

РОЛЬ САЛИЦИЛАТ- И ЖАСМОНАТ-ЗАВИСИМЫХ СИГНАЛЬНЫХ ПУТЕЙ В РАЗВИТИИ УСТОЙЧИВОСТИ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ К ОБЫКНОВЕННОЙ ЗЛАКОВОЙ ТЛЕ *SCHIZAPHIS GRAMINUM*, ИНДУЦИРОВАННОЙ ЭНДОФИТНЫМИ БАКТЕРИЯМИ РОДА *BACILLUS*

С.Д. Румянцев, Г.Ф. Бурханова, С.В. Веселова, И.В. Максимов

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, Уфа, Россия, *Rumyantsev-Serg@mail.ru*

Аннотация. Изучено влияние эндофитных штаммов *Bacillus* spp. и их композиции на индукцию системной устойчивости по салицилат- и жасмонат-зависимым сигнальным путям в растениях пшеницы, инфицированных обыкновенной злаковой тлей *Schizaphis graminum* Rond. Показано, что штамм Bs 26Д индуцировал СК-зависимые гены, а штаммы Bt B-6066 и Bt B-5689 индуцировали ЖАК-зависимые гены. Обнаружено аддитивное влияние композиции изученных штаммов *Bacillus* spp. на устойчивость пшеницы к вредителю.

Ключевые слова: *Schizaphis graminum*, *Bacillus* spp., системная индуцированная устойчивость, салициловая кислота, жасмоновая кислота

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-687-691

Одним из основных вредителей пшеницы, ухудшающим качество урожая, считается злаковая тля (*Aphididae*), в частности, наиболее распространенный на территории России вид – обыкновенная злаковая тля (*Schizaphis graminum* Rond.). В мерах борьбы против колюще-сосущих насекомых все чаще используются биопрепараты на основе стимулирующих рост растений бактерий (СРРБ, или PGPB от plant growth promoting bacteria) [Araújo, 2015]. Особый интерес представляют бактерии рода *Bacillus*, среди которых идентифицировано много эндофитных штаммов [Araújo, 2015]. СРРБ и особенно эндофитные бактерии обладают способностью запускать системную индуцированную устойчивость (СИУ) в растениях против патогенов и вредителей [Rashid, Chung, 2017]. Механизм СИУ заключается в регуляции гормональных сигнальных путей растений, где салициловая (СК) и жасмоновая (ЖАК) кислоты являются центральными координаторами комплекса сигнальных путей, активирующихся при защите растений от патогенов и вредителей [Rashid, Chung, 2017].

Известно, что системно приобретенная устойчивость (СПУ) развивается по СК-зависимому пути и направлена против биотрофных и гемибитрофных патогенов; СИУ, запускаемая СРРБ, развивается по ЖАК/этилен-зависимому пути и направлена против некротрофов и вредителей, причем ЖАК-сигнальный путь считается основным в защите растений против насекомых-вредителей [Pangesti et al., 2013]. Однако показано, что заселение тлями запускает в растениях как ЖАК/этилен-, так и СК-зависимые защитные ответы [Morkunas et al., 2011]. Первым фактором, индуцирующим защитный ответ растений на инфицирование тлями, является механическое повреждение, которое, как полагают, запускает ЖАК-зависимую активацию липоксигеназ и ингибиторов протеиназ [Morkunas et al., 2011]. Затем растение реагирует на химические детерминанты, содержащиеся в слюне тлей, и приводит в действие защитный ответ, схожий с устойчивостью к биотрофным патогенам, при этом активируется СК-зависимый сигнальный каскад [Morkunas et al., 2011].

Рост стимулирующая активность до недавнего времени считалась основным механизмом при взаимодействии растение-бактерия-насекомое, в настоящее время рассматривают важность индукции СИУ в таких взаимодействиях, однако тонкие механизмы еще не раскрыты [Pangesti et al., 2013]. СРРБ индуцируют защиту растений

против насекомых-вредителей, регулируя гормональные сигнальные пути, включая ЖАК-, этилен- и СК-пути, что ведет к изменению экспрессии генов, синтезу защитных растительных белков, различных ферментов и др. [Rashid, Chung, 2017]. Различные виды и штаммы бактерий рода *Bacillus* способны индуцировать СИУ в растениях против колюще-сосущих насекомых как по СК-, так и по ЖАК-зависимым сигнальным путям [Valenzuela-Soto et al., 2010]. Предполагается, что такая независимая индукция различных гормональных сигнальных путей в растениях может иметь решающее значение для создания композиций из различных штаммов или видов микроорганизмов, использующихся при комплексной защите растений [Pangesti et al., 2013].

В связи с этим, целью настоящей работы являлось изучение формирования механизмов устойчивости растений пшеницы к обыкновенной злаковой тле *S. graminum* по ЖАК- и СК-зависимым сигнальным путям под влиянием штаммов *Bacillus subtilis* 26Д (Bs 26Д), продуцирующего сурфактин, *B. thuringiensis* (Bt) B-6066 и B-5689, продуцирующих Cgy и Cyt токсины, и их композиции.

Таблица.

Влияние эндофитных штаммов рода *Bacillus* и их композиции на смертность обыкновенной злаковой тли через 14 суток кормления на растениях и на накопление транскриптов генов PR-белков маркеров СК-сигнального пути (*TaRboh*, *TaPAL*, *TaPRX*) и ЖАК-сигнального пути (*TaLOX*, *TaIP*) в листьях растений пшеницы через 3 суток инфицирования злаковой тлей *S. graminum*

Показатели			Вариант обработки бактериями				
Накопление транскрип-тов генов PR-белков, % от контроля	Гены PR-белков	Вариант	Вода	Bs 26Д	Bt B-6066	Bt B-5689	Компози-ция штаммов
	TaRboh	Контроль	100	118±13	83±14	72±12	137±18
		S. graminum	80±10	340±30	176±35	117±19	444±41
	TaPAL	Контроль	100	246±23	112±10	119±17	179±15
		S. graminum	114±8	256±17	128±18	136±21	256±28
	TaPRX	Контроль	100	140±32	110±17	117±26	150±23
		S. graminum	101±13	254±16	121±10	180±20	270±43
	TaLOX	Контроль	100	135±16	320±28	170±24	192±26
		S. graminum	240±32	161±18	451±43	490±53	430±51
	TaIP	Контроль	100	106±23	149±34	274±43	252±54
S. graminum		249±38	168±11	450±21	478±55	610±38	
Смертность тли, %			12,2±1,9	24,5±2,2	36,3±3,5	33,1±5,2	39,5±4,9

В данной работе была изучена способность бактериальных штаммов Bs 26Д и Bt (B-5689 и B-6066) и их композиции влиять на жизнеспособность обыкновенной злаковой тли (таблица). Тест на антибиоз показал, что смертность тлей, кормившихся на растениях пшеницы, обработанных клетками бактериальных штаммов Bs 26Д и Bt (B-5689 и B-6066) и их композицией, увеличивалась на 12-27% (таблица). Как и ожидалось, воздействие штаммов Bt (B-5689 и B-6066) на данные показатели было сильнее, чем штамма Bs 26Д, а наилучший результат среди вариантов эксперимента показала композиция трех штаммов (таблица). Таким образом, обработка растений

пшеницы восприимчивого к вредителю сорта Салават Юлаев бактериальными штаммами повышала их устойчивость к обыкновенной злаковой тле.

Обработка растений бактериями Bs 26Д и Bt (B-5689 и B-6066) и их композицией приводила к индукции СИУ, что подтверждается нашими результатами о накоплении транскриптов генов PR-белков (таблица). В нашей работе была изучена экспрессия генов, кодирующих PR-белки, маркеры и регуляторы СК- и ЖАК-сигнальных путей, играющие роль в защите растений от насекомых-вредителей. Из изученных нами генов защитных белков ген *TaRboh*, кодирующий фермент НАДФН-оксидазу, и ген *TaPAL*, кодирующий фермент фенилаланинаммоний лиазу (ФАЛ), регулировались СК-зависимым сигнальным каскадом [Van Loon et al., 2006]. С помощью мутантных растений арабидопсиса, лишенных гена *RbohD* показано, что НАДФН-оксидаза играет ключевую роль в генерации АФК при повреждении растений тлями [Morkunas et al., 2011], а ФАЛ является главным ферментом фенилпропаноидного метаболизма и наряду с пероксидазами вовлекается в синтез монолигнолов и фенольных соединений, необходимых для обезвреживания злаковой тли [Moran et al., 2002]. Ген *TaPRX*, кодирующий анионную пероксидазу, индуцировался как при развитии ЖАК-зависимых, так и СК-зависимых защитных реакций [Van Loon et al., 2006]. Ген *TaIP*, кодирующий ингибиторы протеиназ (ИП), и ген *TaLOX*, кодирующий липоксигеназу, регулировались ЖАК-зависимым сигнальным каскадом [Van Loon et al., 2006]. Показано, что ИП ухудшают развитие насекомых за счет их влияния на пищеварительные ферменты в кишечнике насекомых, а липоксигеназы катализируют перекисное окисление липидов, конечные продукты которого являются токсичными для насекомых [War et al., 2012].

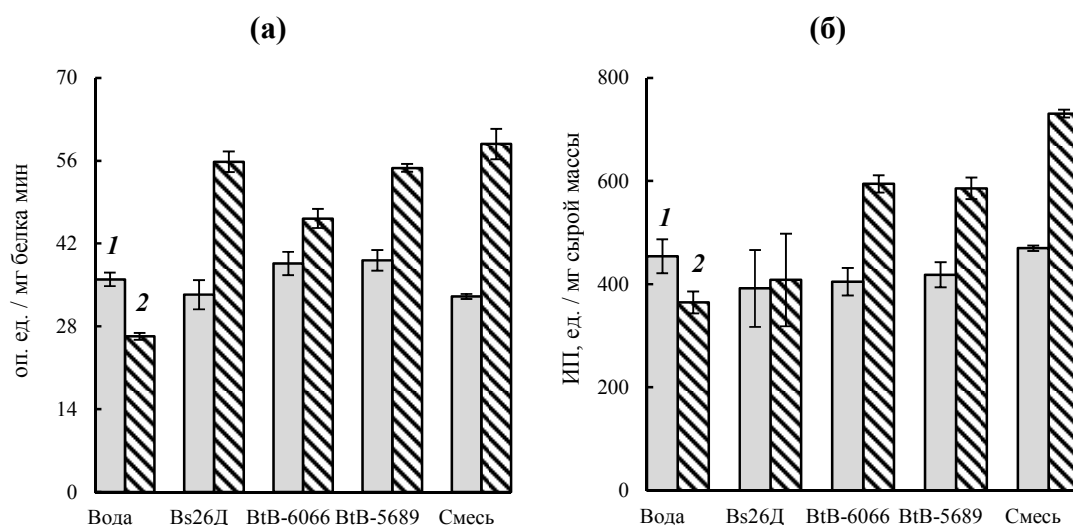


Рисунок. Влияние эндофитных штаммов рода *Bacillus* и их композиции на активность пероксидазы (а) и активность ингибиторов протеиназ (б) в листьях растений пшеницы через 3 суток инфицирования злаковой тлей *S. graminum*: 1 – контрольные растения, 2 – растения, заселенные злаковой тлей.

В необработанных бактериями и обработанных Bt (B-5689 и B-6066) инфицированных тлей растениях пшеницы было обнаружено накопление мРНК только двух генов – *TaLOX* и *TaIP* (таблица), являющихся «маркерными» генами сигнального пути ЖАК [Morkunas et al., 2011]. В инфицированных растениях, обработанных Bs 26Д, наблюдали накопление транскриптов генов *TaRboh*, *TaPAL* и *TaPRX* (таблица),

являющихся «маркерными» генами сигнального пути СК [Morkunas et al., 2011], соответствующие белки которых вовлекаются в генерацию H_2O_2 , синтез монолигнолов и фенольных соединений, соответственно [Moran et al., 2002]. В растениях, обработанных смесью штаммов, было обнаружено накопление мРНК всех изученных генов (таблица), что может предполагать одновременную индукцию СИУ в таких растениях по двум ЖАК- и СК-зависимым сигнальным путям.

Кроме того, в наших экспериментах у восприимчивых к *S. graminum* растений пшеницы обнаружено снижение активности пероксидаз (ПО) (рисунок, а) и уменьшение активности ИП (рисунок, б), что могло быть причиной ослабления устойчивости данных растений к тле. Напротив, растения, предварительно обработанные бактериальными штаммами Bs 26Д и Bt (B-5689 и B-6066) и их композицией, и затем инфицированные злаковой тлей *S. graminum*, отличались повышением активности ПО (рисунок, а) и увеличением активности ИП (рисунок, б) через 72 ч после начала кормления тлей. Стоит отметить, что штамм Bs 26Д практически не повышал активность ИП, а композиция трех штаммов сильнее остальных активировала данный показатель (рисунок, б).

Таким образом, штаммы Bt (B-5689 и B-6066) индуцировали гены ЖАК-зависимого защитного пути, а штамм Bs 26Д индуцировал гены СК-зависимого защитного пути. Интересно, что изученные штаммы не вызывали антагонистического интерферирующего эффекта при индукции защитных систем растений пшеницы, а, напротив, проявляли аддитивный эффект.

Работа выполнена в рамках госзадания по теме № 0246-2018-0035 и при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 17-29-08014.

Литература

- Araújo E.O. Rhizobacteria in the control of pest insects in agriculture // Afr. J. Plant Sci. – 2015. – V. 9, No. 9. – P. 368–373.
- Moran P.J., Cheng Y., Cassell J.L., Thompson G.A. Gene expression profiling of *Arabidopsis thaliana* in compatible plant-aphid interactions // Archives of Insect Biochemistry and Physiology. – 2002. – V. 51. – P. 182–203.
- Morkunas I., Mai V.C., Gabrys B. Phytohormonal signaling in plant responses to aphid feeding // Acta Physiol. Plant. – 2011. – V. 33. – P. 2057–2073.
- Pangesti N., Pineda A., Pieterse C.M.J., Dicke M., van Loon J.A. Two-way plant-mediated interactions between root-associated microbes and insects: from ecology to mechanisms // Front. Plant Sci. – 2013. – V. 4. – P. 414.
- Rashid M.H., Chung Y.R. Induction of systemic resistance against insect herbivores in plants by beneficial soil microbes // Front. Plant Sci. – 2017. – V. 8. – P. 1816.
- Valenzuela-Soto J.H., Estrada-Hernández M.G., Ibarra-Laclette E., Délano-Frier J.P. Inoculation of tomato plants (*Solanum lycopersicum*) with growth-promoting *Bacillus subtilis* retards whitefly *Bemisia tabaci* development // Planta. – 2010. – V. 231. – P. 397–410.
- Van Loon L.C., Rep M., Pieterse C.M. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants // Annual Rev. Phytopathol. – 2006. – V. 44. – P. 135–162.
- War A.R., Paulraj M.G., Ahmad T., Buhroo A.A., Hussain B., Ignacimuthu S., Sharma H.C. Mechanisms of plant defense against insect herbivores // Plant Signal. Behav. – 2012. – V. 7, № 10. – P. 1306–1320.

THE ROLE OF SALICYLATE- AND JASMONATE-DEPENDENT SIGNALING PATHWAYS IN THE DEVELOPMENT OF WHEAT PLANTS RESISTANCE TO GREENBUG APHID *SCHIZAPHIS GRAMINUM* INDUCED BY ENDOPHYTIC BACTERIA OF THE GENUS *BACILLUS*

S.D. Rumyantsev, S.V. Veselova, G.F. Burkhanova, I.V. Maksimov

Institute of Biochemistry and Genetics of Ufa Science Centre RAS, Ufa, Russia,
Rumyantsev-Serg@mail.ru

Abstract. The influence of endophytic strains *Bacillus* spp. and their compositions on the induction of systemic resistance in wheat plants infected with greenbug aphid *Schizaphis graminum* Rond. was studied. It was shown that the strain *B. subtilis* 26D induced salicylate-dependent genes, and the strains *B. thuringiensis* B-6066 and B-5689 induced jasmonate-dependent genes. The additive effect of *Bacillus* spp. strains compositions on wheat resistance to greenbug aphids was found.

Keywords: *Schizaphis graminum*, *Bacillus* spp., induced systemic resistance, salicylic acid, jasmonic acid