

Влияние новохизоля на экспрессию генов, обеспечивающих устойчивость мягкой пшеницы к стеблевой ржавчине

А.В. Разуваева*, Е.С. Сколотнева, В.В. Фоменко, А.Б. Щербань

Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

* razuvaevaav@bionet.nsc.ru

Цель: Использование биологических средств защиты растений перспективно для сельского хозяйства. В частности, широкое распространение получили биопестициды на основе хитозана для стимуляции роста и защиты растений от широкого спектра патогенных микроорганизмов. Новохизол – это продукт, полученный путем внутримолекулярного сшивания линейных молекул хитозана и имеющий шаровидную форму, что обеспечивает ему ряд преимуществ перед хитозаном. Ранее было показано, что новохизол оказывает стимулирующее действие на рост и развитие мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Однако влияние этого препарата на защитные механизмы от ржавчинных заболеваний ранее не изучались. Целью данной работы было проанализировать уровень экспрессии потенциальных генов-мишеней, обеспечивающих повышенный уровень устойчивости растений мягкой пшеницы к стеблевой ржавчине под действием препаратов новохизоля. Перспективными генами-кандидатами на обеспечение устойчивости растений мягкой пшеницы к грибным заболеваниям являются гены, кодирующие белки PR (pathogenesis-related), а также ген мембранного рецептора хитина *CERK1*.

Материалы и методы: 10-дневные проростки линии мягкой пшеницы, несущей ген устойчивости к стеблевой ржавчине *Sr6*, обрабатывали раствором новохизоля в концентрации 0,125% за четыре дня до заражения *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* (*Pgt*). Заражение проводили двумя расами *Pgt* – авирулентной расой *Avr6* и вирулентной расой *vr6*. Листовой материал для последующего анализа собирали через 3, 6, 9, 24, 48, 72, 144 часа после инокуляции. Анализ транскрипции генов-мишеней до и после заражения стеблевой ржавчиной проводился методом количественной ПЦР по стандартной методике. Для предварительного анализа было выбрано два гена: ген *CERK1*, кодирующий мембранный рецептор хитина, и ген *PR3*, кодирующий хитиназу.

Результаты: Было показано, что у растений, зараженных авирулентной расой (*Avr6*) и не обработанных препаратом, экспрессия гена *CERK1* возрастает в полтора раза в течение трех часов после узнавания гриба (во время эктофитной фазы патогенеза), но далее снижается. У обработанных препаратом растений, зараженных этой расой, уровень экспрессии *CERK1* повышается более чем в два раза к 24 часам после заражения, то есть при переходе от эктофитной в эндофитную фазу патогенеза. На третьи сутки после заражения у последней группы все еще наблюдается базовый уровень экспрессии, по сравнению с другими группами растений, включая контроль, у которых наблюдается значительное снижение уровня экспрессии. Растения, зараженные вирулентной расой (*vr6*), как обработанные, так и необработанные новохизолом, после перехода эктофитной фазы патогенеза в эндофитную развивают уровни экспрессии гена *CERK1*, в полтора раза превышающие базовое значение. У обработанных новохизолом растений этой группы наблюдается дополнительный пик экспрессии гена через 3 часа после инокуляции, а также пролонгирование базового уровня экспрессии на вторые и третьи сутки.

В отличие от гена *CERK1* изменение экспрессии гена *PR3* было более значительным, вплоть до 20-кратного увеличения. Растения, зараженные авирулентной расой (*Avr6*), демонстрировали пик экспрессии гена *PR3* через 3 часа после инокуляции вне зависимости от обработки препаратом. Однако в условиях обработки новохизолом уровень экспрессии гена *PR3* дополнительно поднимался при переходе от эктофитной к эндофитной фазе патогенеза (24–48 ч), чего не наблюдалось в необработанных растениях. Пик экспрессии гена *PR3* в растениях, зараженных вирулентной расой *Vr6*, приходился на 24–48 часа после инокуляции. После обработки новохизолом такие растения дополнительно демонстрировали пик экспрессии гена *PR3* через 3 часа после заражения стеблевой ржавчиной.

Выводы: Проведен анализ транскрипции двух генов-мишеней *CERK1* и *PR3*, кодирующих рецептор хитина и фермент хитиназу соответственно. Показано, что под воздействием обработки новохизолом у инфицированных обоими расами (*Avr6* и *vr6*) стеблевой ржавчины растений происходит увеличение экспрессии гена *CERK1* в 1.5–2 раза при переходе эктофитной стадии патогенеза в эндофитную (24 часа после инокуляции). Экспрессия гена *PR3* значительно повышалась в условиях заражения обоими расами стеблевой ржавчиной. Наиболее сильное увеличение экспрессии (до 20 раз) было выявлено через 3 часа после инокуляции в растениях, обработанных новохизолом. В дальнейшем панель генов, ответственных за устойчивость растений мягкой пшеницы к заражению стеблевой ржавчиной в условиях обработки новохизолом, будет расширена.

Финансирование: Исследование поддержано грантом РФФ 23-16-00119.