

Бурыгин Г.Л.¹, Евсеева Н.В.¹, Красова Ю.В.¹, Каргаполова К.Ю.², Сигида Е.Н.¹,
Ткаченко О.В.²

¹ Институт биохимии и физиологии растений и микроорганизмов РАН, г. Саратов, РФ;
burygingl@gmail.com

² Саратовский государственный аграрный университет им. Н.И. Вавилова, г. Саратов, РФ;
oktkachenko@yandex.ru

ОСОБЕННОСТИ ДЕЙСТВИЯ НА РАСТЕНИЯ КОМПОНЕНТОВ КЛЕТОК БАКТЕРИЙ РОДА *AZOSPIRILLUM*

В данной работе показано, что поверхностные компоненты клеток бактерий рода Azospirillum (липополисахариды (ЛПС) и флагеллины жгутиков) обладают биологической активностью по отношению к растениям. При этом особенности структуры бактериальных биополимеров способствуют успешной колонизации растений микроорганизмами. В экспериментах с микроклонами картофеля и пшеницы в условиях in vitro выявлено стимулирование раствором ЛПС азоспирилл развития корней растений, сопоставимое с положительным влиянием бактериальной суспензии. Также ЛПС повышал выход регенерантов из каллусов пшеницы. Флагеллин же азоспирилл, хотя и оказывает ингибирующее действие на развитие растений, но негативный эффект значительно слабее действия флагеллинов других ризосферных бактерий и непродолжительный во времени.

In this work, it is shown that the surface components of bacterial cells of the genus Azospirillum (lipopolysaccharide (LPS) and flagellin of flagella) have biological activity on plants. In this case, the peculiarities of the bacterial biopolymer structure contribute to the successful colonization of plants by microorganisms. In experiments with potato and wheat microclones under in vitro conditions, the promotion of the plant root system development by the LPS solution was found to be comparable to the positive effect of the bacterial suspension. Also, LPS increased the yield of regenerants from wheat callus. Azospirillum flagellin, although it has an inhibitory effect on the development of plants, but the negative effect is much weaker than the action of flagellins from other rhizosphere bacteria and is short in time.

Ключевые слова: ризосферные бактерии; *Azospirillum*; липополисахарид; флагеллин; микрорастения.

Keywords: rhizospheric bacteria; *Azospirillum*; lipopolysaccharide; flagellin; microplants.

Введение

Бактерии рода *Azospirillum* являются признанной моделью в изучении взаимодействия растений с ростстимулирующими ризобактериями [1] и активно применяются как составная часть многих микробных препаратов, используемых в растениеводстве разных регионов мира [2]. Несмотря на то, что эта группа бактерий способна к активной азотфиксации, основным механизмом положительного влияния на растения является регуляция уровня фитогормонов в организме-хозяине [1]. В успешном формировании ассоциативного растительно-микробного симбиоза важную роль играют поверхностные биополимеры бактериальной клетки: липополисахариды (ЛПС), флагеллины, капсульный материал [3]. В 1999 г. впервые было продемонстрировано влияние молекул бактериальных флагеллинов на растения [4]. Позднее нами был выявлен ауксин-подобный эффект бактериальных ЛПС на проростки пшеницы [5]. В связи с этим, целью данной работы стало изучение биологической активности ЛПС и флагеллинов полярных жгутиков бактерий рода *Azospirillum* на растения в сравнении с действием бактериальных клеток.

Материалы и методы

Исследования проводили на микрорастениях картофеля (*Solanum tuberosum* L.) сорта Кондор и пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Саратовская 29 в условиях *in vitro*. Препараты бактериальных ЛПС и флагеллинов, а также бактериальную суспензию азоспирилл, вносили либо при черенковании растений, либо к 10-ти суточным микрорастениям. Определение митотического индекса и экспрессии целевых генов осуществляли через сутки после внесения агентов, а морфометрические параметры растений измеряли через 10, 20 и 30 дней.

Результаты и их обсуждение

Анализ морфометрических параметров растений, обработанных растворами ЛПС бактерий *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium leguminosarum*, *Pectobacterium atrosepticum* и *Escherichia coli* показал различное действие препаратов на рост растений. Стимулирующее действие ЛПС выявлено на длину и количество корней, наиболее выраженное для ЛПС штаммов *A. brasilense* Sp7 и Sp245 (+20–30% от необработанных растений). Уровень стимуляции развития корневой системы растений оказался сопоставим и достоверно неотличим от действия бактериальных суспензий соответствующих штаммов при инокуляции 10^6 кл/мл.

Флагеллин полярных жгутиков бактерий рода *Azospirillum* вызывал незначительное ингибирование роста растений в первую декаду культивирования и ускорение ростовых процессов (компенсаторный рост) во время второй половины эксперимента. Следует отметить, что действие флагеллинов азоспирилл на растения было менее выраженным по сравнению с влиянием флагеллинов других ризосферных бактерий и описанным в литературе действием флагеллинов фитопатогенов [4].

Определение митотического индекса корневых меристем выявило статистически достоверное повышение показателя во всех опытных вариантах (от 15 до 80 %), несмотря на стимулирующее действие ЛПС и ингибирующее флагеллина. Этот феномен мы связываем с ускорением вхождения в митоз меристематических клеток растений под влиянием и ЛПС, и флагеллина, с последующей задержкой G1-фазы в случае обработки флагеллином.

Методом *rtPCR* у растений картофеля после 24 часов действия флагеллина установлено существенное повышение уровня экспрессии липоксигеназы (фермент синтеза жасмоновой кислоты), в то время как под влиянием ЛПС повышалась экспрессия *PR1*-гена (участник синтеза салициловой кислоты) и понижалась *IAA43*-гена (конъюгация ауксина), что говорит о различных путях регуляции реакций фитоиммунитета и уровня фитогормонов в растениях бактериальными биополимерами.

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

Библиографические ссылки

1. 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.
2. Cassán F., Diaz-Zorita M. *Azospirillum* sp. in current agriculture: from the laboratory to the field // Soil Biol.Biochem. 2016. V. 103. P. 117–130.
3. Reinhold-Hurek B., Hurek T. Life in grasses: diazotrophic endophytes // Trends Microbiol. 1998. V. 6 (4). P. 139–144.
4. Gómez-Gómez L., Felix G., Boller T. A single locus determines sensitivity to bacterial flagellin in *Arabidopsis thaliana* // Plant J. 1999. V. 18 (3). P. 277–284.
5. Effect of *Azospirillum brasilense* Sp245 lipopolysaccharide on the functional activity of wheat root meristematic cells / N.V. Evseeva [et al.] // Plant Soil. 2011. V. 346 (1-2). P. 181.