

## Синтез каллозы как фактор возрастной устойчивости пшеницы к бурой ржавчине

Л. Я. Плотникова\*, В. Е. Пожерукова

Омский государственный аграрный университет имени П. А. Столыпина  
Россия, 644008 г. Омск, Институтская площадь, 1.

\*Email: [lya.plotnikova@omgau.org](mailto:lya.plotnikova@omgau.org)

Синтез полисахарида каллозы ( $\beta$ -1,3-глюкан) был изучен в сорте мягкой пшеницы Тэтчер и его изогенных линиях с генами возрастной устойчивости к бурой ржавчине Lr34 и Lr35 с помощью биохимических и цитохимических методов. В тканях линий с возрастной устойчивостью установлено усиление синтеза каллозы на поздних стадиях патогенеза, преимущественно под пустулами. Предполагается, что накопление каллозы ограничивает транспорт метаболитов в генеративные клетки гриба и являются одним из факторов, ограничивающих размножение патогена.

**Ключевые слова:** мягкая пшеница, бурая ржавчина, каллоза, возрастная устойчивость.

**Введение.** Каллоза ( $\beta$ -1,3-глюкан) – один из полисахаридов растений, синтез которого усиливается в ходе некоторых процессов жизнедеятельности (росте пыльцевых и ситовидных трубок и др.), а также при действии стрессовых абиотических и биотических факторов. Предполагается, что накопление каллозы может иметь двойственное действие в защите растений: восстанавливать целостность клеточных стенок при повреждениях и ограничивать транспорт веществ в клетки патогенов [1]. Изучение особенностей синтеза каллозы представляет интерес для определения комплекса защитных реакций мягкой пшеницы от бурой ржавчины, вызываемой биотрофным грибом *Puccinia triticina* Erikss. В настоящее время известно, что длительную устойчивость (durable resistance) к болезни в разных регионах мира обеспечивает введение генов, проявляющихся на поздних стадиях развития растений (возрастная устойчивость) [2]. Несмотря на подтвержденную эффективность возрастной устойчивости биохимические аспекты этого явления мало изучены. Целью исследований было определение значения синтеза каллозы в возрастной устойчивости мягкой пшеницы к бурой ржавчине.

**Экспериментальная часть.** Объектами исследований служили: восприимчивый к бурой ржавчине сорт яровой мягкой пшеницы Thatcher, а также его почти изогенные линии (линии Tc) с генами возрастной устойчивости Lr34 и Lr35. Исследования проводили на растениях в стадии колошения, выращенных в климакамере при температуре 18°C. Флаговые листья заражали суспензией урединиоспор изолята *P. triticina*, выделенного из западносибирской популяции. Степень поражения листьев ржавчиной (в

%) оценивали по сравнительной шкале [3]. Содержание каллозы в инфицированных листьях пшеницы определяли по модифицированному методу Каусса, белка – по методу Лоури [1]. С помощью световой микроскопии изучали развитие в листьях структур гриба (окрашивание 1%-ным раствором анилинового синего) и локализацию отложений каллозы на клеточных стенках (окрашивание 1%-ным кораллином) [2]. Размеры мицелия, пустул, зон синтеза каллозы определяли с помощью окуляр-микрометра. Рассчитывали коэффициенты корреляции ( $r$ ) между площадями листьев, занимаемых колониями или пустулами с одной стороны и зонами синтеза каллозы с другой.

При визуальной оценке результатов инфицирования было установлено, что плотность расположения пустул на растениях восприимчивого сорта Thatcher и линий TcLr34 и TcLr35 существенно различалась (степень поражения 60, 25 и 18% соответственно).

Измерение содержания каллозы проводили в интактных (контроль) и инфицированных листьях через 1, 2, 3, 5, 10 сут после инокуляции (п/ин). Во всех вариантах опыта отмечено небольшое содержание каллозы до заражения листьев (8–10 мкг-экв./мг белка). Вероятно, фоновый уровень полисахарида был связан с присутствием каллозы в клетках проводящих пучков, что было подтверждено с помощью цитохимических реакций. В инфицированных листьях сорта Thatcher слабое накопление каллозы установлено через 10 сут п/ин. В линиях TcLr34 и TcLr35 повышение содержания каллозы началось через 5 сут п/ин и усилилось во время спорогенеза (рисунок, а).

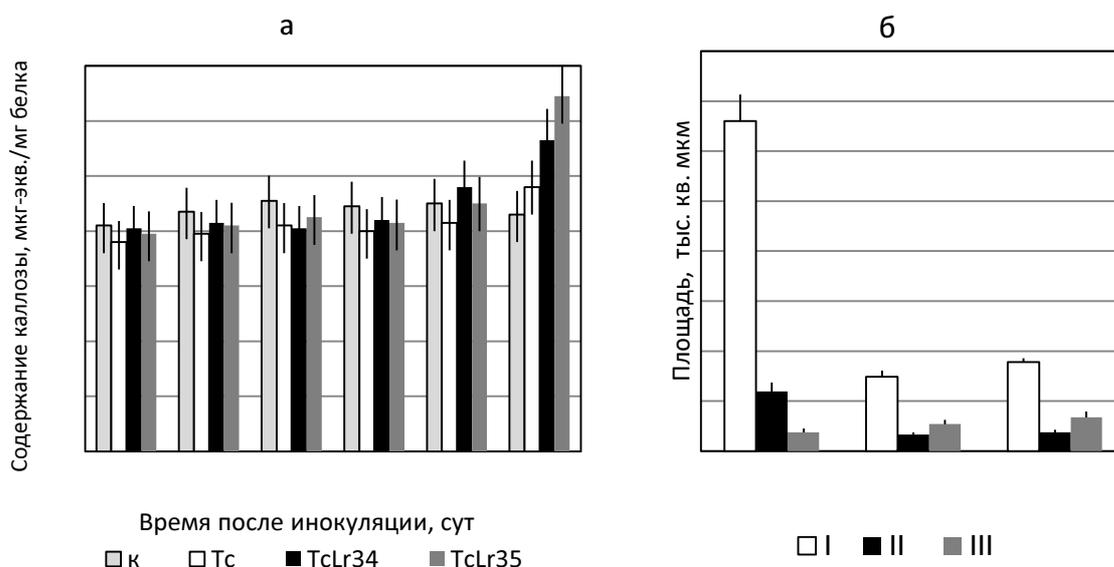


Рис. Динамика синтеза каллозы (а) и соотношение площадей, занимаемых в листьях колониями, пустулами и зонами синтеза каллозы (б) в сорте Тэтчер и его изогенных линиях с генами Lr34 и Lr35: Tc – сорт Тэтчер; I – колонии; II – пустулы; III – зоны синтеза каллозы.

Для определения влияния возрастной устойчивости на патогенез были изучены развитие инфекционных структур *P. triticina*, а также локализация каллозы в зоне мицелия. Установлено, что на листьях восприимчивого сорта пшеницы часть нанесенного инокулюма (9%) погибала на поверхности листьев, но в остальных случаях гриб формировал колонии и крупные пустулы. На листьях TcLr34 8% инокулюма погибало на поверхности листа, 39% – при попытке внедрения в устьица, 15% – на стадии мелких колоний (абортивные). На листьях TcLr35 48% инокулюма погибала на поверхности, 16% – при попытке внедрения в устьица, 5% – абортивных колоний. Таким образом, из нанесенных на листья растений TcLr34 и TcLr35 спор лишь часть (38 и 31% соответственно) имели возможность закончить развитие и образовать потомство.

В восприимчивых растениях сорта Тэтчер слабые отложения на стенках клеток были обнаружены только под пустулами через 10 сут п/ин. В линиях TcLr34 и TcLr35 слабые отложения каллозы появлялись сначала в зоне мелких отмерших колоний через 5 сут п/ин, а через 10 сут п/ин отмечено усиление накопления каллозы в зоне пустул и прилегающих зонах листа. Размеры колоний и пустул в тканях линий TcLr34 и TcLr35 были значительно меньше по сравнению с контролем, а зоны синтеза каллозы превышали размеры пустул (рисунок, б).

Для линий с возрастной устойчивостью не установлено значимой связи между площадью колоний и зонами листа с отложениями каллозы ( $r = 0.2-0.3$ ), но определена существенная отрицательная корреляция между размерами пустул и зонами синтеза каллозы ( $r = -0.62$  и  $-0.73$  для TcLr34 и TcLr35 соответственно). Эти результаты свидетельствуют о том, что накопление каллозы на стенках клеток растений в зоне пустул отрицательно влияет на развитие спорогенез патогена.

**Обсуждение.** Известно, что возрастные гены обеспечивают не высокий уровень защиты, а проявляются в форме частичной устойчивости (partial resistance). Частичная устойчивость формируется за счет нескольких компонентов: сокращения числа пустул и их размеров, ограничения размножения патогенов, удлинения латентного периода болезни [4]. Среди известных генов доказан длительный защитный эффект *Lr34*, а *Lr35* считается перспективным для селекции. Анализ полученных данных показал, что на линиях TcLr34 и TcLr35 значительная часть инокулюма погибала до активации синтеза каллозы (на стадиях ростковых трубок, при попытке внедрения в устьица, мелких колоний). Ранее было установлено, что гибель аппрессориев при контакте с устьицами является результатом окислительного взрыва, а появление абортивных колоний связано с гибелью гриба в результате голодания [2, 5]. В тоже время полученные данные показали, что усиление синтеза каллозы в момент спороношения отрицательно влияло на размеры пустул. Вероятно, такой эффект связан с ограничением транспорта питательных веществ в репродуктивные клетки гриба, что приводит к снижению плодовитости патогена. Таким образом, синтез каллозы является одним из важных меха-

низмов возрастной устойчивости, приводящим к ограничению размножения патогена, что крайне важно для полициклических болезней.

### Литература

1. Емельянов В. И., Кравчук Ж. Н., Поляковский С. А., Дмитриев А. П. Отложение каллозы при обработке клеток томатов (*Lycopersicon esculentum* L.) биотическими элиситорами // Цитология и генетика. 2008. №2. С. 21–28.
2. 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. №1. С. 585–593.
3. Peterson R. F., Campbell A. B., Hannah A. E. A diagrammatic scale for estimating rust intensity of leaves and stem of cereals. // Can. J. Res. 1948. Sec. C. Vol.26. Pp.496–500.
4. Parlevliet J. E. Durability of resistance against fungal, bacterial and viral pathogens; present situation // Euphytica. 2002. Vol. 124. Pp. 147–156.
5. Пожерукова В. Е., Плотникова Л. Я., Дегтярев А. И. Устойчивость пшеницы Тимофеева к бурой ржавчине определяется генерацией активных форм кислорода и подавлением образования гаусторий гриба *Puccinia triticina* // Фундаментальные исследования. 2015. №2 (часть 2). С. 285–292.

## Callose synthesis as a factor of adult resistance of wheat to leaf rust

L. Ya. Plotnikova\*, V. E. Pozherukova

*Omsk state agrarian university named after P. A. Stolypin  
1 Institutskaya Square, 644008 Omsk, Russia.*

*\*Email: [lya.plotnikova@omgau.org](mailto:lya.plotnikova@omgau.org)*

Synthesis of the polysaccharide callose ( $\beta$ -1,3-glucan) was studied in the common wheat Thatcher var. and its near-isogenic lines with adult resistance genes to leaf rust *Lr34* and *Lr35* using biochemical and cytochemical methods. In the tissues of lines with adult resistance the increased callose synthesis was determined in the late stages of pathogenesis, presumably near the pustules. It was assumed that the accumulation of callose restricted the transport of metabolites to the generative fungus cells and is one of the factors limiting the reproduction of pathogen.

**Keywords:** common wheat, leaf rust, callose, adult resistance.