

ИНДУКТОРЫ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ И АКТИВНЫЕ ФОРМЫ КИСЛОРОДА. III. ВЛИЯНИЕ БИСОЛА 2 И БАЙТАНА НА МОРФОГЕНЕЗ И ЗАЩИТНЫЙ ОТВЕТ КЛЕТОК НЕМОРФОГЕННЫХ КАЛЛУСОВ ПШЕНИЦЫ, ИНФИЦИРОВАННЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕМ ТВЕРДОЙ ГОЛОВНИ

© Н. Б. Трошина, Л. Г. Яруллина, О. Б. Сурина, И. В. Максимов

*Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН;
электронный адрес: phyto@anrb.ru*

Определяли влияние иммуностимулятора бисола 2 и фунгицида байтана на морфобиохимические параметры неморфогенных каллусов пшеницы, инфицированных возбудителем твердой головни. При введении в среду культивирования отмеченных препаратов на каллусах появлялись плотные участки и ризоиды, что коррелировало с активацией оксалактоксидазы. Инфицирование инициировало ризогенез и генерацию H_2O_2 в зоне роста гриба, активацию оксалактоксидазы в цитоплазматической фракции, но подавление ее в ионно-связанной с клеточными стенками фракции фермента. В инфицированных спорами гриба каллусах пшеницы под влиянием бисола 2 и байтана появлялись плотные участки, усиливался ризогенез, повышалась активность оксалактоксидазы как в цитоплазматической, так и в связанной с клеточными стенками фракциях фермента.

Ключевые слова: пшеница, каллус, возбудитель твердой головни, бисол 2, байтан, оксалактоксидаза, перекись водорода.

Принятые сокращения: среда МС — среда Мурасиге и Скуга, ДАБ — 3,3-диаминобензидин.

В современной фитопатологии широко используются каллусные культуры растений, являющиеся удобной моделью при изучении механизмов клеточной устойчивости, что позволяет использовать их для скрининга индукторов устойчивости к фитопатогенным грибам (Максимов, 2005). На каллусных культурах ряда растений, инфицированных возбудителями грибных болезней, показаны активация пероксидазы (Максимов и др., 2004) и накопление фенольных соединений и лигнина (Шейн и др., 2001).

Большинство исследователей выделяют два типа каллуса — мягкий, рыхлый, обводненный, светлый, без видимых уплотнений (неморфогенный каллус) и каллус, где обнаруживаются компактные желтоватые участки с активно делящимися меристематическими клетками (морфогенный) (Гамбург и др., 1990). В морфогенном каллусе различают паренхимоподобные клетки, зоны меристемоподобных клеток и трахеальные элементы. Вокруг зон меристемоподобных клеток паренхимоподобные клетки располагаются вплотную друг к другу. В условиях индукции морфогенеза на плотных участках морфогенного каллуса образуются побеги и ризоиды.

Одним из ранних проявлений ответной реакции растения на патоген является продукция активных форм кислорода (АФК). Генерация АФК на поверхности эпидермальных клеток корней в норме и при стрессе (Яруллина и др., 2001), а также в апопласте паренхимных клеток мезофилла листа только при стрессе (Medeghini et al., 1994) известна. В образование АФК могут вносить

вклад многие ферменты, в том числе локализованные в плазмалемме и клеточной стенке, оксалактоксидаза и пероксидаза, активирующиеся в растениях при инфицировании фитопатогенами (Тарчевский, 2002).

В защите злаковых культур от грибных болезней широкое применение находят химические средства защиты растений. К таким препаратам можно отнести препарат аминового ряда бисол 2 — иммуностимулятор с регулирующей активностью (Джемилев и др., 1990). Фунгицид триазолового ряда — байтан — обладает не только высокой фунгицидной активностью, но и четко выраженными свойствами регуляторов роста (Fletcher, Hofstra, 1987). Установлено, что 3-амино-триазол и пробеназол ингибируют активность каталазы и супероксиддисмутазы (Darr, Fridovick, 1986; Николаев, Аверьянов, 1991) — ферментов, участвующих в деградации H_2O_2 в клетках. Под влиянием бисола 2 в растениях пшеницы, инфицированных возбудителем твердой головни, повышается активность оксалактоксидазы (Яруллина и др., 2001).

Ранее нами на морфогенном каллусе пшеницы, инфицированном возбудителем твердой головни, было исследовано влияние салициловой кислоты и хитоолигосахаридов на защитный ответ паренхимоподобных и меристемоподобных клеток и клеток ризоидов (Трошина и др., 2004а, 2004б). Настоящее сообщение посвящено исследованию влияния бисола 2 и байтана на морфогенез и устойчивость клеток неморфогенного каллуса пшеницы, связанную с активацией оксалактоксидазы.

Материал и методика

В качестве эксплантов для получения каллусной ткани использовали незрелые зародыши пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта Жница. Часть каллусов пересаживали на среду Мурасиге и Скюга (МС), в которую добавляли бисол 2 в концентрациях 10 и 100 мг/л или байтан в концентрациях 0.1 и 1.0 мг/л. Спустя 3 сут от пассажа с индукторами устойчивости часть каллусов инфицировали телиоспорами возбудителя твердой головни *Tilletia caries* (DC.) Tul. Морфологические характеристики каллусов и их совместных культур с возбудителем твердой головни (наличие уплотненных участков и ризоидов, диаметр каллусов, площадь поверхности каллусов, покрытая мицелием гриба) оценивали через 20 сут после инокуляции. Сроки прорастания спор оценивали на протяжении опыта. Кроме того, через 20 сут после инокуляции в каллусах анализировали активность оксалаксоксидазы (Vulevich, Sukalovich, 2000). Для выделения цитоплазматической фракции фермента каллусы гомогенизировали в 0.05 М сукцинатном буфере, pH 3.8, соотношение массы навески к объему буфера — 1 : 3. Экстракт центрифугировали 20 мин при 12 000 об/мин на центрифуге 310 b (Mechannica presuzyjno, Польша). Супернатант использовали для анализа активности цитоплазматической оксалаксоксидазы. Осадок многократно промывали исходным буфером, ионно-связанную с клеточными стенками фракцию фермента экстрагировали из осадка 1 М NaCl. Активность оксалаксоксидазы определяли спектрофотометрически, используя 0.0025 М щавелевую кислоту и хромогенный субстрат ортофенилендиамин. Единица активности фермента соответствовала количеству окисленного субстрата, дающего прирост оптической плотности ΔA за 1 мин. Для сравнительного анализа активность выражали в относительных единицах на 1 г сырой массы.

Генерацию H_2O_2 в клетках каллусов оценивали через 20 сут после инокуляции по окислению хромогенного субстрата 3,3-диаминобензидина (ДАБ) с индукцией реакции щавелевой кислотой (Caliskan, Cuming, 1998). По-

явление бурого окрашивания свидетельствовало об отложении ДАБ-материала в местах генерации H_2O_2 . Для контроля специфичности окрашивания были взяты каллусы, инкубированные в растворе ДАБ без добавления щавелевой кислоты, или каллусы, предобработанные в 4 мМ $Fe(NO_3)_3$ в течение 0.5 ч для инактивации оксалаксоксидазы (Berna, Bernier, 1999). В этих условиях окрашивание ДАБ в клетках каллусов не обнаруживалось. После окрашивания каллусы фиксировали в смеси спирта и уксусной кислоты (3 : 1).

Контролем служили неинфицированные и инфицированные каллусы, культивируемые на среде МС без добавления бисола 2 и байтана. Опыты проводили в трех повторностях, в каждом варианте фиксировали по 10 каллусов.

Результаты и обсуждение

Наблюдения за морфологией каллусов пшеницы, растущих на среде МС с добавлением бисола 2 и байтана, показали сходство действия исследуемых соединений. Так, если в контроле каллусы характеризовались относительной однородностью клеток и были неморфогенными (гомогенными, без уплотненных участков), то при добавлении в среду культивирования бисола 2 и байтана каллусы становились рассыпчатыми, мелкоглобулярными, с небольшими плотными участками и ризоидами (рис. 1). При этом появление плотных участков на каллусах сопровождалось уменьшением их диаметра (рис. 1). Бисол 2 в концентрации 10 мг/л и байтан в концентрации 0.1 мг/л инициировали образование большего числа плотных участков и ризоидов, чем в концентрациях 100 и 1.0 мг/л соответственно (рис. 1). Таким образом, неморфогенные каллусы пшеницы, растущие на средах с бисолом 2 и байтаном, характеризовались появлением структур, присущих морфогенному каллусу, за счет уменьшения доли рыхлого каллуса. Подобный феномен наблюдали при добавлении в среду культивирования неморфогенных каллусов груши другого индуктора устой-

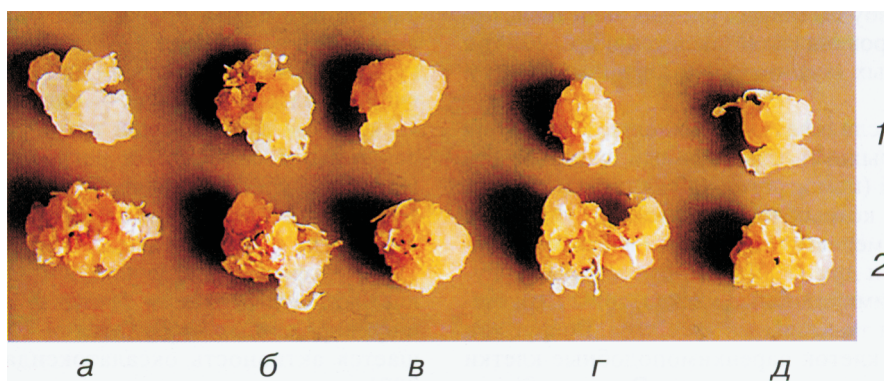


Рис. 1. Влияние бисола 2 и байтана в различных концентрациях на морфологию каллусов и развитие мицелия в совместных культурах каллусов пшеницы и возбудителя твердой головни; 20-е сут после инокуляции.

а — на среде МС (контроль); б—д — на среде МС, содержащей бисол 2 в концентрациях 10 (б) и 100 (в) мг/л и байтан в концентрациях 0.1 (з) и 1.0 (д) мг/л соответственно. 1 — неинфицированные, 2 — инфицированные каллусы. ПУ — плотные участки каллуса, Р — ризоиды.

Fig. 1. The influence of different concentrations of bisol 2 and baitan on callus morphology and the pattern of fungal mycelium development in combined cultures of wheat calluses and the bunt pathogen *Tilletia caries*; 20 days after pathogen inoculation.

а — control (MS medium); б, в — MS medium supplemented with either 10 or 100 mg/l bisol 2; з, д — MS medium supplemented with either 0.1 or 1.0 mg/l baitan. 1 — uninfected calluses, 2 — infected calluses. PV — dense sites, P — rhizoids.

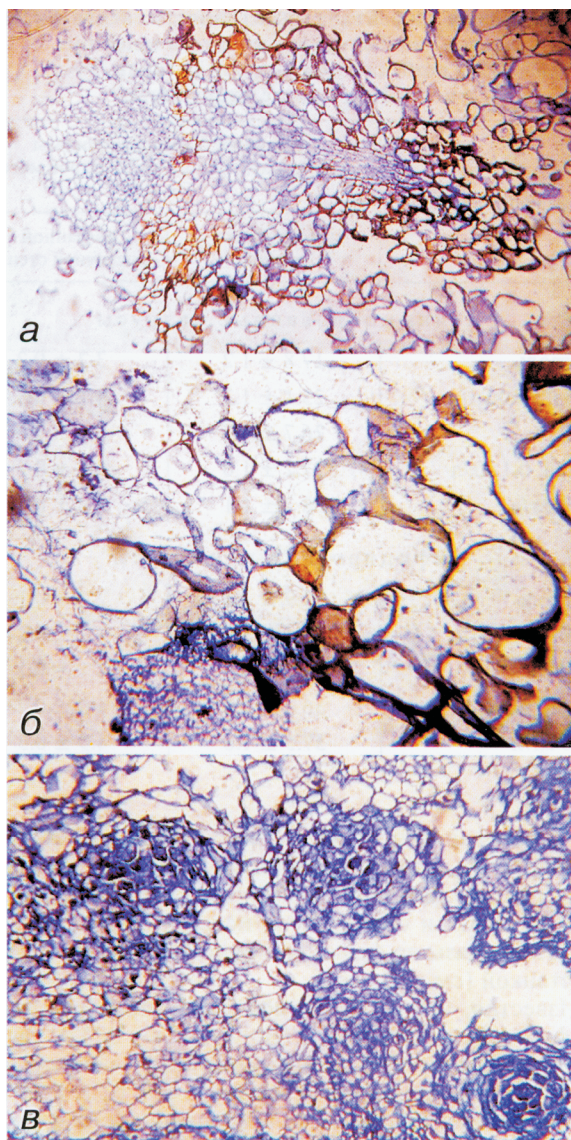


Рис. 2. Выявление продукции H_2O_2 в ризоидах (а), в паренхимоподобных клетках в зоне проникновения возбудителя твердой головни (б) и в меристемоподобных клетках (в) каллусов пшеницы с помощью окрашивания 3,3-диаминобензидином (ДАБ).

а — культивирование на среде МС, содержащей бисол 2 в концентрации 10 мг/мл; клетки по периферии ризидов окрашены ДАБ; б — среда МС, ДАБ-материал виден в апопласте и цитоплазме паренхимоподобных клеток; в — культивирование на среде МС, содержащей бисол 2 в концентрации 10 мг/мл, ДАБ-материала нет. 20 сут после инокуляции. Препараты окрашены метиленовым синим. Увел.: а, в — об. 25×, ок. 16×; б — об. 50×, ок. 16×.

Fig. 2. Detection of H_2O_2 in rhizoids (a), parenchyma-like cells in the area of *Tilletia caries* penetration (б), and meristem-like cells (в) of wheat calluses stained with diaminobenzidine (DAB).

а — DAB-stained cells around rhizoids, cultivation of the MS medium supplemented with 10 mg/l bisol 2; б — *Tilletia caries* invasion area, the MS medium, H_2O_2 is detected in the apoplast and in the cytoplasm of parenchyma-like cells; в — the absence of DAB-stained material in meristem-like cells, the MS medium supplemented with 10 mg/l bisol 2. 20 days after inoculation. Microscopic sections were stained with DAB and methylene blue. а, в — об. 25×, ок. 16×; б — об. 50×, ок. 16×.

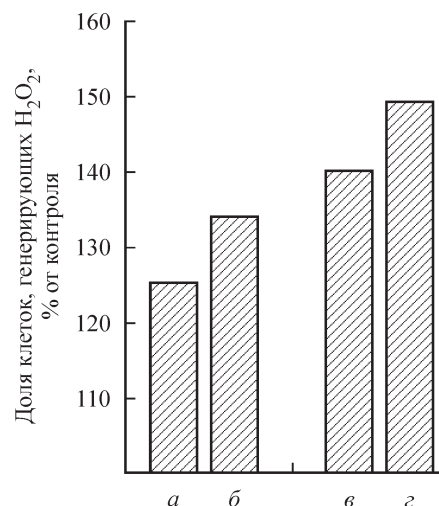


Рис. 3. Влияние бисола 2 (а, б) и байтана (в, г) в различных концентрациях на долю клеток, генерирующих H_2O_2 , в зоне проникновения возбудителя твердой головни; 20 сут после инокуляции.

Концентрации бисола 2 — 10 (а) или 100 (б) мг/мл, байтана — 0.1 (в) или 1.0 (г) мг/мл.

Fig. 3. The influence of different concentrations of bisol 2 and baitan on the number of parenchyma-like cells generating H_2O_2 in the area of *Tilletia caries*.

Axis X — concentrations of bisol — 10 mg/l (а), and 1000 mg/l (б), and baitan — 0.1 mg/l (в), and 1.0 mg/l (г). Axis Y — parenchyma-like cells generating H_2O_2 , %. 20 days after inoculation.

чивости растений — салициловой кислоты: под ее влиянием диаметр каллусов уменьшался, на каллусе появлялись структурированные участки (Упадышев, Гуськов, 1998).

Влияние бисола 2 и байтана на морфогенез каллусов пшеницы можно объяснить их способностью влиять на гормональный баланс каллусной ткани, так же как это показано для интактных растений. Установлено, что при разнообразных способах обработки растений бисолом 2 и фунгицидами триазолового ряда повышается содержание абсцизовой и индолилуксусной кислот (Джемилев и др., 1990; Чижова и др., 2005). Инициация морфогенеза каллусных культур пшеницы под влиянием абсцизовой кислоты показана ранее (Шаяхметов, 2004).

Инфицированные каллусы отличались от контрольных наличием единичных ризидов (рис. 1). Это, по-видимому, было связано со способностью возбудителя твердой головни к синтезу и секреции в растительные ткани индолилуксусной кислоты (Максимов и др., 2002). Интересно, что на инфицированных каллусах, растущих на средах с бисолом 2 и байтаном, число ризидов возрастало (рис. 1).

Прорастание спор гриба на каллусах, растущих на среде МС, происходило через 11 сут после их нанесения, а через 20 сут после инокуляции мицелий гриба равномерно покрывал до 25 % их поверхности (рис. 1). Присутствие в среде культивирования бисола 2 в концентрации 10 мг/л не влияло на сроки прорастания спор, однако в более высокой концентрации этот препарат и байтан в обеих концентрациях замедляли их прорастание в среднем на 3—4 сут. Это приводило к торможению роста мицелия на каллусах, а в варианте с байтаном в концентрации 1 мг/л — и к торможению роста каллуса (рис. 1).

При введении в среду культивирования бисола 2 и байтана (0.1 мг/л) гриб распространялся по поверхности каллусов фрагментарно, не заселяя плотные участки и ризоиды (рис. 1). В литературе отмечено медленное проникновение и распространение возбудителей фитофтороза на морфогенном каллусе картофеля (Low, Heinsteins, 1986) и ржавчины на каллусе пшеницы (Смирнова и др., 1996) по сравнению с неморфогенным.

На срезах каллусов мы исследовали число и локализацию клеток, генерирующих H_2O_2 с участием оксалаксоксидазы. В контроле генерацию H_2O_2 ни в паренхимоподобных, ни в меристемоподобных клетках не обнаруживали. В опытах с введением в среду культивирования каллусов бисола 2 и байтана продукция H_2O_2 выявлялась на поверхности ризоидов (50–60 %) (рис. 2, а).

В инфицированных каллусах мицелий гриба обнаруживали в межклетниках рыхло расположенных паренхимоподобных клеток (рис. 2, б) и не наблюдали в ризоидах и в меристемоподобных клетках, как это было показано ранее (Трошина и др., 2004а). Инфицирование не влияло на число продуцирующих H_2O_2 клеток ризоидов. Однако в зоне роста гриба, среди паренхимоподобных клеток, выявляли клетки (18 %), в цитоплазме и на поверхности которых регистрировали генерацию H_2O_2 . Бисол 2 и байтан вызывали увеличение их количества (рис. 3), большее при применении препаратов в более высокой концентрации. В меристемоподобных клетках как неинфицированных, так и инфицированных возбудителем твердой головни каллусов образования H_2O_2 с участием оксалаксоксидазы нами не выявлено (рис. 2, в), что соответствует данным об отсутствии экспрессии генов оксалаксоксидазы в меристематических клетках растений (Caliskan, Cumings, 1998). Таким образом, защитный ответ паренхимоподобных клеток каллусов мог быть обусловлен генерацией H_2O_2 , в том числе за счет активации оксалаксоксидазы, и, по-видимому, усиливался под влиянием бисола 2 и байтана. Вместе с тем образование под влиянием препаратов участков с плотно расположенными паренхимоподобными клетками уменьшало долю рыхло расположенных клеток каллуса, т. е. уменьшало число потенциально поражаемых клеток.

Результаты биохимического анализа показали, что под влиянием бисола 2 и байтана в каллусах пшеницы происходило повышение активности оксалаксоксидазы как в цитоплазматической, так и в связанной с клеточной стенкой фракциях фермента (см. таблицу). Инфицирование каллусов сопровождалось повышением активности оксалаксоксидазы в цитоплазматической фракции с 17.8 ± 1.2 и 23.9 ± 1.0 и снижением активности во фракции, связанной с клеточными стенками, с 3.2 ± 0.2 до 2.4 ± 0.1 усл. ед. на 1 г сырой массы (см. таблицу). Снижение активности фермента во фракции, ионно-связанной с клеточной стенкой, вероятно, происходит за счет перехода этой формы фермента в апопласт.

Введение в среду культивирования инфицированных каллусов бисола 2 и байтана приводило к индукции активности оксалаксоксидазы в обеих фракциях фермента, которая зависела от вида и концентрации препарата. Так, под воздействием бисола 2 в концентрации 100 мг/л активность оксалаксоксидазы в цитоплазматической и связанной с клеточными стенками фракциях фермента повышалась на 45 и 70 % относительно контроля, а в варианте опыта с использованием байтана в концентрации 1.0 мг/л — на 60 и 100 % соответственно.

Влияние бисола 2 и байтана на активность оксалаксоксидазы в совместной культуре каллусов пшеницы с возбудителем твердой головни через 20 сут после инокуляции

Вариант опыта	Активность оксалаксоксидазы во фракциях, усл. ед. на 1 г сырой массы, $\bar{x} \pm s_x$	
	цитоплазматической	связанной с клеточной стенкой
Неинфицированные каллусы		
Контроль	17.8 ± 1.2	3.2 ± 0.2
Бисол 2, 10 мг/л	25.1 ± 1.3	4.1 ± 0.3
100 мг/л	26.7 ± 1.3	4.8 ± 0.2
Байтан, 0.1 мг/л	27.2 ± 1.0	4.7 ± 0.2
1.0 мг/л	28.3 ± 1.1	5.0 ± 0.4
Инфицированные каллусы		
Контроль	23.9 ± 1.0	2.4 ± 0.1
Бисол 2, 10 мг/л	30.4 ± 1.7	3.7 ± 0.2
100 мг/л	35.2 ± 1.5	4.1 ± 0.1
Байтан, 0.1 мг/л	36.3 ± 1.6	4.6 ± 0.2
1.0 мг/л	37.5 ± 1.8	4.9 ± 0.3

На основании полученных результатов можно предположить, что возрастание количества клеток, генерирующих H_2O_2 в зоне инфицирования (рис. 3), вероятно, в большей степени обусловлено повышенной активацией оксалаксоксидазы во фракции, ионно-связанной с клеточной стенкой (см. таблицу).

Известно, что перекись водорода обладает прямым антифунгальным действием (Bolwell et al., 2002), является вторичным мессенджером в индукции защитных генов глюканазы в клеточной культуре сои (Cheong et al., 2000) и пероксидазы в растениях пшеницы (Baga et al., 1995), участвует в лигнификации (Chapple, Carpita, 1998), что в итоге приводит к локализации патогена. Вероятно, индукция активности оксалаксоксидазы, наблюдаемая под влиянием бисола 2 и байтана, особенно в области клеточной стенки, также способствует успешному развитию защитного ответа клеток каллусов пшеницы при инфицировании возбудителем твердой головни.

Таким образом, результаты экспериментов свидетельствуют о том, что введение в среду культивирования неморфогенных каллусов пшеницы бисола 2 и байтана инициировало образование плотных участков и ризоидов. Устойчивость ризоидов к патогену определялась наличием поверхностных клеток, генерирующих H_2O_2 . Среди рыхло расположенных паренхимоподобных клеток генерацию H_2O_2 выявляли только при инфицировании, в зонах роста гриба. Повышение защитного ответа этих клеток, появление плотных участков, усиление ризогенеза под влиянием бисола 2 и байтана было сопряжено с активацией оксалаксоксидазы в цитоплазматической и особенно в связанной с клеточными стенками фракции фермента.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты 05-04-48310, 05-04-97935 и 05-04-08063).

Список литературы

- Гамбург К. З., Рекославская Н. И., Швецов С. Г. 1990. Ауксины в культурах тканей и клеток растений. Новосибирск: Наука. 243 с.
- Джемилев У. М., Ямалеев А. М., Шакирова Ф. М., Трошина Н. Б., Яруллина Л. Г., Кудоярова Г. Р. 1990. О механизме действия бисола 2. Агрохимия. 9 : 121—128.
- Максимов И. В. 2005. Оксидоредуктазы и фитогормоны в регуляции устойчивости пшеницы к грибным патогенам: Автореф. докт. дис. Уфа, 48 с.
- Максимов И. В., Сурина О. Б., Сахабутдинова А. Р., Трошина Н. Б., Шакирова Ф. М. 2004. Изменение уровня фитогормонов в каллусах пшеницы под влиянием салициловой кислоты и инфицирования возбудителем твердой головни *Tilletia caries* (DC.) Tul. Физиол. раст. 51 (2) : 256—261.
- Максимов И. В., Трошина Н. Б., Хайруллин Р. М., Сурина О. Б., Ганиев Р. М. 2002. Влияние твердой головни на рост проростков и каллусов пшеницы. Физиол. раст. 49 (5) : 767—772.
- Николаев О. Н., Аверьянов А. А. 1991. Участие супероксидного радикала в механизме фунгицидного действия фталида и пробеназола. Физиол. раст. 38 (3) : 512—520.
- Смирнова Т. В., Плотникова Ю. М., Молканова О. И. 1996. Влияние физиологического состояния каллусов на развитие ржавчинных грибов. Физиол. раст. 43 (5) : 685—691.
- Тарчевский И. А. 2002. Сигнальные системы растений. М.: Наука. 294 с.
- Трошина Н. Б., Максимов И. В., Яруллина Л. Г., Сурина О. Б., Черепанова Е. А. 2004а. Индукторы устойчивости растений и активные формы кислорода. I. Влияние салициловой кислоты на генерацию перекиси водорода в клетках каллусов пшеницы при инфицировании возбудителем твердой головни. Цитология. 46 (11) : 1001—1005.
- Трошина Н. Б., Максимов И. В., Яруллина Л. Г., Сурина О. Б., Черепанова Е. А. 2004б. Индукторы устойчивости растений и активные формы кислорода. II. Влияние хитоолигосахаридов на продукцию перекиси водорода с участием оксалаксоксидазы в совместных культурах каллусов пшеницы и возбудителя твердой головни. Цитология. 46 (11) : 1006—1010.
- Упадышев М. Г., Гуськов А. В. 1998. Салициловая кислота как регулятор ризогенеза у плодовых и ягодных культур in vitro. С.-х. биол. 5 : 63—68.
- Чижова С. И., Павлова В. В., Прусакова Л. Д. 2005. Содержание абсцизовой кислоты и рост растений ярового ячменя под действием триазолов. Физиол. раст. 52 (1) : 108—114.
- Шаяхметов И. Ф. 2004. Роль лектина пшеницы и абсцизовой кислоты в регенерации растений. Успехи соврем. биол. 124 (6) : 602—611.
- Шеин И. В., Полякова Г. Г., Зражевская Г. К., Пашенова Н. В., Ветров В. П. 2001. Накопление фенольных соединений каллусными культурами хвойных как реакция на грибы синевы древесины. Физиол. раст. 48 (2) : 251—256.
- Яруллина Л. Г., Трошина Н. Б., Исаев Р. Ф., Ганиев Р. М., Хайруллин Р. М. 2001. Новые аспекты в изучении механизмов действия индукторов устойчивости пшеницы к твердой головне. Агрохимия. 5 : 63—66.
- Baga M., Chibbar R. N., Kartha K. K. 1995. Molecular cloning and expression analysis of peroxidase genes from wheat. Plant Mol. Biol. 29 : 647—662.
- Berna A., Bernier F. 1999. Regulation by biotic and abiotic stress of a wheat germin gene encoding oxalate oxidase, a H₂O₂-producing enzyme. Plant Mol. Biol. 39 : 539—549.
- Bolwell G. P., Bindschedler L. V., Blee K. A., Butt V. S., Davies D. R., Gardner S. L., Gerrish C., Minibayeva F. 2002. The apoplastic oxidative burst in response to biotic stress in plants: a three-component system. J. Exp. Bot. 53 : 1367—1376.
- Caliskan M., Cuming A. C. 1998. Spatial specificity of H₂O₂-generating oxalate oxidase gene expression during wheat embryo germination. Plant J. 15 : 165—171.
- Chapple C., Carpita N. 1998. Plant cell walls as targets for biotechnology. Curr. Opin. Plant Biol. 1 : 179—185.
- Cheong Y. H., Kim C. Y., Chun H. J. 2000. Molecular cloning of a soybean class III β -1,3-glucanase gene that is regulated both developmentally and in response to pathogen infection. Plant Sci. 154 : 71—81.
- Darr D., Fridovich I. 1986. Irreversible inactivation of catalase by 3-amino-1,2,4-triazole. Biochem. Pharmacol. 35 : 3642—3646.
- Fletcher R. A., Hofstra G. 1987. Triazoles as plant stress protectants. Highlights Agr. Res. 10 : 12—14.
- Low P., Heinsteins P. F. 1986. Elicitor stimulation of the defence response in cultural plant cell monitored by fluorescent dyes. Arch. Biochem. Biophys. 242 : 472—479.
- Medeghini B. P., Lorenzini G., Baruni F. R., Nali C., Sgarbi E. 1994. Cytochemical detection of cell wall bound peroxidase in rust infected broad bean leaves. J. Phytopathol. 140 : 319—325.
- Vulevich M., Sukalovich V. H. 2000. Characterization of cell wall oxalate oxidase from maize roots. Plant Sci. 157 : 257—263.

Поступила 12 V 2005

PLANT RESISTANCE INDUCTORS AND ACTIVE FORMS OF OXYGEN.
III. THE INFLUENCE OF BISOL 2 AND BAITAN ON MORPHOGENESIS
AND DEFENCE RESPONSE OF WHEAT NON-MORPHOGENIC CALLUS CELLS INFECTED
WITH BUNT AGENT

N. B. Troshina, L. G. Yarullina, O. B. Surina, I. V. Maksimov

Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Research Center RAS;
e-mail: phyto@anrb.ru

A study was made of the influence of bisol 2 and baitan compounds on morphogenesis and defence response of wheat callus cells infected with bunt agent in associated with oxalate oxidase activation. After introduction of bisol and baitan into cultivation medium, dense area with meristematic zones, germs of shoots and rhizoids appeared on non-morphogenic calluses, which correlated with enzyme activation. Parenchyma-like cells, generating hydrogen peroxide, were seen in the site of pathogen penetration under infestation, but were never revealed in control. Generation of hydrogen peroxide in the site of infection was accompanied with an increased oxalate oxidase activity in the cytoplasmic fraction, and with suppression of this activity in a fraction bound to the cell wall. Both compounds induced oxalate oxidase activity under combined cultivation of wheat calluses with bunt agent.

Key words: wheat, callus, bunt pathogen, bisol 2, baitan, oxalate oxidase.