

# Bacteria of the genus *Bacillus* and their lipopeptides enhance endurance of wheat plants to the greenbug aphid *Schizaphis graminum* Rond.

(Бактерии рода *Bacillus* и их липопептиды повышают выносливость растений пшеницы к обыкновенной злаковой тле *Schizaphis graminum* Rond.)

Alekseev V.Y., Veselova S.V., Rumyantsev S.D., Burkhanova G.F., Cherepanova E., A.Maksimov I.V.

Институт биохимии и генетики Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Уфа, Россия, e-mail: valentin-1994@yandex.ru



## Введение:

Одними из основных вредителей пшеницы, ухудшающими качество урожая, считаются злаковые тли (Aphididae), в частности наиболее распространенный вид - обыкновенная злаковая тля (*Schizaphis graminum* Rond.). Эффективным способом повышения устойчивости зерновых культур к тлям является применение биологических препаратов на основе бактерий рода *Bacillus*. Механизмы действия бактерий могут быть различными: секреция δ-эндотоксинов (Cгу и Cyt), синтез биосурфактантов липопептидной природы, стимуляция роста и регуляция работы про-/антиоксидантной системы растений, индукция системной устойчивости. Многие бактерии синтезируют антибиотические вещества пептидной природы, убивающие другие виды микроорганизмов. Одна из групп таких биологически активных соединений бактерий – липопептиды, представляющих собой низкомолекулярные соединения пептидной природы с остатком жирной кислоты. Показано, что ряд бактерий *Bacillus* spp. синтезируют основные классы липопептидов (сурфактины, фенгицины и итурины).

Цель работы – изучение формирования толерантности (выносливости) растений пшеницы к обыкновенной злаковой тле *Schizaphis graminum* под влиянием штаммов и изолятов стимулирующих рост растений бактерий *Bacillus* spp. и их метаболитов липопептидной природы.

Объектом исследования служили восприимчивый сорт мягкой яровой пшеницы (*T. aestivum* L.) – Салават Юлаев (СЮ), штаммы бактерий *B. subtilis* 26Д, основа коммерческого биопрепарата Фитоспорин-М (“Башинком”, Россия), *B. subtilis* 11ВМ, *B. thuringiensis* В-6066, полученные из Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ), а также изоляты бактерий рода *Bacillus* Tas-1 и Tas-8.2, выделенные из пшеницы, районированной в Республике Башкортостан. Получение липопептид-богатой фракции из среды культивирования *Bacillus* spp. осуществлялось очисткой с помощью ряда стадий осаждения и экстракции 2М HCl, КОН и 80% этанолом. Затем неочищенный комплекс очищали с помощью фильтра Amicon (Merck), отсекающего вещества с молекулярной массой выше 3 кДа. Подбор рост-стимулирующих концентраций бактериальных штаммов и их метаболитов проводили с помощью метода определения энергии прорастания и всхожести семян, а также массы проростков согласно ГОСТ 12038-84.

**Таблица 1.** Влияние бактериальных штаммов и изолятов рода *Bacillus* на всхожесть семян и прирост биомассы проростков пшеницы

Бактериальный штамм/ изолят	Концентрация, мкл суспензии / г семян	Всхожесть, %	Прирост сырой массы одного проростка, % от контроля	Прирост сухой массы одного проростка, % от контроля
Контроль	-	60±4,7	100	100
<i>B. subtilis</i> 26Д	2	99,6±11,7	129±5	132±1
<i>B. subtilis</i> 11ВМ	1	96,5±2,0	116±2	126±1
<i>Bacillus</i> Tas 8.2	1	91,7±3,8	138±5	128±4
<i>Bacillus</i> Tas 1	2	96,1±13,0	129±3	132±1
<i>B. thuringiensis</i> В-6066	2	89,9±5,6	131±6	132±2

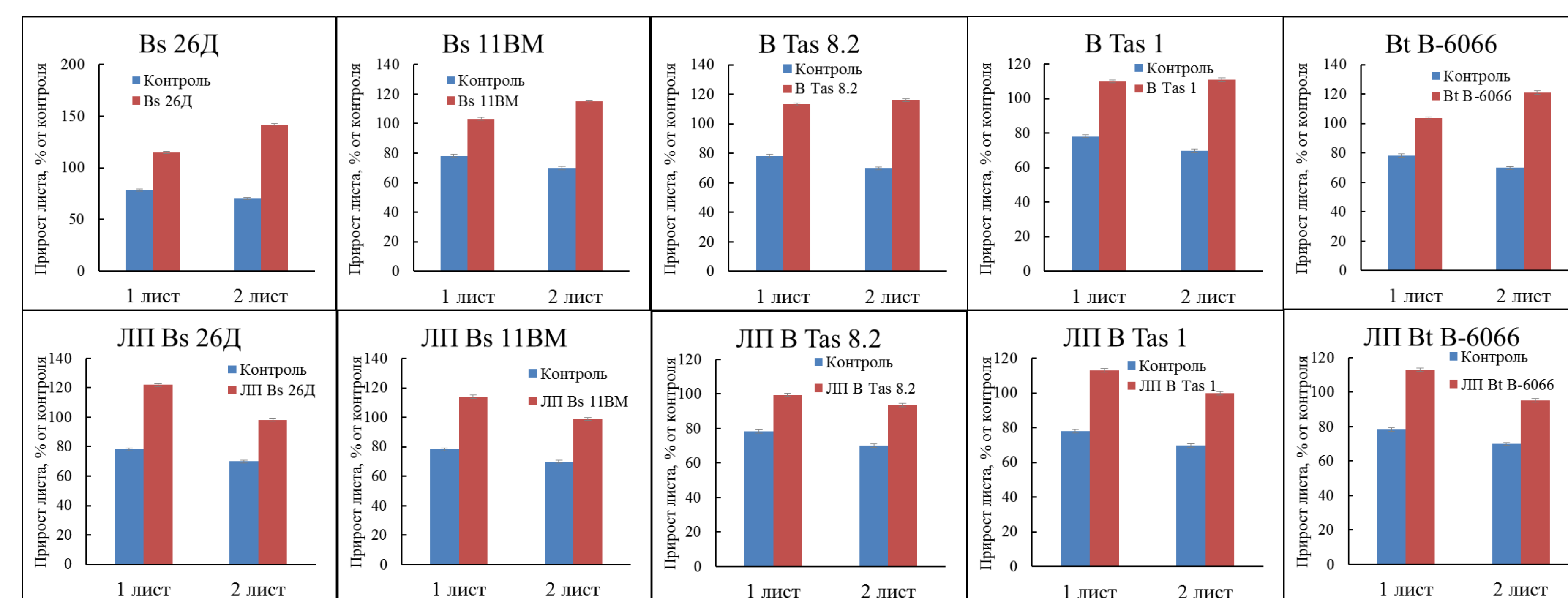
**Таблица 2.** Влияние метаболитов бактериальных штаммов и изолятов рода *Bacillus* на всхожесть семян и прирост биомассы проростков пшеницы

Метаболит из бактериального штамма/ изолята	Концентрация, метаболита, мкг/мл	Всхожесть, %	Прирост сырой массы одного проростка, % от контроля	Прирост сухой массы одного проростка, % от контроля
Контроль	-	66,5±3,8	100	100
<i>B. subtilis</i> 26Д	2,5	92,3±4,7	136±11	127±6
<i>B. subtilis</i> 11ВМ	1,5	92,0±4,2	159±5	142±2
<i>Bacillus</i> Tas 8.2	2	85,4±4,8	152±1	132±2
<i>Bacillus</i> Tas 1	2,5	88,5±4,9	148±11	138±5
<i>B. thuringiensis</i> В-6066	1,5	92,5±1,6	159±3	144±9

## Выносливость

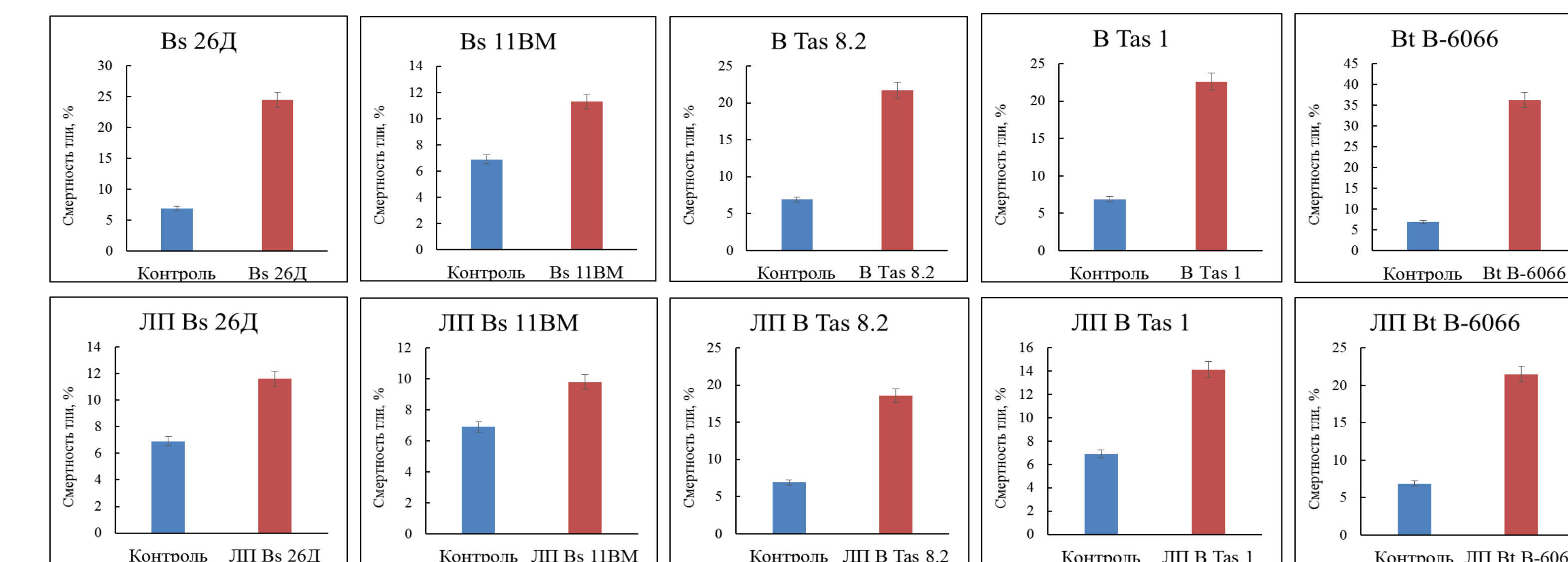
Обработка семян бактериальными штаммами и изолятами повышала всхожесть семян примерно на 30 – 40 % от уровня контроля, наибольший эффект оказал штамм *B. subtilis* 26Д, также высоко стимулировали всхожесть штамм *B. subtilis* 11ВМ и изолят *Bacillus* Tas-1. Метаболиты изученных штаммов и изолятов влияли на всхожесть семян слабее, чем бактериальные суспензии. Наибольший эффект оказали метаболиты штаммов *B. subtilis* 26Д, *B. subtilis* 11ВМ и *B. thuringiensis* В-6066. Бактериальные суспензии и выделенные метаболиты также положительно влияли на прирост сырой и сухой биомассы проростков пшеницы. Наибольший эффект оказали метаболиты штаммов *B. subtilis* 11ВМ и *B. thuringiensis* В-6066 и изолята *Bacillus* Tas-8.2. Такие результаты могут служить доказательством рост-стимулирующего эффекта выделенных метаболитов.

Рост-стимулирующий эффект бактерий может приводить к повышению выносливости (толерантности) растений к тлям, заключающейся в быстроте восстановления фотосинтетической активности и ростовых процессов. В наших экспериментах установлена низкая выносливость растений пшеницы сорта СЮ по отношению к *S. graminum*, которая проявлялась в торможении роста 1 и 2 листьев (рис.). Обработка растений клетками бактериальных штаммов или их метаболитами ускоряла рост 1 и 2 листьев пшеницы, как в норме, так и при заселении тлей (рис.). Таким образом, наши результаты показали, что липопептиды бактерий могут участвовать в повышении выносливости растений к вредителю (рис.).



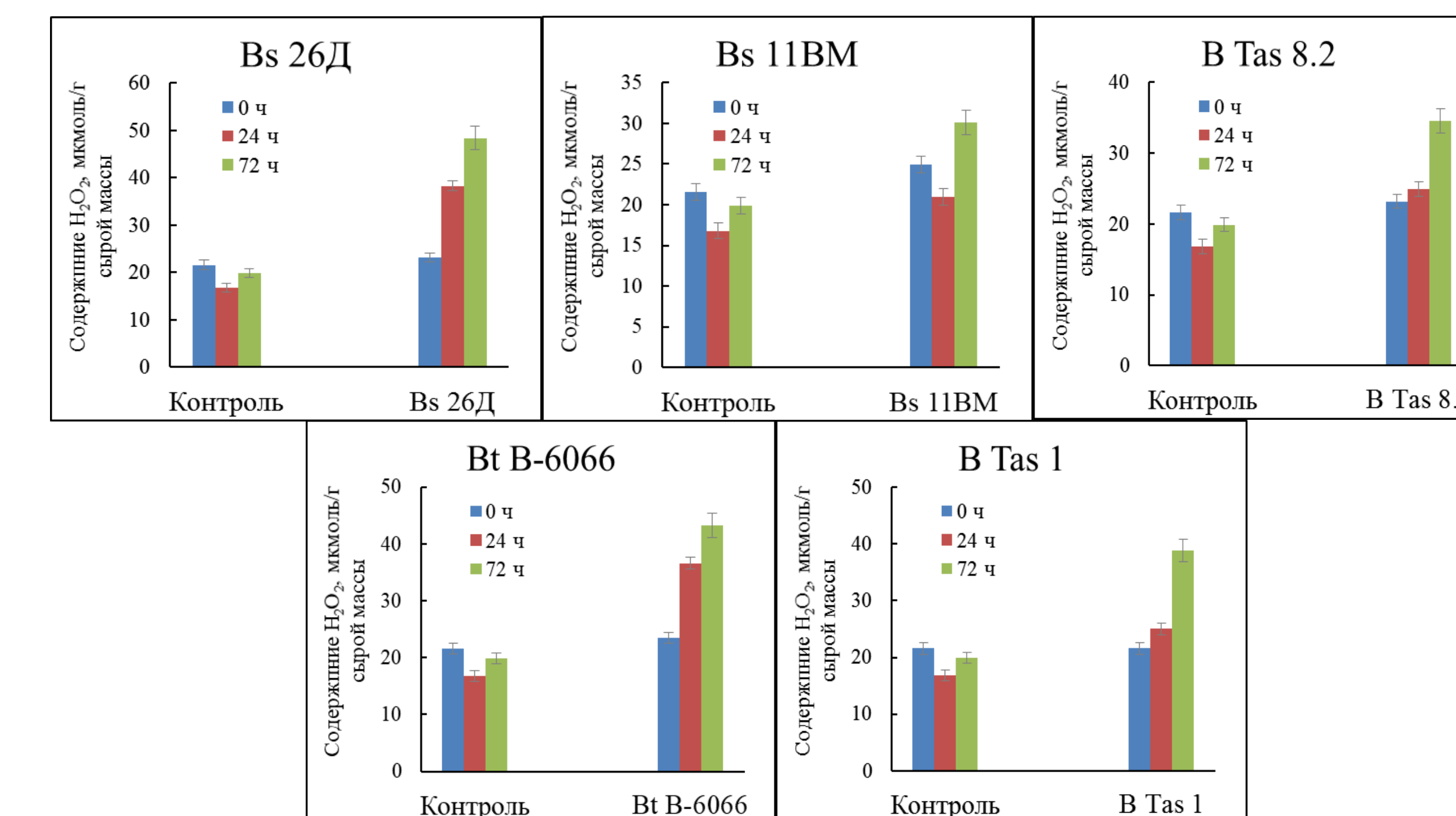
## Смертность тли

Кроме того, показано, что бактериальные штаммы и изоляты *Bacillus* spp. и их метаболиты опосредованно влияли на смертность злаковой тли, кормившейся на обработанных растениях пшеницы (рис.). Обработка растений бактериями увеличивала смертность тлей на 4 - 29 % относительно контрольных растений (рис.). Обработка растений липопептидами, выделенными из изученных штаммов и изолятов, увеличивала смертность тлей на 5 - 15 % относительно контрольных растений (рис.). Штамм *B. subtilis* 11ВМ и его метаболит незначительно влияли на данный показатель (рис.). Наибольший эффект оказывал штамм *B. thuringiensis* В-6066 и его метаболит (рис.).



## Содержание H2O2

Заселение контрольных растений пшеницы тлями приводило к уменьшению содержания H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> на начальных этапах инфицирования и сопровождалось низкой смертностью тлей и низкой выносливостью растений (рис.). Предпосевная обработка семян пшеницы штаммами и изолятами *Bacillus* spp. приводила к резкому накоплению H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в листьях пшеницы, заселенных *S. graminum* (рис.), что, возможно, обуславливало устойчивость таких растений к вредителю. Во всех вариантах обработки наблюдали положительную корреляцию смертности злаковой тли с изменением содержания H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (рис.).



Таким образом, рост-стимулирующая активность штаммов и изолятов *Bacillus* spp. не зависела от класса липопептида синтезируемого данными бактериями. Однако при опосредованном через растение воздействии бактерий на жизнеспособность злаковой тли тип синтезируемого липопептида имел значение. Штаммы и изоляты синтезирующие сурфактин (*B. subtilis* 26Д, *Bacillus* Tas-1 и Tas-8.2.) и фенгицин (*B. thuringiensis* В-6066), но не итурин (*B. subtilis* 11ВМ) оказывали наибольший опосредованный эффект на жизнеспособность злаковой тли и выносливость растений пшеницы.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 17-29-08014.