

doi 10.18699/vjgb-25-127

Влияние биопестицида Новохизоль на экспрессию генов защиты при заражении пшеницы стеблевой ржавчиной *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*

А.Б. Щербань  , А.В. Разуваева  , Е.С. Сколовцева  , В.В. Фоменко  

¹ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
² Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия
 atos@bionet.nsc.ru

Аннотация. Стеблевая ржавчина, вызываемая грибом *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* (*Pgt*), является вредоносным заболеванием, поражающим посевы зерновых культур. Традиционный способ борьбы с этим и другими инфекционными болезнями растений – использование химических средств защиты. В качестве их эффективной и безопасной альтернативы все чаще рассматриваются биопестициды, а также индукторы болезнеустойчивости растений, в частности на основе хитозана, производного хитина. Недавно разработана глобуллярная форма хитозана – Новохизоль, имеющая ряд преимуществ и показавшая свою эффективность в предварительных полевых и лабораторных экспериментах. Однако в настоящее время отсутствуют работы, посвященные влиянию данного препарата на экспрессию генов защиты. Поэтому целью данной работы стали поиск генов, принимающих участие в реакции растений мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. на заражение стеблевой ржавчиной, и оценка влияния обработки препаратом Новохизоль на их транскрипцию в ходе инфекционного процесса. В качестве модели были задействованы линии пшеницы с геном устойчивости к стеблевой ржавчине *Sr6* и два отобранных изолятов *Pgt* для этой линии: анирулентный (*Avr6*) и вирулентный (*vr6*), позволяющие сопоставить эффекты препарата Новохизоль в зависимости от генетической совместимости в патосистеме растение–патоген. Для анализа уровня транскрипции генов защиты использовали листовой материал в различных временных точках, от 3 до 144 ч после инокуляции растений патогеном. Количественный ПЦР-анализ показал повышение уровня транскрипции генов *CERK1*, *PR3*, *PR4*, *PR5*, *PR6* и *PR9* у растений, обработанных изучаемым биопестицидом и инфицированных различными изолятами *Pgt*, по сравнению с необработанными инфицированными растениями. Полученные данные подтверждают, что одна из оптимальных стратегий повышения устойчивости зерновых культур к грибным патогенам с точки зрения экологической безопасности – сочетание методов селекции по генам специфической устойчивости с применением биологических средств защиты.

Ключевые слова: биопестицид; хитозан; Новохизоль; гены защиты; стеблевая ржавчина; транскрипция; мягкая пшеница

Для цитирования: Щербань А.Б., Разуваева А.В., Сколовцева Е.С., Фоменко В.В. Влияние биопестицида Новохизоль на экспрессию генов защиты при заражении пшеницы стеблевой ржавчиной *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2025;29(8):1203-1212. doi 10.18699/vjgb-25-127

Финансирование. Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 23-16-00119.

Благодарности. Выращивание растений с последующей обработкой препаратами и заражением проводилось в Центре коллективного пользования репродукции растений ИЦИГ СО РАН при поддержке бюджетного проекта FWNR-2022-0017.

Effect of the biopesticide Novochizol on the expression of defense genes during wheat infection with stem rust *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*

А.Б. Shcherban  , A.V. Razuvaeva  , E.S. Skolotneva  , V.V. Fomenko  

¹ Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

² N.N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

 atos@bionet.nsc.ru

Abstract. Stem rust, caused by the fungus *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* (*Pgt*), is a harmful disease affecting grain crops. The traditional way to combat this and other infectious plant diseases is to use chemical pesticides. Biopesticides, as well as plant disease resistance inducers – in particular those based on chitosan, a derivative of chitin – are increasingly being considered as an effective and safe alternative. Recently, a globular form of chitosan, Novochizol, has been developed, which has a number of advantages and has shown its effectiveness in preliminary field and laboratory experiments. However, there are no works devoted to the effect of this preparation on the expression of defense genes. Therefore, the aim of this work was to search for genes involved in the response of common wheat (*Triticum aestivum* L.) to stem

rust infection and to evaluate the effect of Novochizol treatment on their transcription during the infection process. The wheat line ISr6-Ra with the stem rust resistance gene *Sr6* and two *Pgt* isolates – an avirulent one, *Avr6*, and a virulent one, *vr6* – were used as a model, allowing us to compare the effects of Novochizol depending on the genetic compatibility in the plant–pathogen pathosystem. To analyze the transcription level of defense genes, leaf material was collected at different time points from 3 to 144 h after inoculation of plants with the pathogen. Quantitative PCR analysis showed an increase in the transcription levels of the *CERK1*, *PR3*, *PR4*, *PR5*, *PR6* and *PR9* genes in plants treated with Novochizol and infected with various *Pgt* isolates compared to untreated infected plants. *Pgt* isolate *Avr6* induced the highest expression of some defense genes (primarily *CERK1*), which is consistent with the phytopathology data showing the maximum degree of resistance (IT1) to stem rust in Novochizol-treated plants with a combination of *Sr6*–*Avr6* genes. The data obtained confirm that one of the optimal strategies for increasing the resistance of grain crops to fungal pathogens is a combination of selection for specific resistance genes with the use of biological control agents.

Key words: biopesticide; chitosan; Novochizol; defense genes; stem rust, transcription; common wheat

For citation: Shcherban A.B., Razuvaeva A.V., Skolotneva E.S., Fomenko V.V. Effect of the biopesticide Novochizol on the expression of defense genes during wheat infection with stem rust *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektii = Vavilov J Genet Breed.* 2025;29(8):1203-1212. doi 10.18699/vjgb-25-127

Введение

Мягкая пшеница *Triticum aestivum* L. является самой востребованной и крупнейшей по посевным площадям зерновой культурой. Одна из основных проблем ее возделывания – это снижение ее урожайности из-за болезней, вызываемых различными патогенами, особенно грибами (Hafeez et al., 2021). Почти 90 % мировых посевных площадей пшеницы подвержено риску поражения хотя бы одним грибным заболеванием (Chai et al., 2022). К числу наиболее опасных относятся листостебельные болезни, которые сокращают ассимиляционную поверхность листьев, разрушают хлорофилл, что приводит к снижению фотосинтеза, преждевременному старению и отмиранию тканей растений. Потери урожая при этом могут составлять от 20 до 70 %. Нередко такие грибные инфекции принимают форму эпифитотий. Так, с начала 2000 г. заболеваемость посевов пшеницы стеблевой ржавчиной на территории Европы резко возросла и продолжает расти (Patpour et al., 2022). В РФ периодически наблюдаются эпифитотии стеблевой и бурой ржавчин, септориоза, мучнистой росы (Санин, 2012).

В ответ на атаки патогенов растения выработали сложную иммунную систему, включающую различные уровни защиты. Восприятие молекулярных паттернов, связанных с патогеном (pathogen-associated molecular patterns, PAMP), мембранными паттерн-распознающими рецепторами (pattern recognition receptors, PRR) приводит к PAMP-индукируемому иммунитету (PAMP-triggered immunity, PTI) (Bigeard et al., 2015). В попытке преодолеть этот уровень защиты патоген секретирует специфичные эффекторы авирulentности (продукты генов *Avr*), подавляющие PTI, что способствует дальнейшему развитию заболевания. В связи с этим растения выработали следующий, специфический уровень защиты, основанный на внутриклеточном распознавании эффекторов NOD-подобными рецепторами (NOD-like receptors, NLR), продуктами *R*-генов растений. Этот защитный механизм, запускаемый эффекторами (effector-triggered immunity, ETI), часто приводит к запрограммированной гибели клеток в инфицированной ткани или реакции сверхчувствительности (СВЧ), создающей барьер для распространения патогена (Jones, Dangl, 2006; Bent, Mackey, 2007).

Показано, что PTI и ETI тесно взаимосвязаны и совместно обеспечивают системную устойчивость к забо-

леванию (Ngou et al., 2021). Эта устойчивость основана на активации ряда сигнальных каскадов, в том числе гормональных, которые контролируются такими гормонами, как салициловая, жасмоновая и абсцисовая кислоты, этилен и другие, в зависимости от типа питания патогена: биотрофного, гемибиотрофного или некротрофного (Jones, Dangl, 2006).

Контролируемый салицилатами каскад, характерный для реакции против биотрофных патогенов, включая возбудителя стеблевой ржавчины *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* (*Pgt*), приводит к накоплению активных форм кислорода (АФК) – окислительному взрыву, который провоцирует СВЧ, синтез фенольных веществ и специфических защитных PR (pathogenesis-related) белков (Tada et al., 2008; Ding et al., 2018).

Белки PR – важнейшие факторы в механизмах устойчивости растений. Они участвуют в сигнальных системах, катализируя образование гормонов, укрепляют клеточные стенки растений, способны вызывать повреждение клеточных стенок и цитоплазматических мембран патогенов (Тарчевский, 2002). Белки PR делятся на 17 семейств (PR1–PR17) (Van Loon, Van Strien, 1999; Sels et al., 2008). Многие из них являются гидролазами. Так, белки семейства PR2 – это β -1,3-эндоглюканазы, они накапливаются вокруг места заражения, проявляя fungicidную активность. Белки семейств PR3, PR4, PR8 и PR11 обладают эндохитиназной активностью и способны разрушать клеточную стенку грибов; их пул увеличивается при заражении. Представители семейств PR7, PR8, PR9 и PR10 проявляют протеиназную, лизоцимную, пероксидазную и рибонуклеазную активности соответственно. Белки семейства PR6 – ингибиторы протеиназ, которые подавляют протеолитические ферменты, выделяемые патогенами для проникновения в ткани растений. Активность других белков PR связана с увеличением проницаемости мембран (семейства PR5, PR12, PR13, PR14), а также с накоплением перекиси водорода (семейства PR15 и PR16); синтез этих белков значительно усиливается при обработке элиситорами (Van Loon, Van Strien, 1999; Scherer et al., 2005; Van Loon et al., 2006).

Одна из общепризнанных долговременных стратегий защиты растений от патогенов основана на генетической защите с использованием *R*-генов – индукторов ETI (см. выше). Каталог генов Международного симпозиума по

генетике пшеницы содержит около 58 генов устойчивости к стеблевой ржавчине (*Sr*), идентифицированных у пшеницы (McIntosh et al., 2011). Большинство из них, например, *Sr25*, *Sr26*, *Sr31*, *Sr35*, *Sr38*, *Sr39*, *Sr44*, *Sr45*, обеспечивают специфические механизмы устойчивости, включающие СВЧ и экспрессию белков PR. Однако появление новых рас патогенов и преодоление ими устойчивости у сортов увеличивают потери от болезней. Поэтому дополнительная линия защиты заключается в использовании химических пестицидов. В то же время последние могут оказывать негативное воздействие на здоровье человека, безопасность пищевых продуктов и окружающую среду, а также могут быть токсичными для нецелевых полезных организмов. Это стимулирует поиск безопасных альтернативных средств защиты растений – биопестицидов и индукторов устойчивости (Ali et al., 2023).

Хитин – один из наиболее изученных РАМР, индуцирующих иммунитет растений. Он является основным компонентом клеточных стенок грибов, экзоскелетов членистоногих, в том числе насекомых. Путем гидролиза и деацетилирования хитина получен биопестицид хитозан, действие которого как стимулятора роста и индуктора неспецифической устойчивости к грибным, бактериальным и вирусным заболеваниям подтверждено во многих исследованиях (Maluin, Hussein, 2020; Щербань, 2023). Однако есть ряд недостатков, затрудняющих использование хитозана: нерастворимость в воде при физиологическом pH, низкая стабильность, вариабельность эффектов в зависимости от веса молекул, степени их деацетилирования и состава мономеров (Katiyar et al., 2014; Варламов и др., 2020).

Поскольку в настоящее время отсутствуют стандартные протоколы определения этих параметров, оценки эффектов препаратов хитозана в разных лабораториях зачастую плохо сопоставимы. Недавно учеными из РФ (патент US 20230096466A1; <https://www.freepatentsonline.com/y2023/0096466.html>) в результате внутримолекулярной сшивки линейных молекул хитозана получена его глобулярная форма – Новохизоль, обладающая рядом преимуществ: повышенной растворимостью в водных растворах, высокой адгезией к растительным тканям, химической стабильностью, способностью образовывать комплексы с другими биологически активными веществами (Fomenko, Loroche, 2021). В результате обработки этим препаратом семян мягкой пшеницы ускорялось их прорастание, а также наблюдалось увеличение массы корней и общей массы растений (Teplyakova et al., 2022).

В полевых условиях предпосевная обработка семян и обработка растений препаратом Новохизоль в комплексе с природными фунгицидами оказали положительное влияние на рост и продуктивные свойства пшеницы, а также повысили ее устойчивость к ряду грибных заболеваний (Орлова и др., 2025). На этом же объекте в лабораторных условиях продемонстрировано ингибирующее действие препарата Новохизоль на развитие стеблевой ржавчины (Shcherban et al., 2024). При этом было показано, что под влиянием обработки данным препаратом в листовой ткани растений после заражения *Pgt* происходит накопление АФК, в частности пероксида водорода (H_2O_2), за счет модуляции активности ферментов антиоксидантной систем

мы. Следует отметить, что в работе (Shcherban et al., 2024) изучалась реакция на заражение сорта со сложным генотипом, инфицированного смешанной популяцией гриба.

Представляет интерес изучение индуцированных Новохизолем механизмов устойчивости к контрастным по вирулентности изолированным расам *Pgt* с использованием линии мягкой пшеницы, несущей соответствующий ген *Sr*. Для этой цели нами была выбрана изогенная по гену *Sr6* линия, на которой были эффективно дифференцированы авирулентные и вирулентные изоляты *Pgt* (Скототнева и др., 2020).

Целью данной работы являлись оценка уровня восприимчивости растений указанной линии, обработанных препаратом Новохизоль и отдельно инфицированных тем или другим изолятом *Pgt*, а также сравнительный анализ динамики экспрессии генов защиты (PR) в листовой ткани растений в течение 144 ч после инокуляции. К настоящему времени накоплены данные о влиянии препаратов хитозана на экспрессию генов PR после заражения растений различными патогенными грибами (Manjunatha et al., 2008; Maluin, Hussein, 2020; Щербань, 2023), однако исследование подобного влияния препарата Новохизоль в нашей работе проведено впервые.

Материалы и методы

Растительный материал и возбудитель стеблевой ржавчины. С целью получения семенного материала линию мягкой пшеницы ISr6-Ra, любезно предоставленную проф. Дж. Колмером (г. Сент-Пол, США), выращивали на гидропонике в лаборатории искусственного климата ИЦИГ СО РАН. Для подтверждения наличия у этой линии гена устойчивости к стеблевой ржавчине *Sr6* растительный материал генотипировали с помощью молекулярного маркера Xcf43 к указанному гену (Tsilo et al., 2009). В лабораторном эксперименте растения выращивали в сосудах с почвой в условиях, рекомендуемых для работ с ржавчинными грибами международными протоколами (Roelfs et al., 1992). Для обработки Новохизолем использовали 10-дневные проростки, а в качестве контроля – незараженные растения без обработки, которые выращивались параллельно экспериментальным образцам.

Ранее в составе западносибирской популяции *Pgt* были генотипированы расы гриба, содержащие различные комбинации (патотипы) генов *Avr* и *vr* (Скототнева и др., 2020). В эксперименте была использована система патотипов LKCSF (*vr6*)/LCCSF (*Avr6*) с наибольшим выходом урединиоспор. Отобранные изоляты были размножены на восприимчивом сорте мягкой пшеницы Хакасская для получения материала спор в количестве, необходимом для заражения опытной партии растений из расчета 10 мг на 1000 растений. Споровый материал хранился при температуре -70°C до проведения эксперимента.

Обработка препаратом Новохизоль и заражение *Pgt*. **Оценка уровня восприимчивости растений.** Препарат Новохизоль со степенью деацетилирования $\geq 90\%$ и молекулярной массой ~ 500 кДа предоставлен Novochizol SA (г. Монте, Швейцария). Водные суспензии данного препарата были приготовлены, как описано в (Teplyakova et al., 2022). Для обработки 10-дневных проростков растений была выбрана концентрация 0.125 %, которая,

Последовательности праймеров и ожидаемые размеры продуктов ПЦР

Праймеры	Продукт гена	Последовательность (5'-3')	Размер ПЦР-продукта (п. о.)	Литературный источник
GAPDHF GAPDHR	Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа	TTGCTCTGAACGCCATTTC GACACCATCCACATTATTCTTC	176	Hao et al., 2022
CERK1F CERK1R	Киназа рецептора хитинового элиситора 1	TTACCCCCATCGACGCCATT TCTGCCGGACATGAGGTTCA	190	Lee et al., 2014
PR3F PR3R	Эндохитиназа	AGAGATAAGCAAGGCCACGT GGTTGCTCACCAAGGTCTTC	116	Desmond et al., 2005
PR4F PR4R	Гевеин-подобный белок	CGAGGATCGTGACAGTG GTCGACGAACGTGAGTTGACG	128	Bertini et al., 2003
PR5F2 PR5R2	Тауматин-подобный белок	GCCGCAAGCCTACCAACA CGCGGTGCGACGTATAGAG	107	Ray et al., 2003
PR6F PR6R	Ингибитор протеиназы	TTCAGGGCTTCAGGCTCAG ATTGACCAAGACACGACGATAG	141	Gao et al., 2013
PR9F PR9R	Пероксидаза	GAGATTCCACAGATGCAAACGAG GGAGGCCCTTGTGATGAAATG	102	Pritsch et al., 2000

как ранее было показано, эффективна против стеблевой ржавчины (Shcherban et al., 2024). Суспензию препарата Новохизоль наносили на растения с помощью бытового опрыскивателя (15 мл/100 растений) за четыре дня до инокуляции *Pgt*.

Для инокуляции растений урединиоспоры *Pgt* предварительно смешивали с минеральным маслом Novec 7100 (3M Novec™, Сент-Пол, Миннесота, США) в концентрации 25 мг спор на 5 мл масла и наносили на проростки с помощью опрыскивателя. Контрольные растения обрабатывали бидистиллированной водой. Инокулированные растения инкубировали в течение 24 ч во влажной камере, в темноте, при температуре 15–20 °С для обеспечения максимального прорастания спор. Затем растения переносили в камеры для роста и инкубировали в течение 16 ч при освещении фитолампой 10000 лк и при температуре 26–28 °С. Эти условия необходимы для образования аппрессориев, проникновения патогена в устьица и развития инфекционных гиф в межклетниках растения (Roelfs et al., 1992).

Степень восприимчивости растений к стеблевой ржавчине оценивали с учетом качественной (тип реакции) и количественной составляющих этого показателя. Инфекционные типы реакции растений (ИТ) определяли через 12–14 дней после инокуляции с использованием модифицированной шкалы Штэкмана (Roelfs et al., 1992), где ИТ «0», «+», «1» и «2» трактовали как устойчивые (низкая, L), а «3», «3+» и «4» – как восприимчивые (высокая, H).

Экстракция РНК, обратная транскрипция, ОТ-ПЦР и кПЦР. Для сбора проб в различные временные точки после заражения (3, 6, 24, 48, 72, 144 ч) для каждого варианта опыта было высажено по три растения – биологические повторности. Отдельные листья срезали с каждого растения и сразу помещали в жидкий азот. Собранный материал хранили при –80 °С перед выделением РНК. Тотальную РНК выделяли с помощью набора R-Plants-kit («Биолабмикс», Новосибирск, Россия) в соответствии с инструкцией производителя. Геномную ДНК удаляли с

помощью термолабильной ДНКазы («Биолабмикс»). Обратную транскрипцию проводили с использованием набора реактивов OT-M-MuLV-RH для синтеза первой цепи кДНК («Биолабмикс») с применением 1 мкг общей РНК и олиго(dT)₁₆ в качестве праймера.

Для ПЦР с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР) условия были те же, что и для кПЦР (см. ниже). Продукты ОТ-ПЦР анализировали электрофорезом в 1.5 % агарозном геле с последующим окрашиванием этидиум бромидом.

Для кПЦР использовали набор реагентов BioMaster HS-qPCR Lo-ROX SYBR (2×) («Биолабмикс») и систему QuantStudio 5 Real-Time PCR System (Thermo Scientific, США). Последовательности геноспецифичных праймеров приведены в таблице. Условия амплификации: 5 мин при 95 °С, затем 40 циклов: 10 с при 95 °С, 20 с при 60 °С (55 °С для гена *GAPDH*) и 10 с при 72 °С. Данные кПЦР собирали во время каждого раунда амплификации. Анализ кривой плавления между 60 и 95 °С применяли ко всем продуктам для определения точности реакции ПЦР.

Измерения экспрессии генов проводили в трех биологических повторах, каждый с тремя техническими повторами. Относительное количество мРНК определяли по формуле Пфаффла (Pfaffl, 2001). Эффективность ПЦР оценивали с использованием программного обеспечения LinReg (Ruijter et al., 2009). Уровни экспрессии мРНК были нормализованы относительно уровня гена домашнего хозяйства *GAPDH*. Этот ген был выбран в качестве референсного, поскольку не были выявлены различия в содержании его мРНК между инфицированными *Pgt* и контрольными образцами (данные не показаны). Для сравнения уровней экспрессии использовали дисперсионный анализ с апостериорным тестом Тьюки.

Для оценки с помощью кПЦР уровня транскрипции генов мягкой пшеницы, индуцируемых во время инфекции *Pgt*, нами было отобрано шесть генов, для которых в предварительной ОТ-ПЦР было установлено наличие мономорфного продукта амплификации ожидаемой длины с варьирующейся интенсивностью в отдельных временных точках после инокуляции возбудителем (см. таблицу).

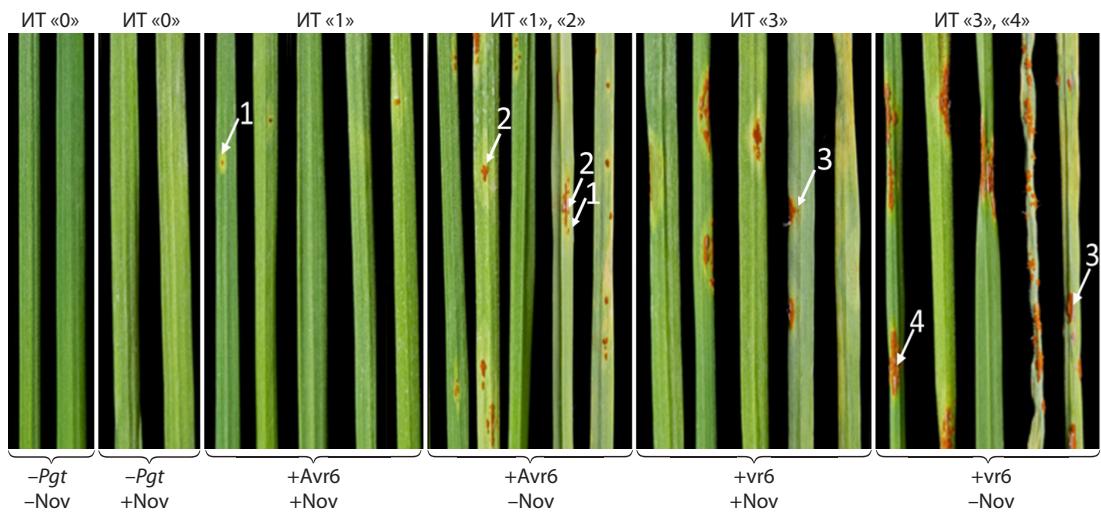


Рис. 1. Влияние препарата Новохизоль на развитие симптомов стеблевой ржавчины на листьях пшеницы линии *T. aestivum* ISr6-Ra.

Avr6 и vr6 – абиорулентный и вирулентный изоляты возбудителя стеблевой ржавчины (*Pgt*). Инфекционные типы реакции растений (ИТ) указаны над рисунком. Пустулы, характерные для каждого ИТ, обозначены стрелками. Nov – Новохизоль. Фотофиксация проводилась на 14-е сутки после инокуляции возбудителем. Возраст растений на момент фиксации – 28 суток.

Результаты

Влияние препарата Новохизоль на развитие стеблевой ржавчины

Для изучения влияния обработки препаратом Новохизоль на восприимчивость растений мягкой пшеницы к стеблевой ржавчине и экспрессию генов защиты мы использовали модель, включающую линию *T. aestivum* ISr6-Ra и соответствующие ей Avr6- и vr6-изоляты *Pgt*. Данная модель позволяет изучать различные механизмы устойчивости в зависимости от распознавания лигандов патогена иммунными рецепторами хозяина.

Через 14 дней после инокуляции уровень восприимчивости растений, инфицированных изолятом Avr6, соответствовал устойчивому типу (ИТ = 1–2) (рис. 1). Такой сценарий соответствует случаям взаимодействия генотипов растение/патоген, несущих комплементарные гены устойчивости и абиорулентности, т. е. кодирующих иммунный рецептор и его специфический лиганд. Заражение изолятом vr6 привело к реакции восприимчивости (ИТ = 3–4). Проведенная ранее оценка количественной составляющей устойчивости, определяемой по среднему числу пустул на листовую пластинку, показала многократное уменьшение числа пустул у предварительно обработанных препаратом Новохизоль растений, по сравнению с необработанными, в случае того и другого изолята (данные не опубликованы). В результате обработки растения, инфицированные Avr6 и vr6, по количественному показателю оказались сходными (~1.5 пустул на лист в среднем), однако в целом сохранили специфические для каждого изолята ИТ устойчивости и восприимчивости, определяемые по размеру пустул (см. рис. 1).

Оценка уровня транскрипции генов защиты

Индукция гена *CERK1* в ходе заражения пшеницы *Pgt*. Киназа рецептора элиситора хитина 1 (*CERK1*) была идентифицирована как РАМР-рецептор хитина, основного

структурного компонента клеточных стенок грибов (Gong et al., 2020; Wang L. et al., 2024). После распознавания хитина данный белок-рецептор активирует различные сигнальные пути, связанные с защитой, играя тем самым ключевую роль в иммунитете растений.

У необработанных растений, инфицированных изолятом vr6, через 24 ч после инокуляции (ч/ин) выявлено небольшое увеличение транскрипции этого гена, в то время как в других точках уровень транскрипции не превышал контрольный. В группе необработанных растений, инфицированных изолятом Avr6, увеличения количества транскриптов *CERK1* на протяжении всего эксперимента, по сравнению с контролем, не отмечалось.

Растения, предварительно обработанные препаратом Новохизоль, демонстрировали разную реакцию на заражение *Pgt* в зависимости от типа изолята (рис. 2, а). У растений, инфицированных vr6, мы наблюдали увеличение уровня транскриптов *CERK1* через 3 и 48–144 ч/ин относительно необработанных растений, инфицированных тем же изолятом, хотя значимость этого увеличения в отдельных точках была низкой. В то же время у обработанных препаратом растений, инфицированных Avr6, отмечалось достоверное увеличение транскрипции *CERK1* примерно в 2–3 раза относительно необработанных растений в диапазоне 24–72 ч/ин. У неинфицированных растений, обработанных препаратом, уровень транскрипции *CERK1* существенно не превышал таковой у контрольных растений, а иногда даже снижался (см. рис. 2, а). Таким образом, хотя индукция *CERK1* под влиянием биопестицида Новохизоль наблюдалась для обоих изолятов, степень этой индукции была выше в случае изолята Avr6.

Индукция генов *PR3* и *PR4*, кодирующих различные хитиназы. Гены *PR3* и *PR4* кодируют белки с хитиназной активностью, расщепляющие хитин патогенных грибов, растительноядных насекомых и нематод (Van Loon et al., 2006). Эти ферменты не имеют эндогенного субстрата и

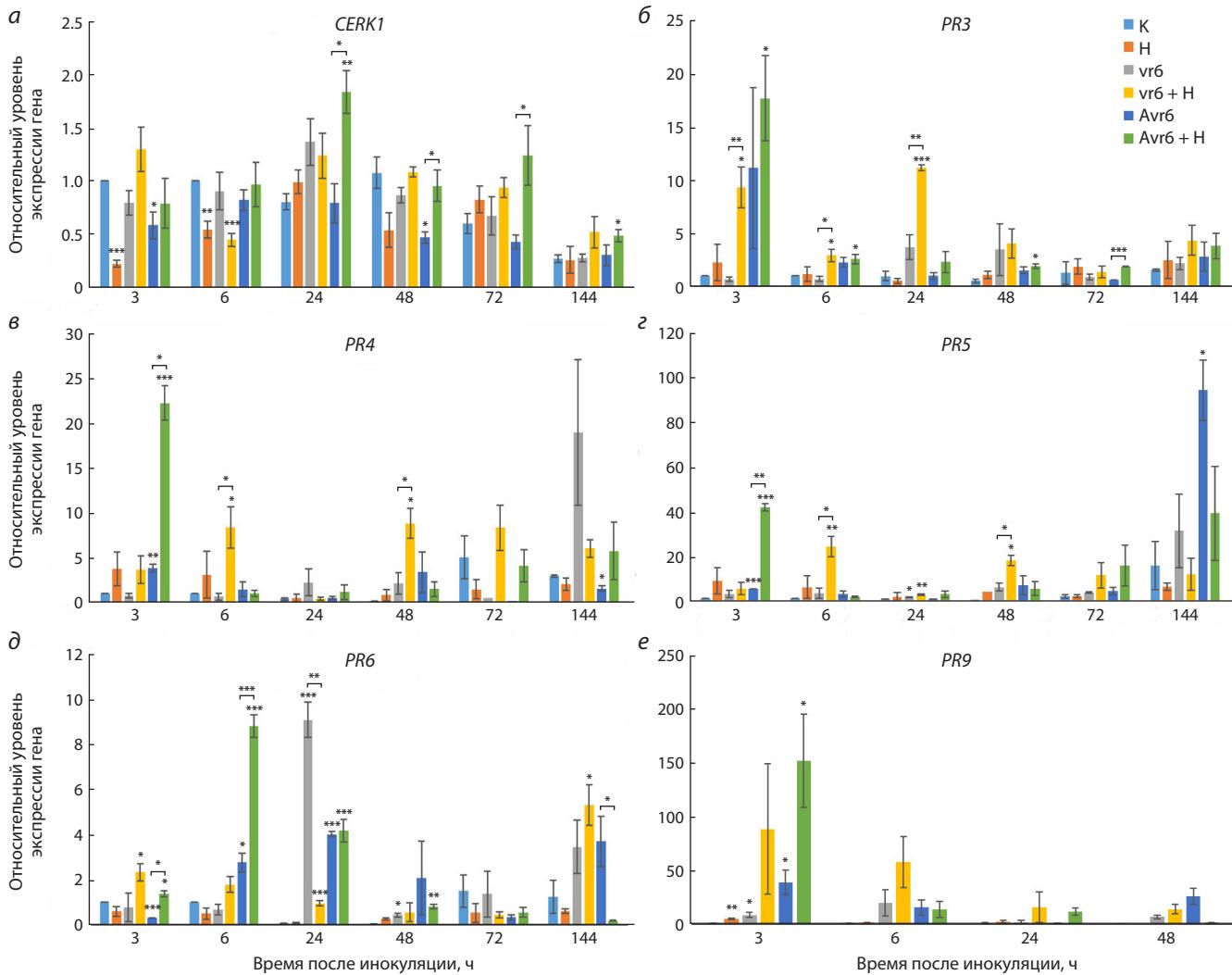


Рис. 2. Динамика транскрипции генов некоторых защитных белков в листьях мягкой пшеницы линии ISr6-Ra после их обработки препаратом 0.125 % Новохизоль и инокуляции *vr6*- или *Avr6*-изолятом *Pgt*.

К – контроль; Н – обработка препаратом; *vr6* – инокуляция изолятом *vr6*; *vr6* + Н – обработка препаратом и инокуляция изолятом *vr6*; *Avr6* – инокуляция изолятом *Avr6*; *Avr6* + Н – обработка препаратом и инокуляция изолятом *Avr6*. Столбцы представляют средний уровень транскриптов генов относительно референсного (\pm стандартная ошибка среднего). Проведены сравнение с контрольными растениями в отдельных временных точках и попарные сравнения *vr6*/*vr6* + Н и *Avr6*/*Avr6* + Н (выделены скобками); значения p : * $p \leq 0.05$, ** $p \leq 0.01$, *** $p \leq 0.001$.

играют важную роль в лизисе клеточных стенок многих патогенов.

Транскрипция обоих генов в контрольных растениях и растениях, обработанных препаратом Новохизоль без заражения, была примерно на одном уровне, без каких-либо значительных изменений (см. рис. 2, б, в). У необработанных растений, инфицированных *vr6*, отмечено небольшое увеличение уровня транскрипции *PR3* через 24 ч/ин с последующим снижением до исходного уровня на трети сутки после инокуляции. У необработанных растений, инфицированных *Avr6*, было повышенное значение среднего уровня транскрипции *PR3* через 3 ч/ин; в других временных точках существенных изменений относительно контроля не было. Что касается *PR4*, то экспрессия этого гена у необработанных растений, инфицированных *vr6*, показала увеличение среднего уровня через 144 ч/ин, тогда как при заражении *Avr6* индукция отмечалась уже через 3 ч/ин.

Обработка препаратом индуцировала более высокие уровни транскрипции генов *PR3* и *PR4* в ответ на заражение *Pgt* по сравнению с необработанными растениями. Так, в случае заражения *vr6* обработанных растений мы наблюдали повышенную транскрипцию гена *PR3* через 3–24 ч/ин с максимальным уровнем в 24 ч/ин, тогда как для *PR4* – через 6 и 48–72 ч/ин. Транскрипция обоих генов увеличивалась через 3 ч/ин при заражении растений изолятом *Avr6*, причем статистически наиболее значимое увеличение, по сравнению с необработанными растениями, обнаружено для гена *PR4* (см. рис. 2, б, в).

Экспрессия генов *PR5*, *PR6* и *PR9*. В этой работе мы также изучили динамику транскрипции генов *PR5*, *PR6* и *PR9*, которые играют важную роль в защите растений от патогенных организмов. Ген *PR5* кодирует тауматин-подобный белок, обладающий противогрибной активностью, а также является осморегулятором, предохраняющим растения от абиотического стресса (Van Loon et al.,

2006). Продукт гена *PR6* – ингибитор протеиназы, подавляющий протеолитические ферменты патогена. Пероксидаза, кодируемая геном *PR9*, играет важную роль в укреплении клеточной стенки растений и образовании АФК для создания токсичной среды для патогена (Almagro et al., 2009).

Уровни транскрипции генов *PR5*, *PR6* и *PR9* у контрольных, а также неинфицированных растений, обработанных препаратом Новохизоль, не претерпели существенных изменений в ходе эксперимента (см. рис. 2, *г–е*). У необработанных растений, инфицированных тем или иным изолятом *Pgt*, накопление транскриптов *PR5* наблюдалось только на 6-й день заражения патогеном (см. рис. 2, *г*). Под влиянием препарата у растений, инфицированных *avr6*, отмечено более раннее повышение уровня транскрипции *PR5*, особенно заметное через 6 и 48 ч/ин. У растений, инфицированных *Avr6*, предобработка препаратом вызвала значительную индукцию транскрипции *PR5* через 3 ч/ин с последующим снижением уровня экспрессии. Следует отметить, что есть признаки сходства динамики транскрипции *PR5* с таковой генов *PR3* и *PR4* (см. выше).

У необработанных растений, инфицированных *avr6*, транскрипция *PR6* достигала пика в 24 ч/ин, тогда как у необработанных растений, инфицированных *Avr6*, транскрипция этого гена увеличивалась менее значительно, в 6 и 24 ч/ин (см. рис. 2, *д*). Интересно, что обработка биопестицидом вызвала значительное снижение уровня транскриптов *PR6* у растений, инфицированных *avr6*, в 24 ч/ин. В случае заражения изолятом *Avr6* максимальная экспрессия *PR6* у обработанных растений, значительно превышающая таковую у необработанных, наблюдалась в 6 ч/ин, а затем уровни обеих групп растений становились сходными, за исключением 144 ч/ин.

У растений, инфицированных *avr6*, без обработки препаратом, уровень транскриптов *PR9* увеличивался в интервале 3–6 ч/ин, а затем снижался (см. рис. 2, *е*). У растений, инфицированных *avr6*, с обработкой препаратом увеличение транскрипции *PR9* наблюдалось в 3–24 ч/ин с высокой вариабельностью между отдельными растениями. Меньшая степень увеличения экспрессии этого гена была характерна для обработанных растений, инфицированных *Avr6*, за исключением точки 3 ч/ин, в которой был зарегистрирован самый высокий уровень транскрипции *PR9*. Транскрипты гена *PR9* на временных точках 72 и 144 ч/ин в контрольных и инфицированных образцах не обнаружены.

Обсуждение

Влияние препаратов хитозана на защитные реакции и сигнальные пути, контролирующие иммунитет, подробно изучено на различных растительных объектах, хотя и недостаточно для полного понимания механизмов этого влияния (Щербань, 2023). Однако пока существуют лишь единичные исследования, посвященные анализу эффектов препарата Новохизоль – глобуллярного производного хитозана (Teplyakova et al., 2022; Shcherban et al., 2024; Орлова и др., 2025). Наша работа предоставляет новую информацию об индуцированных данным препаратом изменениях в экспрессии генов защиты при заражении

пшеницы возбудителем опасного грибного заболевания – стеблевой ржавчины.

В ответ на атаки патогенов растения выработали сложную иммунную систему, включая PRR-опосредованную PTI, представляющую первый уровень защиты растений от инфекций. PRR являются центральными элементами иммунитета растений, запускающими каскад защитных реакций, включая накопление АФК, экспрессию генов *PR* и другие реакции (Jones, Dangl, 2006).

В нашем исследовании проанализировано влияние препарата Новохизоль на экспрессию гена, кодирующего PRR *CERK1* в листовой ткани растений пшеницы, инфицированных различными изолятами *Pgt*. Растения, не обработанные препаратом, в ответ на заражение авирulentным и вирулентным изолятами *Pgt* не показали существенных изменений уровня экспрессии этого гена на протяжении всего эксперимента (см. рис. 2, *а*). Также не выявлены достоверные изменения уровня экспрессии у неинфицированных растений, обработанных препаратом.

Ранее была обнаружена активация транскрипции гена *CERK1* в ткани колоса под действием хитина и при инфицировании возбудителем фузариоза *Fusarium graminearum* Schwabe (Wang L. et al., 2024). По всей видимости, возбудители фузариоза и стеблевой ржавчины провоцируют различающиеся реакции защитной системы в разных тканях растения, а хитин – природный элиситор, может провоцировать более интенсивную реакцию, по сравнению с препаратом Новохизоль.

Растения, обработанные препаратом, продемонстрировали более выраженный ответ на заражение *Pgt*, который зависел от типа изолята. Так, при заражении *avr6* мы наблюдали небольшое повышение уровня транскрипции *CERK1* через 3 ч/ин и в диапазоне 48–144 ч/ин, тогда как при заражении авирulentным изолятом *Avr6* степень индукции *CERK1* была выше, чем в предыдущем случае, и превосходила уровень экспрессии данного гена у необработанных растений в 2–3 раза на промежутке 24–72 ч/ин. Такое повышение уровня экспрессии у растений, инфицированных *Avr6*, можно объяснить тесной связью между PTI и ETI.

Предыдущие исследования продемонстрировали, что эти уровни защиты, активируемые в растениях внешними и внутриклеточными рецепторами соответственно, взаимно усиливают друг друга (Ngou et al., 2021). С этой точки зрения можно предположить, что наличие внутриклеточного рецептора растения (продукта гена *Sr6*), комплементарного продукту *Avr6* гена *Pgt*, является дополнительным триггером, способным усилить PTI за счет увеличения экспрессии гена *CERK1*. Недавно было показано, что сверхэкспрессия *CERK1* обеспечивает для пшеницы широкий спектр устойчивости к грибным заболеваниям (Wang L. et al., 2024).

Гены, кодирующие белки *PR3* и *PR4*, обладают эндохитиназной активностью, способны разрушать клеточную стенку грибов и активируются при воздействии на растения различных патогенов (Van der Bulcke et al., 1990; Ward et al., 1991; Hammond-Kosack, Gones, 1996; Gao et al., 2013). Согласно полученным в работе данным, при инфицировании *avr6* происходило повышение уровня

транскрипции гена *PR3* через 24 ч/ин, тогда как ген *PR4* индуцировался значительно позже, на 6-й день после инокуляции (см. рис. 2, б, в). При инфицировании Avr6 синхронное повышение экспрессии обоих генов происходило через 3 ч/ин.

Как и в случае с *CERK1*, обработка препаратом вызывала увеличение транскрипции обоих генов хитиназ, по сравнению с необработанными растениями, наиболее выраженное в случае изолята Avr6 в той же точке, что и у необработанных, зараженных Avr6 растений – 3 ч/ин. Таким образом, для генов *PR3* и *PR4* характерно раннее накопление транскриптов при заражении Avr6 изолятом *Pgt*, при этом Новохизоль проявил дополнительное стимулирующее действие на экспрессию данных генов. Показано, что обработка препаратами хитозана вызывает раннее накопление хитиназ, которые неспецифически разрушают хитин клеточных стенок грибов и тем самым повышают устойчивость растений к широкому спектру грибных заболеваний (Manjunatha et al., 2008; Ma et al., 2013; Elsharkawy et al., 2022).

Многочисленные исследования продемонстрировали, что сверхэкспрессия тауматин-подобных белков (TLP), относящихся к семейству PR5, обеспечивает значительную устойчивость растений к различным патогенным грибам (Wang X. et al., 2010; Cui et al., 2021). Нами показано, что, подобно гену *PR4*, накопление транскриптов *PR5* происходило поздно – через 144 ч/ин в необработанных растениях, инфицированных *avr6* (см. рис. 2, г). Обработка препаратом привела к более раннему накоплению транскриптов *PR5* – через 6 и 48 ч/ин у растений, инфицированных тем же изолятом. Наконец, подобно *PR4*, ген *PR5* проявил значительную индукцию своей экспрессии через 3 ч/ин в обработанных растениях, инфицированных Avr6. Такое сходство в динамике экспрессии *PR4* и *PR5* указывает на общий механизм регуляции этих генов, зависящий от генотипа патогена.

Что касается возможной мишени действия белка PR5, показано, что сверхэкспрессия TLP у винограда *Vitis vinifera* L. приводит к снижению роста гиф патогенного гриба *Plasmopara viticola* (He et al., 2017). Точный механизм действия TLP не установлен, однако сообщалось, что PR5 разрушает β -1,3-глюканы, которые, как и хитин, являются важным структурным компонентом клеточных стенок грибов (Grenier et al., 1999).

Значительная роль продукта гена *PR6* заключается в ингибировании протеиназ патогенов, разрушающих белки растения (Ryan, 2000). Согласно нашим данным, экспрессия этого гена в необработанных растениях продемонстрировала сходную картину с таковой у других генов *PR*, изученных в данной работе: небольшое повышение уровня транскрипции через 24 ч/ин в случае *avr6* и в 6, 24 и 144 ч/ин в случае Avr6 (см. рис. 2, д). Особенность этого гена – различная реакция на Новохизоль, в зависимости от типа изолята, в точке 24 ч/ин. Для изолята *avr6* в этот момент было характерно резкое снижение уровня транскрипции *PR6* в результате обработки, тогда как для Avr6 уровни транскрипции в обработанных и необработанных растениях были примерно одинаковыми. В предыдущие 6 ч/ин мы наблюдали более типичную для Avr6 картину, а именно: существенное увеличение транскрипции *PR6*

у обработанных растений по сравнению с необработанными. Можно предположить, что пик функциональной активности *PR6* приходится на период до 24 ч/ин, после чего его роль снижается, что обуславливает изменчивость уровня транскрипции.

Ген *PR9* кодирует пероксидазу, участвующую в детоксикации перекиси водорода и синтезе лигнина. Последнее вещество, накапливаясь в клеточной стенке растения, создает барьер для распространения патогена (Андреева, 1988). У обработанных препаратом растений, инфицированных *avr6*, мы отметили увеличение транскрипции *PR9* через 3–24 ч/ин (см. рис. 2, е). Обработанные растения, инфицированные Avr6, показали повышенный средний уровень транскрипции через 3 ч/ин и отсутствие увеличения в другие временные точки относительно необработанных растений, инфицированных тем же изолятом. Наблюдаемую в случаях обоих изолятов повышенную дисперсию данных можно объяснить неравномерным распределением пустул по отдельным листьям (см. рис. 1), при этом самый высокий уровень активности пероксидазы и, соответственно, транскрипции этого гена можно ожидать в областях формирования морфологических структур гриба (см. ниже).

Тем не менее эти данные коррелируют с недавним биохимическим анализом, который продемонстрировал повышение ферментативной активности пероксидазы в промежутке 6–144 ч/ин у обработанных препаратом Новохизоль инфицированных *avr6* растений (данные не опубликованы). Мы предполагаем, что увеличение активности пероксидазы в этой группе растений под влиянием препарата связано с ускорением процесса лигнификации. Предыдущий гистохимический анализ выявил у растений, обработанных препаратом, более раннее и интенсивное, по сравнению с необработанными растениями, накопление фенольных веществ в цитоплазме и лигнина на клеточных стенках в зоне колоний *Pgt* (Щербань и др., 2025).

Таким образом, индукция защитных генов в растениях, обработанных препаратом Новохизоль, практически во всех случаях усиливается после инокуляции патогеном, что согласуется с ранее высказанной гипотезой прайминга – быстрой реакции иммунной системы на последующую атаку патогенов под влиянием элиситоров (Conrath, 2011).

Заключение

Полученные нами данные свидетельствуют о том, что биопрепарат Новохизоль повышает количественную составляющую устойчивости изогенной линии ISr6-Ra к стеблевой ржавчине как в случае Avr6-изолята *Pgt*, так и в случае *avr6*-изолята. Анализ транскрипции генов защиты *CERK1*, *PR3*, *PR4*, *PR5*, *PR6* показал повышение уровня транскрипции этих генов у растений, обработанных препаратом и инфицированных различными изолятами *Pgt*, по сравнению с необработанными инфицированными растениями. Таким образом, применение биопестицида Новохизоль в сочетании с селекцией на гены устойчивости (пирамидированием) является эффективным способом повышения устойчивости мягкой пшеницы к стеблевой ржавчине.

Список литературы / References

- Андреева В.А. Фермент пероксидаза: участие в защитном механизме растений. М.: Наука, 1988
- [Andreeva V.A. The Enzyme Peroxidase: Participation in the Protective Mechanism of Plants. Moscow: Nauka Publ., 1988 (in Russian)]
- Варламов В.П., Ильина А.В., Шагдарова Б.Ц., Луньков А.П., Мысякина И.С. Хитин/хитозан и его производные: фундаментальные и прикладные аспекты. Успехи биологической химии. 2020; 60:317-368
- [Varlamov V.P., Ilyina A.V., Shagdarova B.Ts., Lunkov A.P., Myseyakina I.S. Chitin/chitosan and its derivatives: fundamental problems and practical approaches. *Biochemistry*. 2020;85:154-176. doi 10.1134/s0006297920140084]
- Орлова Е.А., Бехтольд Н.П., Щербань А.Б., Фоменко В.В. Влияние новых биологических препаратов на основе новохизоля на состояние посевов мягкой яровой пшеницы. *Зерновое хозяйство России*. 2025;17(2):86-93. doi 10.31367/2079-8725-2025-97-2-86-93
- [Orlova E.A., Bekhtold N.P., Shcherban A.B., Fomenko V.V. The effect of new biological products based on Novochizol on the condition of spring common wheat crops. *Zernovoe Hozyaistvo Rossii = Grain Economy of Russia*. 2025;17(2):86-93. doi 10.31367/2079-8725-2025-97-2-86-93 (in Russian)]
- Санин С.С. Эпифитотии болезней зерновых культур: теория и практика. М.: НИИПКЦ Восход-А, 2012
- [Sanin S.S. Epiphytoties in Grain Crops: Theory and Practice. Moscow, 2012 (in Russian)]
- Скототнева Е.С., Кельбин В.Н., Моргунов А.И., Бойко Н.И., Шаманин В.П., Салина Е.А. Расовый состав новосибирской популяции *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. *Микология и фитопатология*. 2020;54(1):49-58. doi 10.31857/S0026364820010092
- [Skolotneva E.S., Kelbin V.N., Morgunov A.I., Boyko N.I., Shamannin V.P., Salina E.A. Races composition of the Novosibirsk population of *Puccinia graminis* f. sp. *tritici*. *Mykologiya i Fitopatologiya = Mycology and Phytopathology*. 2020;54(1):49-58. doi 10.31857/S0026364820010092 (in Russian)]
- Тарчевский И.А. Сигнальные системы растительных клеток. М.: Наука, 2002
- [Tarchevskiy I.A. Signaling systems of plant cells. Moscow: Nauka Publ., 2002 (in Russian)]
- Щербань А.Б. Хитозан и его производные как перспективные средства защиты растений. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2023;27(8):1010-1021. doi 10.18699/VJGB-23-116
- [Shcherban A.B. Chitosan and its derivatives as promising plant protection tools. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksi* = *Vavilov J Genet Breed*. 2023;27(8):1010-1021. doi 10.18699/VJGB-23-116]
- Щербань А.Б., Плотникова Л.Я., Кнауб В.В., Скототнева Е.С., Фоменко В.В. Цитофизиологические проявления защитных реакций пшеницы от стеблевой ржавчины, индуцируемые биофункцидом Новохизолем. *Вавиловский журнал генетики и селекции*. 2025;29(4):539-548. doi 10.18699/vjgb-25-57
- [Shcherban A.B., Plotnikova L.Ya., Knaub V.V., Skolotneva E.S., Fomenko V.V. Cyto-physiological manifestations of protective reactions of wheat against stem rust, induced by the biofungicide Novochizol. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksi* = *Vavilov J Genet Breed*. 2025;29(4):539-548. doi 10.18699/vjgb-25-57]
- Ali S., Ahmad N., Dar M.A., Manan S., Rani A., Alghanem S.M.S., Khan K.A., Sethupathy S., Elboughdiri N., Mostafa Y.S., Alamri S.A., Hashem M., Shahid M., Zhu D. Nano-agrochemicals as substitutes for pesticides: prospects and risks. *Plants (Basel)*. 2023; 13(1):109. doi 10.3390/plants13010109
- Almagro L., Gómez Ros L.V., Belchi-Navarro S., Bru R., Ros Barceló A., Pedreño M.A. Class III peroxidases in plant defence reactions. *J Exp Bot*. 2009;60(2):377-390. doi 10.1093/jxb/ern277
- Bent A.F., Mackey D. Elicitors, effectors, and *R* genes: the new paradigm and a lifetime supply of questions. *Annu Rev Phytopathol*. 2007;45:399-436. doi 10.1146/annurev.phyto.45.062806.094427
- Bertini L., Leonardi L., Caporale C., Tucci M., Cascone N., Di Bernardino I., Buonocore V., Caruso C. Pathogen-responsive wheat PR4 genes are induced by activators of systemic acquired resistance and wounding. *Plant Sci*. 2003;164(6):1067-1078. doi 10.1016/S0168-9452(03)00112-2
- Bigeard J., Colcombet J., Hirt H. Signaling mechanisms in pattern triggered immunity (PTI). *Mol Plant*. 2015;8(4):521-539. doi 10.1016/j.molp.2014.12.022
- Chai Y., Senay S., Horvath D., Pardey P. Multi-peril pathogen risks to global wheat production: a probabilistic loss and investment assessment. *Front Plant Sci*. 2022;13:1034600. doi 10.3389/fpls.2022.1034600
- Conrath U. Molecular aspects of defence priming. *Trends Plant Sci*. 2011;16(10):524-531. doi 10.1016/j.tplants.2011.06.004
- Cui Z., Liang F., Zhang J., Wang F., Liu D., Wang H. Transgenic expression of *TaTLPI*, a thaumatin-like protein gene, reduces susceptibility to common root rot and leaf rust in wheat. *Crop J*. 2021;9(5):1214-1218. doi 10.1016/j.cj.2021.03.021
- Desmond O.J., Edgar C.I., Manners J.M., Maclean D.J., Schenck P.M., Kazan K. Methyl jasmonate induced gene expression in wheat delays symptom development by the crown rot pathogen *Fusarium pseudograminearum*. *Physiol Mol Plant Pathol*. 2005;67(3-5):171-179. doi 10.1016/j.pmpp.2005.12.007
- Ding Y., Sun T., Ao K., Peng Y., Zhang Y., Li X., Zhang Y. Opposite roles of salicylic acid receptors NPR1 and NPR3/NPR4 in transcriptional regulation of plant immunity. *Cell*. 2018;173(6):1454-1467.e15. doi 10.1016/j.cell.2018.03.044
- Elsharkawy M.M., Omara R.I., Mostafa Y.S., Alamri S.A., Hashem M., Alrumanian S.A., Ahmad A.A. Mechanism of wheat leaf rust control using chitosan nanoparticles and salicylic acid. *J Fungi (Basel)*. 2022;8(3):304. doi 10.3390/jof8030304
- Fomenko V., Loroch V. Novochizol: a new type of cross-linked chitosan particles for formulation and parsimonious delivery of copper compounds. In: 6th European Copper Conference in Plant Protection, Berlin, Germany, 17–18 November 2021. Berlin: IFOAM Organics Europe, 2021. Available online: https://www.boelw.de/fileadmin/user_upload/Dokumente/Veranstaltungen/Kupfertagung_2021/copper_novochozol.pdf
- Gao C., Kou X., Li H., Zhang J., Saad A., Liao Y. Inverse effects of *Arabidopsis NPR1* gene on fusarium seedling blight and fusarium head blight in transgenic wheat. *Plant Pathol*. 2013;62(2):383-392. doi 10.1111/j.1365-3059.2012.02656.x
- Gong B.Q., Wang F.Z., Li J.F. Hide-and-seek: chitin-triggered plant immunity and fungal counterstrategies. *Trends Plant Sci*. 2020;25(8):805-816. doi 10.1016/j.tplants.2020.03.006
- Grenier J., Potvin C., Trudel J., Asselin A. Some thaumatin-like proteins hydrolyse polymeric β-1,3-glucans. *Plant J*. 1999;19(4):473-480. doi 10.1046/j.1365-313x.1999.00551.x
- Hafeez A.N., Arora S., Ghosh S., Gilbert D., Bowden R.L., Wulff B.B.H. Creation and judicious application of a wheat resistance gene atlas. *Mol Plant*. 2021;14(7):1053-1070. doi 10.1016/j.molp.2021.05.014
- Hammond-Kosack K.E., Gones J.D.G. Resistance gene dependent plant defence responses. *Plant Cell*. 1996;8(10):1773-1791. doi 10.1101/tpc.8.10.1773
- Hao G., Tiley H., McCormick S. Chitin triggers tissue-specific immunity in wheat associated with Fusarium head blight. *Front Plant Sci*. 2022;13:832502. doi 10.3389/fpls.2022.832502
- He R., Wu J., Zhang Y., Agüero C.B., Li X., Liu S., Wang C., Walker M.A., Lu J. Overexpression of a thaumatin-like protein gene from *Vitis amurensis* improves downy mildew resistance in *Vitis vinifera* grapevine. *Protoplasma*. 2017;254:1579-1589. doi 10.1007/s00709-016-1047-y
- Jones J.D.G., Dangl J.L. The plant immune system. *Nature*. 2006; 444(7117):323-329. doi 10.1038/nature05286
- Katiyar D., Hemantaranjan A., Singh B., Bhanu A.N. A future perspective in crop protection: chitosan and its oligosaccharides. *Adv Plants Agric Res*. 2014;1(1):23-30. doi 10.15406/apar.2014.01.00006

- Lee W.S., Rudd J.J., Hammond-Kosack K.E., Kanyuka K. *Mycosphaerella graminicola* LysM effector-mediated stealth pathogenesis subverts recognition through both CERK1 and CEBiP homologues in wheat. *Mol Plant Microbe Interact.* 2014;27(3):236-243. doi [10.1094/MPMI-07-13-0201-R](https://doi.org/10.1094/MPMI-07-13-0201-R)
- Ma Z., Yang L., Yan H., Kennedy J.F., Meng X. Chitosan and oligochitosan enhance the resistance of peach fruit to brown rot. *Carbohydr Polym.* 2013;94(1):272-277. doi [10.1016/j.carbpol.2013.01.012](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2013.01.012)
- Maluin F.N., Hussein M.Z. Chitosan-based agronomochemicals as a sustainable alternative in crop protection. *Molecules.* 2020;25(7): 1611. doi [10.3390/molecules25071611](https://doi.org/10.3390/molecules25071611)
- Manjunatha G., Roopa K.S., Prashanth G.N., Shetty H.S. Chitosan enhances disease resistance in pearl millet against downy mildew caused by *Sclerospora graminicola* and defence-related enzyme activation. *Pest Manag Sci.* 2008;64(12):1250-1257. doi [10.1002/ps.1626](https://doi.org/10.1002/ps.1626)
- McIntosh R.A., Dubcovsky J., Rogers W.J., Morris C., Appels R., Xia X.C. Catalogue of gene symbols for wheat: 2011 supplement. IWGS, 2011. Available online: <http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/genes/macgene/supplement2011.pdf>
- Ngou B.P.M., Ahn H.K., Ding P., Jones J.D. Mutual potentiation of plant immunity by cell-surface and intracellular receptors. *Nature.* 2021;592(7852):110-115. doi [10.1038/s41586-021-03315-7](https://doi.org/10.1038/s41586-021-03315-7)
- Patpour M., Hovmöller M.S., Rodriguez-Algaba J., Randazzo B., Villegas D., Shamanin V.P., Berlin A., ... Meyer K.J.G., Valade R., Thach T., Hansen J.G., Justesen A.F. Wheat stem rust back in Europe: diversity, prevalence and impact on host resistance. *Front Plant Sci.* 2022;13:882440. doi [10.3389/fpls.2022.882440](https://doi.org/10.3389/fpls.2022.882440)
- Pfaffl M.W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res.* 2001;29(9):e45. doi [10.1093/nar/29.9.e45](https://doi.org/10.1093/nar/29.9.e45)
- Pritsch C., Muehlbauer G.J., Bushnell W.R., Somers D.A., Vance C.P. Fungal development and induction of defence response genes during early infection of wheat spikes by *Fusarium graminearum*. *Mol Plant Microbe Interact.* 2000;13(2):159-169. doi [10.1094/MPMI.2000.13.2.159](https://doi.org/10.1094/MPMI.2000.13.2.159)
- Ray S., Anderson J.M., Urmeev F.I., Goodwin S.B. Rapid induction of a protein disulfide isomerase and defense-related genes in wheat in response to the hemibiotrophic fungal pathogen *Mycosphaerella graminicola*. *Plant Mol Biol.* 2003;53(5):701-714. doi [10.1023/B:PLAN.0000019120.74610.52](https://doi.org/10.1023/B:PLAN.0000019120.74610.52)
- Roelfs A.P., Singh R.P., Saari E.E. Rust diseases of wheat: concepts and methods of disease management. Mexico: CIMMYT, 1992
- Ruijter J.M., Ramakers C., Hoogaars W.M.H., Karlen Y., Bakker O., van den Hoff M.J.B., Moorman A.F.M. Amplification efficiency: linking baseline and bias in the analysis of quantitative PCR data. *Nucleic Acids Res.* 2009;37(6):e45. doi [10.1093/nar/gkp045](https://doi.org/10.1093/nar/gkp045)
- Ryan C.A. The systemin signaling pathway: differential activation of plant defensive genes. *Biochim Biophys Acta.* 2000;1477(1-2):112-121. doi [10.1016/s0167-4838\(99\)00269-1](https://doi.org/10.1016/s0167-4838(99)00269-1)
- Scherer N.M., Thompson C.E., Freitas L.B., Bonatto S.L. Patterns of molecular evolution in pathogenesis-related proteins. *Genet Mol Biol.* 2005;28(4):645-653. doi [10.1590/S1415-4757200500050001](https://doi.org/10.1590/S1415-4757200500050001)
- Sels J., Mathys J., De Coninck B.M., Cammue B.P., De Bolle M.F. Plant pathogenesis-related (PR) proteins: a focus on PR peptides. *Plant Physiol Biochem.* 2008;46(11):941-950. doi [10.1016/j.plaphy.2008.06.011](https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2008.06.011)
- Shcherban A.B., Skolotneva E.S., Fedyaeva A.V., Boyko N.I., Fomenko V.V. Effect of biopesticide Novochizol on development of stem rust *Puccinia graminis* f. sp. *tritici* in wheat, *T. aestivum* L. *Plants.* 2024;13(23):3455. doi [10.3390/plants13233455](https://doi.org/10.3390/plants13233455)
- Tada Y., Spoel S.H., Pajerowska-Mukhtar K., Mou Z., Song J., Wang C., Zuo J., Dong X. Plant immunity requires conformational changes [corrected] of NPR1 via S-nitrosylation and thioredoxins. *Science.* 2008;321(5891):952-956. doi [10.1126/science.1156970](https://doi.org/10.1126/science.1156970)
- Telyakova O.I., Fomenko V.V., Salakhutdinov N.F., Vlasenko N.G. NovochizolTM seed treatment: effects on germination, growth and development in soft spring wheat. *Nat Prod Chem Res.* 2022; 10(5):1-4. doi [10.35248/naturalproducts.10.5.1-04](https://doi.org/10.35248/naturalproducts.10.5.1-04)
- Tsilo T.J., Chao S., Jin Y., Anderson J.A. Identification and validation of SSR markers linked to the stem rust resistance gene *Sr6* on the short arm of chromosome 2D in wheat. *Theor Appl Genet.* 2009; 118(3):515-524. doi [10.1007/s00122-008-0917-x](https://doi.org/10.1007/s00122-008-0917-x)
- Van der Bulcke C., Bauw G., De Rucke R., Castryca C. The role of vacuolar and secreted pathogenesis-related B (1-3)-glucanases and chitinases in the defense response of plants. *Bull Soc Bot Fr.* 1990;137(3-4):51-63. doi [10.1080/01811789.1990.10827029](https://doi.org/10.1080/01811789.1990.10827029)
- Van Loon L.C., Van Strien E.A. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. *Physiol Mol Plant Pathol.* 1999;55(2):85-97. doi [10.1006/pmpp.1999.0213](https://doi.org/10.1006/pmpp.1999.0213)
- Van Loon L.C., Rep M., Pieterse C.M.J. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. *Annu Rev Phytopathol.* 2006;44:135-162. doi [10.1146/annurev.phyto.44.070505.143425](https://doi.org/10.1146/annurev.phyto.44.070505.143425)
- Wang L., He Y., Guo G., Xia X., Dong Y., Zhang Y., Wang Y., Fan X., Wu L., Zhou X., Zhang Z., Li G. Overexpression of plant chitin receptors in wheat confers broad-spectrum resistance to fungal diseases. *Plant J.* 2024;120(3):1047-1063. doi [10.1111/tpj.17035](https://doi.org/10.1111/tpj.17035)
- Wang X., Tang C., Deng L., Cai G., Liu X., Liu B., Han Q., Buchenauer H., Wei G., Han D., Huang L., Kang Z. Characterization of a pathogenesis-related thaumatin-like protein gene TaPR5 from wheat induced by stripe rust fungus. *Physiol Plant.* 2010;139(1):27-38. doi [10.1111/j.1399-3054.2009.01338.x](https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.2009.01338.x)
- Ward E.R., Uknes S.J., Williams S.C., Dincher S.S., Wiederhold D.L., Alexander D.C., Ahl-Goy P., Metraux J.P., Ryals J.A. Coordinate gene activity in response to agents that induce systemic acquired resistance. *Plant Cell.* 1991;3(10):1085-1094. doi [10.1105/tpc.3.10.1085](https://doi.org/10.1105/tpc.3.10.1085)

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию 05.06.2025. После доработки 17.07.2025. Принята к публикации 30.07.2025.