ЭКСПРЕССИЯ ГЕНА FeSOD У TOMATA СПОСОБСТВУЕТ ФОРМИРОВАНИЮ РЕАКЦИИ СВЕРХЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ПРИ ИНФИЦИРОВАНИИ *РНУТОРНТНОКА* INFESTANS

Куренина Л.В. 1 , Гулевич А.А. 1 , Смирнов А.Н. 2 , Белошапкина О.О. 2 , Баранова Е.Н. 1

 1 ФГБНУ ВНИИ сельскохозяйственной биотехнологии, Москва, greenpro2007@rambler.ru 2 РГАУ - MCXA им. К.А. Тимирязева, Москва

В работе была поставлена задача установить, оказывает ли конститутивная экспрессия FeSOD защитный эффект при заражении фитофторой. Для проверки эффективности защиты, для которой характерно формирование окислительного стресса, использовали инфекционное повреждение, вызванное выделенным из листьев томата изолятом *Phytophthora infestans*. Полученные ранее две независимых трансгенных линии томата, экспрессирующие ген Feзависимой супероксиддисмутазы под контролем CaMV 35S промотора, а также исходные растения использовали для оценки реакции на инфицирование изолятом *P. infestans*.

Инокуляцию образцов производили каплей изолята P. infestans по центру рядом с жилкой абаксиальной поверхности. Инокуляцию осуществляли зооспорами 10-суточной культуры P. infestans (5000 шт/мл суспензии). Для инфицирования отбирали пробы от 5 растений линий №6 и №27, у которых была подтверждена экспрессия FeSOD. Образцы культивировали в чашках Петри при температуре 20° C (14 суток), после чего визуально анализировали. Для анализа структурных изменений использовали фрагменты листьев контрольных и трансгенных растений с зоной поражения. Образцы анализировали на микроскопах Olimpus и Hitachi.

При инокуляции тестируемых образцов изолятами *P. infestans* наблюдали повреждения у всех образцов исходной линии томата, при этом отмечали хлоротичность, явное изменение тургора ткани, свидетельствовавшее о необратимых повреждениях и быстром развитии инфекции. В то же время у трансгенных линий, экспрессирующих ген FeSOD наблюдали быструю остановку инфекции, выражавшуюся в формировании отдельных ограниченных зон поврежденных клеток и отсутствием повреждения соседних участков листовой пластинки, что можно охарактеризовать как проявление реакции сверхчувствительности. Подобная реакция может свидетельствовать о повышении устойчивости трансгенных линий к фитофторозу.

При исследовании структурной организации подвергнутых инфицированию листьев исходных растений установлено, что клетки столбчатой и губчатой паренхимы имели однотипные повреждения: округлую форму, соединения между клетками были нарушены. Характерное расположение цитоплазмы и клеточных компартментов вдоль клеточной стенки и наличие центральной вакуоли не наблюдали. Пластиды округлой формы, а также клеточный дебрис располагались как внутри клеток, так и между ними, ткани сосуда также не имели связи с соседними клетками. В отдельных зонах между клетками томата располагались клетки патогена в виде тяжей или округлых клеток меньшего, чем у томата диаметра с плотной цитоплазмой и не имеющих явно выраженного вакуолярного компартмента. В тканях трансгенных линий наблюдали отчетливое разделение поврежденных и неповрежденных зон. При этом клетки имели повреждения, отличные от отмеченных у нетрансгенных растений: инфицированные клетки были неправильной, иногда звездчатой формы, с плотным внутренним содержимым, контакты между клетками сохранялись в здоровой ткани, но были менее выражены в поврежденной, по всей видимости транспорт воды к зараженным участкам нарушался.