

УДК [633.11 : 632.4] + 631.523.11

© Л. Я. Плотникова, Т. Ю. Штубей

**ПРОЯВЛЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ВЗРОСЛЫХ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ
К *PUCCINIA TRITICINA*, ДЕТЕРМИНИРОВАННОЙ ГЕНАМИ
Lr13, Lr22b И Lr35**

PLOTNIKOVA L. Ya., SHTUBEY T. Yu. APPEARANCE OF ADULT PLANT RESISTANCE OF
WHEAT TO *PUCCINIA TRITICINA* DETERMINED BY GENES Lr13, Lr22b AND Lr35

Неоднократно наблюдаемое преодоление расоспецифической устойчивости к болезням, связанной с реакцией сверхчувствительности, стимулировало поиск альтернативных подходов к защите растений. В результате была сформулирована концепция селекции на расоспецифическую (горизонтальную) устойчивость к ржавчинным болезням. По своему проявлению такой тип устойчивости был назван «медленным развитием ржавчины» (slow rusting; Caldwell, 1968), или «частичной устойчивостью» (Parlevliet, 1975). На растениях, обладающих устойчивостью этого типа, болезнь развивается медленно. Этот подход широко используется в программах селекции пшеницы на устойчивость к стеблевой и бурой ржавчине и ячменя к карликовой ржавчине (Parlevliet, 1979; Singh et al., 2003). В Международном центре улучшения кукурузы и пшеницы (CIMMYT) созданы сорта пшеницы, которые сохраняют устойчивость к ржавчине уже в течение 30 лет (Singh et al., 2003).

При создании сортов пшеницы, частично устойчивых к бурой ржавчине, специалисты широко использовали гены устойчивости взрослых растений Lr13 и Lr34, которые в сочетании с 2—3 дополнительными генами, обладающими аддитивным эффектом, обеспечивали стабильную защиту растений. Гены возрастной устойчивости составляют основу длительной устойчивости сортов к болезням (Kolmer, 1996). Однако, несмотря на широко распространенное мнение, что устойчивость по типу «медленного развития болезни» является неспецифической по отношению к клонам патогена, некоторые гены возрастной устойчивости в ряде случаев проявляют специфичность (Kolmer, 1996). Проявление этих генов часто варьирует в зависимости от условий среды (McIntosh et al., 1995). В связи с этим представляет интерес изучение эффективности генов возрастной устойчивости к бурой ржавчине в регионах России, существенно различающихся по климатическим условиям и расовому составу популяций *Puccinia triticina*.

В настоящее время мало известно о механизмах действия генов возрастной устойчивости. Единственная работа, посвященная цитологическому изучению проявления генов Lr12, Lr13, Lr34, была выполнена с использованием одного изолята *P. triticina*, выделенного из марокканской популяции (Rubiales, Niks, 1996). Информация о проявлении других генов возрастной устойчивости к бурой ржавчине отсутствует. В связи с этим в задачи нашего исследования входило изучение эффективности генов возрастной устойчивости Lr13, Lr22b, Lr35 при защите пшеницы от бурой ржавчины в условиях Западной Сибири; цитологическое исследование влияния генов на патогенез на различных стадиях развития растений.

Материал и методы

В качестве объектов для исследования были использованы образцы мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. с генами возрастной устойчивости: сорт Тэтчер (ген Lr22b), а также его почти изогенные линии (Tc) с генами Lr13 и Lr35. Контролем служил высоко восприимчивый к бурой ржавчине сорт Саратовская 29.

Развитие болезни изучали в поле в условиях интенсивного естественного проявления болезни в 2005—2007 гг. на юге Западной Сибири (г. Омск). Определяли тип реакции растений на заражение патогеном по 5-балльной шкале [0 — высокая устойчивость, иммунитет; 4 — восприимчивость (Mains, Jackson, 1926)] и площадь пораженной листовой поверхности в процентах (Peterson et al., 1948). Исследования проводили в июле—августе, с момента появления пустул на листьях вплоть до полной спелости растений. Развитие болезни изучали в динамике с интервалом в 5 суток, в каждом варианте оценивали степень поражения 15 растений. При построении кривых развития болезни использовали средние значения.

При последней оценке собирали флаговые листья для количественного определения типа реакции растений, а также определения количества спор в пустулах. Подсчет мест инфицирования при разных типах реакции (в сумме не менее 150) проводили в трех повторностях в каждом варианте (по 5 листьев в каждой).

Для определения количества спор в пустулах (спорулирующая способность) подсчитывали количество пустул на листьях, затем споры стряхивали в пробирки, перемешивали с 0.5 мл водного раствора детергента Твин-80. Число спор в суспензии подсчитывали с помощью камеры Горяева под микроскопом, затем рассчитывали среднее количество спор на пустулу. Способность к спорулированию гриба на листьях каждого образца определяли в трех повторностях по пять листьев в каждой.

Растения для лабораторных исследований выращивали в теплице при среднесуточной температуре 15—18 °С. Для проведения цитологических исследований действия генов устойчивости использовали верхние листья в 3 фазах развития: проростки, выход в трубку и колошение. Сегменты листьев отсекали и инокулировали вирулентным моноспоровым изолятом *P. triticina* (тип реакции 4). Жизнеспособность инфицированных листьев в чашках Петри поддерживали 0.004%-м раствором бензимидазола (Михайлова, Квитко, 1970). Спорующую способность пустул на растениях в фазе колошения определяли по описанной ранее методике.

Для изучения развития инфекционных структур гриба на поверхности листьев и в тканях инфицированные листья фиксировали в лактофенольной смеси через 1, 2, 3, 5 и 9—10 суток после инокуляции урединиоспорами. Материал окрашивали 1%-м красителем анилиновым синим в лактофеноле, затем дифференцировали окраску с помощью насыщенного водного раствора хлоралгидрата (Плотникова, 2008). При этом инфекционные структуры гриба окрашивались в синий цвет; неповрежденные клетки растений — в светло-голубой; клетки, погибшие в результате реакции сверхчувствительности, приобретали интенсивный синий цвет. Исследования проводили с помощью светового микроскопа МБИ-15.

Для цитологических исследований использовали по 5 растений каждого образца. В каждом варианте изучали развитие инфекционных структур на поверхности листьев, образованных 80—100 спорами. Особенности развития гриба в тканях листьев и проявление реакции сверхчувствительности наблюдали у пяти растений в 25 местах контакта с грибом. Размеры колоний и пустул гриба определяли с помощью окуляр-микрометра. Площадь колоний и пустул вычисляли по формуле площади эллипса, рассчитывали средние показатели по 25 колониям.

Результаты и обсуждение

Развитие бурой ржавчины на сорте Тэтчер (Lr22b) и изогенных линиях с генами Lr13 и Lr35 изучали в полевых условиях в 2005—2007 гг. Резко континентальный

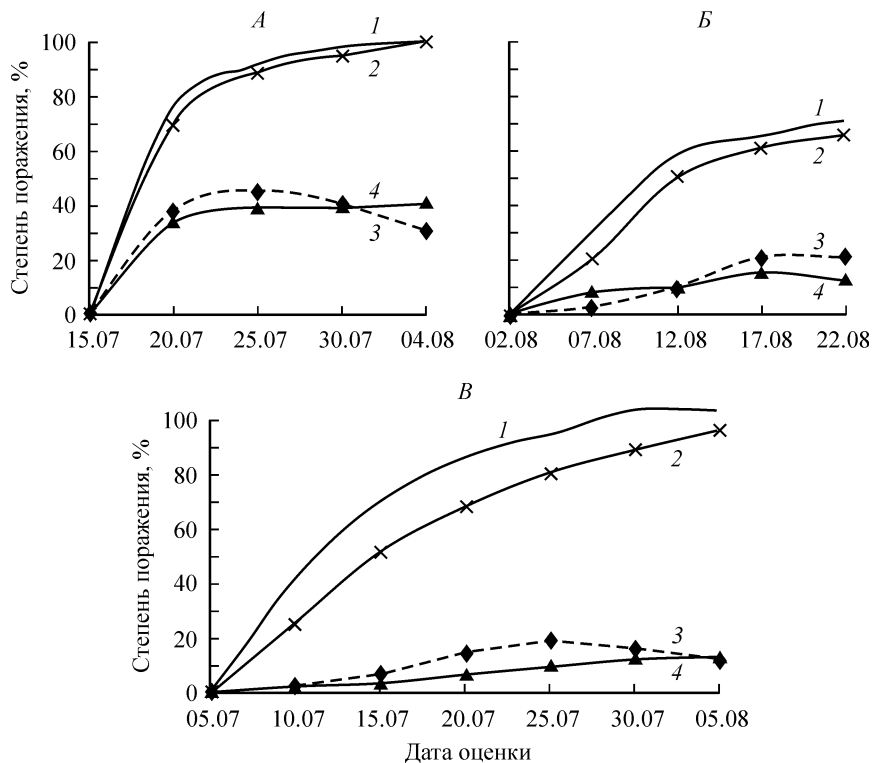


Рис. 1. Развитие бурой ржавчины на сорте Тэтчер и изогенных линиях с генами устойчивости взрослых растений.
 Годы исследований: А — 2005, Б — 2006, В — 2007. 1 — Саратовская 29 (контроль), 2 — Тетчер (Lr22b), 3 — TcLr13, 4 — TcLr35.

климат Западной Сибири и отсутствие растений-хозяев вызывают гибель основной части инокулюма гриба во время зимовки. Развитие болезни связано преимущественно с заносом спор из западных регионов России, поэтому вспышки болезни проявлялись в зависимости от метеорологических условий в июле—начале августа, что соответствовало фазам колошения—полной спелости.

Наибольшее поражение восприимчивого сорта Саратовская 29 отмечено в 2005 и 2007 гг. (100 %), при этом болезнь развивалась быстрыми темпами. В 2006 г. занос инфекции произошел в августе, и метеорологические условия способствовали умеренному развитию ржавчины (рис. 1). В 2005 и 2006 г. кривые развития болезни на сорте Тэтчер (ген Lr22b) и восприимчивом сорте Саратовская 29 практически совпали. В 2007 г. на сорте Тэтчер отмечено слабое замедление развития болезни, хотя к моменту созревания растений степень поражения достигала 93 %. В 2005 г. на линиях с генами устойчивости Lr13 и Lr35 наблюдалось умеренное развитие болезни (35—40 %), в 2006 и 2007 г. — слабое (15—20 %). Установлены общие закономерности развития болезни на растениях TcLr13 и TcLr35: скорость нарастания инфекции была низкой, а через 5—14 суток происходила стабилизация, в то время как степень поражения растений сортов Саратовская 29 и Тэтчер возрастала. Поражение флагового листа линии TcLr13 было ниже по сравнению с листьями нижних ярусов в стадии молочно-восковой спелости. Это явление было наиболее выражено в 2005 г.

Температурные условия в период наблюдений различались (рис. 2). Самые высокие среднесуточные температуры в период развития болезни отмечены в 2007 г. (20—23 °С), самые низкие — в 2006 (16—18 °С), промежуточные (18—20 °С) — в 2005 г. Несмотря на существенную разность среднесуточных температур в 2006

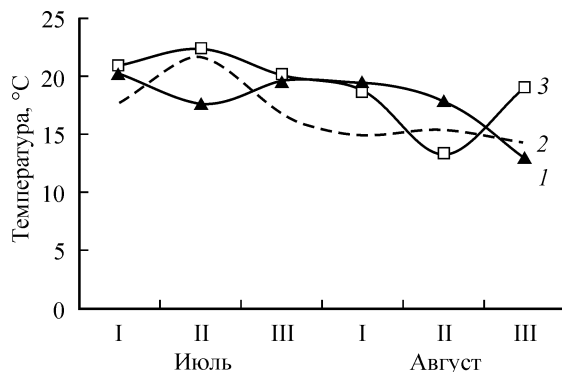


Рис. 2. Среднесуточные температуры в период развития бурой ржавчины.
Годы исследований: 1 — 2005, 2 — 2006, 3 — 2007.

и 2007 гг., характер развития болезни на линиях TcLr13 и TcLr35 был схожим. Более сильное поражение линий в 2005 г., вероятно, было связано с большим количеством осадков, создавших оптимальные условия для заражения растений.

На листьях сортов Саратовская 29 и Тэтчер преимущественно наблюдался тип реакции 4 (совместимость) (рис. 3). Проявление типа реакции 3 в 2005 г., вероятно, связано с отмиранием части клеток растений над большими пустулами, поскольку в этом году сложились оптимальные условия для интенсивного спорогенеза гриба (рис. 4, а). На листьях линий с генами возрастной устойчивости ежегодно проявлялась гетерогенная реакция (от 1 до 4 баллов). При этом проявление реакции сверхчувствительности (типы 1 и 2) было наиболее характерно для линии TcLr13.

Обнаружены существенные различия в споруляции пустул, развивающихся на листьях восприимчивого сорта Саратовская 29 и на линиях с генами Lr13 и Lr35. Споруляция пустул на листьях устойчивых линий в зависимости от года была в 1.5—4.5 раза меньше, чем в контроле (рис. 4, А). Наименьшее количество спор образовывалось в пустулах на растениях линии TcLr13. На сорте Тэтчер (Lr22b) спорогенез гриба был несколько подавлен по сравнению с таковым в контроле, однако различия не всегда были достоверны.

Для выявления цитологической основы возрастной устойчивости было проведено изучение взаимодействия *P. triticina* с образцами пшеницы в трех фазах развития растений: проростки, выход в трубку и колошение. Позднее исследования не проводили, поскольку с возрастом на листьях растений увеличивались толщина кутикулы и отложения воска, что препятствовало проникновению красителя в листья и выявлению структур патогена. В фазе проростков растения всех образцов были восприимчивы (тип реакции 4); в фазах выхода в трубку и колошения на листьях помимо пустул, соответствующих типу реакции 4, появлялись пустулы, окруженные зоной хлороза (тип реакции 3) либо некроза (тип реакции 2). В итоге средняя оценка типа реакции снижалась (табл. 1).

На листьях всех образцов прорастало более 90 % спор гриба, существенных различий между вариантами не наблюдалось. Ростковые трубки направлялись к устьицам, где формировали аппрессории. На листьях растений линий TcLr13 и TcLr35 образовывалось достоверно меньше аппрессориев, чем в контроле. Подавление образования аппрессориев было более выражено на листьях устойчивых растений в стадиях проростков и колошения (на 24—73 % по отношению к контролю). Ингибирование образования аппрессориев на листьях линии TcLr35 в фазе колошения усилилось (табл. 2). Как правило, ростковые трубки гриба обнаруживали устьица, однако на листьях линии TcLr13 часть ростковых трубок формировала аппрессории на поверхности эпидермальных клеток.

Наблюдались существенные различия между вариантами при проникновении гриба в устьичную щель. Если в листья сорта Тэтчер проникновение гриба происходило

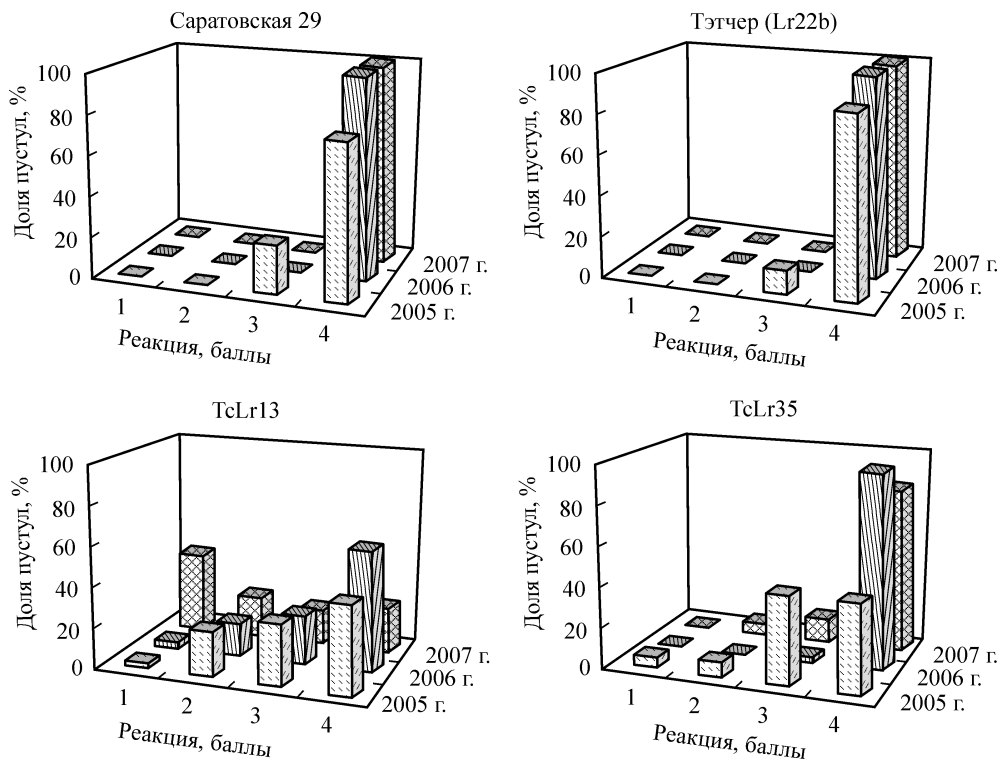


Рис. 3. Типы реакций на листьях сорта Тэтчер и линий с генами устойчивости взрослых растений.

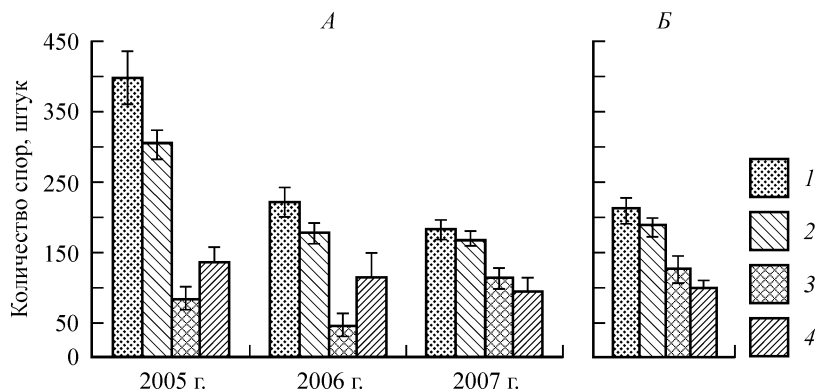


Рис. 4. Количество уренин孢 в пустулах *Puccinia triticina* на образцах с генами устойчивости взрослых растений.

А — полевой, Б — лабораторный опыты. 1 — Саратовская 29 (контроль), 2 — Тэтчер (Lr22b), 3 — TcLr13, 4 — TcLr35.

Тип реакции растений на заражение *P. triticina* в разные фазы развития, баллы

Образец	Фаза развития растений		
	проростки	выход в трубку	колошение
Саратовская 29 (контроль)	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0
Тэтчер (Lr22b)	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	3.8 ± 0.2
TcLr13	4.0 ± 0.0	3.6 ± 0.2	3.4 ± 0.4
TcLr35	4.0 ± 0.0	3.6 ± 0.3	4.0 ± 0.0

успешно, а на устьицах листьев Саратовской 29 погибали единичные аппрессории, то на устьицах листьев линий TcLr13 и TcLr35 погибало в 3—4 раза больше аппрессориев, чем в контроле. Доля погибших аппрессориев многократно увеличивалась с возрастом растений (табл. 2). Кроме того, в листьях линий TcLr13 и TcLr35 в значительной части мест инфицирования (10—14 %) гриб останавливался в развитии на стадии подустыичной везикулы или изредка одной инфекционной гифы. Ингибирующее действие растений линии TcLr13 на развитие аппрессориев и подустыичных везикул усиливалось с возрастом растений, а линии TcLr35 оставалось относительно стабильным (рис. 5).

В ткани листьев сорта Саратовская 29 патоген успешно образовывал подустыичные везикулы, затем инфекционные гифы направлялись к мезофилльным клеткам растений и формировали на концах материнские клетки гаусториев, которые обеспечивали проникновение гаусториев патогена в клетки и поглощение питательных веществ, необходимых для развития мицелия. Через 9—10 суток после инокуляции во всех местах инфицирования образовывались пустулы с новой генерацией урединиоспор.

В первые трое суток после инокуляции формирование инфекционных структур гриба в листьях сорта Тэтчер несколько отставало от формирования их в контрольном варианте, однако затем мицелий активно развивался (рис. 6). Размеры колоний и пустул гриба различались на разных фазах развития растений, что, вероятно, связано с колебаниями условий эксперимента, но больших отличий от контроля не наблюдалось (рис. 7). Усиления ингибирования инфекционных структур гриба на поверхности и в тканях листьев сорта Тэтчер с увеличением возраста растений не происходило. Признаков несовместимости с тканями растений не выявлено.

После проникновения в листья линии TcLr13 гриб образовывал только подустыичные везикулы в 2/3 случаев, в остальных местах инфицирования сформировались колонии. В первые двое суток после инокуляции на всех фазах развития растений в колониях гриба отмечено существенное замедление образования инфекционных структур (рис. 6). С увеличением возраста растений наблюдалось интенсивное сокращение размеров колоний и пустул гриба по сравнению с контролем (в 1.6—2.3 раза и 1.5—5.0 раз соответственно). Взаимодействие патогена и растения в фазы выхода в трубку и колошения сопровождалось реакцией сверхчувствительности. В фазе выхода в трубку на первых этапах патогенеза (1-е—3-и сутки после инокуляции) единичные некротические клетки наблюдались только около остановившихся в развитии подустыичных везикул, но к моменту спороношения в районе части пустул отмечены некротические зоны различного размера. В фазе колошения реакция сверхчувствительности усилилась, клетки растения в зоне колоний отмирали раньше (через 1—3 суток после инокуляции), 1/3 пустул была окружены зонами некроза различной интенсивности.

После внедрения патогена в ткани листьев линии TcLr35 в 15 % случаев его развитие прекращалось в стадиях подустыичной везикулы или первой инфекционной гифы, рядом с ними наблюдались некротические клетки растений. В остальных местах инфицирования развитие гриба продолжалось, однако отмечено сильное подавление

Развитие инфекционных структур *P. triticina* на поверхности листьев растений

Фаза развития растения	Образец пшеницы	Доля ростковых трубок, образовавших аппрессории, %	Доля аппрессориев на устьицах от их общего количества, %	Доля погибших на устьицах аппрессориев, %
Проростки	Саратовская 29	92.0 ± 3.9	99.2 ± 0.8	0.78 ± 0.3
	Тэтчер (Lr22b)	94.1 ± 2.3	97.3 ± 2.6	0.0 ± 0.0
	TcLr13	76.3 ± 2.1	92.3 ± 1.5	2.8 ± 1.1
	TcLr35	74.7 ± 1.5	98.6 ± 1.4	3.7 ± 0.6
Выход в трубку	Саратовская 29	98.6 ± 1.4	99.1 ± 0.1	0.0 ± 0.0
	Тэтчер (Lr22b)	95.9 ± 3.4	97.1 ± 0.8	0.0 ± 0.0
	TcLr13	91.8 ± 1.8	95.7 ± 3.5	8.1 ± 3.1
	TcLr35	86.5 ± 2.1	97.0 ± 3.0	2.0 ± 1.0
Колошение	Саратовская 29	88.3 ± 3.4	100.0 ± 0.0	0.8 ± 0.2
	Тэтчер (Lr22b)	89.5 ± 5.6	100.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	TcLr13	76.2 ± 3.2	94.3 ± 1.2	28.4 ± 3.8
	TcLr35	51.4 ± 2.6	100.0 ± 0.0	11.6 ± 0.6

формирования гаусториев, хотя количество материнских клеток гаусториев в колониях было сравнимо с наблюдавшимся в мицелии гриба в листьях сорта Тэтчер. Для линии TcLr35 была характерна остановка развития части (15 %) колоний через 3—5 суток после инокуляции — происходила их абортация (Niks, 1983). В абортивных колониях наблюдалось мало материнских клеток гаусториев и гаусториев, но реакция сверхчувствительности в их зоне проявлялась после прекращения развития патогена. Доля абортивных колоний была достаточно стабильной в разных фазах развития растений (рис. 5). Небольшой некроз вокруг части развивающихся колоний на поздних этапах патогенеза наблюдался только в листьях растений в фазе выхода в трубку.

Определение количества спор в пестулах на растениях в фазе колошения показало, что на листьях линий с генами возрастной устойчивости Lr13 и Lr35 спорогенез гриба был сильно подавлен, хотя споруляция была интенсивнее, чем в полевых условиях на более поздней стадии развития растений. В лабораторных условиях наименьшее количество спор образовывалось в пестулах на листьях линии TcLr35 (рис. 4, Б).

Несмотря на различия в интенсивности развития колоний гриба, существенных различий в латентном периоде развития болезни между вариантами отмечено не было.

Эффективность генов взрослых растений пшеницы к бурой ржавчине в разных регионах мира различна. В частности, гены Lr13 и Lr22b обеспечивали достаточно высокий уровень защиты растений в Канаде, Европе и юго-западных регионах России (McIntosh, 1995; Kolmer, 1996; Коваленко и др., 2000), но были не эффективны в Индии в связи с широким распространением в популяции аллелей вирулентности к ним (Kaur et al., 2000). Кроме того, известна высокая зависимость проявления ряда генов устойчивости взрослых растений от условий среды. Сведения о влиянии температуры на действие генов противоречивы. В частности, высокая температура повышала устойчивость растений с геном Lr13 к бурой ржавчине на стадии проростков в одних экспериментах (Pretorius et al., 1984), а в других действие гена было более значительным при низких и умеренных температурах (Rubiales, Niks, 1996).

В связи с вариабельностью проявления устойчивости взрослых растений в земледельческих зонах мира представляет интерес изучение действия генов Lr13, Lr22b и Lr35 в Западной Сибири, отличающейся нестабильным климатом, а также весьма агрессивной популяцией патогена. Полученные нами результаты показали, что сорта Тэтчер (ген Lr22b) и Саратовская 29 мало отличались по степени поражения, что свидетельствует о том, что ген Lr22b не эффективен в защите против западно-сибирской популяции патогена. В то же время изогенные линии с генами Lr13 и Lr35 в течение трех сезонов проявили умеренную (2005 г.) либо высокую (2006 и 2007 г.) устойчи-

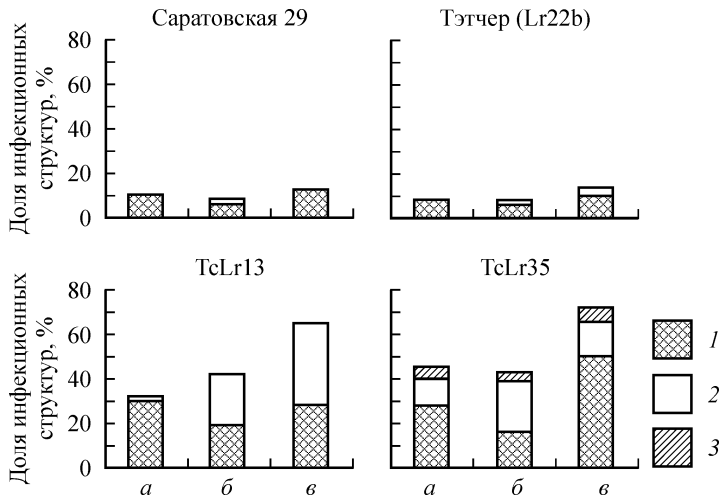


Рис. 5. Соотношение инфекционных структур *Puccinia triticina*, прекративших развитие в разных стадиях патогенеза на листьях сорта Тэтчер и линий с генами устойчивости взрослых растений, % от нанесенного инокулюма.

Фазы развития растений: а — проростки, б — выход в трубку, в — колошение. 1 — ростковые трубки без аппрессориев или с аппрессориями на эпидермальных клетках; 2 — инфекционные единицы, остановившиеся на стадиях аппрессория на устьице, подустьичной везикулы или одной инфекционной гифы; 3 — abortивные колонии.

вость на интенсивном фоне развития болезни. Интенсивность проявления болезни растений этих линий в течение трех лет исследований была сходной. В стадии молочно-восковой спелости наблюдалось небольшое подавление развития ржавчины на флаг-листе линии TcLr13, что свидетельствует о некотором усилении действия гена на поздних этапах онтогенеза растений.

В 2005—2007 гг. среднесуточные температуры в период развития болезни колебались от 16 до 23 °С, при этом растения линий с генами Lr13 и Lr35 проявили высокую устойчивость как при низких, так и при высоких температурах. Таким образом, существенного влияния температуры на проявление генов в наших экспериментах выявлено не было.

Изучение реакции растений на заражение комплексом клонов, составляющих популяцию патогена, в полевых условиях показало, что сорта Саратовская 29 и Тэтчер были восприимчивы. На листьях линий TcLr13 и TcLr35 наблюдался спектр типов реакции от устойчивости до восприимчивости, что могло быть обусловлено несколькими причинами: присутствием некоторого количества авирулентных изолятов гриба, влиянием условий среды, действием защитных механизмов растений. Спорогенез гриба на растениях линий TcLr13 и TcLr35 каждый год был существенно подавлен.

Парлевлит (Parlevliet, 1979) выделил несколько компонентов частичной устойчивости: меньшее количество инфекционных пятен по сравнению с восприимчивым сортом; меньшие их размеры, длинный латентный период; пониженная репродуктивная способность патогенов. Наши наблюдения в полевых условиях свидетельствуют о том, что у растений линий TcLr13 и TcLr35 проявляются по крайней мере 3 компонента устойчивости: снижение степени поражения (числа пустул), размера пустул, генеративной активности гриба. Снижение споруляции у растений сорта Тэтчер (Lr22b) отмечено лишь в слабой степени.

Для выявления неспецифических механизмов защиты в цитологических исследованиях был использован изолят, вирулентный к растениям в стадии проростков (тип реакции 4). Снижение степени поражения растений было обусловлено подавлением развития нанесенного на листья инокулюма, которое имело место на разных этапах взаимодействия с растениями. На листьях восприимчивых сортов лишь небольшая

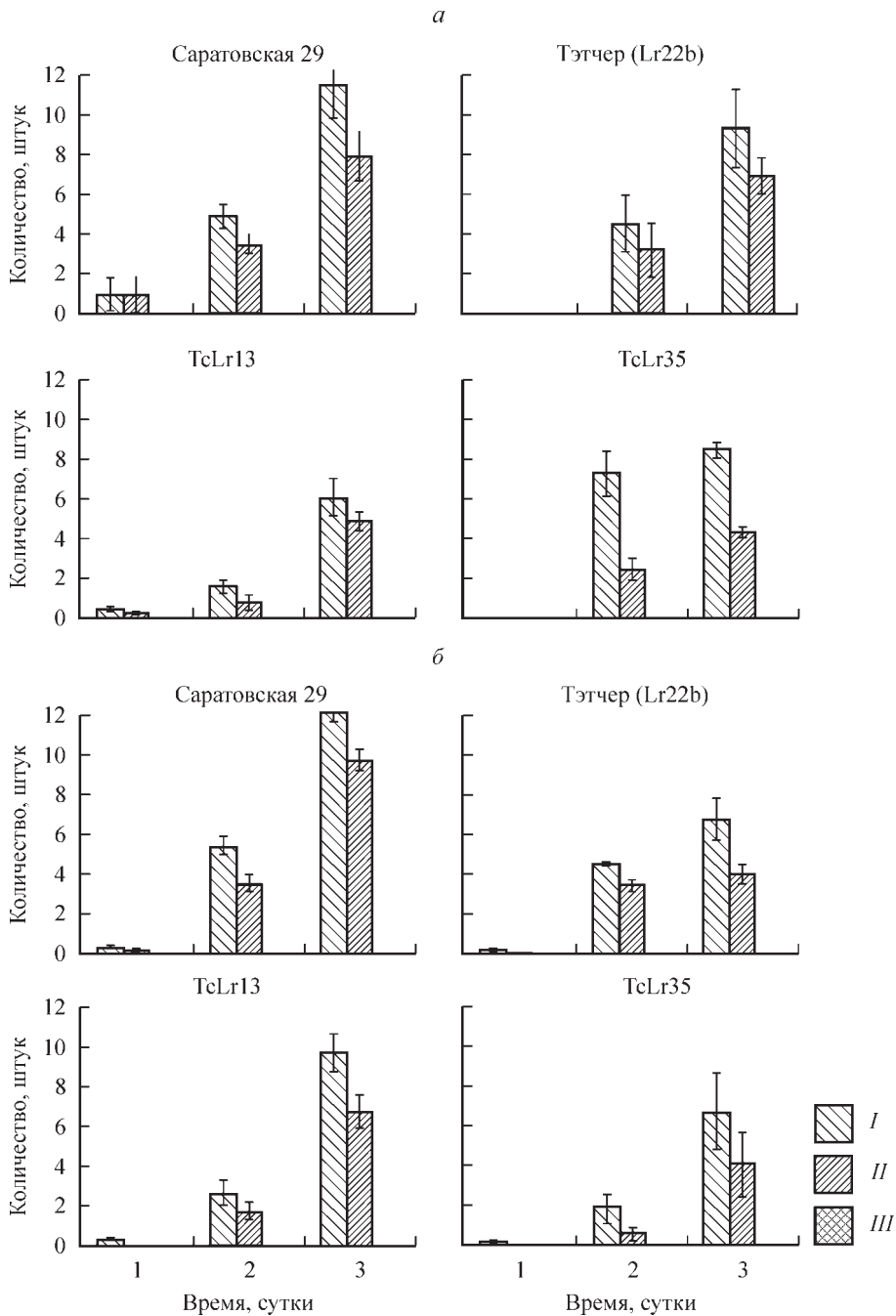


Рис. 6. Инфекционные структуры в колониях *P. tritici* и проявление реакции сверхчувствительности в листьях сорта Тэтчер и изогенных линиях с генами устойчивости взрослых растений.

Фазы развития растений: *a* – проростки, *b* – выход в трубку, *в* – колошение. *I* – материнская клетка гаустория, *II* – гаусторий, *III* – клетки, погибшие в результате реакции сверхчувствительности.

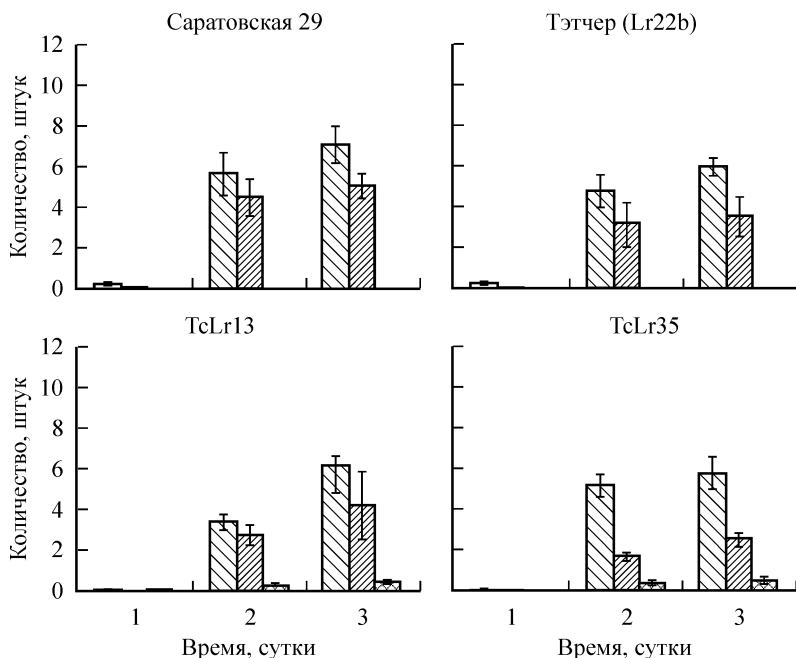


Рис. 6 (продолжение).

часть инокулюма (8—10 %) погибала, поскольку ростковые трубки не образовывали аппрессориев на устьицах. С возрастом растений его доля слабо возрастала, что, вероятно, связано с изменением структуры кутикулы и усилением воскового налета на листьях. Других признаков несовместимости не выявлено. В то же время в экспериментах Рубиалеса и Никса (Rubiales, Niks, 1996) взаимодействие сорта Тэтчер с изолятом гриба Flamingo сопровождалось реакцией сверхчувствительности. Предполагается, что изолят имел аллель авирулентности к гену Lr22b.

Снижение степени поражения растений линий TcLr13 и TcLr35 обусловлено подавлением развития инфекционных структур гриба как на поверхности, так и в ткани листьев. Гибель значительной части инокулюма на поверхности была связана с тем, что часть ростковых трубок не образовывала аппрессориев. На листьях линии TcLr13 их доля оставалась относительно стабильной (20—30 %), а линии TcLr35 в фазе колошения возрастала в 2 раза по сравнению с фазой проростков и достигала 50 %. Этот факт установлен впервые, поскольку развитие ржавчинных грибов на поверхности листьев растений с возрастной устойчивостью ранее не исследовалось.

На листьях линий TcLr13 и TcLr35 в значительной части мест инфекции (от 10 до 35 %) наблюдалась остановка развития гриба на стадиях аппрессориев, подустыичной везикулы или первой инфекционной гифы. На линии TcLr13 ингибирующее действие проявлялось начиная с фазы выхода в трубку и усиливалось в фазе колошения, а на линии TcLr35 было выражено на всех стадиях и несколько повышалось с возрастом растений. В целом в наших экспериментах 2/3 инокулюма, нанесенного на листья линий TcLr13 и TcLr35, прекращало развитие до внедрения гаустория гриба в мезофилльную клетку. Такой эффект был назван прегаусториальной устойчивостью (Niks, 1983). Сходная картина остановки развития значительной части спор на стадии подустыичной везикулы наблюдалась при заражении *P. striiformis* листьев сорта пшеницы Little Joss с длительной устойчивостью к желтой ржавчине (Cartwright, Russel, 1980). В классическом примере частичной длительной устойчивости сорта ячменя Vada к *P. hordei* гриб прекращал развитие до внедрения в клетки мезофилла листа в

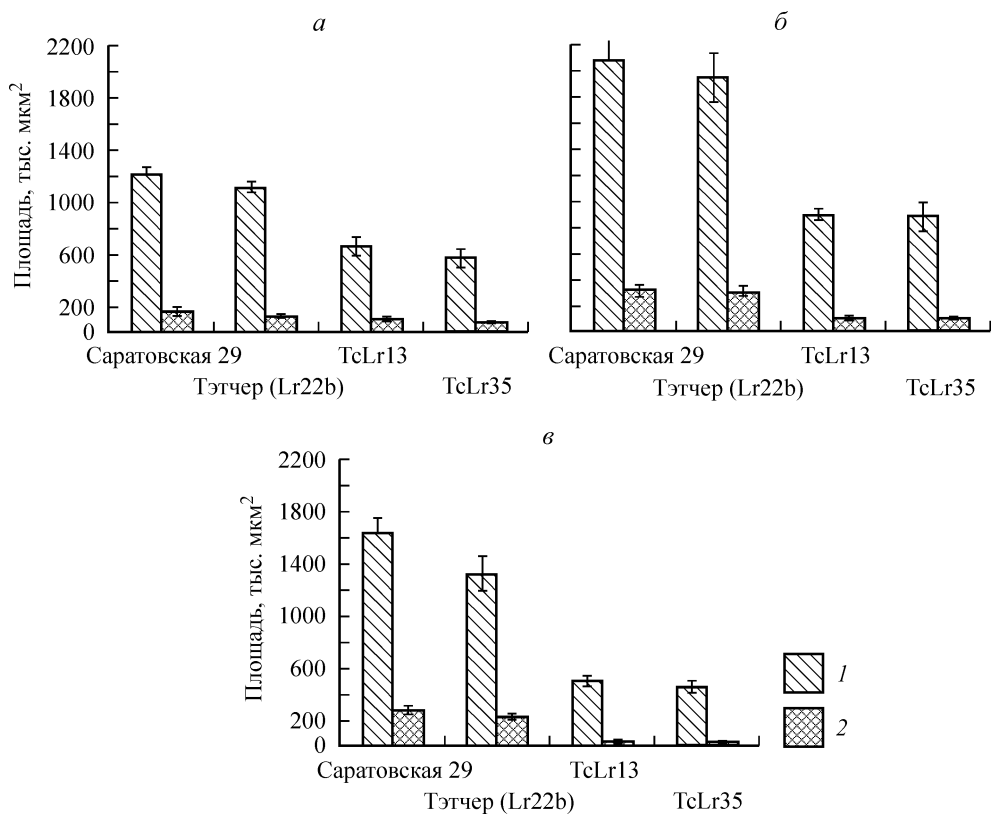


Рис. 7. Размеры колоний (1) и пустил (2) *P. triticina* на сорте Тэтчер и изогенных линиях с генами устойчивости взрослых растений.

Фазы развития растений: а — проростки, б — выход в трубку, в — колошение.

35—40 % случаев. В остальных случаях при внедрении гаусториев в клетки наблюдалась реакция сверхчувствительности либо вокруг гаусториев образовывались капсулы. В растении, не являющемся хозяином для патогена, остановка развития гриба происходила без этой реакции в 80 % случаев (Niks, 1983). В то же время при заражении изолятом *P. triticina* Flamingo растений линий пшеницы с генами Lr12, Lr13 и Lr34 существенного подавления проникновения гриба в устьица листьев не наблюдалось (Rubiales, Niks, 1996).

Ранее мы наблюдали нарушение образования аппрессориев ростковыми трубками *P. triticina* и остановку развития на стадии аппрессория или подустыичной везикулы при заражении листьев иммунных видов (ячменя, овса, пырея удлиненного), а также иммунных линий с генами устойчивости, интрогрессированными от диких видов *Aegilops umbellulata*, *A. speltoides*, *Agropyron elongatum*, *Triticum timopheevii* (Плотникова, Кнау, 2007; Плотникова и др., 2007). На примере взаимодействия *P. triticina* и *P. coronata* с иммунными видами злаков показано, что фунгицидное влияние растений на аппрессории и подустыичные везикулы связано с экстраклеточной генерацией активных форм кислорода замыкающими клетками устьиц. Активные формы кислорода образовывались лишь в случае плотного контакта между аппрессориями и замыкающими клетками устьиц (Плотникова, 2008).

В наших экспериментах на линиях TcLr13 и TcLr35 подавлялось проникновение в ткани листа только части инфекционных структур, в остальных случаях в ткани образовывались колонии. Это говорит о том, что предполагаемый окислительный взрыв проявляется не стабильно. Причины этого явления неизвестны, можно предполагать

как усиленную реакцию замыкающих клеток устьиц на контакт с аппрессориями патогена, так и особенности строения устьиц, в которые грибок в части инфекционных точек способен проникать без индукции окислительного взрыва. Поскольку развитие 2/3 инокулюма блокировалось растениями на поверхности листьев либо сразу после внедрения в устьица, можно предположить, что продукты генов возрастной устойчивости накапливались в эпидермальной ткани.

В колониях гриба, развивавшихся в листьях линий TcLr13 и TcLr35, было существенно подавлено образование материнских клеток гаусториев и проникновение гаусториев в клетки растений. В результате в листьях линии TcLr35 наблюдалась абортация части колоний, а на растениях линии TcLr13 все колонии развивались медленно. Отрицательное влияние растений на развитие колоний усиливалось с возрастом растений, одновременно уменьшалась интенсивность спороношения патогена. В то же время латентный период развития болезни на разных образцах существенно не отличался. В ранее проведенных экспериментах также отмечалась абортация колоний *P. tritici* при развитии в листьях растений с генами Lr12, Lr13 и Lr34 и отсутствие различий в латентном периоде (Rubiales, Niks, 1996). Вероятно, различия результатов наших экспериментов и данных, полученных Рубиалесом и Никсом, объясняются разными свойствами изолятов гриба.

В связи с частым преодолением устойчивости сортов, защищенных генами расспецифической устойчивости, характерным проявлением которой считается реакция сверхчувствительности, особое внимание уделяется поиску генов, определяющих другие механизмы защиты. Считается, что примерами действия генов, обеспечивающих длительную устойчивость без реакции сверхчувствительности, являются гены возрастной устойчивости Lr34 и Lr46 (Parlevliet, 2002). В наших экспериментах при взаимодействии гриба с растениями линий TcLr13 и TcLr35 некротические клетки появлялись около погибших подустьичных везикул и абортивных колоний, что может быть объяснено реакцией растений на продукты разложения гриба. Кроме того, на поздних этапах патогенеза небольшие некротические зоны появлялись в зоне пустул. Вероятно, хотя реакция сверхчувствительности имела место при взаимодействии гриба с изучаемыми линиями, она существенно не влияла на патогенез.

Таким образом, ген возрастной устойчивости Lr22b в генотипе сорта Тэтчер не эффективен в защите от бурой ржавчины в Западной Сибири. Отмечается высокая эффективность и сходное действие на развитие болезни генов Lr13 и Lr35. Цитологические исследования показали, что действие генов Lr13 и Lr35 было плейотропным и привело к снижению степени поражения растений по крайней мере по трем параметрам, обозначенным Парлевлитом. Снижение степени поражения обеспечивалось нарушением образования аппрессориев, подавлением развития аппрессориев и подустьичных везикул, абортацией колоний. Кроме того, в растениях с этими генами были ограничены рост колоний и репродуктивная способность гриба.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Коваленко Е. Д., Жемчужина А. И., Крятева Н. Н. Иммуногенетические методы создания болезнеустойчивых сортов зерновых культур. 1. Генетическая структура популяций возбудителя бурой ржавчины пшеницы // Агро XXI. 2000. № 4. С. 14—15.

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, вып. 4. С. 269—273.

Плотникова Л. Я. Влияние поверхностных свойств и физиологических реакций растений-нехозяев на развитие клеточных структур ржавчинных грибов // Цитология. 2008. Т. 50, № 5. С. 439—446.

Плотникова Л. Я., Кнаус Ю. К. Клеточные механизмы иммунитета к бурой ржавчине видов-нехозяев и устойчивых видов злаков // Микология и фитопатология. 2007. Т. 41, вып. 5. С. 461—470.

Плотникова Л. Я., Кнауэс Ю. К., Мешкова Л. В. Цитофизиологические особенности проявления генов устойчивости к бурой ржавчине, перенесенных в мягкую пшеницу от дикорастущих злаков // Микология и фитопатология. 2007. Т. 41, вып. 4. С. 362—373.

Cartwright D. W., Russel G. E. Histological and biochemical nature of 'durable' resistance to yellow rust in wheat / Proc. of the 5th Europ. and Mediterranean Cereal Rusts Conference. Ban; Rome, 1980. P. 23—26.

Caldwell R. M. Breeding for general and/or specific plant disease resistance / Proc. 3rd Int. Wheat Genetics Symp / Eds K. W. Finley, K. W. Shepherd. Canberra, Australia: Aust. Acad. Sci. 1968. P. 263—272.

Kaur M., Saini R. G., Preet K. Adult plant leaf rust resistance from 111 wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars // Euphytica. 2000. Vol. 113. P. 235—243.

Kolmer J. A. Genetics of resistance to wheat leaf rust // Annu. Rev. Phytopathol. 1996. Vol. 34. P. 435—455.

Mains E. B., Jackson E. S. Physiological specialization in the leaf rust of wheat *Puccinia triticina* Erikss. // Phytopathology. 1926. Vol. 16, N 1. P. 89—120.

McIntosh R. A., Wellings C. R., Park R. F. Wheat Rusts: An atlas of resistance genes. SCIRO: Australia, 1995. 220 p.

Niks R. E. Haustorium formation by *Puccinia hordei* in leaves of hypersensitive, partially resistant, and nonhost genotypes // Phytopathology. 1983. Vol. 73. P. 64—66.

Parlevliet J. E. Partial resistance of barley to leaf rust, *Puccinia hordei*. I. Effect of cultivar and development stage on latent period // Euphytica. 1975. Vol. 24. P. 21—27.

Parlevliet J. E. Components of resistance that reduce the rate of epidemic development // Annu. Rev. Phytopathol. 1979. Vol. 17. P. 203—222.

Parlevliet J. E. Durability of resistance against fungal, bacterial and viral pathogens; present situation // Euphytica. 2002. Vol. 124. P. 147—156.

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. P. 496—500.

Pretorius Z. A., Wilcoxson R. D., Long D. L., Schaffer J. F. Detecting wheat leaf rust resistance gene Lr13 in seedlings // Plant Dis. 1984. Vol. 68. P. 585—586.

Rubiales D., Niks R. E. Characterization of Lr34, a major gene conferring nonhypersensitive resistance to wheat leaf rust // Plant Dis. 1996. Vol. 79, N 12. P. 1208—1212.

Singh R. P., Huerta-Espino J., Williams M. Genetics and Breeding for Durable Resistance to Leaf and Stripe Rusts of Wheat // «Increasing Wheat Production in Central Asia through Science and International cooperation» / Proc. 1st Central Asian Wheat Conf. (Almaty, Kazakhstan, 10—13 June, 2003). Almaty, 2003. P. 127—132.

Омский государственный
аграрный университет
lplotnikova@rambler.ru

Поступила 24 VI 2008

РЕЗЮМЕ

Эффект генов устойчивости взрослых растений пшеницы Lr13, Lr22b и Lr35 к бурой ржавчине был изучен в полевых условиях в Западной Сибири. Сорт Тэтчер (Lr22b) был высоко восприимчив к болезни, а изогенные линии с генами Lr13 и Lr35 устойчивы. Цитологические исследования показали низкую интенсивность формирования аппрессориев и подавление проникновения граба в устьица листьев линий с генами Lr13 и Lr35. В листьях линии с геном TcLr35 часть колоний отмирала. Развитие колоний и пустул было подавлено на обеих линиях. Реакция сверхчувствительности проявлялась в слабой степени на поздних этапах патогенеза. Эффект генов Lr13 и Lr35 усиливался с возрастом растений.

Ключевые слова: устойчивость взрослых растений, Lr13, Lr22b, Lr35, цитология.

SUMMARY

The effect of the adult plant genes Lr13, Lr22b and Lr35 to wheat leaf rust was investigated in the field conditions in the Western Siberia. Thatcher var. (Lr22b) was high susceptible to disease. The isogenic lines with Lr13 and Lr35 genes were high resistant and similar in appearance. The cytological research revealed the low intensity of the appressorium formation and inhibition of fungus penetration to stoma on the leaves of the lines with Lr13 and Lr35 genes. Some colonies were aborted in the leaves of the TcLr35 line. The size of colonies and pustules were reduced in both resistant lines. The hypersensitivity appeared in low extent and at the late stage of the pathogenesis. The effect of the Lr13 and Lr35 genes enhanced with the age of plants.

Key words: adult plant resistance, Lr13, Lr22b, Lr35, cytology.