

Механизмы действия *Sr2* гена возрастной устойчивости пшеницы к стеблевой ржавчине

Кнауб В.В. *, аспирант; Плотникова Л.Я., д. б. н., профессор.

ФГБОУ ВО Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина, Омск, Россия

*email: vv.knaub06.06.01@omgau.org

Ген возрастной устойчивости *Sr2* сохраняет эффективность против стеблевой ржавчины пшеницы более века, но механизмы его действия ранее не изучали. Изучено взаимодействие сорта *Arthur* (*Sr2*) с изолятами западносибирской популяции *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* в фазах проростков и колошения. Действие *Sr2* гена приводило к частичному подавлению формирования аппресориев, нарушению проникновения патогена в устьица и прекращению развития основной части колоний на ранних этапах без реакции сверхчувствительности. К моменту спороношения в зоне пустул отмечено накопление перекиси водорода и отмирание клеток растений. Механизмы действия *Sr2* усиливались с возрастом растений.

Ключевые слова: *Triticum aestivum*, стеблевая ржавчина, *Sr2*, возрастная устойчивость.

Mechanisms of action of the *Sr2* gene of wheat adult plant resistance to stem rust

Knaub V.V., Plotnikova L.Ya.

FSBEI of HE «Omsk State Agrarian University named after P.A. Stolypin», Omsk, Russia

*email: vv.knaub06.06.01@omgau.org

Adult plant resistance gene *Sr2* has been effective against wheat stem rust for more than a century, but the mechanisms of its action have not been studied before. Interaction of cv. *Arthur* (*Sr2*) with isolates of the West Siberian population of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* was studied at seedlings and earing phases. The action of the *Sr2* gene led to partial suppression of appressoria formation, prevention of pathogen penetration into the stomata and inhibition of the development of the main part of colonies in the early stages without hypersensitivity reaction. Hydrogen peroxide accumulation and plant cell death were noted at pustule zones by the time of sporulation. Defence mechanisms controlled by the *Sr2* increased at adult stage.

Key words: *Triticum aestivum*, stem rust, *Sr2* gene, adult resistance.

Россия является одним из лидеров по производству и экспорту зерна в мире. Увеличению сборов зерна препятствует регулярное развитие грибных болезней, включая стеблевую ржавчину пшеницы (возбудитель – биотрофный гриб *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* Eriks. et Henn, *Pgt*). Для стабильной защиты необходимо вводить в сорта гены, обеспечивающие длительную устойчивость к болезни. Длительной названа устойчивость, эффективная при широкомасштабном возделывании сорта в условиях, благоприятствующих развитию болезни [1]. Среди набора известных генов устойчивости к стеблевой ржавчине *Sr2*, проявляющийся у взрослых растений (Adult plant resistance, APR), сохраняет эффективность с 1920-х гг. Особенностью APR генов является усиление защитного эффекта на поздних стадиях развития растений [2]. Проявления APR были ранее изучены на примере генов устойчивости к бурой ржавчине [2–4]. Однако информация об особенностях проявления гена *Sr2* отсутствует. Для перспективной селекции сортов с длительной устойчивостью актуально изучение механизмов действия гена *Sr2*.

Целью исследований было изучение цитофизиологических проявлений гена возрастной устойчивости *Sr2* на стадии проростков и взрослых растений.

Материалы и методы. Объектом исследований был сорт яровой мягкой пшеницы Arthur (*Sr2*). Контролем служил восприимчивый к болезни сорт мягкой пшеницы Серебристая. Растения в фазах 10-суточных проростков и колошения заражали изолятами, выделенными из западносибирской популяции *Pgt*. В ходе исследований была проведена визуальная оценка реакции сортов [5]. С помощью цитологических методов были изучены особенности развития инфекционных структур *Pgt*. Проведено цитохимическое исследование защитных реакций: реакции сверхчувствительности (СВЧ); накопления активных форм кислорода супероксид-аниона $O_2^{\cdot -}$ и перекиси водорода H_2O_2 ; синтеза каллозы, фенольных веществ и лигнина (по автофлуоресценции) [6].

Результаты исследований показали, что сорт Серебристая был восприимчив к стеблевой ржавчине (реакция 4) на ранних и поздних стадиях развития. Сорт Arthur проявил устойчивую реакцию к двум изолятам *Pgt* на стадии проростков (реакция 2), а на стадии колошения на растениях уменьшились размеры пустул при увеличении зоны некроза вокруг них (реакция 2–) (см. таблицу).

Цитологические исследования показали, что на поверхности листьев восприимчивого и устойчивого сортов прорастание спор было высоким, независимо от возраста растений. На сорте Серебристая с возрастом растений увеличилась интенсивность проникновения гриба в устьица при небольшом снижении доли образовавшихся колоний и пустул (в 1,2 раза). На проростках сорта Arthur было достоверно подавлено образование аппрессориев (в 1,1–1,3 раза). При заражении взрослых растений сорта Arthur изолятом 2 также было подавлено образование

аппрессориев (в 1,3 раза) и меньшая доля аппрессориев формировалась на устьицах. Наиболее заметными проявлениями действия гена *Sr2* были: 1) увеличение доли инокулюма, погибшего на стадиях аппрессория или подустыичной везикулы после проникновения в устьица; 2) подавление развития большей части колоний на ранних этапах развития в тканях. На стадии проростков в сорте Arthur развивалось меньше колоний, по сравнению с восприимчивым сортом, в 6,5–11,8 раз, а пустул – в 11–23 раза (в разных комбинациях). На стадии колошения доля отмерших колоний увеличивалась, в сравнении с проростками (в 1,9–2,3 раза), и образовалось меньше пустул (в 4,8–14 раз, в зависимости от изолята).

Развитие *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* Eriks. et Henn на поверхности и в тканях сорта мягкой пшеницы Arthur (*Sr2*) на стадиях проростков и взрослых растений

Комбинация	Реакция	Доля, %					Распределение колоний по площади, %		
		проросших спор	аппресориев от проросших спор	аппресориев на устьицах от их общего количества	непроросших аппресориев на устьицах	колоний/пустул от проросших спор	площадь, тыс. мкм ²		
							1,9–4,0	4,1–6,0	≤6,1
фаза проростков									
Серебристая-изолят 1+2 – контроль	4	84,8	19,2	100	83,3	29,4/19,4	14,7	–	85,3
Arthur (Sr2) – изолят 1	2	84,2	14,3*	100	92,3*	4,5*/1,2*	50,0	25,0	25,0
Arthur (Sr2) – изолят 2	2	92,8*	16,7*	91,6*	95,1*	2,5*/0,83*	49,8	33,2	17,0
НСР _{0,05}	–	3,9	2,9	5,4	4,2	1,9/0,33	–	–	–
фаза колошения									
Серебристая-изолят 1+2 – контроль	4	88,3	15,2	100,0	57,9	25,3/15,8	8,2	11,0	81,8
Arthur (Sr2) – изолят 1	2–	90,7	20,3*	97,4	86,4*	2,3*/0,25*	66,6	22,2	11,2
Arthur (Sr2) – изолят 2	2–	95,2*	11,5*	78,5*	72,5*	1,1*/0,06*	75,0	20,0	5,0
НСР _{0,05}	–	4,2	3,2	4,7	4,7	1,33/0,31	–	–	–

Примечание: *достоверно при $p \leq 0,05$.

Изучение защитных реакций показало, что окислительный взрыв при контакте аппрессориев с замыкающими клетками устьиц сорта Arthur не проявлялся. Большая часть аппрессориев оставалась на устьицах или патоген прекращал развитие после образования подустыичных везикул. Через 2 суток в цитоплазме гриба накапливалась перекись водорода (H_2O_2). Большая часть колоний имела вакуолизированные инфекционные гифы и малое число гаусторий (1–2 шт./колонии). Вероятно, такие колонии отмирали от голодания на ранних этапах развития. В зоне погибших колоний не выявлены реакция СВЧ, синтез каллозы и

лигнина. Через 5 суток после инокуляции на структурах гриба накапливалась H_2O_2 , что свидетельствует об активации оксидантных систем растения. В единичных случаях развития пустул к моменту спороношения отмечено интенсивное накопление H_2O_2 , отмирание окружающих клеток растений и автофлуоресценция их цитоплазмы. Активация защитных реакций на поздних этапах развития болезни может быть связана с развитием индуцированной устойчивости после узнавания продуктов разложения структур гриба.

Ранее защитные механизмы APR были изучены на примере генов устойчивости к бурой ржавчине. При заражении растений с геном *Lr34* изолятом из марокканской популяции *P. triticina* установлено, что значительная часть колоний погибала на разных этапах развития без реакции СВЧ, а спорогенез гриба был значительно подавлен [3]. При заражении западносибирскими изолятами *P. triticina* линий *Lr12*, *Lr13*, *Lr34* и *Lr37* было выявлено значительное подавление формирования аппрессориев, их гибель на устьицах в результате окислительного взрыва, а также отмирание колоний от голодания в результате нарушения развития гаусторий. Ингибирующие эффекты генов усиливались у взрослых растений, особенно при пониженных температурах [2, 4].

Сравнение результатов взаимодействия *Pgt* и *P. triticina* с растениями с APR-генами показывает, что *Sr2* в меньшей степени подавляет развитие аппрессориев и не провоцирует окислительный взрыв на устьицах, но интенсивно блокирует развитие колоний на ранних этапах развития в тканях за счёт нарушения развития гаусторий. Отличительной чертой действия гена *Sr2* является активация защитных реакций на стадии спороношения. Вероятно, APR сорта Arthur определялась как пассивными механизмами защиты в форме химического состава растений, так и развитием индуцированной устойчивости на поздних стадиях патогенеза.

Выводы:

Защитное действие гена *Sr2* возрастной устойчивости к стеблевой ржавчине определялось:

- 1) гибелью значительной части инокулюма на поверхности растений за счёт частичного подавления образования аппрессориев, нарушения проникновения в устьица или остановки на стадии подустыичной везикулы;
- 2) отмиранием колоний с малым числом гаусторий от голодания, но без проявления окислительного взрыва, реакции СВЧ и накопления фенолов. Активные защитные реакции растений проявлялись на стадии спороношения в форме накопления H_2O_2 и фенольных веществ в зоне пустул;
- 3) защитные механизмы усиливались с возрастом растений.

Финансирование: Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ в рамках научного проекта № 22-24-20067.

Список литературы

- 1 Johnson R., Lamberti F., Waller J.M., Vander Graaff N.A. Genetic background of durable resistance // Durable resistance. In Crops. Plenum Press, New York, 1983. P. 152–163.
- 2 Плотникова Л.Я., Штубей Т.Ю. Проявление устойчивости взрослых растений пшеницы к *Puccinia triticina*, детерминированной генами *Lr13*, *Lr22b* и *Lr35* // Микология и фитопатология. 2009. Т. 43. В. 3. С. 258–271.
- 3 Rubiales D., Niks R. E. Characterization of *Lr34*, a major gene conferring nonhypersensitive resistance to wheat leaf rust // Plant Dis. 1995. Vol. 79. N 12. P. 1208–1212.
- 4 Плотникова Л.Я., Штубей Т.Ю. Эффективность генов возрастной устойчивости пшеницы к бурой ржавчине *Lr22b*, *Lr34*, *Lr37* в Западной Сибири и цитофизиологическая основа их действия // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2012. Т. 16. № 1. С. 123–131.
- 5 Roelfs A.P., Martens J.W. An international system of nomenclature for *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. Phytopathology. 1988. Vol. 78. P. 526–533.
- 6 Плотникова Л.Я., Мешкова Л.В. Эволюция цитофизиологических взаимоотношений возбудителя бурой ржавчины и пшеницы при преодолении устойчивости, детерминированной геном *Lr19* // Микология и фитопатология. 2009. Т. 43. В. 4. С. 343–357.

DOI 10.18699/GPB2024-40

Получение микроклубней картофеля *in vitro*

Колошина К.А. *, н.с.; Полухин Н.И., к. с.-х.н., в.н.с.

СибНИИРС – филиал ИЦиГ СО РАН, Новосибирск, Россия

*email: kristina.koloshina@yandex.ru

Целью данного исследования было изучение процесса получения микроклубней картофеля *in vitro*. Растения картофеля культивировали на питательной среде Мурасиге и Скуга. В данном исследовании наиболее влиятельным фактором оказались сортовые особенности.

Ключевые слова: картофель, *in vitro*, MS, микроклубни.

Obtaining potato microtubers *in vitro*

Koloshina K., research fellow, Polukhin N., PhD in Agricultural Science, leading researcher.

SibRIPP&B – branch ICG SB RAS, Novosibirsk, Russia

*email: kristina.koloshina@yandex.ru

The purpose of this study was to study the process of obtaining potato microtubers *in vitro*. Potato plants were cultivated on Murashige and Skoog nutrient medium. In this study, varietal characteristics were the most influential factor.

Keywords: potatoes, *in vitro*, MS, microtubers.