

Влияние различных штаммов эндофитных бактерий рода *Bacillus* на устойчивость растений картофеля к колорадскому жуку

С. Д. Румянцев*, А. В. Сорокань, Г. В. Беньковская

Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра Российской академии наук

Россия, Республика Башкортостан, 450054 Уфа, проспект Октября, 71.

**Email: fortyanns@googlegmail.com*

Показана высокая способность полученного на основе *B. subtilis* 26Д штамма *B. subtilis* 26ДСгу, несущего ген инсектотоксина из штамма *B. thuringiensis* В-5351 снижать жизнеспособность колорадского жука как напрямую, так и путем активации защитных систем растений картофеля.

Ключевые слова: эндофиты, картофеля, колорадский жук, устойчивость.

Под эндофитами сейчас принято подразумевать всю совокупность микроорганизмов, включая и эндофитных бактерий, обитающих в тканях растений и не причиняющих вреда хозяину [1]. Под действием эндофита формируется характерный фенотип растения [2], так как эндофиты обладают «полезными» свойствами для растений – способностями фиксировать азот, делать более доступными элементы минерального питания, прямо или опосредовано увеличивать их устойчивость к стрессовым факторам [3], в том числе – насекомым-фитофагам. Спорообразующие бактерии *Bacillus thuringiensis* (Bt) – наиболее распространенные агенты микробиологического контроля численности насекомых, продуцирующие инсектотоксичные белки [4]. Нами был получен эндофитный штамм *B. subtilis* 26ДСгу, синтезирующий Сгу-токсин штамма *B. thuringiensis* В-5351 [5]. Целью настоящей работы была оценка влияния рекомбинанта и исходных штаммов на устойчивость растений картофеля к колорадскому жуку.

Влияние обработок исследуемыми препаратами проводилось в двух вариантах. Для изучения прямого воздействия бактерий на смертность жуков использовались свежие листья картофеля с нанесенной на поверхность суспензией бактерий. Для исследования воздействия на смертность жуков поедания растений, заселенных эндофитами, применялось кормление жуков пробирочными растениями картофеля, обработанными суспензией культурой бактерий за 20 суток до кормления. В растениях последнего варианта оценивалось содержание перекиси водорода и активность пероксидаз.

Было выявлено, что суспензия *B. subtilis* 26 Д увеличивала смертность личинок колорадского жука более чем в два раза, однако поедание заселенных эндофитом растений снижало этот показатель до 10%. Обработка *B. thuringiensis* B-5351 растений картофеля приводило к 40% гибели насекомых. Следует отметить, что штамм *B. subtilis* 26ДCry обладал так же инсектицидным эффектом, как *B. thuringiensis* B-5351, как в виде суспензии (80%), так и в качестве эндофита картофеля (61.8%) (Таблица 1). Таким образом, данный штамм способен оказывать длительное воздействие на устойчивость растений, сохраняясь в тканях в качестве эндофитного микроорганизма.

Таблица 1. Смертность под влиянием эндофитной микрофлоры

Варианты обработки	Смертность в %, 7 суток после питания, личинки III возр.	
	Обработанные листья	Зараженные растения
Контроль	15.5 ± 4.02	19.2 ± 5.95
<i>B. subtilis</i> 26 Д	46.3 ± 7.5*	30.2 ± 2.9*
<i>B. subtilis</i> .26ДCry	80.0 ± 4.6**	61.8 ± 4.9**
<i>B. thuringiensis</i> B-5351	76.7 ± 3.35**	55.6 ± 5.8**

Примечание: * – достоверное отличие от контрольного варианта, $p \leq 0.05$;

** - достоверное отличие от контрольного варианта, $p \leq 0.01$;

Вероятно, высокая эффективность *B. subtilis* 26ДCry против колорадского жука может объясняться как прямым инсектицидным воздействием данного штамма, так и повышенным содержанием перекиси водорода и активности пероксидаз в заселенных эндофитом растениях картофеля (рис. 1, 2). Видно, что бактерии исходного штамма *B. subtilis* 26Д стимулируют накопление активных форм кислорода после повреждения, что имеет защитный и сигнальный эффект. Полученный штамм в большей степени воздействовал на этот параметр, хотя *B. thuringiensis* B-5351 не оказывал подобного эффекта.

Активность пероксидаз после повреждения картофеля колорадским жуком увеличивалась уже через 3 часа в необработанных растениях, и в растениях, обработанных *B. subtilis* 26Д. Обработка *B. thuringiensis* B-5351 и рекомбинантным штаммом способствовала более продолжительному увеличению пероксидазной активности (рис. 2).

Таким образом, полученный штамм увеличивает устойчивость растений картофеля к колорадскому жуку благодаря прямому инсектотоксическому действию, а так же праймированию защитных систем растения.

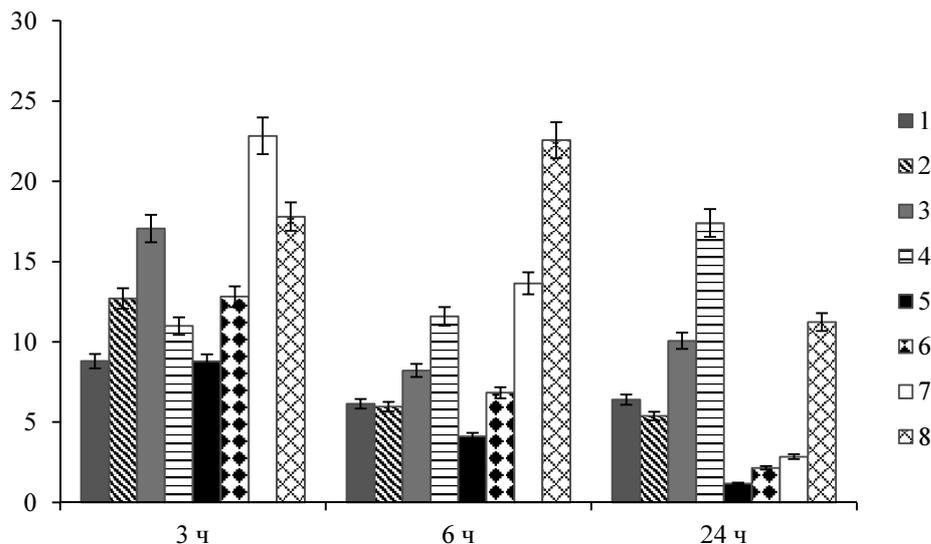


Рис. 1. Воздействие *B. subtilis* 26Д, *B. thuringiensis* В-5351а и рекомбинантного штамма *B. subtilis* 26ДСry на содержание перекиси водорода в интактных и поврежденных колорадским жуком растениях картофеля. 1 – необработанный контроль; 2 –повреждение; 3 – *B. subtilis* 26Д; 4 – *B. subtilis* 26Д + повреждение; 5 – *B. thuringiensis* В-5351; 6 – *B. thuringiensis* В-5351 + повреждение; 7 – *B. subtilis* 26ДСry; 8 – *B. subtilis* 26ДСry + повреждение.

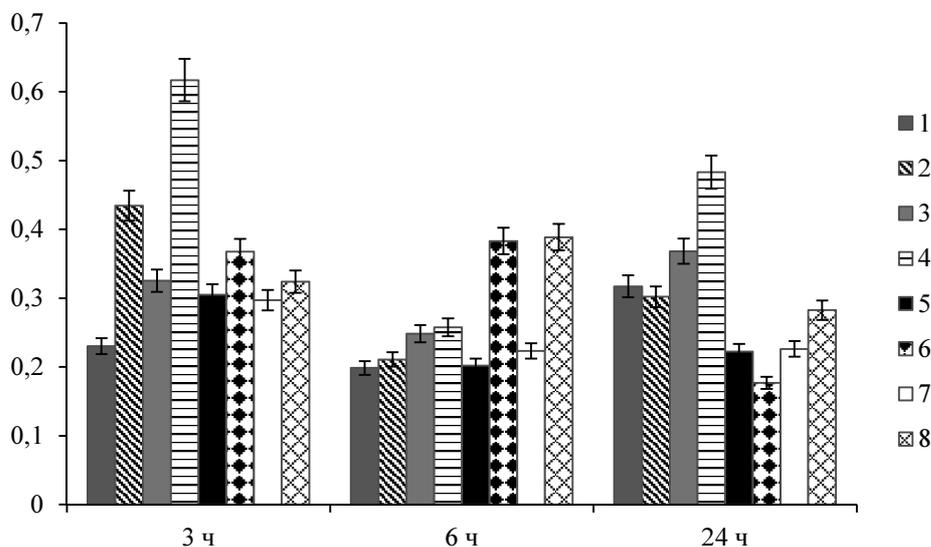


Рис. 2. Воздействие *B. subtilis* 26Д, *B. thuringiensis* В-5351 и рекомбинантного штамма *B. subtilis* 26ДСry на активность пероксидаз в здоровых и поврежденных колорадским жуком растениях картофеля. 1 – необработанный контроль; 2 –повреждение; 3 – *B. subtilis* 26Д; 4 – *B. subtilis* 26Д + повреждение; 5 – *B. thuringiensis* В-5351; 6 – *B. thuringiensis* В-5351 + повреждение; 7 – *B. subtilis* 26ДСry; 8 – *B. subtilis* 26ДСry + повреждение.

Работа выполнена в рамках Госзадания № 116020350027-7 (2016-2018) при частичной финансовой поддержке РФФИ № 18-34-0021 мол_а.

Литература

1. Hardoim P. R., van Overbeek L. S., Berg G. et al. The hidden world within plants: ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes // *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2015. V. 79. N. 3. P. 293–320.
2. Partida-Martínez L. P., Heil M. The microbe-free plant: fact or artifact? // *Front. Plant Sci.* 2011. V. 2. Article 100. doi: 10.3389/fpls.2011.00100.
3. Hartley S. E., Eschen R., Horwood J. M. et al. Infection by a foliar endophyte elicits novel arabidopside-based plant defence reactions in its host, *Cirsium arvense* // *New Phytol.* 2015. P. 205. P. 816–827.
4. Штерншис М. В. Тенденции развития биотехнологии микробных средств защиты растений в России // *Вестник Томского государственного университета. Биология.* 2012. №2 (18). С. 92–100. Sabirov D. Sh., Khursan S. L., Bulgakov R. G. // *J. Mol. Graph. Mol. Model.* 2008. (принята к опубликованию). DOI: 10.1016/j.jmglm.2008.03.006.
5. Благова Д. К., Бурханова Г. Ф., Хайруллин Р. М., Максимов И. В. Рекомбинантный штамм *Bacillus subtilis* 26Д с ry с фунгистатической и инсектицидной активностью // II Международная научная конференция "Генетика и биотехнология XXI века: проблемы, достижения, перспективы". Минск, 2015. С. 184.

The influence of various strains of endophytic bacteria of the genus *Bacillus* on plant resistance of potato to Colorado beetle

S. D. Rumyantsev*, A. V. Sorokan, V. G. Benkovskaya

*Institute of biochemistry and genetics of the Ufa Federal research center
of the Russian Academy of Sciences
71 Prospekt Oktyabrya, 450054 Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia.*

*Email: fourtyanns@googlemail.com

The high ability of the obtained on the basis of *B. subtilis* 26 D strain *B. subtilis* 26ДCry carrying the gene encoding insecticidal protein from the strain *B. thuringiensis* B-5351 to reduce the viability of the Colorado potato beetle, both directly and by activation of the defence mechanisms of potato plants.

Keywords: endophytes, potato, Colorado potato beetle, plant resistance.