

УДК 632.952:632.4:633.11

## ВЛИЯНИЕ 3-АМИНО-1,2,4-ТРИАЗОЛА НА ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ МУЧНИСТОЙ РОСЫ НА РАСТЕНИЯХ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ<sup>1</sup>

© 2022 г. Г. А. Аветисян<sup>1,\*</sup>, Т. В. Аветисян<sup>1</sup><sup>1</sup>Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина РАН  
127276 Москва, ул. Ботаническая, 4, Россия

\*E-mail: avetisyang@yandex.ru

Поступила в редакцию 12.01.2022 г.

После доработки 03.02.2022 г.

Принята к публикации 15.03.2022 г.

Исследовали влияние 3-амино-1,2,4-триазола (3-АТА) в листьях мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L., пораженных возбудителем мучнистой росы *Blumeria graminis* (DC.) Speer. Под влиянием 10 мМ и 20 мМ водного раствора 3-АТА наблюдали полное ингибирование развития колоний на поверхности листьев пшеницы. Обработка растений пшеницы 3-АТА в концентрации 1 мМ подавляла развитие колоний на 30–40, 4 мМ и 6 мМ – на 40–50% относительно контроля. При действии 3-АТА в концентрации 4 мМ и 6 мМ наблюдали увеличение количества конидий с аномальной дифференциацией инфекционных структур. Вероятно, что ингибирующее действие 3-АТА на рост *B. graminis* связано с увеличением содержания активных форм кислорода (АФК), т.к. на начальных этапах инфекции повышенное содержание АФК в тканях растения определяет дальнейшие взаимоотношения между патогеном и растением и стимулирует формирование защитных реакций растения.

**Ключевые слова:** мягкая пшеница, возбудитель мучнистой росы, 3-амино-1,2,4-триазол, инфекционные структуры, пустулы, ингибирование.

DOI: 10.31857/S0002188122060035

### ВВЕДЕНИЕ

Одно из направлений повышения общей продуктивности сельскохозяйственных растений относится к использованию агротехнических приемов, приводящих к выработке защитных реакций иммунитета растений. Триазолы – группа соединений, широко используемых в сельском хозяйстве в качестве фунгицидов, обладающих высокой физиологической активностью: они ингибируют рост стебля, стимулируют рост корней, увеличивают продуктивность и устойчивость к стрессам и патогенам [1]. Триазолы способны оказывать влияние также на содержание абсцизовой кислоты [2], являющейся стрессовым гормоном растений [3], что может объяснить воздействие этих соединений на адаптацию растений к различным типам стрессов. Изучая механизм действия триазолиевых соединений, показали, что соединения триазола используют как для предпосевной обработки семян, так и для обработки вегетирующих растений [4].

Известно, что под влиянием инфекции, вызванной облигатным патогеном, в растении происходят значительные изменения и нарушения физиолого-биохимических процессов. Мучнисторосяные грибы, попадая на ткани растения пшеницы, усиливают синтез активных форм кислорода (АФК). Образование АФК в токсических концентрациях ведет к окислительному взрыву и вызывает реакцию сверхчувствительности [5–7]. Сверхчувствительный отклик растения сопровождается модификацией клеточной стенки, накоплением *PR*-белков, фитоалексинов и фенольных соединений. Такая реакция в тканях растения на заражение мучнисторосяным грибом приводит к ослаблению и ингибированию патогена. Было показано, что пероксид водорода, образованный в листьях ячменя, инфицированных *E. graminis* f. sp. *hordei*, включался в процесс перекрестной сшивки белков клеточной стенки растения-хозяина, что значительно утолщало клеточную стенку и создавало барьер от проникновения гриба [8].

Наибольший интерес среди соединений триазола привлекает 3-амино-1,2,4-триазол (3-АТА) –

<sup>1</sup> Работа выполнена в рамках госзадания ГБС РАН № 118021490111-5.

**Таблица 1.** Влияние обработки 3-амино-1,2,4-триазолом на поверхностную плотность колоний возбудителя мучнистой росы на листьях растений пшеницы (суммарное число колоний, шт./см<sup>2</sup>)

Концентрация 3-АТА, мМ	Число колоний <i>B. graminis</i>	
	шт./см <sup>2</sup>	% от контроля
0	5.9 ± 2.1	100
1	3.5 ± 2.1	36.8
4	4.1 ± 1.0	43.2
6	4.2 ± 1.9	44.2
10	0	0
20	0	0

ингибитор ферментов пероксидазы и каталазы, способствующий увеличению уровня содержания эндогенного пероксида водорода в растении [9–11]. Показано, что обработка 3-АТА, паракватом или холодной стресс оказывали сходное влияние на содержание пероксида водорода в листьях пшеницы [12]. Фунгицидность производных триазола для прорастающих спор грибов связана в основном с их влиянием на метаболизм стеролов [13].

Цель работы – изучение влияния обработки 3-АТА на пораженные мучнисторосяным патогеном растения мягкой пшеницы и на жизнеспособность конидий возбудителя мучнистой росы.

## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами исследования были растения мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. сорта Заря и возбудитель мучнистой росы пшеницы *Blumeria graminis* (DC.) Speer. Семена растений пшеницы были получены из отдела отдаленной гибридизации ГБС РАН.

Растения пшеницы выращивали в горшках, содержащих почву и торф, при естественном освещении. При заражении растений конидии возбудителя мучнистой росы *B. graminis* f. sp. *tritici* стряхивали с больного растения на инокулируемое, стараясь равномерно распределить инокулюм по поверхности листьев пшеницы.

В работе использовали 3-амино-1,2,4-триазол (3-АТА), системный фунгицид, обладающий профилактическим и защитным действием, повышающий устойчивость растений к различным стрессам [14]. Инфицированные отделенные листья 10–12-суточных проростков пшеницы помещали в чашки Петри и обрабатывали водным раствором 3-АТА в концентрациях 1 мМ, 4 мМ, 6 мМ, 10 мМ, 20 мМ. Контролем служила обработка отделенных инфицированных листьев пшеницы

дистиллированной водой. В опытных вариантах использовали 10–20 листьев пшеницы, в контроле – 20–30 листьев.

Влияние 3-АТА на особенности взаимоотношений растения пшеницы и возбудителя мучнистой росы пшеницы, а также на прорастание и жизнеспособность конидий мучнисторосяного патогена на поверхности покровной ткани листьев пшеницы оценивали с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). Препараты с образцами листовой ткани без химической фиксации просматривали с помощью сканирующего электронного микроскопа LEO-1430 VP (Carl Zeiss, Германия) в условиях высокого вакуума при –30°C с применением замораживающей приставки Deben UK (Великобритания). Поверхностную плотность колоний возбудителя мучнистой росы изучали на отрезках листьев пшеницы площадью 1 см<sup>2</sup> каждый на 5–6-е сут после инфицирования с помощью бинокулярной лупы.

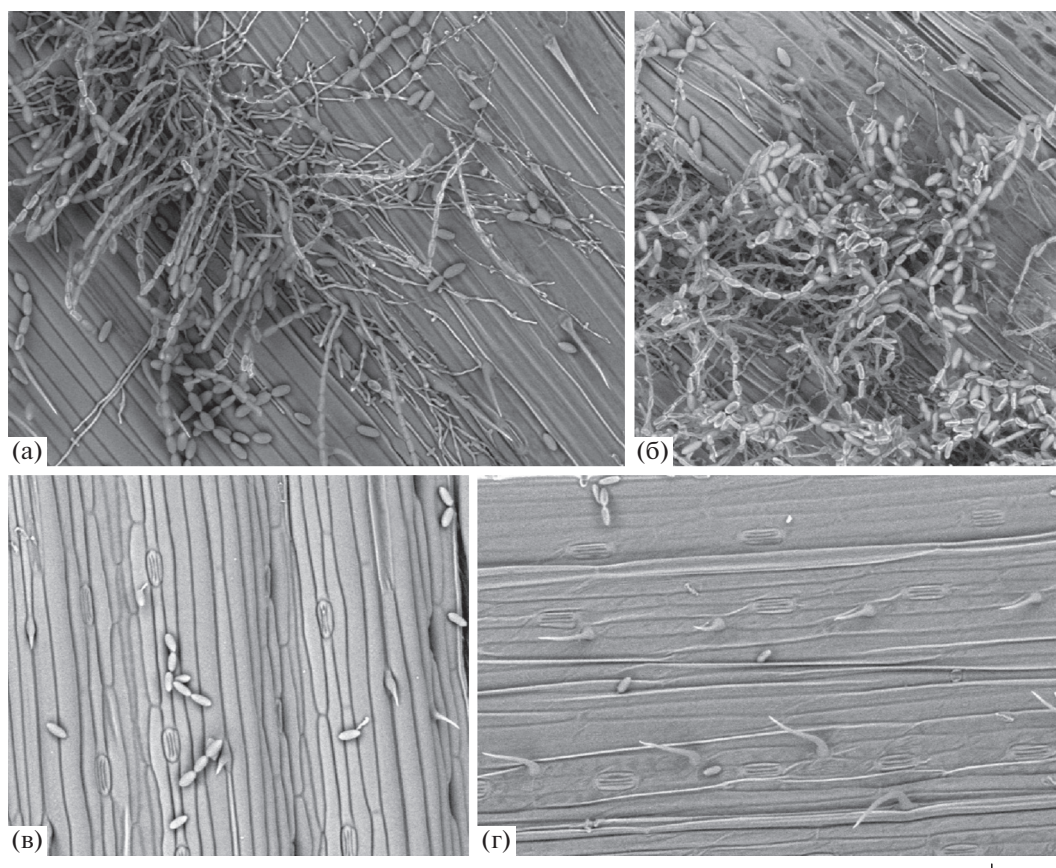
В таблицах приведены средние арифметические и их стандартные ошибки.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Наблюдения показали интенсивное развитие колоний *B. graminis* в контрольном варианте (рис. 1 а), обработка раствором 3-АТА в концентрациях 10 мМ и 20 мМ приводила к полному ингибированию развития колоний на поверхности листьев пшеницы (рис. 1 в, г). Небольшая часть конидий патогена при концентрации 10 мМ 3-АТА образовывала ростковые трубки, но, как правило, дальнейшее развитие гриба прекращалось. Большая часть конидий при концентрациях 10 мМ и 20 мМ 3-АТА отслаивалась от поверхности листа пшеницы или не прорастала.

Анализ состояния конидиального инокулюма *B. graminis* показал, что обработка растений пшеницы 3-АТА в концентрации 1 мМ подавляла развитие колоний на 30–40%, 4 мМ и 6 мМ – на 40–50% относительно контроля (табл. 1). Наблюдали ингибирование начальных этапов развития мучнистой росы на листьях пшеницы под влиянием 1 мМ, 4 мМ и 6 мМ 3-АТА и более слабую степень проявления визуальных симптомов поражения пшеницы мучнистой росой.

При действии 3-АТА в концентрации 4 мМ и 6 мМ отмечено увеличение количества конидий с аномальной дифференциацией инфекционных структур. Нарушения проявлялись в увеличении размеров ростковых трубок и аппрессориев (рис. 2 в, г), образовании нескольких коротких ростковых трубок (рис. 2 б, в, д). На поверхности листьев проростков пшеницы, не обработанных 3-АТА,



**Рис. 1.** Влияние 3-АТА на развитие *Blumeria graminis* на поверхности листьев растений пшеницы (СЭМ, 72 ч после инфицирования): (а) – контроль, (б) – 1 мМ 3-АТА, (в) – 10 мМ 3-АТА, (г) – 20 мМ 3-АТА. Масштабный отрезок равен 100 мкм.

не отмечено аномального прорастания конидий возбудителя мучнистой росы (рис. 2 а), после проникновения патогена в покровную ткань листьев начинался интенсивный рост гиф мицелия и его распространение по поверхности листа.

Показано, что все испытанные концентрации 3-АТА заметно подавляли развитие мучнисторосяного гриба, с увеличением концентрации ингибирующий эффект возрастал и при концентрации 20 мМ фунгицид полностью подавлял развитие патогена. Наблюдения над особенностями прорастания конидий возбудителя мучнистой росы показали, что различия между опытными вариантами и контролем были обусловлены разным числом пустул на единицу площади листовой поверхности. Под действием концентраций 1 мМ, 4 мМ и 6 мМ 3-АТА достоверно снижался рост и развитие инфекционных структур мучнисторосяного патогена, вызывая различные аномалии в морфологии ростковых трубок. Можно утверждать, что степень пораженности мучнистой росой листьев пшеницы была больше у необработанных 3-АТА листьев, т.к. исследованное веще-

ство ингибировало развитие гриба на стадии образования аппрессориев и внедрения инфекционных гиф в эпидермальные клетки пшеницы.

Характер патогенеза мучнистой росы злаков в значительной степени зависит от окислительного метаболизма [15]. Обнаружено, что накопление АФК происходит в эпидермальных клетках растения в местах непосредственного взаимодействия растения и патогена [16]. В ряде работ описано, что обработка растений соединениями триазола приводила к подавлению нарастания инфекции и накоплению АФК в высоких концентрациях. Это согласовалось с полученными данными, что воздействие АФК в области инфекции может быть причиной аномального развития патогена и его неспособности к дальнейшему развитию на растениях пшеницы. Действие 3-АТА в исследованных концентрациях способствовало удлинению ростковых трубок и нарушению дифференциации инфекционных структур, что было результатом проявления активной защитной реакции растений. Однако следует отметить, что все же небольшая часть конидий на поверхности листьев

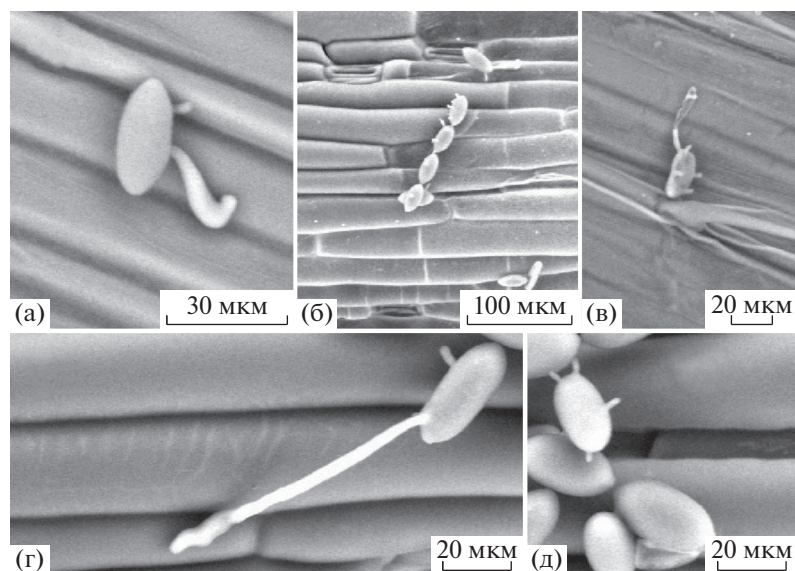


Рис. 2. Прорастание конидий *Blumeria graminis* на поверхности листьев растений пшеницы через 48 ч после инфицирования: (а) — контроль, (б), (в) — 4 мМ 3-АТА, (г), (д) — 6 мМ 3-АТА.

пшеницы формировала нормальные инфекционные структуры, которые проникали в клетку растения и развивали мицелий. При этом визуально пустулы имели разреженный характер, что свидетельствовало о вялотекущем спороношении и снижении инфицирующей способности патогена.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, обработка 3-амино-1,2,4-триазолом (3-АТА) растений мягкой пшеницы ингибировала развитие возбудителя мучнистой росы, что проявлялось в снижении количества прорастающих конидий в сравнении с необработанными растениями. Также прорастание большинства конидий мучнисторосяного гриба претерпевало изменения в дифференциации инфекционных структур, что приводило к существенному сокращению числа колоний патогена. На основании полученных нами и литературных данных можно заключить, что ингибирующее действие 3-АТА на рост *B. graminis* могло быть связано с увеличением содержания АФК. Это утверждение нуждается в проверке в дальнейших исследованиях.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Davies T.D., Steffens G.L., Sankhla N. Triazole plant growth regulators // *Horticult. Rev.* 1988. V. 10. P. 63–105.
2. Kraus T.E., Fletcher R.A. Paclobutrazol protects wheat seedlings from heat and paraquat injury is detoxification of active oxygen involved? // *Plant Cell Physiol.* 1994. V. 35. P. 45–52.
3. Тарчевский И.А. Сигнальные системы клеток растений. М.: Наука, 2002. 294 с.
4. Чижова С.И., Павлова В.В., Прусакова Л.Д. Содержание абсцизовой кислоты и рост растений ярового ячменя под действием триазолов // *Физиология растений.* 2005. Т. 52. С. 108–114.
5. Vanacker H., Carver T.L.W., Foyer C.H. Early H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accumulation in mesophyll cells leads to induction of glutathione during the hyper-sensitive response in the barley-powdery mildew interaction // *Plant Physiol.* 2000. V. 123. № 4. P. 1289–1300.
6. Trujillo M., Altschmied L., Schweizer P., Kogel K.-H., Hückelhoven R. Respiratory burst oxidase homologue A of barley contributes to penetration by the powdery mildew fungus *Blumeria graminis* f. sp. hordei // *J. Exp. Bot.* 2006. V. 57. № 14. P. 3781–3791.
7. Дьяков Ю.Т., Озерецковская О.Л., Джавахия В.Г., Багирова С.Ф. Общая и молекулярная фитопатология. М.: Общ-во фитопатологов, 2001. 301 с.
8. Shetty N.P., Lyngs Jørgensen H.J., Jensen J.D., Collinge D.B., Shetty H.S. Roles of reactive oxygen species in interactions between plants and pathogens // *Europ. J. Plant Pathol.* 2008. V. 121. № 3. P. 267–280.
9. Asada K. The role of ascorbate peroxidase and monodehydroascorbate reductase in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> scavenging in plants // *Oxidative stress and the molecular biology of antioxidant defences* // Ed. Scandalios J.G. N.Y.: Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, 1997. P. 715–735.
10. Willeken H., Chamnongpol S., Davey M., Schraudner M., Langebartels C., Van Montagu M., Inz D., Van Camp W. Catalase is a sink for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and is indispensable for defence in C<sub>3</sub>-plants // *EMBO J.* 1997. V. 16. № 16. P. 4806–4816.
11. Perez F.J., Rubio S.N. An improved chemiluminescence method for hydrogen peroxide determination in plant

- tissues // *Plant Growth Regul.* 2006. V. 48. № 1. P. 89–95.
12. Okuda T., Matsuda Y., Sugawara M., Sagisaka S. Metabolic response to treatment with cold, paraquat, or 3-amino-1,2,4-triazole in leaves of winter wheat // *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 1992. V. 56. № 12. P. 1911–1915.
  13. Maffi D., Cozzi F., Violini G., Bassi M., Conti G.G. Ultrastructural studies of the effects of tetraconazole on the barley-powdery mildew host pathogen complex // *Mycolog. Res.* 1995. V. 99. № 7. P. 799–805.
  14. Ferguson I.B., Dunning S.J. Effect of 3-amino-1, 2, 4-triazole, a catalase inhibitor, on peroxide content of suspension-cultured pear fruit cells // *Plant Sci.* 1986. V. 43. № 1. P. 7–11.
  15. Zhou F., Zhang Z., Gregersen P.L., Mikkelsen J.D., De Neergaard E., Collinge D.B., Thordal-Christensen H. Molecular characterization of the oxalate oxidase involved in the response of barley to the powdery mildew fungus // *Plant Physiol.* 1998. V. 117. № 1. P. 33–41.
  16. Hückelhoven R., Dechert C., Kogel K.-H. From the cover: Overexpression of barley BAX inhibitor 1 induces breakdown of mlo-mediated penetration resistance to *Blumeria graminis* // *PNAS.* 2003. V. 100. № 9. P. 5555–5560.

## Influence of 3-Amino-1,2,4-triazole on Features of Powdery Mildew Development on Soft Wheat

G. A. Avetisyan<sup>a,#</sup> and T. V. Avetisyan<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*N.V. Tsitsin Main Botanical Garden of RAS  
Botanicheskaya ul. 4, Moscow 127276, Russian*

<sup>#</sup>*E-mail: avetisyang@yandex.ru*

The effect of 3-amino-1,2,4-triazole (3-ATA) in the leaves of soft wheat *Triticum aestivum* L. affected by the causative agent of powdery mildew *Blumeria graminis* (DC.) Speer was investigated. Under the influence of 10 mM and 20 mM aqueous solution of 3-ATA, complete inhibition of colony development on the surface of wheat leaves was observed. Treatment of 3-ATA wheat plants at a concentration of 1 mM suppressed the development of colonies by 30–40, 4 mM and 6 mM – by 40–50% relative to the control. Under the action of 3-ATA in concentrations of 4 mM and 6 mM, an increase in the number of conidia with abnormal differentiation of infectious structures was observed. It is likely that the inhibitory effect of 3-ATA on the growth of *B. graminis* is associated with an increase in the content of reactive oxygen species (ROS), because at the initial stages of infection, an increased content of ROS in plant tissues determines the further relationship between the pathogen and the plant and stimulates the formation of protective reactions of the plant.

*Key words:* soft wheat, powdery mildew pathogen, 3-amino-1,2,4-triazole, infectious structures, pustules, inhibition.