

Werren, J. H., Baldo, L., Clark, M.E.. *Wolbachia*: master manipulators of invertebrate biology. *Nature reviews, microbiology*, 2008, vol. 6, p. 741-751.

ИММУНОМОДУЛИРУЮЩЕЕ ДЕЙСТВИЕ ХИТИН-ХИТОЗАНОВОГО ОЛИГОМЕРА С ФРАГМЕНТАМИ САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ В СИСТЕМЕ ТОМАТЫ – ГАЛЛОВАЯ НЕМАТОДА

Ж. В. Удалова¹, Н. И. Васюкова², Н. Г. Герасимова², С. В. Зиновьева¹, О. Л. Озерецковская²

¹Центр паразитологии ИПЭЭ РАН

²Институт биохимии им. А.Н.Баха РАН, Россия, 119071, Москва, Ленинский пр., 33, udalova.zh@rambler.ru

Одним из перспективных направлений в защите растений является индуцирование у растений устойчивости к болезням и стрессам с помощью элиситоров. Биополимер хитозан является одним из наиболее эффективных элиситоров, вызывая как локальную (в местах внедрения патогена), так и системную индуцированную устойчивость (СИУ). Для СИУ характерно продолжительность действия во времени и эффективность против широкого круга патогенов. В настоящее время признано, что одной из ключевых молекул сигнального пути формирования индуцированной устойчивости является салициловая кислота (СК), однако исследование ее роли осложняется тем, что в каждой патосистеме существует своя специфика участия СК в индуцировании защитных механизмов. В настоящее время имеется много данных, показывающих, что СК играет центральную роль в защите растений от биотрофных патогенов, которые питаются живыми клетками хозяина. Участие СК в создании иммунного статуса растения связывают с высокой мобильностью молекулы, способной выступать в роли медиатора, воспринимающего, умножающего и передающего информацию из клетки, атакуемой патогеном, на ее генетический аппарат, где происходит экспрессия защитных генов; со способностью ингибировать активность каталазы – фермента, детоксицирующего перекись водорода, что приводит к «окислительному взрыву» в месте атаки патогеном или обработки элиситором; с возможностью подавлять образование жасмоновой кислоты и жасмонатов и, как следствие, индуцируемое ими образование защитных белков.

Содержание СК в тканях растений при действии на них патогенов или элиситоров возрастает в десятки раз. Этот процесс называется «салицилатным взрывом». СК накапливается в растительных тканях только в ответ на инфицирование и не увеличивается при поранении.

Нами были получены данные, которые показали увеличение количества СК в тканях инвазированных галловой нематодой томатов, обработанных биогенными элиситорами (2). На этой же паразито-хозяинной системе томаты – галловая нематода было показано, что различные способы обработки томатов СК (погружение корней в раствор, опрыскивание растений, внесение под корень) снижает зараженность корней галловой нематодой. Это указывает на то, что СК может быть фактором устойчивости растений к нематодам (5).

Ранее нами было установлено, что хитозан повышал содержание свободной формы салициловой кислоты (СК), являющейся важным медиатором сигнальных систем в тканях картофеля, инфицированного фитофторой и томатов, инфицированных галловой нематодой. Добавление СК к хитозану усиливало его способность стимулировать защиту растений в отношении исследованных патогенов. Сравнительный анализ биологической активности в системе картофель-фитофтора нескольких производных хитин-хитозанового олигомера с фрагментами молекулы СК показал, что наиболее активным был препарат N-(2-гидрокси-3-метоксибензил)-N-пиридоксхитозан (в дальнейшем будем называть его R₁,R₂-хитозан), содержащий в своей цепи два фрагмента салициловой кислоты. Он стимулировал как защиту от фитофтороза, так и раневую репарацию тканей картофеля (2, 3).

Целью настоящей работы было сравнение эффективности действия хитозана, СК, их комбинации и модифицированного хитозана – R₁,R₂-хитозана.

Материалы и методы

Лабораторные исследования действия низкомолекулярного хитозана (5 кДа), R₁,R₂-хитозана, СК проводились в патологической системе томаты – галловая нематода (*Meloidogyne incognita*). Препараты хитозана предоставлены Центром «Биотехнологии». Исследовали устойчивые (F1 Шаганэ) и восприимчивые (F1 Гамаюн) к галловой нематоды гибриды томатов. Обработку проводили замачиванием семян с последующим опрыскиванием вегетирующих растений растворами препара-

тов. Вегетирующие растения были инвазированы *M. incognita* (3 тыс. личинок/растение). Было заложено два опыта. В первом исследовали действие хитозана, СК и хитозана+СК, во втором – хитозана и R₁,R₂-хитозана. В процессе вегетации оценивали рострегулирующую активность соединений. Через 3 нед. после заражения опыты были сняты для оценки на зараженность корней, наличие самцов и самок нематод, а также на плодовитость самок.

Результаты и их обсуждение

Обработка растений томатов хитозаном и СК заметно увеличивала длину стебля и вес зеленой массы по сравнению с аналогичными показателями у необработанных растений. Обработка томатов хитозаном и хитозаном совместно с СК существенно подавляла инвазию восприимчивых растений томатов нематодой и влияла на морфо-физиологическое состояние паразита (табл. 1). Растения, обработанные хитозаном, были более устойчивыми к поражению нематодами и заметно лучше развивались по сравнению с контрольными. Что касается нематод, то было обнаружено достоверное уменьшение размера самок и снижение плодовитости. Обработка растений хитозаном+СК в большей степени снижала поражаемость растений нематодой, плодовитость которой также оказалась самой низкой, число яиц в оотеках сократилось в 1,5 раза по сравнению с контрольным вариантом. Полученные данные дали основания предположить, что в случае обработки семян и растений СК совместно с элиситором (хитозаном) экспрессия генов, контролирующих устойчивость растений, меняется сильнее.

Во втором опыте было показано, что соединения хитозана не угнетали развития растений, а в некоторых вариантах стимулировали их рост. Ростстимулирующая активность зависела от сортовой принадлежности томатов. Особенно хорошо проявилась на томатах восприимчивого гибрида (Таблица 2). Однако хитозан в большей степени влиял на рост и развитие растений, чем R₁,R₂-хитозан. Как видно из таблицы 2 и 3 зараженные растения, обработанные хитозаном и R₁,R₂-хитозаном, хорошо развивались, на корнях были единичные галлы, тогда как в контроле отмечалось много сингаллов, что угнетало развитие растений.

Таблица 1. Влияние обработки томатов хитозаном и СК на развитие растений и галловой нематоды

Вариант обработки	Вес стебля, г	Длина стебля, см	Балл заражения	Число галлов/растение	Ср. число яиц/оотека
Контроль (здоровый)	59.3	62.3	–	–	–
Контроль (зараженный)	45.3	58.8	3.0	352	108
СК	141.0	147.0	4.0	413 (117 %)	189 (175 %)
Хитозан	86.0	124.3	2.0	193 (55 %)	99 (91 %)
Хитозан +СК	103.3	128.5	1.5	144 (41 %)	68 (63 %)

Таблица 2. Влияние обработки томатов хитозаном и R₁,R₂-хитозаном на развитие здоровых и зараженных галловой нематодой растений томатов с различной степенью устойчивости к нематодам.

	Вариант обработки	здоровые			зараженные			
		Вес корней, г	Вес надзем. орг., г	Высота стебля, см	Вес корней, г	Вес надзем. орг., г	m _{корн.} /m _{над. орг.}	Высота стебля, см
Устойчивый гибрид	Контроль (вода)	2.7	14.3	56.3	2.5	17.1	–	50.5
	Хитозан	3.3	16.5	56	5.3	18.4	–	60.3
	R ₁ ,R ₂ -хитозан	2.9	16.1	59.3	4.2	18.9	–	54.4
Восприимчивый гибрид	Контроль (вода)	2.3	15.4	62	4.2	10	0.42	20
	Хитозан	4.0	16.6	53	2.0	10	0.2	34.5
	R ₁ ,R ₂ -хитозан	3.7	18.6	67.3	4.2	17	0.25	49.5

Балл заражения томатов, обработанных R₁,R₂-хитозаном, был значительно ниже контрольных растений. Средние размеры, образовавшихся на корнях галлов при обработке хитозаном и R₁,R₂-хитозаном в 1,9 и 2,1 раза мельче контрольных. Обработка растений препаратами хитозана отразилась на развитии нематод. Отмечено наличие большого числа неполовозрелых самок, соответственно, их размеры и среднее число яиц в оотке были существенно ниже контрольных.

Таблица 3. Влияние обработки томатов хитозаном и R₁,R₂-хитозаном на балл заражения растений и морфофизиологические и популяционные характеристики галловой нематоды.

Вариант	Балл заражения*	Ср. размер галла, мм ²	Ср. размер самки, мм ²	Ср. число яиц/оотека
Контроль	3.0	9.913	0.368	237
Хитозан	2.25	5.114 52 %	0.295 80 %	162 68 %
R ₁ ,R ₂ -хитозан	1.25	4.720 47 %	0.315 91 %	134.5 47 %

* по 5-балльной шкале

Очевидно, что обработка растений исследованными препаратами хитозана тормозит развитие нематод. Сравнивая действие хитозана с его производным, можно отметить высокую элиситорную активность совместного внесения хитозана с СК и R₁,R₂-хитозана и по некоторым показателям она была значительно выше хитозана. Так один из основных показателей зараженности – степень галлообразования при обработке R₁,R₂-хитозаном составила в среднем около 13 %, при обработке хитозаном – 37 %, в контроле около 70 %. Это позволяет говорить о том, что модифицирование хитозана СК может усилить защитное действие в отношении галловой нематоды. Предполагается, что в олигомерах СК–модифицированная часть определяет свои сигнальные потоки, отличные от индуцируемых хитозановой частью (4). Было показано, что введение различных фрагментов салициловой кислоты в хитозан неоднозначно влияет на защитные свойства растений (1). На основании имеющихся данных можно предположить, что изменение химической, а также пространственной структуры олигомера введением в цепь двух фрагментов 2-гидрокси-3-метоксибензильного и пиридоксалевого, способствует запуску процессов, связанных с экспрессией защитных генов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №10-04- 00792-а и СНЭЦ.

Литература

- Васюкова Н.И., Озерецковская О.Л., Чаленко Г.И.* и др. Иммуномодулирующая активность производных хитозана с салициловой кислотой и ее фрагментами // Прикладная биохимия и микробиология, 2010, Т. 46, № 3, 2010, С. 379–384.
- Васюкова Н.И., Панина Я.С., Зиновьева С.В., Удалова Ж.В., Озерецковская О.Л., Сонин М.Д.* Участие салициловой кислоты в системной устойчивости томатов к нематодам // Доклады РАН. 2003. Т. 391, № 3. С.401-404.
- Львова А.Н.* Получение низкомолекулярного хитозана и его производных, обладающих защитными и репарационными свойствами Автореф. Дисс. Щелково.2010., 26с.
- Яковлева В.Г., Тарчевский И.А., Левов А.Н.*// Материалы 9 Междунар. конф. «Современные перспективы в исследовании хитина и хитозана» М.; ВНИРО, 2008. С.261-263.
- Molinari, S.* 2008. Salicylic acid as an elicitor of resistance to root-knot nematodes in tomato. Acta Hort. (ISHS) V. 789. P. 119–126.

К ИЗУЧЕНИЮ НЕМАТОД РОДА *DARTONEMA* COBB, 1920 ИЗ ДАЛЬНЕВОСТОЧНЫХ МОРЕЙ РОССИИ

Н. П. Фадеева, В. В. Мордухович, А. А. Щугорева

Дальневосточный федеральный университет, Октябрьская 27, 417, Владивосток, 690600, Россия, nfadeeva@mail.primorye.ru

Род *Dartonema* является одним из наиболее богатых в видовом отношении. В нем насчитывается более 113 валидных видов, встречающихся в различных местообитаниях морских, пресно- и солоноватоводных экосистем по всему миру. В настоящее время, в силу значительной гетерогенности таксона, существует ряд трудностей в плане систематики и таксономии даптонем. В частности, многие виды не могут быть однозначно идентифицированы. В качестве основных дифференцирующих морфологических признаков используются: количество, форма и длина головных щетинок; размер и положение амфидеальной фовеи; размер и строение копулятивного аппарата; форма и длина хвоста (Warwick et al., 1998). На основании сочетания морфологических признаков в пределах рода выделяют комплексы видов (Tchesunov, 2006).