. P. 707–715.
101. Strobl S., Mühlhahn P., Bernstein R., Wilschek R., Maskos K., Wunderlich M., Huber R., Glockshuber R., Holak T.A. // *Biochemistry.* 1995. V. 34. № 26. P. 8281–8293
102. Nagata K., Kudo N., Abe K., Arai S., Tanokura M. // *Biochemistry.* 2000. V. 39. № 48. P. 14753–14760.

103. Arai S., Watanabe H., Kondo H., Emori Y., Abe K. // *J. Biochem.* 1991. V. 109. № 2. P. 294–298.
104. Kondo H., Abe K., Emori Y., Arai S. // *FEBS Letters.* 1991. V. 278. № 1. P. 87–90.
105. Frazao C., Bento I., Costa J., Soares C., Verissimo P., Faro C., Pires E., Cooper J., Carrondo M. // *J. Biol. Chem.* 1999. V. 274. № 39. P. 27694–27701.
106. Weeda S., Kumar G., Knowles N. // *Planta.* 2009. V. 230. № 1. P. 73–84.
107. Kim J., Park S., Hwang I., Cheong H., Nah J., Nahm K., Park Y. // *Int. J. Mol. Sci.* 2009. V. 10. № 6. P. 2860–2872.
108. Golba B., Treutter D., Kollar A. // *Trees.* 2011. V. 26. № 1. P. 131–139.
109. Kont R., Kurasin M., Teugjas H., Valjamae P. // *Bio-technol. Biofuels.* 2013. V. 6. № 1. P. 1–14.
110. Kars I., Jan van Kan A.L. // *Biologia.* 2008. V. 63. № 1. P. 99–118.
111. Van den Brink J., De Vries R. // *Appl. Microbiol. Bio-technol.* 2011. V. 91. № 6. P. 1477–1492.
112. Fayyaz-ur-Rehman M., Tariq M., Aslam M., Khadija G., Iram A. // *Open Enzym. Inhib. J.* 2009. V. 2. P. 8–11.
113. Hwang B.H., Bae H., Lim H.S., Kim K.B., Kim S.J., Im M.H., Park B.S., Kim D.S., Kim J. // *Plant Cell Tiss. Org. Cult.* 2010. V. 103. № 3. P. 293–305.
114. Проценко М.А., Буза Н.Л., Криницина А.А., Буланцева Е.А., Кораблёва Н.П. // *Биохимия.* 2008. Т. 73. № 10. С. 1317–1328.
115. Kalunke R., Tundo S., Benedetti M., Cervone F., De Lorenzo G., D'Ovidio R. // *Front Plant Sci.* 2015. V. 6. Article 146. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00146>
116. D'Ovidio R., Raiola A., Capodicasa C., Devoto A., Pontiggia D., Roberti S., Galletti R., Conti E., O'Sullivan D., De Lorenzo G. // *Plant Physiol.* 2004. V. 135. № 4. P. 2424–2435.
117. Frati F., Galletti R., De Lorenzo G., Salerno G., Conti E. // *Eur. J. Entomol.* 2006. V. 103. № 3. P. 515–522.
118. Li H., Smigocki A. // *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 2016. V. 96. № 1. P. 8–18.
119. Liu N., Zhang X., Sun Y., Wang P., Li X., Pei Y., Li F., Hou Y. // *Scie. Reps.* 2017. V. 7. Article number 39840.
120. Protsenko M.A., Bulantseva E.A., Korableva N.P. // *Russian J. Plant Physiol.* 2010. V. 57. № 3. P. 356–362.
121. Federici L., Di Matteo A., Fernandez-Recio J., Tsernoglou D., Cervone F. // *Trends Plant Sci.* 2006. V. 11. P. 65–70.
122. Maulik A., Ghosh H., Basu S. // *BMC Genomics.* 2009. V. 10. (Suppl. 3). S19. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-10-S3-S19>
123. Valencia-Jimenez A., Arboleda V., Grossi de Se M.F. // *J. Agric. Food Chem.* 2008. V. 56. № 7. P. 2315–2320.
124. Capocchi A., Muccilli V., Cunsolo V., Saletti R., Foti S., Fontanini D. // *Phytochemistry.* 2013. V. 88. № 1. P. 6–14.
125. Хадеева Н.В., Кочиева Е.З., Чередниченко М.Ю., Яковлева Е.Ю., Сидорук К.В., Богуш В.Г., Дунаевский Я.Е., Белозерский М.А. // *Биохимия.* 2009. Т. 74. № 3. С. 320–329.
126. Исламов Р.А., Фурсов О.В. // *Прикл. биохимия и микробиология.* 2007. Т. 43. № 4. С. 419–423.
127. Zemke K.J., Muller-Fahrnow A., Jany K. // *FEBS Letters.* 1991. V. 279. № 2. P. 240–242.
128. Нестеренко М.В., Гвоздева Е.Л., Мицкевич Л.Г., Мосолов В.В. // *Биохимия.* 1989. Т. 54. № 5. С. 838–845.
129. Kalve N.D., Lomate P.R., Hivrale V.K. // *Arthropod Plant Interact.* 2012. V. 6. № 2. P. 213–220.
130. Mehrabadi M., Bandani A.R., Saadati F. // *J. Insect Sci.* 2010. V. 10. № 1. P. 1–13.
131. Franco L., Rigden D., Melo F., Grossi de Sa M. // *Eur. J. Biochim.* 2002. V. 269. № 2. P. 397–412.
132. Svensson B., Fukuda K., Nielsen P.K., Bonsager B.C. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2004. V. 1696. № 2. P. 145–156.
133. Alves D.T., Vasconcelos I.M., Oliveira J.T., Farias L.R., Dias S.C., Chiarello M.D. // *Pest. Biochem. Physiol.* 2009. V. 95. № 3. P. 166–172.
134. Nitti G., Orru S., Bloch C.Jr., Morhy L., Marino G., Pucci P. // *Eur. J. Biochim.* 1995. V. 228. № 2. P. 250–256.
135. Campos F., Richardson M. // *FEBS Letters.* 1983. V. 152. № 2. P. 300–304.
136. Dafoe N., Gowen B., Constabel P. // *BMC Plant Biol.* 2010. V. 10. Article number: 191. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-10-191>
137. Iulek J., Franco O.L., Silva M., Slivinski C.T., Bloch C.Jr., Rigden D.J., Grossi de Sa M.F. // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2000. V. 32. № 11–12. P. 1195–1204.
138. Халилуев М.П., Шпаковский Г.В. // *Физиология растений.* 2013. Т. 60. № 6. С. 763–775.
139. Gupta P., Singh A., Shukla G., Wadhwa N. // *JPR.* 2013. V. 1. № 5. P. 449–458.

Structural and Functional Especialities of Hydrolytic Enzymes of Phytophagous Insects and Plants Protein Inhibitors (Review)

V. O. Tsvetkov^{a,*} and L. G. Yarullina^{a,b,**}

^aBashkir State University, Ufa, 450076 Russia

^bInstitute of Biochemistry and Genetics UFRC RAS, Ufa, 450054 Russia

*e-mail: zv347@yandex.ru

**e-mail: yarullina@bk.ru

Received December 17, 2018; revised March 18, 2019; accepted April 22, 2019

The literary data on proteolytic, cellulolytic, proteolytic and amylolytic enzymes of insect pests and their inhibitors from plants are considered and generalized. The structure, physico-chemical and functional properties of enzymes and inhibitors are described. On the background of the analysed data, the problem of finding possible ways to improve the activity of inhibitors of insects hydrolases as alternatives to pesticides appears most topical.

Keywords: hydrolytic enzymes, hydrolases inhibitors, phytophagous insects, plant defence