

## ІНДУКЦІЯ СТІЙКОСТІ ПШЕНИЦІ ПРОТИ ЗБУДНИКА БАЗАЛЬНОГО БАКТЕРІОЗУ РІСТСТИМУЛЮВАЛЬНИМИ БАКТЕРІЯМИ

Ю.В. КОЛОМІЄЦЬ<sup>1</sup>, І.П. ГРИГОРЮК<sup>1</sup>, А.Ф. ЛІХАНОВ<sup>1</sup>,  
Л.М. БУЦЕНКО<sup>2</sup>, Л.А. ПАСІЧНИК<sup>2</sup>, Я.Б. БЛЮМ<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Національний університет біоресурсів і природокористування України, 03041, Україна, м. Київ, вул. Героїв Оборони, 15

<sup>2</sup> Інститут мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України, 03134, Україна, м. Київ, вул. Академіка Заболотного, 154

<sup>3</sup> Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України» 04123, Україна, м. Київ, вул. Осиповського, 2а

E-mail: julyja@i.ua

*Застосування суспензії клітин рістстимулювальних бактерій (*Bacillus subtilis*) спричиняє підвищення ступеня стійкості рослин пшениці ярої сорту Гренні проти збудника базального бактеріозу (*Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens*) на 25 %. Визначено ініціацію синтезу біополімерів клітинної стінки, зокрема целюлози, лігніну і суберину й акумуляцію вмісту оксикоричних і оксibenзойних кислот в листках рослин.*

**Ключові слова:** *Triticum aestivum* L., стійкість, *Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens*, рістстимулювальні бактерії, автофлуоресценція, анатомічні показники.

**Вступ.** Бактеріальні хвороби зумовлюють значні щорічні втрати продуктивності зернових культур у глобальному вимірі [1, 2]. Зростання їхньої кількості обумовлено змінами клімату, господарською діяльністю людини, нестабільністю генома, розхитуванням спадковості тощо. Тому, системне дослідження наявних хвороб є надзвичайно актуальним у контексті розроблення ефективних заходів контролю фітопатогенних бактерій [2, 3]. Стратегії ефективного і сталого управління збудниками бактеріальних хвороб рослин вимагають досконалого знання патосистеми, зокрема, закономірностей функціонування чинників вірулентності патогена, механізмів взаємодії з рослинами та біохімічних реакцій, що лежать в основі розвитку систем стійкості [4]. Розуміння еволюції фітопатогенних бактерій має першорядне значення для встановлення і реалізації практичних аспектів управління бактеріальними хворобами рослин з метою зменшення або запобігання їхньому виникненню та поширенню.

*Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens* спричиняє базальний бактеріоз пшениці у багатьох країнах Європи, Азії та Новій Зеландії. Цей фітопато-

ген є основним збудником бактеріальних хвороб пшениці і в Україні [5]. Наявні літературні дані підтверджують високу шкодочинність та здатність цього збудника зумовлювати епіфітотії [6]. Його небезпека полягає у здатності ефективно колонізувати фітосферу рослини-хазяїна шляхом формування епіфітних популяцій, які є первинним інокулюмом для інфікування й за настання сприятливих кліматичних умов є причиною масового ураження рослин [7–9], яке викликає активацію захисних реакцій [10].

Однією з найбільш ранніх захисних реакцій є генерація активних форм кисню (АФК), таких як перекис водню ( $H_2O_2$ ), супероксид-аніон ( $O_2^-$ ) і гідроксильний радикал ( $-OH$ ) [11]. Внаслідок цього виникають універсальні реакції рослин, які індукуються і координуються сигнальними молекулами, зокрема, саліциловою й жасмоновою кислотами, етиленом, перекисом водню та супероксидними радикалами [11]. Такі перебудови запускають процеси, які супроводжуються синтезом фітоалексинів, відкладенням калози, зміцненням клітинних стінок, утворенням вторинних метаболітів і білків, пов'язаних з патогенезом (PR), що обумовлює пригнічення росту фітопатогенів [12, 13]. Кілька родин білків пов'язані з регулюванням рівнів АФК, які відіграють ключову роль в індукованій і набутій системній резистентності (ISR або SAR). Серед них ферменти супероксиддисмутаза, каталаза, аскорбатпероксидаза і глутатіонпероксидаза, які значно знижують кількість АФК [14].

Зважаючи на патогенні особливості *P. syringae* pv. *atrofaciens*, актуальним завданням є розроблення методів контролю, спрямованих на індукування стійкості рослини проти фітопатогенних бактерій. Нині значну увагу зосереджено на розробці і застосуванні біологічних пре-

© Ю.В. КОЛОМІЄЦЬ, І.П. ГРИГОРЮК, А.Ф. ЛІХАНОВ,  
Л.М. БУЦЕНКО, Л.А. ПАСІЧНИК, Я.Б. БЛЮМ, 2020

паратів проти збудників бактеріальних хвороб на основі рістстимулювальних бактерій, які завдяки активній колонізації коренів можуть прямо або опосередковано оптимізувати якісні показники росту рослин та пригнічувати розвиток фітопатогенів. Біоконтроль фітопатогенів рістстимулювальними бактеріями здійснюють двома шляхами: по-перше, вони відзначаються безпосереднім впливом на патоген через антибіоз, конкуренцію за поживні речовини і простір, або паразитизм; по-друге, шляхом зміни взаємодії фітопатогена з рослиною-хазяїном, наприклад, за індукції локальної або системної набутої стійкості [15].

Попередніми дослідженнями показано, що рістстимулювальними бактеріями, які найчастіше використовуються для біоконтролю збудників хвороб, є представники роду *Bacillus* [16–18]. Біопрепарати на основі бактерій цього роду також можуть бути використані як біодобрива, які зумовлюють достовірне підвищення родючості ґрунту і врожайності та сталий розвиток рослинництва [19]. Деякі види *Bacillus*, в тому числі *B. subtilis*, – це глобально дисперговані бактерії, які проявляють інгібувальні ефекти проти фітопатогенних мікроорганізмів і здатні синтезувати біологічно активні сполуки, у тому числі антибіотики, сідерофори, ліпопептиди, ферменти та екзополісахариди [20]. Бактерії *Bacillus* spp. беруть участь в регуляції шляхів біосинтезу фітогормонів, модулюють рівні етилену і впливають на викид летючих органічних сполук та здійснюють запуск системної стійкості рослин-хазяїв [10]. *B. subtilis* є одним з найпривабливіших біоагентів, який виявляє стимулювальний вплив на фізіологічні процеси, зокрема, підвищує їхню стійкість проти патогенів [21]. *B. subtilis* вже застосовували в комерційних цілях для боротьби зі збудниками хвороб (коричнева гниль, борошниста роса, кореневі гнилі та ін.). Тому, його використання проти збудника базального бактеріозу рослин пшениці може стати ефективною екологічною стратегією, спрямованою на менші масштаби внесення сільськогосподарських хімікатів. Разом з тим, в літературі лише фрагментарно висвітлено питання механізмів індукованої стійкості рослин рістстимулювальними бактеріями роду *Bacillus* проти фітопатогенних бактерій.

Метою роботи було визначення морфологічних, анатомічних і фізіолого-біохімічних показників в листках рослин пшениці ярої сорту Гренні за дії рістстимулювальних бактерій *Bacillus subtilis* та ураження збудником *P. syringae* pv. *atrofaciens*.

**Матеріали і методи.** Для досліджень використовували насіння і проростки рослин сорту пшениці ярої Гренні, який відзначається високою продуктивністю і стійкістю проти борошнистої роси та кореневої гнилі. Досліди проводили у наступних варіантах: 1 – рослини без обробки (контроль), 2 – рослини, інокульовані *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9939 (інфікований контроль), 3 – обробка насіння суспензією рістстимулювальних бактерій *B. subtilis* ( $4 \times 10^9$  КУО/см<sup>3</sup>) і інокуляція рослин *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9939; 4 – обробка насіння суспензією рістстимулювальних бактерій *B. subtilis* ( $4 \times 10^9$  КУО/см<sup>3</sup>).

Рістстимулювальні бактерії *B. subtilis* та фітопатогенні *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9939 були отримані з колекції відділу фітопатогенних бактерій Інституту мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України. Штучну інокуляцію рослин пшениці здійснювали в контрольованих умовах вегетаційного будинку суспензією клітин *P. syringae* pv. *atrofaciens* УКМ В-1011 в концентрації  $1 \times 10^7$  КУО/мл, яку наносили на поверхню листків з подальшим потрійним пораненням голкою. Повторність дослідів 5–7-разова. Результати штучного ураження обліковували за раніше розробленою шкалою [22]. Індекс розвитку ураження хвороби (PSI) розраховували з використанням п'ятибальної шкали за формулою:

$$PSI = (1 \cdot n_1 + 2 \cdot n_2 + 3 \cdot n_3 + 4 \cdot n_4) \cdot 100 / N_t,$$

де  $n_1$ – $n_4$  – кількість рослин в класах, а  $N_t$  – загальна кількість протестованих рослин [23]. Частоту виявлення ураження (DI) оцінювали на 10 добу після інокуляції *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9939 як співвідношення листків із візуальними симптомами хвороби ( $n$ ) до всіх інокульованих листків рослин ( $N$ ), і розрахована наступним чином:

$$DI (\%) = n/N \times 100.$$

Оцінку показників росту проводили за загальноприйнятою методикою [23]. У кожній

посудині вирощували по 10 рослин у трьох повторностях, які вилучали на 25 добу культивування для реєстрації довжини і маси пагонів та коренів.

Анатомічні і гістологічні дослідження бактеріального патогенезу тканин рослин здійснювали за стандартними методиками [24]. Епіфлуоресцентний аналіз клітин епідермісу листків пшениці виконували у десяти повторностях ( $n = 10$ ) на мікроскопі Axio Scope A1 («Carl Zeiss», Німеччина) за використання кубів для DAPI (420–470 нм) і GFP (520–550 нм). Результати цитологічних досліджень оцінювали із застосуванням програмного забезпечення AxioVision 4.7 («Carl Zeiss», Німеччина). Опрацювання цифрових растрових зображень і отримання лінійних профілів за інтенсивністю автофлуоресценції клітинних структур виконували у спеціалізованій програмі Image-Pro Premier 9.0 («Media Cybernetics», США).

Отримані результати аналізували за допомогою програми Statistica 7 («StatSoft Inc.», США). Значимість відмінностей між біометричними показниками ( $p < 0,05$ ) визначали методом дисперсійного аналізу (ANOVA) за критерієм Т'юки в програмі XLSTAT («Addinsoft Inc.», США).

**Результати дослідження.** За умов інокуляції рослин сорту пшениці ярої Гренні *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9939 нами було зареєстровано високі показники індексу розвитку (PSI 67 %) і частоту виявлення ураження (DI 82 %). Обробка рослин сорту пшениці суспензією рістстимулювальних бактерій *B. subtilis* зменшувала індекс розвитку ураження, спричиненої *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9939, порівняно з інфікованим контролем на 25 % (табл. 1).

За умов штучного ураження збудником базального бактеріозу *P. syringae* pv. *atrofaciens*

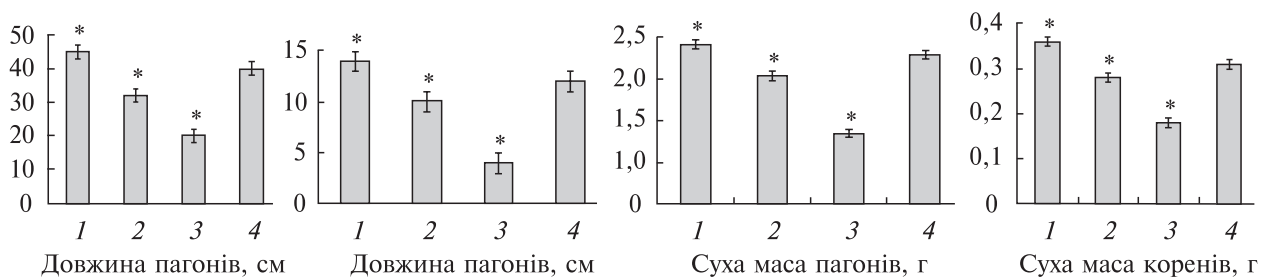
9939 рослини відставали у рості, що супроводжувалося зниженням морфометричних показників на 40–50 % в інфікованому контролі порівняно із здоровим. Обробка рослин пшениці суспензією рістстимулювальних бактерій *B. subtilis* порівняно з інфікованим контролем приводила до збільшення довжини пагонів та коренів на 6–12 см. Рослини, оброблені лише *B. subtilis*, відзначалися максимальними показниками росту і сухої маси (рис. 1). Очевидно, що використання суспензії клітин *B. subtilis* є ефективним для стимулювання процесів росту і розвитку за рахунок інтенсифікації та синхронізації обмінних процесів в рослинах.

Епідерміс листка пшениці – досить інформативна модельна система, для вивчення диференціювання клітин рослин під дією різних стресових чинників [25, 26]. Продиховий комплекс пшениці представлено парою замикаючих клітин, оточених двома побічними клітинами (рис. 2). За обробки рослин культурою *B. subtilis* і в контролі продихові комплекси на поверхні листків формувалися без структурних змін. Водночас, під дією *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9939 мали місце аномалії розвитку спеціалізованих епідермальних структур, пов'язаних з локальними порушеннями поділу клітин і формування продихових комплексів, зокрема у відсутності побічних клітин (рис. 2, з). У нормі їхнє відокремлення від сестринських клітин відбувається раніше, ніж формування замикаючих клітин. Отже, такі порушення свідчать про те, що позаклітинні метаболіти фітопатогену *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9939 здатні впливати не тільки на ріст, а й на диференціацію спеціалізованих клітин і формування продихів.

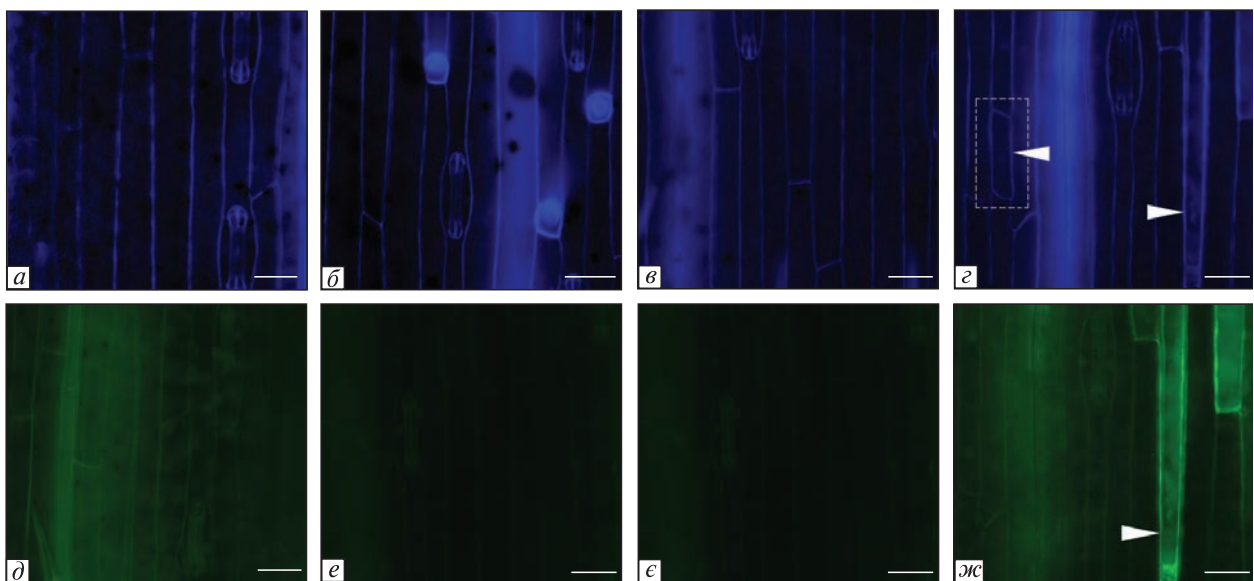
Транслокація бактеріальних клітин і екзо-метаболітів у епідермісі найактивніше відбувається з основними клітинами, досить витягнутих уздовж поверхні листкової пластинки і розташованих лінійно (рис. 2, з). Проникнення в сусідні клітини стає можливим у разі порушення цілісності клітинної стінки екзоферментами бактерій. Уповільнення цього процесу забезпечується ферментними системами, які сприяють зміцненню вторинних клітинних стінок. Так, за інтенсивністю флуоресценції було встановлено, що клітини епідермісу листків пшениці після обробки насіння суспензією рістстимулювальних бактерій *B. subtilis* мають

Таблиця 1. Ефективність дії суспензії клітин *B. subtilis* на індекс розвитку базального бактеріозу в листках рослин сорту пшениці ярої Гренні

| Варіант  | DI | PSI |
|--|----|-----|
| Контроль (обробка водою)   | 0  | 0   |
| Інфікований контроль (інокуляція <i>P. syringae</i> pv. <i>atrofaciens</i> 9939)                   | 82 | 67  |
| Дослід (оброблення <i>B. subtilis</i> + інокуляція <i>P. syringae</i> pv. <i>atrofaciens</i> 9939) | 48 | 42  |



**Рис. 1.** Ефективність впливу *B. subtilis* на біометричні показники пагонів і коренів пшениці на 25 добу після інокуляції *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9939 (Psa 9939); \* – різниця між показниками достовірна ( $p < 0,05$ ); 1 – *B. subtilis*, 2 – *B. subtilis* Psa 9939, 3 – інфікований контроль, 4 – здоровий контроль



**Рис. 2.** Автофлуоресценція клітин епідермісу листків пшениці: верхній ряд – 420–470 нм (DAPI), нижній ряд – 520–550 нм (GFP); а, д – обробка суспензією клітин *B. subtilis*, б, е – контроль, в, ф – обробка суспензією клітин *B. subtilis* з наступною інокуляцією *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9939, г, ж – захисна реакція рослин на інокуляцію *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9939, стрілками вказана лігніфікація клітинних стінок, індукована патогеном (лінійка – 40 мкм)

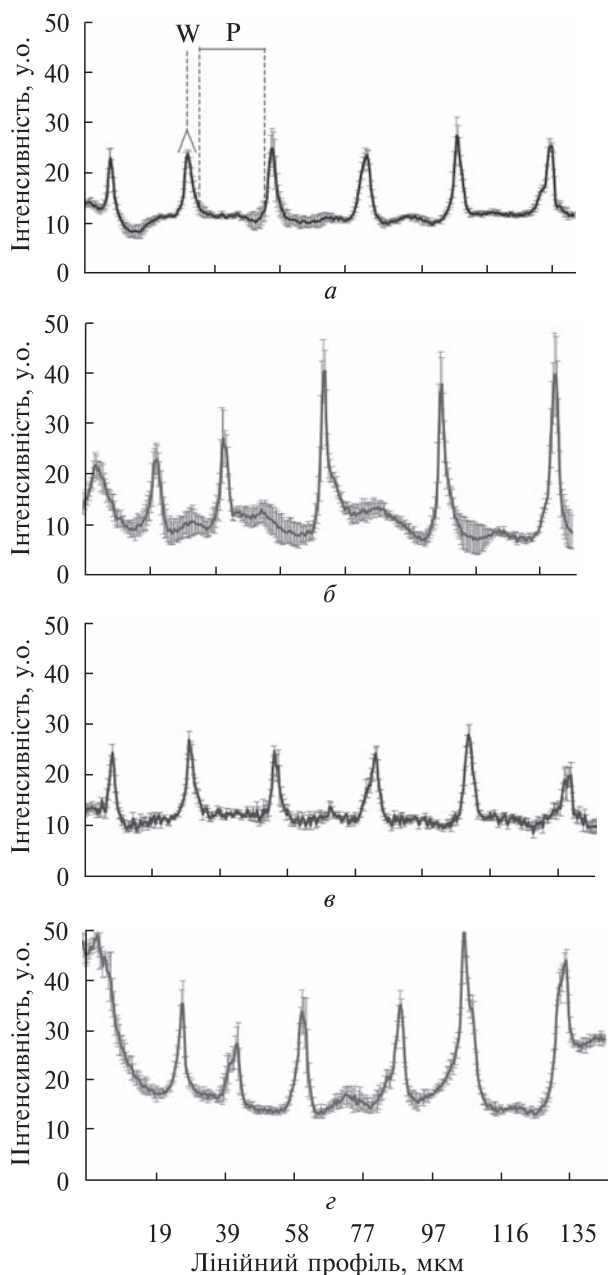
нерівномірне потовщення (рис. 2, а). Значне підвищення (1,4–1,6 раз) інтенсивності флуоресценції (рис. 2, а, б) клітинних стінок свідчить щодо певних відмінностей в їхній структурі і компонентному складі, зокрема, збільшення нагромадження вмісту оксикоричних та оксibenзойних кислот, які обумовлюють їхню міцність.

Інокуляція листків пшениці ярої сорту Гренні збудником базального бактеріозу *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9939 спричиняла значне зростання інтенсивності флуоресценції (рис. 3, з). Поширення інфекції по тканинах листка чітко

виявляли у блакитному (420–470 нм) і зеленому (520–550 нм) спектрах флуоресценції. Після інокуляції транслокація бактеріальних клітин на початкових стадіях розвитку інфекції відбувалась переважно по протопластах окремих клітин. Поширення інфекції суттєво обмежувалось клітинними стінками (рис. 4), товщина яких у інфікованих клітин за інтенсивністю флуоресценції у блакитному спектрі підвищувалась майже у 3,0 рази (рис. 5).

Водночас попередня обробка насіння суспензією рістстимулювальних бактерій *B. subtilis* стримувала розвиток бактеріозу. Важливими,





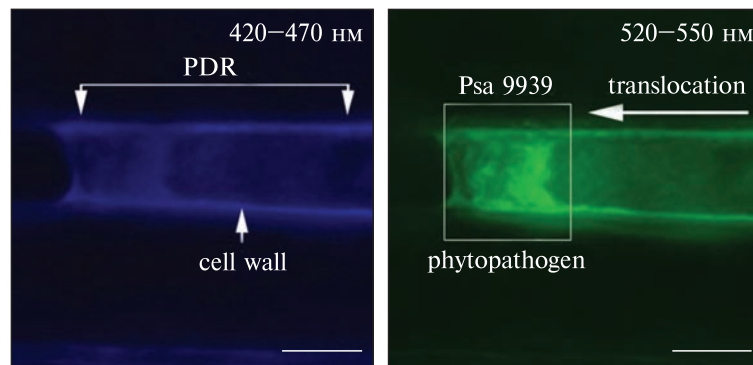
**Рис. 3.** Профілі інтенсивності автофлуоресценції (420–470 нм) клітин епідермісу листків пшениці: *а* – обробка суспензією клітин *B. subtilis*; *б* – обробка суспензією клітин *B. subtilis* з наступною інокуляцією *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9939; *в* – контроль; *г* – після інокуляції *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9939; W – клітинна стінка; P – протопласт

на наш погляд, були відмінності у дії препарату на тканини листків залежно від наявності або відсутності збудника базального бактеріозу *P.*

*syringae* pv. *atrofaciens* 9939 (рис. 2, б, в). Так, за умов його відсутності бактерії *B. subtilis* зумовлювали підвищення у складі клітинних стінок оптично активних сполук, тоді як інокуляція збудником базального бактеріозу *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9939 за результатами епіфлуоресцентного аналізу суттєвих змін у структурі клітинних стінок не спричиняла. Це, зокрема, може свідчити про наявність у пшениці інших механізмів стійкості проти збудника.

**Обговорення.** Очевидно, що біологічний контроль збудника базального бактеріозу пшениці *P. syringae* pv. *atrofaciens* може стати альтернативою синтетичним хімічним речовинам як засобам захисту рослин. У нашому дослідженні виявлено вплив рістстимулювальних бактерій *B. subtilis* на індукцію росту і запуск каскаду захисних реакцій за інфікування *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9939 у рослин пшениці. В інокульованих *B. subtilis* і *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9939 рослинах виявлено збільшення кількості біомаси пагонів й коренів, зниження індексу розвитку і частоти виявлення ураження. Ефективність обробки суспензією клітин рістстимулювальних бактерій *B. subtilis* продемонстровано в прямій або непрямій стимуляції росту рослин. Прямі ефекти бактерій *B. subtilis* пов'язані зі зменшенням розвитку фітопатогенних бактерій за рахунок продукції антимікробних метаболітів [27]. Непрямі механізми включають модуляцію морфолого-фізіологічних шляхів господаря, які запускають захисні каскади біологічних реакцій, що супроводжується пригніченням росту і розмноженням фітопатогенів, інтенсивнішим ростом рослин та зменшенням розвитку хвороби.

Бактерії *B. subtilis* стимулюють ріст рослин безпосередньо шляхом активації синтезу ауксинів, зокрема ІОК, що зумовлює збільшення загальної поверхні коренів через утворення придаткових коренів та кореневих волосків. Розвинута коренева система сприяє колонізації і посиленню ексудації коренів, що узгоджується з висновками інших авторів [28]. Вони продемонстрували, що обробка рістстимулювальними бактеріями активує різні сигнальні шляхи, включаючи поглинання і транспорт мінеральних поживних речовин. За інокуляції ними у рослин встановлено підвищен-



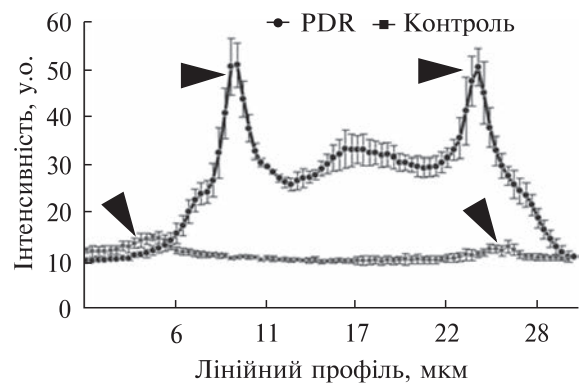
**Рис. 4.** Формування захисної реакції в клітинах епідермісу пшениці ярої сорту Гренні від збудника базального бактеріозу *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9939 за умов його інокуляції в тканини листка: PDR – plant defense reaction; (лінійка – 40 мкм)

ня нагромадження вмісту хлорофілу і синтезу цитокінінів, що супроводжується збільшенням загальної вегетативної маси [29].

У наших експериментах бактерії *B. subtilis* стимулювали не тільки ріст рослин пшениці, але й фенілпропаноїдний шлях, який бере участь у формуванні індукованої системної стійкості рослини-господаря проти інфекції *P. syringae* pv. *atrofaciens* із залученням фенольних сполук та ферментів. Локальна і системна індукована стійкість виникає в більшості рослин у відповідь на вплив фітопатогенних мікроорганізмів за участі хімічних індукторів та рістстимулювальних бактерій (PGPR) [30].

Покривні тканини рослин структурно сформовані таким чином, що дозволяють зменшувати ризики проникнення у асиміляційні органи фітопатогенів. Важливу роль в цьому процесі відіграють клітинні стінки, як основні бар'єри, що перешкоджають транслокації бактерій і грибів по тканинах. Біополімери клітинних стінок, зокрема целюлоза, лігніни і суберин здатні до автофлуоресценції, тому за їхньою інтенсивністю можна прослідкувати зміни у клітинах під впливом зовнішніх стресових чинників. У епідермальних клітин злаків кількість лігніну і целюлози в клітинних стінках є достатньо високою для виявлення закономірностей щодо впливу на них суспензії рістстимулювальних бактерій *B. subtilis* (рис. 2).

*B. subtilis* являє собою вид PGPR, який активує захисну реакцію рослини-господаря (стійкість господаря) від патогенів. Клітини господаря зазнають ультраструктурних і цитохімічних



**Рис. 5.** Профілі інтенсивності автофлуоресценції (420–470 нм) клітин епідермісу пшениці ярої сорту Гренні: PDR – за ураження збудником базального бактеріозу *P. syringae* pv. *atrofaciens* 9939; control – неінфікований контроль; стрілками показані клітинні стінки

перебудов у відповідь на атаку патогена. Водночас, *B. subtilis* активує ISR у господарів, що підвищує їхню стійкість проти патогенів рослин. Наші результати свідчать на користь того, що обробка рослин пшениці суспензією рістстимулювальних бактерій *B. subtilis* зумовлює інтенсивний синтез біополімерів клітинної стінки, які беруть участь в індукованій системній стійкості рослин проти бактеріальних хвороб. *B. subtilis* сприяє синтезу ферментів пероксидази, поліфенолоксидази і супероксиддисмутази, а також фітогормонів, посилене утворення яких забезпечує ISR проти патогенів [31]. Зміни у гормональному статусі супроводжуються перебудовами метаболічних процесах, задіяних в

захисних реакціях, які зумовлюють пригнічення росту патогенів за рахунок продукції фітоалексинів, відкладення калози, лігніфікації клітинних стінок, синтезу антимікробних вторинних метаболітів і патогензалежних білків (PR) [29].

У дослідженнях показано, що активація ISR *B. subtilis* регулюється фітогормонами, такими як саліцилова або жасмонова кислоти, разом з етиленом та іншими сигнальними сполуками [32]. Вони ініціюють каскад реакцій, який запускає синтез метаболітів і білків з різною функціональною активністю [33, 34]. Значне підвищення активності фенілаланінамонійліази і, відповідно, вмісту фенольних сполук, зареєстроване у поточному дослідженні, корелювало з підвищеною стійкістю проти базального бактеріозу пшениці через ISR. Корична кислота є ключовим продуктом фенілпропанойдного шляху, яка синтезується з фенілаланіну за допомогою каталізу фенілаланінамонійліази [35]. Цей фермент відіграє ключову роль в лігніфікації і набутті стійкості проти *P. syringae* pv. *atrofaciens*. Лігніфікація клітинних стінок у відповідь на біотичний стрес являє собою один із адаптивних механізмів рослини-господаря з метою обмеження проникнення патогенних мікроорганізмів внаслідок антимікробної активності і стійкості лігніну до розкладання [28, 30]. Лігнін підсилює водонепроникність провідних елементів в тканинах ксилеми, полегшуючи транспорт води і розчинених мінеральних речовин через судинну систему, що також допомагає захистити рослини від патогенних мікроорганізмів [36].

Опосередкована дія PGPR *B. subtilis* в ISR є складним явищем і наявні дані підтверджують характер розвитку захисних реакцій рослин. Показано, що *B. subtilis* зумовлює активацію ISR в рослинах пшениці, призводячи до підвищення стійкості проти збудника базального бактеріозу, що підтверджується зниженням індексу розвитку ураження. Застосування штаму *Bacillus* активує ISR і сприяє росту рослин. Оскільки *B. subtilis* як PGPR використовують для виробництва численних біопрепаратів, подальші дослідження повинні бути скеровані на виявлення нових штамів *Bacillus* для підвищення стійкості рослини-господаря до стресового чинника.

**Висновки.** Результати проведених досліджень свідчать, що рістстимулювальні бактерії *B. subtilis* можуть розглядатись як ефективні індуктори стійкості для рослин і як перспективні біопестициди для боротьби із базальним бактеріозом пшениці. Обробка рослин пшениці сорту Гренні суспензією клітин рістстимулювальних бактерій *B. subtilis* зменшує індекс розвитку ураження базальним бактеріозом на 25 % і помітно частоту виявлення ураження на 34 % і покращує показники росту рослин на 25–32 %. Індукція стійкості у рослин пшениці спричинена підвищенням синтезу біополімерів клітинної стінки, зокрема целюлози і лігніну, що пов'язано з активацією синтезу оксикоричних і оксибензойних кислот та відповідних ферментних систем.

**Дотримання етичних стандартів.** Жодна тварина/людина не використовувалася в експериментах, які є основою цього дослідження.

**Конфлікт інтересів.** Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів, фінансових чи інших.

**Фінансування.** Робота виконувалася за фінансової підтримки проекту «Індукована стійкість та контроль фітопатогенних бактерій в новітніх біотехнологіях вирощування овочевих культур за використання стимуляторів росту з еліситорною активністю» (2020–2023 рр.) № держреєстрації 0120U102106.

#### INDUCTION OF WHEAT RESISTANCE TO THE CAUSATIVE AGENT OF BASAL BACTERIOSIS BY PLANT GROWTH-PROMOTING BACTERIA

Y. Kolomiets, I. Grygoryuk, A. Likhanov, L. Butsenko, L. Pasichnyk, Y. Blume

National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine  
Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, NAS of Ukraine  
Institute of Food Biotechnology and Genomics, NAS of Ukraine

E-mail: julyja@i.ua

The use of a suspension of cells of plant growth-promoting bacteria (*Bacillus subtilis*) causes an increase in the degree of resistance of spring wheat plants of the Granny variety against the causative agent of basal bacteriosis (*Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens*) by 25 %. The initiation of the synthesis of cell wall biopolymers,

in particular, cellulose, lignin and suberin, and the accumulation of the content of hydroxycinnamic and hydroxybenzoic acids in plants leaves was determined.

**ИНДУКЦИЯ УСТОЙЧИВОСТИ ПШЕНИЦЫ К ВОЗБУДИТЕЛЮ БАЗАЛЬНОГО БАКТЕРИОЗА РОСТСТИМУЛИРУЮЩИМИ БАКТЕРИЯМИ**

Ю.В. Коломиец, И.П. Григорюк, А.Ф. Лиханов,  
Л.Н. Буценко, Л.А. Пасичник, Я.Б. Блюм

Применение суспензии клеток ростстимулирующих бактерий (*Bacillus subtilis*) вызывает повышение степени устойчивости растений пшеницы яровой сорта Гренни против возбудителя базального бактериоза (*Pseudomonas syringae* pv. *atrofaciens*) на 25 %. Установлено инициацию синтеза биополимеров клеточной стенки, в частности целлюлозы, лигнина и суберина и аккумуляцию содержания оксикоричных и оксибензойных кислот в листьях растений.

**СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. Figueroa, M., Hammond-Kosack, K.E., and Solomon, P.S., A Review of Wheat diseases – a field perspective. *Mol. Plant Pathol.*, 2018, vol. 19, no. 6, pp. 1523–36. doi: 10.1111/mpp.12618.
2. Sundin, G.W., Castiblanco, L.F., Yuan, X., Zeng, Q., and Yang, C.H. Bacterial disease management: challenges, experience, innovation and future prospects: challenges in bacterial molecular plant pathology. *Mol. Plant Pathol.* 2016, vol. 17, no. 9, pp. 1506–18. doi: 10.1111/mpp.12436.
3. Kolomiiets, Y.V., Grygoryuk, I.P., Butsenko, L.M., and Kalinichenko, A.V., Biotechnological control methods against phytopathogenic bacteria in tomatoes. *Appl. Ecol. Environ. Res.* 2019, vol. 17, no. 2, pp. 3215–30. doi: 10.15666/aeer/1702\_32153230.
4. Pfeilmeier, S., Caly, D.L., and Malone, J.G., Bacterial pathogenesis of plants: Future challenges from a microbial perspective: Challenges in bacterial molecular plant pathology. *Mol. Plant Pathol.*, 2016, vol. 17, no. 8, pp. 1298–1313. doi: 10.1111/mpp.12427.
5. Pasichnik, L.A., Savenko, E.A., Butsenko, L.N., Patyka, V.F., and Kalinichenko, A.B., *Pseudomonas syringae* in agrophytocenosis of wheat. *Sci. World. Inter. Sci. J.*, 2014, vol. 4, no. 8, pp. 52–6. (in Russian).
6. Butsenko, L.M., Pasichnyk, L.A., and Kolomiiets, Y.V., Biological properties of morphological dissociants *Pseudomonas syringae* pv. *Atrofaciens*. *Biol. systems: theory and innovate.* 2020, vol. 11, no. 1, pp. 28–37. doi: http://dx.doi.org/10.31548/biologiya2020.01.028 (in Russian).
7. Valencia-Botín, A.J. and Cisneros-Lopez, M.E., A review of the studies and interactions of *Pseudomonas syringae* pathovars on wheat. *Inter. J. Agronom.* 2012, vol. 2012, pp. 1–5. doi:10.1155/2012/692350.
8. Tarkowski, P., and Vereecke, D., Threats and op-

- portunities of plant pathogenic bacteria, *Biotechnol. Adv.*, 2014, vol. 32, pp. 215–29. doi: 10.1016/j.biotechadv.2013.11.001.
9. Patyka, V.F., Phytopathogenic bacteria in contemporary agriculture, *Microbiol. J.* 2016, vol. 78, no. 6, pp. 71–83 doi: 10.15407/microbiolj78.06.071.
10. Pieterse, M.J., Zamioudis, C., Berendsen, R.L., Weller, D.M., Van Wees, S.C.M., and Bakker, P.A.H.M., Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Ann. Rev. Phytopathol.* 2014, vol. 52, pp. 347–75. doi: 10.1146/annurev-phyto-082712-102340.
11. Nanda, A.K., Andrio, E., Marino, D., Pauly, N., and Dunand, C., Reactive oxygen species during plant-microorganism early interactions. *J. Integr. Plant Biol.* 2010, vol. 52, pp. 195–204. doi: 10.1111/j.1744-7909.2010.00933.x.
12. Ali, S., Ganai B.A., Kamili, A.N., Bhat, A.A., and Mir, Z.A., Pathogenesis-related proteins and peptides as promising tools for engineering plants with multiple stress tolerance, *Microbiol. Res.*, 2018, vol. 212–3, pp. 29–37. doi: https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.04.008.
13. O'Brien, J.A., Daudi, A., Butt, V.S., and Bolwell, G.P., Reactive oxygen species and their role in plant defence and cell wall metabolism, *Planta*, 2012, vol. 236, pp. 765–79. doi: 10.1007/s00425-012-1696-9.
14. Singh, U.B., Malviya, D., Wasiullah, Singh, S., Pradhan, J.K., Singh, B.P., Roy, M., Imram, M., Pathak, N., Baisyal, B.M., Rai, J.P., Sarma, B.K., Singh, R.K., Sharma, P.K., Kaur, S.D., Manna, M.C., Sharma, S.K., and Sharma, A.K., Bioprotective microbial agents from rhizosphere eco-systems trigger plant defense responses provide protection against sheath blight disease in rice (*Oryza sativa* L.). *Microbiol. Res.* 2016, vol. 192, pp. 300–12. doi: 10.1016/j.micres.2016.08.007.
15. Bardin, M., Ajouz, S., Comby, M., Lopez-Ferber, M., Graillot, B., Siegwart, M., and Nicot, P.C., Is the efficacy of biological control against plant diseases likely to be more durable than that of chemical pesticides? *Front Plant Sci.*, 2015; vol. 6, pp. 566. doi: 10.3389/fpls.2015.00566.
16. Köberl, M., Ramadan, E.M., Adam, M., Cardinale, M., Hallmann, J., Heuer, H., Smalla, K., and Berg, G., Bacillus and streptomyces were selected as broad-spectrum antagonists against soilborne pathogens from arid areas in Egypt. *FEMS Microbiol. Lett.* 2013, vol. 342, pp. 168–78. doi: 10.1111/1574-6968.12089.
17. Syed-Ab Rahman, S.F., Carvalhais, L.C., Chua, E., Xiao, Y., Wass, T.J., and Schenk, P.M., Identification of soil bacterial isolates suppressing different Phytophthora spp. and promoting plant growth. *Front. Plant Sci.* 2018, vol. 9, 1502. https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01502.



18. Shoaib, A., Awan, Z.A., and Khan, K.A., Intervention of antagonistic bacteria as a potential inducer of disease resistance in tomato to mitigate early blight. *Sci. Hortic.* 2019, vol. 252. pp. 20–8. doi: 10.1016/j.scienta.2019.02.073.
19. Garcia-Fraile, P., Menendez, E., and Rivas, R., Role of bacterial biofertilizers in agriculture and forestry. *AIMS Bioeng.*, 2015, no. 2, pp. 183–205. doi: 10.3934/bioeng.2015.3.183.
20. Mnif, I., Ghribi, D., Potential of bacterial derived biopesticides in pest management. *Crop Prot.* 2015, vol. 77, pp. 52–64. doi: 10.1016/j.cropro.2015.07.017.
21. Lastochkina, O., Seifikalhor, M., Aliniaefard, S., and Baymiev, A., *Bacillus* spp.: efficient biotic strategy to control postharvest diseases of fruits and vegetables. *Plants.* 2019; no. 8, pp. 1–24. doi: 10.3390/plants8040097.
22. Patyka, V.P., Pasichnyk, L.A., Hvozdiak, R.I., Petrychenko, V.F., Korniiichuk, O.V., Butsenko, L.M., Zhytkevych, N.V., Dankevych, L.A., Lytvynchuk, O.A., Kyrylenko, L.V., Moroz, S.M., Huliaieva, H.B., Hnatiuk, T.T., Kalinichenko, A.V., and Kharkhota, M.A., *Phytopathogenic bacteria. Research methods. Vinnytsia: Vindruk*, 2017. pp. 84–87 (in Ukrainian).
23. Kolomiiets, Y., Grygoryuk, I., Likhanov, A., Butsenko, L., and Blume, Y., Induction of bacterial cancer resistance in tomato plants using plant growth promoting rhizobacteria. *The Open Agricult. J.*, 2019, vol. 13. pp. 215–22. doi: 10.2174/18743315019130-10215.
24. Pellicciari, C., Biggiogera, M., Histochemistry of single molecules. *Methods and Protocols.* Humana Press, 2017. pp. 313–37.
25. Zubairova, U.S., Doroshkov, A.V. Wheat leaf epidermis pattern as a model for studying the influence of stressful conditions on morphogenesis. *Vavilov. J. Genet. Breed.* 2018; vol. 22, no. 7, pp. 837–44. doi: 10.18699/VJ18.32-o.
26. Yang, C., Ye, Z., Trichomes as models for studying plant cell differentiation. *Cell. Mol. Life Sci.* 2013, vol. 70, no. 11, pp. 1937–48. doi: 10.1007/s00018-012-1147-6.
27. Goswami, D., Thakker, J.N., and Dhandhukia, P.C., Portraying mechanics of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): A review. *Cogent. Food Agric.* 2016, vol. 2, no. 1, pp. 1–19. doi: 10.1080/23311932.2015.1127500.
28. Hashem, A., Tabassum, B., and Abd Allah, E.F., *Bacillus subtilis*: A plant-growth promoting rhizobacterium that also impacts biotic stress. *Saudi. J. Biol. Sci.*, 2019, vol. 26, no. 6, pp. 1291–7. doi: 10.1016/j.sjbs.2019.05.004.
29. Kudoyarova, G.R., Melentiev, A.I., Martynenko, E.V., Timergalina, L.N., Arkhipova, T.N., Shendel, G.V., Kuz'mina, L.Y., Dodd, I.C., and Veselov, S.Y., Cytokinin producing bacteria stimulate amino acid deposition by wheat roots. *Plant Physiol. Biochem.* 2014, vol. 83. pp. 285–91. doi: 10.1016/j.plaphy.2014.08.015.
30. Sarma, B.K., Yadav, S.K., Singh, S., and Singh, H.B., Microbial consortium-mediated plant defense against phytopathogens: readdressing for enhancing efficacy. *Soil Biol. Biochem.* 2015, vol. 87. pp. 25–33. doi: 10.1016/j.soilbio.2015.04.001.
31. Chowdappa, P., Kumar, S.M., Lakshmi, M.J., and Upreti, K., Growth stimulation and induction of systemic resistance in tomato against early and late blight by *Bacillus subtilis* OTPB1 or *Trichoderma harzianum* OTPB3. *Biol. Contr.*, 2013, vol. 65, no. 1, pp. 109–17. doi: https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2012.11.009.
32. Martinez-Medina, A., Fernández, I., Sánchez-Guzmán, M.J., Jung, S.C., Pascual, J.A., and Pozo, M.J., Deciphering the hormonal signalling network behind the systemic resistance induced by *Trichoderma harzianum* in tomato. *Front. Plant Sci.*, 2013, vol. 4, pp. 1–12. doi: 10.3389/fpls.2013.00206.
33. García-Gutiérrez, M.S., Ortega-Álvarez, A., Busquets-García, A., Pérez-Ortiz, J.M., Caltana, L., Ricatti, M.J., and Manzanares, J. Synaptic plasticity alterations associated with memory impairment induced by deletion of CB2 cannabinoid receptors. *Neuropharmacol.* 2013, vol. 73, pp. 388–96. doi: 10.1016/j.neuropharm.2013.05.034.
34. Beneduzi, A., Ambrosini, A., and Passaglia, L.M.P., Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genet. Mol. Biol.*, 2012, vol. 35, no. 4, pp. 1044–51. doi: 10.1590/s1415-47572012000600020.
35. Kachroo, A., Robin, G.P., Systemic signaling during plant defense. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2013, vol. 16, pp. 527–33. doi: 10.1016/j.pbi.2013.06.019.
36. Zeng, Y., Himmel, M.E., and Ding, S.-Y., Visualizing chemical functionality in plant cell walls. *Biotechnol. Biofuels.* 2017; vol. 10, pp. 263. doi: 10.1186/s13068-017-0953-3.

Надійшла в редакцію 15.06.20  
Після доопрацювання 15.07.20  
Прийнята до друку 18.11.20