

УДК 581.1:632.4

**УСТОЙЧИВОСТЬ ПШЕНИЦЫ ТИМОФЕЕВА К БУРОЙ РЖАВЧИНЕ
ОПРЕДЕЛЯЕТСЯ ГЕНЕРАЦИЕЙ АКТИВНЫХ ФОРМ
КИСЛОРОДА И ПОДАВЛЕНИЕМ ОБРАЗОВАНИЯ ГАУСТОРИЙ
ГРИБА PUCCINIA TRITICINA**

Пожерукова В.Е., Плотникова Л.Я., Дегтярев А.И.

*Омский государственный аграрный университет имени П.А. Столыпина, Минсельхоза РФ,
Омск, e-mail: lplotnikova2010@yandex.ru*

Вид *Triticum timopheevii* Zhuk. устойчив к ржавчинным болезням, но его защитные механизмы не исследованы. Изучена устойчивость двух образцов *T. timopheevii*: к-38555 и к-30920 – к западносибирской популяции возбудителя бурой ржавчины *Puccinia triticina* Erikss. на ювенильной стадии развития растений. Образцы *T. timopheevii* были полиморфны по симптомам, более устойчивый к-38555 состоял из иммунных и устойчивых (в соотношении 25:75), а к-30920 – из иммунных, устойчивых и восприимчивых растений (30:55:15). Динамика генерации активных форм кислорода (АФК) в двух образцах была сходной: супероксид-анион O_2^- накапливался в период 0,5–2 сут, а перекись водорода H_2O_2 – через 3–10 сут после инокуляции, причем содержание O_2^- было выше в более устойчивом образце к-38555, а H_2O_2 – в менее устойчивом к-30920. С помощью световой микроскопии и методов цитохимии изучены особенности развития гриба *P. triticina* и локализация O_2^- и H_2O_2 в листьях *T. timopheevii*. Повышение содержания АФК коррелировало с отмиранием аппрессориев на устьицах (O_2^-), реакцией сверхчувствительности (O_2^- и H_2O_2) и ограничением развития колоний и пустил на поздних этапах патогенеза (H_2O_2). Одновременно на всех растениях значительная часть колоний с единичными гаусториями прекращала развитие независимо от АФК (в среднем 1/2 от нанесенного инокулюма). Вероятно, устойчивость *T. timopheevii* к *P. triticina* определяется как механизмами, опосредованными накоплением АФК, так и ингибированием развития гаусторий.

Ключевые слова: *Triticum timopheevii*, *Puccinia triticina*, активные формы кислорода, реакция сверхчувствительности (СВЧ), биотрофия

**TIMOFEEVI WHEAT RESISTANCE TO LEAF RUST IS DETERMINED
BY GENERATION OF REACTIVE OXYGEN SPECIES AND INHIBITION
OF PUCCINIA TRITICINA FUNGUS HAUSTORIA DEVELOPMENT**

Pozherukova V.E., Plotnikova L.Y., Degtjarev A.I.

*Omsk State Agrarian University n.a. P.A. Stolypin, Minselkhos RF,
Omsk, e-mail: lplotnikova2010@yandex.ru*

Triticum timopheevii Zhuk. species is resistant to rust diseases, but its defense mechanisms were not investigated. Resistance of two *T. timopheevii* accessions к-38555 and к-30920 to the West Siberian population of leaf rust fungus *Puccinia triticina* Erikss. was explored on juvenile plants. *T. timopheevii* accessions were polymorphic on symptoms, more resistant к-38555 consisted of immune and resistant (in ratio 25 : 75), and к-30920 – immune, resistant and susceptible plants (30 : 55 : 15). Dynamics of reactive oxygen species (ROS) generation was similar in two samples: superoxide anion O_2^- accumulated in 0.5-2 days, and hydrogen peroxide H_2O_2 – in 3–10 days after inoculation. O_2^- content was higher in the more resistant к-38555 and in the less resistant к-30920 the H_2O_2 was higher. The features of *P. triticina* structures and localization of O_2^- and H_2O_2 in *T. timopheevii* leaves were explored with light microscopy and cytochemical methods. Increased ROS level correlated with appressoria death on the stomata (O_2^-), hypersensitive reaction (O_2^- and H_2O_2) and limiting of colonies and pustules development in the late stages of pathogenesis (H_2O_2). At the same plants large part of the colonies with few haustoria finished development regardless of ROS generation (in average 1/2 put inoculum). It proposed that resistance of *T. timopheevii* to *P. triticina* is determined by mechanisms mediated by ROS accumulation as well as inhibition of haustoria development.

Keywords: *Triticum timopheevii*, *Puccinia triticina*, reactive oxygen species, hypersensitive reaction (HR), biotrophy

Изучение взаимодействия патогенных грибов с устойчивыми видами (видами-нехозяевами) необходимо для развития теории иммунитета растений. Кроме того, выявление комплекса механизмов, стабильно защищающих виды-нехозяева от болезней, важно для создания культурных растений с длительной устойчивостью к болезням. Вид *Triticum timopheevii* Zhuk. считается эталоном устойчивости к грибным заболеваниям и используется в качестве донора генов для селекции пшеницы [1]. Однако механизмы его устойчивости к болезням, включая бурую

ржавчину, вызываемую *Puccinia triticina* Erikss., мало исследованы.

В последние десятилетия большое внимание уделяется изучению роли активных форм кислорода (АФК) в защите растений. Установлено, что окислительный взрыв – универсальная реакция на стрессы, вызываемые действием абиотических и биотических факторов [10]. В устойчивости растений к болезням наиболее изучено значение двух форм АФК – супероксид-аниона O_2^- и перекиси водорода H_2O_2 . Основная часть исследований была проведена на растениях класса Двудольные, а также клеточ-

ных культурах разных видов. Доказано, что генерация АФК происходит при заражении устойчивых растений авирулентными штаммами микроорганизмов или обработке продуктами их обмена – элиситорами защитных реакций. АФК оказывают многообразное действие на патогенез: разрушают клетки паразитов; запускают сигнальную трансдукцию, приводящую к активации набора защитных механизмов; участвуют в реализации реакции сверхчувствительности (СВЧ) и в укреплении клеточных стенок [10, 11]. Как правило, окислительный взрыв протекает двухэтапно, первый пик возникает через 5–60 мин после узнавания патогенов элиситоров, а второй – через несколько суток и связан с синтезом белков *de novo* [9, 10]. Исследования роли окислительного взрыва во взаимодействии злаков с ржавчинными грибами немногочисленны. На модели «возбудитель желтой ржавчины *P. Striiformis* f. sp. *tritici* – мягкая пшеница» показано, что в устойчивом сорте, в сравнении с восприимчивым, была значительно повышена активность ферментов про/антиоксидантной системы на стадии образования пустул [8]. На этой же модели продемонстрировано, что устойчивость сорта была связана с накоплением в клетках O_2^- и H_2O_2 , а также развитием реакции СВЧ [15]. В то же время генерация O_2^- имела решающее значение в устойчивости линий пшеницы с интрогрессированными генами к *P. triticina* [4].

Целью работы было исследование значения генерации супероксид-аниона и перекиси водорода в устойчивости образцов *T. timopheevii* к бурой ржавчине.

Материалы и методы исследований

Растительный материал. Образцы вида *Triticum timopheevii* Zhuk. к-30920 и к-38555 были получены из коллекции Всероссийского института растениеводства им. Н.И. Вавилова (ВИР). Для сравнения результатов в опытах использовали восприимчивый к бурой ржавчине сорт яровой мягкой пшеницы *T. Aestivum* L. Памяти Азиева. Исследования проводили на 20-дневных растениях в стадии 2-х листьев, выращенных в почве при 16-часовом освещении.

Заражение и культивирование листьев, оценка типа реакции. Урединиоспоры популяции *P. triticina* были собраны на сортах мягкой пшеницы в Западной Сибири (г. Омск) в 2013 г. Инокулом для экспериментов размножали на растениях сорта Памяти Азиева. Эксперименты осуществляли на отрезках листьев, их жизнеспособность поддерживали 0,004% раствором бензимидазола [2]. Инокуляцию проводили суспензией урединиоспор *P. triticina* (10–12 тыс. спор/мл). Контрольные растения обрабатывали дистиллированной водой.

Тип реакции растений на заражение определяли через 10 сут после инокуляции (п/ин) при появлении пустул на листьях. Для оценки применяли 5-балльную

шкалу: 0 – иммунитет, без симптомов; 0; – мелкие некротические или хлоротические пятна; 1 – мелкие пустулы с зонами некроза; 2 – мелкие и средние пустулы с большими зонами некроза; 3 – пустулы среднего размера с зонами хлороза; 4 – крупные пустулы. Растения с типом реакции 0–2 балла считали устойчивыми, 3–4 балла – восприимчивыми [13]. Оценку проводили на 20 растениях образцов *T. timopheevii* и 5 *T. aestivum* в двух повторностях.

Определение содержания супероксид-аниона и перекиси водорода. Содержание O_2^- оценивали акцепторным методом по окислению адреналина и превращению его в адренохром [7]. Оптическую плотность растворов измеряли при 490 нм на спектрофотометре СФ-26. Содержание H_2O_2 в листьях определяли по превращению ксиленолового оранжевого, оптическую плотность раствора определяли при 560 нм [9]. Анализ проводили через 0,5; 1; 2; 3; 5; 10 сут п/ин, в 2-х биологических (по отрезкам 10 листьев) и 3-х аналитических повторностях.

Локализация АФК в тканях и цитологические исследования. АФК определяли путем витального окрашивания листьев: O_2^- – 0,1%-ым водным раствором нитросинего тетразолия (НСТ) («Acros», США); H_2O_2 – 0,02%-ым водным 3,3'-диамино-бензидин тетрагидрохлоридом (ДАБ) («Sigma», США) с помощью вакуум-инфильтрации листьев. НСТ образовывал синее, а ДАБ – вишневое соединение [3, 11]. Через 30 мин материал фиксировали в лактофеноле. Для выявления структур гриба те же листья окрашивали 1%-ым анилиновым синим («Sigma», США) в лактофеноле, затем дифференцировали окраску насыщенным водным раствором хлоралгидрата («Acros», США) [3]. Цитологические исследования проводили на 10 растениях каждого образца *T. timopheevii*, а также 5 растениях мягкой пшеницы с помощью светового микроскопа Axioscop («Carl Zeiss», ФРГ). Размеры колоний и пустул измеряли с помощью окуляр-микрометра, площадь вычисляли по формуле площади эллипса. В статье приведены средние значения по всем данным и их стандартные ошибки.

Результаты исследования и их обсуждение

На листьях восприимчивого сорта *T. aestivum* развивались крупные пустулы (балл 4), а образцы *T. timopheevii* в целом проявили устойчивость к ржавчине. В более устойчивом образце к-38555 75% растений были иммунны (балл 0, 0;), 25% – устойчивы (балл 1). В образце к-30920 наблюдался больший полиморфизм растений: 30% были иммунны (балл 0, 0;), 55% – устойчивы (балл 1–2), 15% – восприимчивы (балл 3). Пустулы на листьях к-38555 и к-30920 были существенно меньше, чем на мягкой пшенице (в 11,5 и 7,5 раза соответственно) (таблица).

Биохимические исследования показали фоновый уровень супероксид-аниона и перекиси водорода (1,6–1,9 мкмоль/г сырой массы листьев) в контрольных незараженных листьях всех образцов, их содержание достоверно снижалось к концу эксперимента (рис. 1). В зараженных ли-

стях *T. aestivum* O₂⁻ оставался на исходном уровне, а содержание H₂O₂ увеличивалось на стадии образования пустул. В листьях образцов *T. timopheevii* усиление генерации O₂⁻ отмечено через 0,5–2 сут п/ин, оно было более выражено в образце к-38555, позже содержание O₂⁻ снижалось до исходного уровня. Повышение содержания H₂O₂ установлено через 3 сут п/ин (в 1,5–1,6 раза по сравнению с исходным), затем в более устойчивом образце к-38555 ее уровень оставался стабильным, а в к-30920 повышался.

Биотрофный паразит *P. triticina* образует набор специализированных инфекционных структур для взаимодействия с растением на клеточном уровне. Цитологические исследования показали, что на листьях мягкой пшеницы все споры образовывали ростковые трубки, а затем аппрессории на устьицах через 0,5 сут п/ин. Цитоплазма аппрессориев перемещалась в подустыичные везикулы, оставляя на устьицах пустые оболочки (рис. 2, а). Позже в мезофилле формировались инфекционные гифы, на

их концах образовывались материнские клетки гаусторий (МКГ), а через 1 сут п/ин в клетки растений проникали гаустории, необходимые для питания гриба. Гифы имели плотную цитоплазму, образовывали много МКГ и гаусторий (рис. 2, б, таблица). Все колонии сформировали крупные пустулы через 10 сут п/ин (рис. 2, в).

На двух образцах *T. timopheevii* выявлены 5 вариантов взаимодействия *P. triticina* с растениями, их соотношение отличалось на разных растениях (рис. 3, а, б):

I – часть спор прекращала развитие на стадии ростковых трубок (рис. 2, г);

II – значительная доля инокулюма (на к-38555 5–55%, на к-30920 – 5–30%) погибала на стадии аппрессория, реже – подустыичной везикулы (рис. 2, д);

III – отмирание колоний происходило после внедрения 2–3 гаусторий в мезофилльные клетки и сопровождалось реакцией СВЧ. Сначала происходил коллапс клеток, а через 1 сут их цитоплазма разрушалась и интенсивно окрашивалась анилиновым синим (рис. 2, е);

Характеристика взаимодействия *P. triticina* с растениями видов пшеницы и накопление АФК в зоне колоний

Образец	Тип реакции, балл	Вариант взаимодействия ¹	Размеры колоний ² , тыс. мкм ²	Размеры пустул ³ , тыс. мкм ³	Количество гаусторий, шт./колонию ⁴	АФК, содержание ⁵ , локализация, время после инокуляции	
						O ₂ ⁻	H ₂ O ₂
<i>T. aestivum</i>	4	V	670,1 ± 84,2	371,2 ± 49,1	14,5 ± 1,8		+ под пустулами, 10 сут
<i>T. timopheevii</i> к-38555	0	I	–	–	–	–	–
		II	–	–	–	+++ аппрессории, 0,5 сут	–
	0;	III	14,5 ± 1,1	–	2,1 ± 0,2	+++ мезофилльные клетки, 1–2 сут	+++ мезофилльные клетки, 3–10 сут
		IV	13,2 ± 1,1 30,1 ± 2,5 49,2 ± 5,1	– – –	1,5 ± 0,2 2,1 ± 0,2 3,4 ± 0,5	–	+ мезофилльные клетки, 3–5 сут
	1	V	80,5 ± 9,8	34,3 ± 4,1	5,2 ± 0,6	–	++ мезофилльные клетки, 5–10 сут
<i>T. timopheevii</i> к-30920	0	I	–	–	–	–	–
		II	–	–	–	+++ аппрессории, 0,5 сут	–
	0;	III	15,6 ± 1,5	–	2,3 ± 0,2	+++ мезофилльные клетки, 1–2 сут	+++ мезофилльные клетки 3–10 сут
		IV	13,4 ± 1,2 29,7 ± 3,3 48,5 ± 5,4	– – –	1,4 ± 0,1 2,3 ± 0,2 3,8 ± 0,4	–	+ клеточные стенки 3–5 сут
	1–2 3	V	89,6 ± 11,4 157,6 ± 19,5	48,6 ± 6,4 98,6 ± 12,6	8,7 ± 1,5 10,7 ± 1,5	–	++ 5–10 сут –

Примечания. ¹ I – остановка на стадии ростковой трубки; II – гибель на стадии аппрессория или подустыичной везикулы; III – гибель колоний с реакцией СВЧ; IV – гибель колоний без СВЧ; V – колонии с пустулами. ^{2,3} – 10 сут п/ин. ⁴ – 3 сут п/ин; ⁵ + – низкое; ++ – умеренное; +++ – высокое.

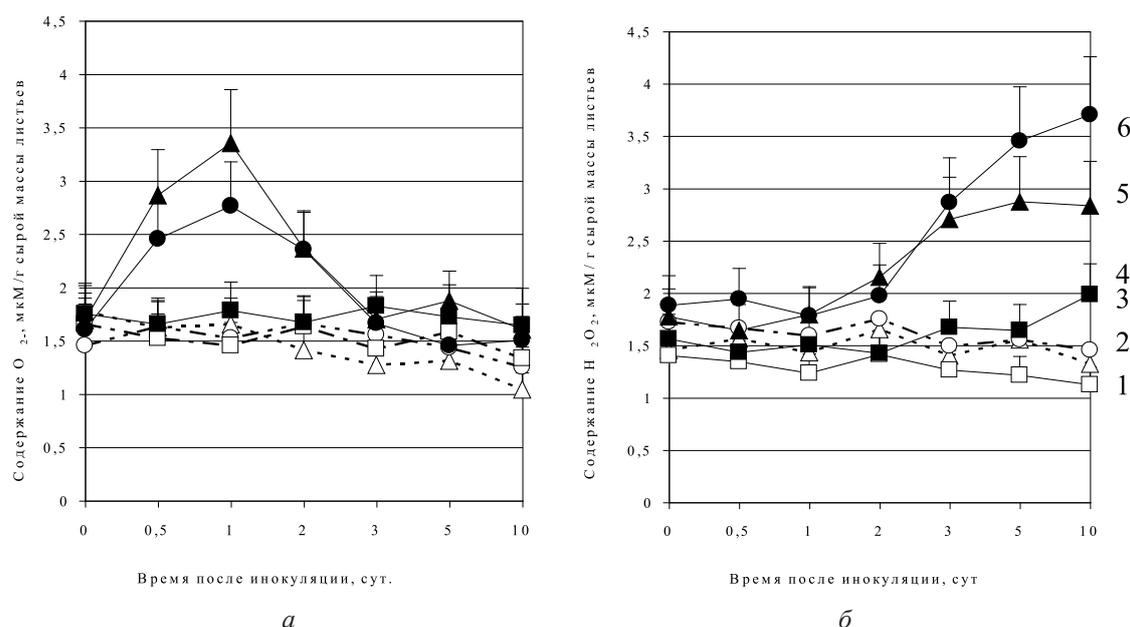


Рис. 1. Содержание супероксид-аниона (а) и перекиси водорода (б) в листьях *Triticum timopheevii* и *T. aestivum* ($\mu\text{M}/\text{г}$ сырой массы). Интактные растения (контроль): 1 – *T. aestivum*; 2 – к-38555; 3 – к-30920; зараженные растения; 4 – *T. aestivum*; 5 – к-38550; 6 – к-30920

IV – гибель мелких колоний (в среднем 54% на к-38555 и 48% на к-30920) происходила через 3–5 сут п/ин без реакции СВЧ. Колонии по размерам распались на 3 группы, установлена высокая корреляция между размерами колоний и числом гаусторий в них ($r = 0,85$). Клетки гриба были слабо окрашены, что свидетельствует об их вакуолизации (рис. 2, ж). После абортации отмечены отложения на стенках, контактировавших с грибом (таблица);

V – колонии формировали пустулы. На устойчивых растениях окраска клеток растения в зоне колоний усиливалась через 5 сут п/ин, и к моменту спороношения они отмирали, образуя визуальные зоны некроза вокруг пустул, одновременно появлялись отложения на клеточных стенках. На восприимчивых растениях образца к-30920 образовывались пустулы большего размера без цитологических признаков несовместимости.

Для уточнения роли АФК в патогенезе была изучена локализация O_2^- и H_2O_2 в тканях. Выявлено присутствие O_2^- и H_2O_2 в поврежденных клетках на срезах листьев как контрольных, так и инфицированных листьев всех образцов, остальные части контрольных растений не окрашивались. Вероятно, накопление АФК связано с травматической реакцией, что объясняет фоновый уровень O_2^- и H_2O_2 в листьях. На зараженных листьях мягкой пшеницы НСТ окрашивал только гранулярные структуры в аппрессориях через 0,5 сут п/ин, что,

очевидно, связано с дегидрогеназной активностью митохондрий гриба (рис. 2, з). В листьях *T. timopheevii* локализация O_2^- зависела от варианта взаимодействия с грибом. В варианте I окрашивались только митохондрии в кончиках ростковых трубок. В варианте II отмечено интенсивное накопление O_2^- в цитоплазме аппрессориев (реже подустыичных везикул) через 0,5 сут п/ин, проникновение в ткани ингибировалось (рис. 2, и). Цитоплазма замыкающих клеток устьиц не окрашивалась, что свидетельствует об экстраклеточной генерации O_2^- , оно было сильнее выражено у образца к-38555. В варианте III O_2^- накапливался в мезофильных клетках, погибших в результате реакции СВЧ после внедрения гаусторий через 1–2 сут п/ин (рис. 2, к), но позже исчезал. В остальных вариантах O_2^- не обнаружен.

В инфицированных листьях мягкой пшеницы слабое накопление H_2O_2 обнаружено под пустулами через 10 сут п/ин. В листьях *T. timopheevii* высокое содержание H_2O_2 отмечено в цитоплазме клеток, отмерших в результате реакции СВЧ через 3 сут п/ин (вариант III) (рис. 2, л), зоны некроза и локализации H_2O_2 совпадали. Через 5 сут п/ин слабое увеличение H_2O_2 выявлено на стенках клеток в зоне абортных колоний без реакции СВЧ (вариант IV). В зоне небольших колоний с мелкими пустулами, окруженными некрозом (вариант V), отмечено повышение содер-

жания H_2O_2 в цитоплазме и на клеточных стенках через 5–10 сут п/ин (рис. 2, м). На восприимчивых растениях *T. timopheevii* существенного накопления АФК в течение патогенеза не установлено.

Таким образом, в устойчивых растениях *T. timopheevii* выявлено повышение уровня АФК на разных этапах патогенеза. Оно

коррелировало с отмиранием аппрессориев, реакцией СВЧ, а также ограничением размеров колоний и пустул на поздних этапах патогенеза (варианты II, III, V). Не отмечено взаимосвязи между АФК и подавлением развития на поверхности растений, а также абортацией колоний с малым числом гаусторий (варианты I и IV).

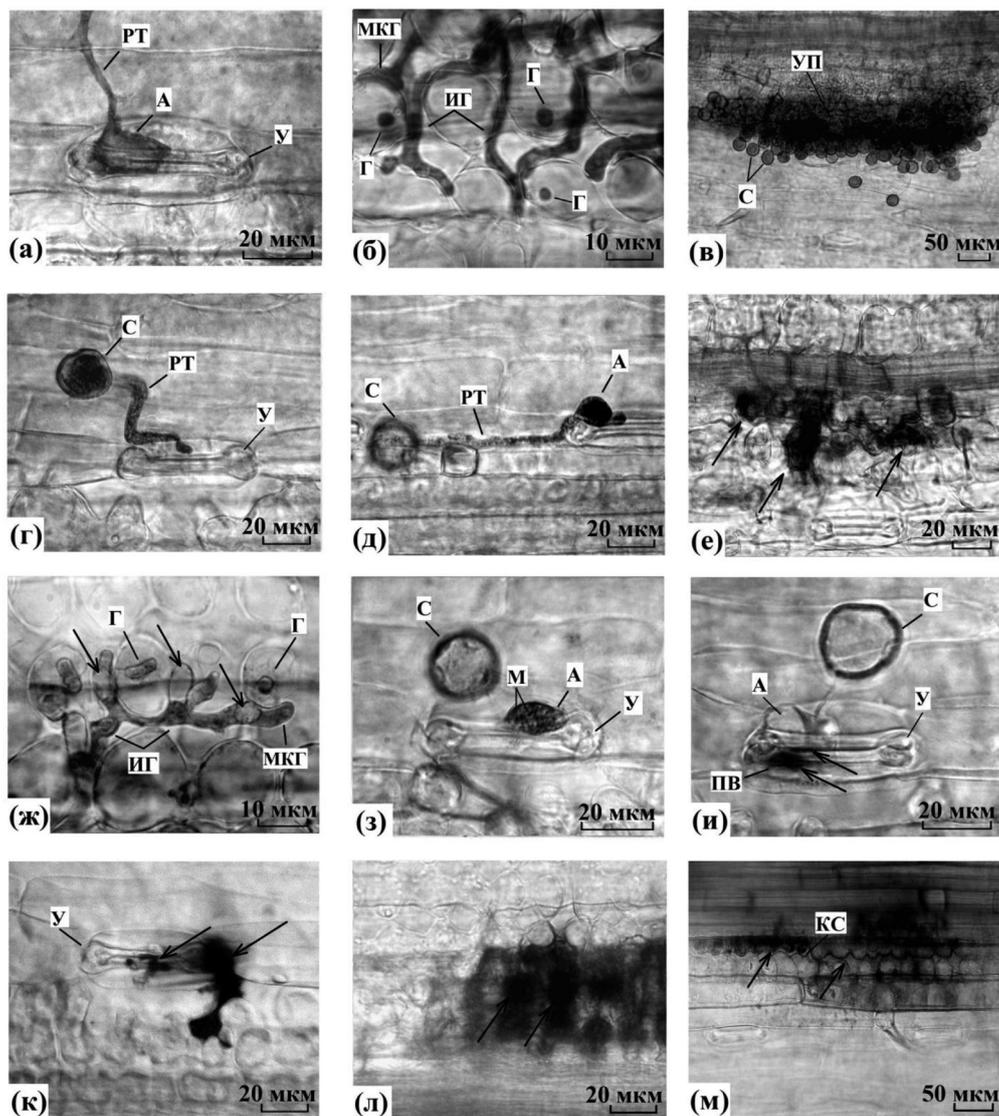


Рис. 2. Развитие инфекционных структур *P. triticiina* на листьях *T. aestivum* (а–в, з) и *T. timopheevii* (г–ж, и–м) и накопление АФК: а – аппрессорий на устьице, 1 сут п/ин; б – колония с гаусториями, 3 сут п/ин; в – урединиопустула, 10 сут п/ин; г – ростковая трубка без аппрессория, 1 сут п/ин; д – аппрессорий, погибший на устьице, 0,5 сут п/ин; е – клетки, погибшие в результате реакции СВЧ (стрелки), 2 сут п/ин; ж – вакуолизированные гифы и гаустории (стрелки), 3 сут п/ин, з – аппрессорий на устьице восприимчивого сорта, митохондрии окрашены НСТ, 0,5 сут п/ин; и – накопление O_2 в подустыичной везикуле в месте контакта с устьищем (стрелки), 0,5 сут п/ин; к – накопление O_2 в цитоплазме клетки, погибшей в результате реакции СВЧ (стрелки), 2 сут п/ин; л – накопление H_2O_2 в цитоплазме клеток, погибших в результате реакции СВЧ (стрелки), 3 сут п/ин; м – H_2O_2 в цитоплазме отмирающих клеток и на клеточных стенках (стрелки), 10 сут п/ин. Обозначения: А – аппрессорий, Г – гаустория, ИГ – инфекционная гифа, М – митохондрия, МКГ – материнская клетка гаустории, ПБ – подустыичная везикула, РТ – ростковая трубка, С – спора, У – устьице, УП – урединиопустула

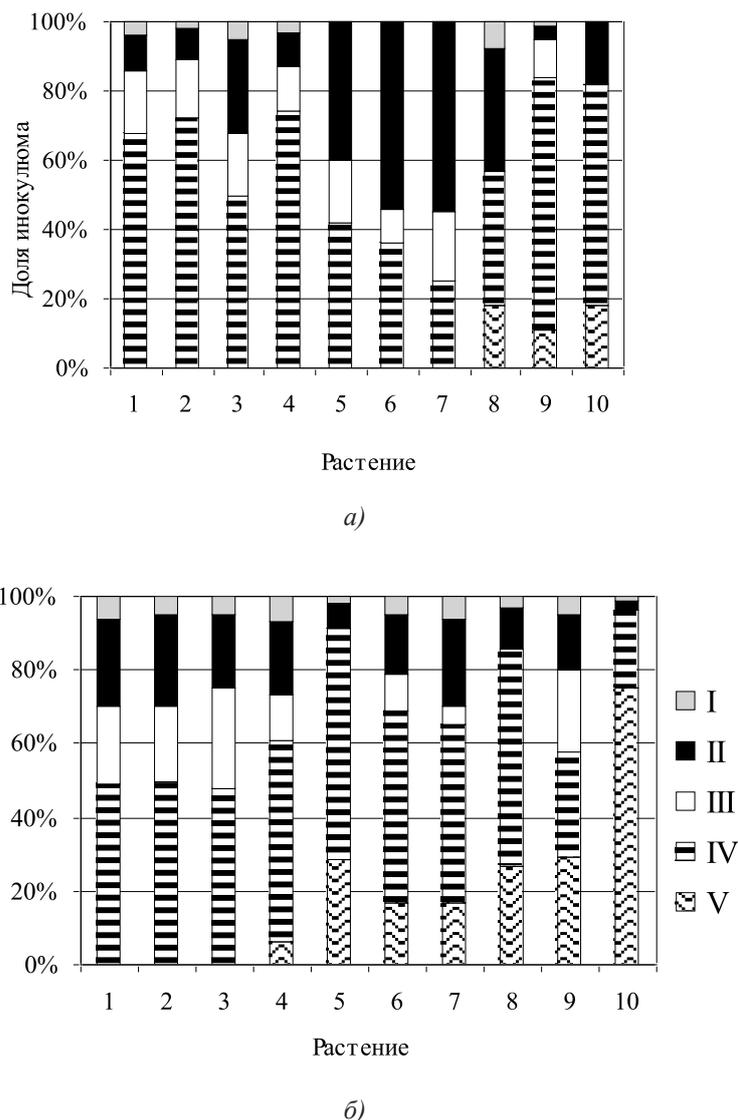


Рис. 3. Соотношение вариантов взаимодействия *P. triticina* с образцами *T. timopheevii* к-38555 (а) и к-30920 (б). Варианты: I – остановка на стадии ростковой трубки, II – прекращение развития на стадии аппрессория/подушечной везикулы, III – гибель колоний с реакцией СВЧ, IV – гибель колоний без СВЧ, V – колонии с пустулами

Результат патологического процесса зависит от взаимодействия двух организмов, при этом имеют значение как особенности патогена, так и интенсивность защитных реакций растений. Полиморфизм растений внутри образцов может быть связан с генетической неоднородностью *T. timopheevii*. Этот вид мало окультурен и возделывался в форме стародавних сортов-популяций в Закавказье [1]. Кроме того, причиной возникновения выявленных вариантов взаимодействия могут быть различия по вирулентности между клонами *P. triticina*. Это предположение подтверждается тем, что в Западной Сибири отмечена потеря устой-

чивости набора интрогрессивных линий с генами *T. timopheevii* [6].

Нами впервые изучена генерация АФК при развитии бурой ржавчины на растениях устойчивого вида *T. timopheevii*. Полученные результаты подтверждают сложившееся представление о двухфазном характере окислительного взрыва, однако новым фактом является то, что первый пик был связан с накоплением O_2^- , а второй – H_2O_2 . Ранее при заражении устойчивого сорта мягкой пшеницы *P. striiformis* f. sp. *tritici* было показано одновременное накопление O_2^- и H_2O_2 в пораженных клетках, при этом реакция СВЧ развивалась медленно (3 сут вместо

1 сут в наших экспериментах) [15]. На этой же модели получены данные о повышенной активности супероксиддисмутазы, преобразующей O_2^- в H_2O_2 , а также ферментов, способных образовывать и утилизировать H_2O_2 (диаминоксидазы, полиаминоксидазы, пероксидазы) в устойчивом сорте [8]. При взаимодействии возбудителя ржавчины *Uromyces vignae* Barclay с иммунным сортом вигны O_2^- не выявлен, но отмечено накопление H_2O_2 и повышение активности пероксидаз в клетках, погибших в результате реакции СВЧ [11]. Можно предположить, что динамика генерации разных форм АФК связана с индивидуальными особенностями партнеров или активностью элементов про/антиоксидантной системы растений.

Выявленные нами варианты взаимодействия *P. triticina* с растениями *T. timopheevii* позволяют определить критические моменты патогенеза и оценить влияние АФК на его результаты. Подавление развития грибов до внедрения в ткани (прегаусторальная устойчивость) или после проникновения в единичные клетки растения, отмирающие в результате реакции СВЧ, считается характерным проявлением устойчивости видов-нехозяев. На основании изучения особенностей реакций нехозяев было постулировано, что стабильная защита может определяться механизмами, не связанными с реакцией СВЧ [12]. В целом взаимодействие *P. triticina* с *T. timopheevii* соответствуют этим критериям.

Ранее было показано, что образование O_2^- замыкающими клетками устьиц и накопление его в аппрессориях предотвращало проникновение *P. triticina* в ткани видов-нехозяев (овса и ячменя), а также линий пшеницы с генами рода *Agropyron* *Lr19*, *Lr38* [4]. Этот механизм был в меньшей степени значим у *T. timopheevii* определял гибель только части аппрессориев. Известно, что окислительный взрыв запускает реакцию СВЧ, при этом скорость разрушения клеток зависит от содержания АФК [4]. Вероятно, этот механизм имел ограниченное значение для *T. timopheevii*, потому что у 20% растений СВЧ не установлена, а в остальных была связана с 12–20% взаимодействий. На значительной части (40%) растений *T. timopheevii* гриб образовывал пустулы, окруженные зонами отмерших клеток. Вероятно, генерация H_2O_2 в зоне таких колоний была связана со вторым пиком окислительного взрыва, а также действием пероксидаз, участвующих в окислении веществ и укреплении стенок с помощью лигнина и сшивок структурных белков [8]. Размеры таких колоний и пустул были существенно меньше, чем на восприимчивых

растениях *T. aestivum* и *T. timopheevii*, поэтому возможно ингибирующее влияние АФК и индуцируемых ими соединений на развитие патогена и спорогенез.

Для совместимого взаимодействия паразитических грибов с растениями важно не только преодоление механизмов устойчивости, но и установление эффективных трофических связей. Нами впервые показано, что на всех растениях *T. timopheevii* значительная часть колоний (в среднем около 1/2 от нанесенного инокулюма) погибала независимо от накопления АФК и реакции СВЧ. Для таких колоний было характерно малое число гаусторий и сильная вакуолизация клеток. Сходный способ ингибирования развития *P. triticina* был обнаружен и в линии пшеницы с геном *Lr23* интрогрессированным от редкого вида *T. turgidum* [5].

В настоящее время известно, что паразитические грибы воспринимают особенности поверхности, физические и химические свойства растений в качестве стимулов для развития, а при недостаточной стимуляции их морфогенез нарушается. На примере возбудителей ржавчины бобовых культур *U. fabae* и *U. appendiculatus* показано, что полисахариды из клеточных стенок и летучие соединения хозяев (нонаналь, деканол и гексенилацетат) усиливают, а фарнезилацетат интенсивно подавляет образование материнских клеток гаусторий [14]. Можно предположить существование у *T. timopheevii* защитного механизма, нарушающего образование и функционирование гаусторий, следствием чего было нарушение питания и гибель от голодания значительной доли колоний на ранних этапах развития.

Таким образом, полученные результаты показали, что АФК в тканях *T. timopheevii* участвуют в реализации реакции СВЧ, а также приводят к гибели или ограничением развития *P. triticina* при внедрении в ткани, проникновении гаусторий в клетки, а также на поздних этапах роста колоний и спорогенезе. Возможно, *T. timopheevii* обладает дополнительным защитным механизмом, ингибирующим образование гаусторий и нарушающим питание *P. triticina*.

Список литературы

1. Дорофеев В.Ф., Удачин Р.А., Семенова Л.В. Пшеницы мира [Под ред. В.Ф. Дорофеева]. – Л.: ВО Агропромиздат, 1987. – 560 с.
2. Михайлова Л.А., Квитко К.В. Лабораторные методы культивирования возбудителя бурой ржавчины пшеницы *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* Rob. ex Desm. // Микология и фитопатология. – 1970. – Т. 4. – С. 269–273.
3. Плотникова Л.Я. Влияние поверхностных свойств и физиологических реакций растений-нехозяев на развитие

клеточных структур ржавчинных грибов // Цитология. – 2008. – Т. 50. – С. 439–446.

4. Плотникова Л.Я. Участие активных форм кислорода в защите линий пшеницы с генами устойчивости видов рода *Agropyron* от бурой ржавчины // Физиология растений. – 2009. – Т. 56. – С. 200–209.

5. Плотникова Л. Я. Иммунологические особенности действия гена устойчивости пшеницы к бурой ржавчине Lr23. II. Цитофизиологические аспекты взаимодействия *Puccinia triticina* с растениями // Микология и фитопатология. – 2013. – Т. 47. – С. 58–63.

6. Плотникова Л.Я., Пожерукова В.Е., Митрофанова О.П., Айдосова А.Т. Преодоление интрогрессированных от *Triticum timopheevii* генов устойчивости к бурой ржавчине пшеницы в Западной Сибири: III Всерос. съезд по защите растений (С-Пб., 16–20 дек. 2013 г.). – С. 444–446.

7. Фатхутдинова Д.Р., Сахатбутдинова А.Р., Максимов И.В., Яруллина Л.Г., Шакирова Ф.М. Влияние салициловой кислоты на антиоксидантные ферменты в проростках пшеницы // Агрехимия. – 2004. – № 8. – С. 27–31.

8. Asthir B., Koundal A., Bains N.S., Mann S.K. Stimulation of Antioxidative Enzymes and Polyamines during Strip Rust Disease of Wheat // Biol. Plant. – 2010. – Vol. 54. – P. 329–333.

9. Bindschedler L.V., Minibayeva F., Gardner S.L., Gerrish C., Davies D.R., Bolwell G.P. Early Signalling Events in the Apoplastic Oxidative Burst in Suspension Cultured French Bean Cells Involve cAMP and Ca²⁺ // New Phytol. – 2001. – Vol. 151. – P. 185–194.

10. Boller T., Keen N.T. Perception and Transduction of Elicitor Signals in Host-Pathogen Interactions // Mechanisms of Resistance to Plant Diseases. – Dordrecht: Kluwer, 2000. – P. 189–230.

11. Heath M.C. Involvement of Reactive Oxygen Species in the Response of Resistant (Hypersensitive) or Susceptible Cowpeas to the Cowpea Rust Fungus // New Phytol. – 1998. – Vol. 138. – P. 251–263.

12. Heath M.C. Non-host resistance and nonspecific plant defenses // Current Opin. Plant Biol. – 2000. – Vol. 3. – P. 315–319.

13. Mains E.B., Jackson E.S. Physiological Specialization in the Leaf Rust Wheat *Puccinia triticina* Erikss. // Phytopathology. – 1926. – Vol. 16. – P. 89–120.

14. Mendgen K., Wiesel S.G.R., Jux A., Hoffmann J., Boland W. Volatiles Modulate the Development of Plant Pathogenic Rust Fungi // Planta. – 2006. – Vol. 224. – P. 1353–1361.

15. Wang C.-F., Huang L.-L., Buchenauer H., Han Q.-M., Zhang H.-C., Kang Z.-S. Histochemical Studies on the Accumulation of Reactive Oxygen Species (O₂⁻ and H₂O₂) in the Incompatible and Compatible Interaction of Wheat – *Puccinia*

striiformis f. sp. *tritici* // Physiol. Mol. Pl. Pathol. – 2007. – Vol. 71. – P. 230–239.

References

1. Dorofeev V.F., Udachin R.A., Semenova L.V. *Pshenicy mira* [World Wheats]. L.: VO Agropromizdat, 1987. 560 p.

2. Mikhailova L.A., Kvitko K.V. *Mikologija i fitopatologija*, 1970. Vol. 4, no. 4, pp. 269–273.

3. Plotnikova L.Ya. *Citologija*, 2008, Vol. 50, pp. 439–446.

4. Plotnikova L.Ya. *Fiziologija rastenij*, 2009. Vol. 56, pp. 200–209.

5. Plotnikova L.Ya. *Mikologija i fitopatologija*, 2013, Vol. 47, pp. 58–63.

6. Plotnikova L.Ya., Pozherukova V.Ye., Mitrofanova O.P., Aidosova A.T. III *Vserossijskij ezdpo zashhiterastenij* [Proc. 3rd All-Russian Meeting Plant Defense, S-Pb., 16–20 Dec. 2013]. S-Pb., pp. 444–446.

7. Fathutdinova D.R., Sahatbutdinova A.R., Maksimov I.V., Jarullina L.G., Shakirova F.M. *Agrohimiya*, 2004, no. 8, pp. 27–31.

8. Asthir B., Koundal A., Bains N.S., Mann S.K. *Biologia Plantarum*, 2010, Vol. 54, no.2, pp. 329–333.

9. Bindschedler L.V., Minibayeva F., Gardner S.L., Gerrish C., Davies D.R. and Bolwell G.P. *New Phytol.*, 2001, Vol. 151, pp. 185–194.

10. Boller T., Keen N.T. *Mechanisms of resistance to plant diseases* [Mechanisms of Resistance to Plant Diseases], Dordrecht: Kluwer, 2000, pp. 189–230.

11. Heath M.C. // *New Phytol.*, 1998, Vol. 138, pp. 251–263.

12. Heath M. C. *Current Opin. Plant Biol.*, 2000, Vol. 3, pp. 315–319.

13. Mains E.B., Jackson E.S. *Phytopathology*, 1926, Vol. 16, pp. 89–120.

14. Mendgen K., Wiesel S.G.R., Jux A., Hoffmann J., Boland W. *Planta*, 2006, Vol. 224, pp.1353–1361.

15. Wang C.-F., Huang L.-L., Buchenauer H., Han Q.-M., Zhang H.-C., Kang Z.-S. *Physiol. Mol. Pl. Pathol.*, 2007, Vol. 71, pp. 230–239.

Рецензенты:

Барайщук Г.В., д.б.н., профессор, профессор ФГБОУ ВПО ОмГАУ им. П.А. Столыпина, г. Омск;

Синдирева А.В., д.б.н., профессор ФГБОУ ВПО ОмГАУ им. П.А. Столыпина, г. Омск.

Работа поступила в редакцию 12.02.2015.