

Влияние экссудатов корней растений картофеля на экспрессию генов ризобактерии *Pseudomonas putida* MG-2**Лутфуллин Марат Тафкилевич**

Аспирант

Казанский (Приволжский) федеральный университет, Институт фундаментальной медицины и биологии, Кафедра микробиологии, Казань, Россия

E-mail: lutfullin.marat2012@yandex.ru

Исследование механизмов взаимодействия ризосферных бактерий с растениями на молекулярном уровне важно для разработки и внедрения новых методов стимуляции роста и развития, защиты от стрессов и повышения продуктивности сельскохозяйственных растений, основанных на применении ризосферных бактерий. Экссудаты картофеля получали с использованием асептических растений картофеля сорта Жуковский ранний, выращенных *in vitro* на жидкой питательной среде Мурасига-Скуга из стеблевых черенков размером 30 мм при температуре 18-22°C, 16 часовом световом периоде и интенсивности освещения 2000 люкс/м². После образования корней (через 14-15 сут) черенки опытного варианта в количестве 12 шт. переносили в стерильную воду, куда также вносили суспензию *F. oxysporum* DR57 в концентрации 3x10⁴ конидий/мл, а черенки контрольного варианта - в стерильную воду без добавок. Черенки картофеля инкубировали в течение 15 мин при комнатной температуре, затем промывали гипохлоратом натрия и переносили в новые пробирки со стерильной водой объемом 10 мл для получения экссудатов. На 1, 3, 5, 7 сутки воду отбирали, а затем пробирки заполняли новой стерильной водой. Полученные экссудаты картофеля стерилизовали через мембранный фильтр 0.22 мкм и хранили при -20°C. Далее с помощью метода ОТ-ПЦР исследовали влияние экссудатов корней здоровых черенков картофеля и черенков, инфицированных микромицетами штамма DR57, на экспрессию генов синтаз сидерофоров и сурфактантов, также генов, участвующих в колонизации корней растений, у ризосферного штамма *Pseudomonas putida* MG-2. Для анализа экспрессии генов были сконструированы праймеры. Для исследования изменения уровня экспрессии генов, ответственных за синтез сурфактантов - на среде SMN с содержанием соевой муки, а биоопленкообразование исследовали на среде LB с добавлением экссудатов картофеля в концентрации 10% в течение 1 часа. РНК из клеток бактерий выделяли с использованием реагента TRIzol. Концентрацию выделенной РНК оценивали с помощью Nanodrop 2000. Для измерения уровня экспрессии генов использовали метод количественной ОТ-ПЦР с использованием коммерческого набора OneTub RT-PCR SYBR и системы ПЦР в реальном времени (Bio-Rad iCycler). Уровни отдельных транскриптов были нормализованы по сравнению с уровнем экспрессии гена 16S рРНК у *P. putida* MG-2. Относительную экспрессию гена рассчитывали с помощью алгоритма $\Delta\Delta C_t$, а количество гена-мишени - по формуле $2^{-\Delta\Delta C_t}$.

Добавление экссудатов здоровых растений картофеля в среду культивирования *P. putida* MG-2 приводила к увеличению уровня экспрессии гена Bacteriocin в 3.5 раза, добавление экссудатов инфицированных фузарием растений картофеля увеличивало относительную экспрессию генов NRPS2 и Bacteriocin в 1.7 и 2.1 раза соответственно. Относительная экспрессия гена LapA штамма *P. putida* MG-2 увеличивалась в 5.8 раз при добавлении экссудатов здоровых растений картофеля, и в 3.9 раз - экссудатов инфицированных фузарием растений картофеля. Таким образом, показали, что экссудаты корней здоровых и инфицированных растений картофеля способны регулировать экспрессию генов, ответственных за синтез сурфактантов, и генов, участвующих в колонизации ризосферных бактерий. Полученные результаты показывают, что взаимодействия растений и

микроорганизмов зависят как от сигналов растений, так и ответной реакции ассоциированных с ними бактерий и микромицетов.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда (№ 22-16-00138).