

ОТВЕТНЫЕ РЕАКЦИИ РАСТЕНИЙ ПРИ ВЗАИМОДЕЙСТВИИ С ФЛАГЕЛЛИНАМИ РИЗОСФЕРНЫХ БАКТЕРИЙ

Г.Л. Бурьгин^{1,2}, К.Ю. Каргаполова², Ю.В. Красова¹, О.В. Ткаченко²

¹Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов Российской академии наук, Саратов, Россия, burygingl@gmail.com

²Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова, Саратов, Россия, oktkachenko@yandex.ru

Аннотация. Изучены ответные реакции растений мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Саратовская 29 в условиях *in vitro* на действие флагеллинов ризосферных бактерий *Azospirillum brasilense* Sp7 и *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2. Отмечены изменения биохимических и морфометрических параметров при действии бактериальных флагеллинов. При этом флагеллин штамма *A. brasilense* Sp7 проявлял меньший ингибирующий эффект на рост растений, что мы связываем с гликозилированием этого белка.

Ключевые слова: ответные реакции растений, *Triticum aestivum* L., ризосферные бактерии, флагеллин

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-1203-1205

Системы подвижности и хемотаксиса бактерий играют важнейшую роль при формировании растительно-микробного симбиоза [de Weert et al., 2002]. Основным структурным белком бактериальных жгутиков, обеспечивающим направленное движение, является флагеллин. Для представителей более 30 видов бактерий показана возможность посттрансляционной модификации их флагеллинов путем ковалентного присоединения углеводов – гликозилирования [Belyakov et al., 2012]. При этом доказано, что углеводная часть флагеллина оказывает значимое влияние на способность бактерий к колонизации организма-хозяина и развитию патогенеза [Hirai et al., 2011]. Одним из модельных объектов в исследовании растительно-микробного взаимодействия являются бактерии рода *Azospirillum*, большинство видов и штаммов которых изолированы как ассоциативные симбионты многих растений, в том числе и важных сельскохозяйственных культур [Pereg et al., 2016]. Целью данной работы была сравнительная характеристика влияния гликозилированного флагеллина *A. brasilense* Sp7 и негликозилированного флагеллина *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 на рост мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Саратовская 29 в условиях *in vitro*.

Анализ результатов измерений 15-дневных растений пшеницы, культивируемых 10 суток в среде, содержащей бактериальные флагеллины штаммов *A. brasilense* Sp7 и *O. cytisi* IPA7.2, выявил достоверное снижение длины 1-го листа пшеницы под действием флагеллина IPA7.2. При этом длина второго листа при действии флагеллина IPA7.2 была на 35% больше, чем у контрольных растений. Влияние флагеллина штамма Sp7 на морфометрические показатели побегов пшеницы выявлено не было. В то же время на длину корней растений оказывали действия оба флагеллина (и штамма Sp7, и штамма IPA7.2). Так, длина корней пшеницы уменьшалась на 18% при действии флагеллина Sp7, и на 43% при действии флагеллина IPA7.2. При этом количество корней у опытных растений не отличалось от этого показателя контрольных растений (рисунок).

Измерение сухой и сырой масс микрорастений также продемонстрировало влияние флагеллина штамма IPA7.2 на микрорастения пшеницы. У опытных растений установлено снижение сырой массы побегов и корней на 24% и 39%, соответственно.

Примерно таким же было и снижение сухой массы растений, культивируемых с флагеллином IPA7.2 – на 24% побегов и на 33% корней. Достоверных различий в сырой и сухой массах при действии флагеллином штамма Sp7 на микрорастения пшеницы выявлено не было.

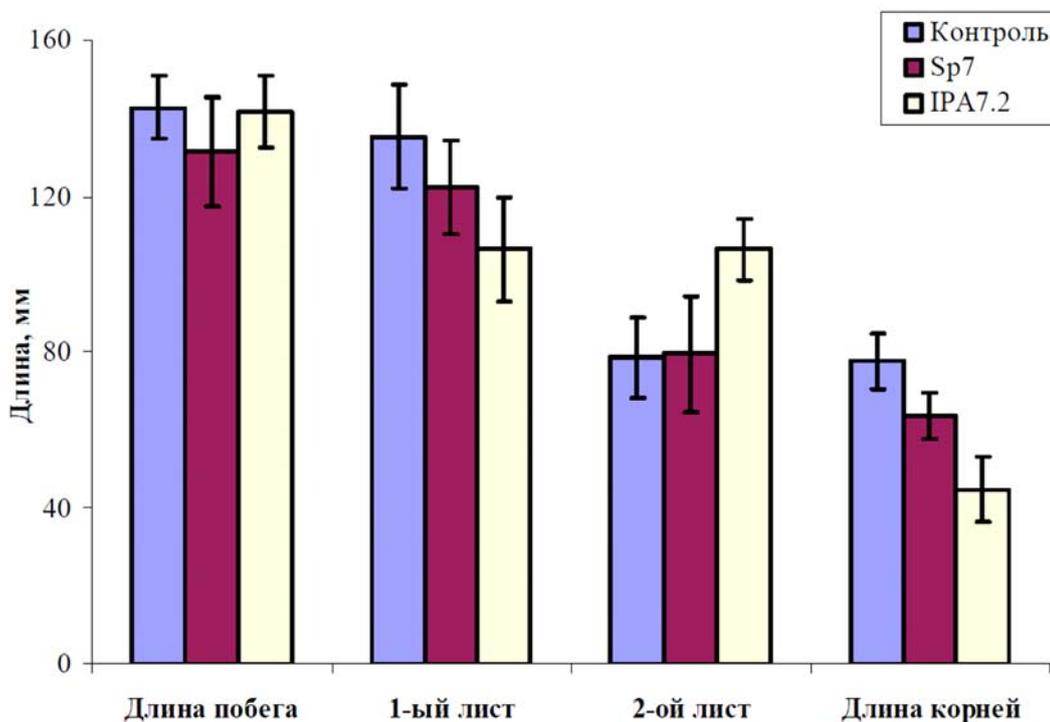


Рисунок. Морфометрические показатели микрорастений пшеницы после семи дней культивирования на жидкой среде Мурасиге-Скуга с флагеллинами *Azospirillum brasilense* Sp7 и *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2. Концентрация флагеллинов в среде составляла 100 нМ. Приведены доверительные интервалы при $p < 0,05$; $n=30$.

Было установлено, что флагелины штаммов *A. brasilense* Sp7 и *O. cytisi* IPA7.2 в исследуемой концентрации стимулировали функциональную активность меристематических клеток корней 6-дневных микрорастений пшеницы через 24 часа после обработки: митотический индекс (МИ) клеток корневых меристем опытных растений пшеницы увеличивался на 61% (для флагеллина IPA7.2) и 89% (для флагеллина Sp7). После 7 суток действия флагеллинов (12-ти суточные растения) стимулирующий эффект выравнивался в отношении меристематических клеток корня пшеницы: МИ клеток увеличивался приблизительно на 45-50% во обоих опытных вариантах по сравнению с МИ необработанных растений. Таким образом, под влиянием бактериальных флагеллинов *A. brasilense* Sp7 и *O. cytisi* IPA7.2 большее число меристематических клеток находится в стадии митоза. Можно предположить, что происходит задержка этих клеток в G1-фазе клеточного цикла, как естественная реакция растительного организма на стресс-воздействие.

По результатам проведённых экспериментов можно констатировать присутствие в клетках *Triticum aestivum* L. рецепторов к бактериальным флагеллинам, запускающих реакции фитоиммунитета, замедляющие рост всего растения. В свою очередь, структура бактериальных флагеллинов также важна для формирования ответных реакций растений. Установлено, что негликозилированный флагеллин штамма *O. cytisi*

IPA7.2 вызывает более сильные изменения в растениях пшеницы, чем гликозилированный флагеллин штамма *A. brasilense* Sp7 [Belyakov et al., 2012]. В связи с чем можно предположить эволюционное значение гликозилирования флагеллинов азоспирилл, способствующего успешной колонизации растений этими бактериями.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №16-04-01444.

Литература

Belyakov A.Y., Burygin G.L., Arbatsky N.P., Shashkov A.S., Selivanov N.Y., Matora L.Y., Knirel Y.A., Shchyogolev S.Y. Identification of an O-linked repetitive glycan chain of the polar flagellum flagellin of *Azospirillum brasilense* Sp7 // Carbohydr. Res. – 2012. – V. 361. – P. 127–132.

de Weert S., Vermeiren H., Mulders I.H., Kuiper I., Hendrickx N., Bloember, G.V., Vanderleyden J., De Mot R., Lugtenberg B.J. Flagella-driven chemotaxis towards exudate components is an important trait for tomato root colonization by *Pseudomonas fluorescens* // Molecular Plant-Microbe Interactions. – 2002. – V. 15 (11). – P. 1173–1180.

Hirai H., Takai R., Iwano M., Nakai M., Kondo M., Takayama S., Isogai A., Che F.S. Glycosylation regulates specific induction of rice immune responses by *Acidovorax avenae* flagellin // J. Biol. Chem. – 2011. – V. 286. – P. 25519–25530.

Pereg L., de-Bashan L.E., Bashan Y. Assessment of affinity and specificity of *Azospirillum* for plants // Plant Soil. – 2016. – V. 399 (1-2). – P. 389–414.

PLANT RESPONSES TO FLAGELLINS OF PLANT GROWTH-PROMOTING RHIZOBACTERIA

G.L. Burygin^{1,2}, K.Yu. Kargapolova², Yu.V. Krasova¹, O.V. Tkachenko²

¹Institute of Biochemistry and Physiology of Plants and Microorganisms, Russian Academy of Sciences, Saratov, Russia, burygingl@gmail.com

²Vavilov Saratov State Agrarian University, Saratov, Russia, oktkachenko@yandex.ru

Abstract. The wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Saratovskaya 29) responses to flagellins of rhizosphere bacteria *Azospirillum brasilense* Sp7 и *Ochrobactrum cytisi* IPA7.2 have been studied under *in vitro* conditions. Changes in biochemical and morphometric parameters by bacterial flagellin actions are noted. In this case, the *A. brasilense* Sp7 flagellin showed less inhibitory effect on growth of plants that we associate with the glycosylation of this protein.

Keywords: *plant responses, Triticum aestivum* L., *rhizospheric bacteria, flagellin*