

УДК 579.64/581.2/632.3

ВЛИЯНИЕ ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ *Bacillus subtilis* НА КОМПОНЕНТЫ ПРО-/АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ РАСТЕНИЙ ТОМАТОВ (*Solanum lycopersicum* L.), ИНФИЦИРОВАННЫХ ВИРУСАМИ КАРТОФЕЛЯ X И Y

© 2025 г. С. В. Веселова¹, *, А. В. Сорокань¹, В. Ю. Алексеев¹, И. В. Максимов¹

¹Институт биохимии и генетики – обособленное структурное подразделение ФГБНУ Уфимского федерального исследовательского центра РАН, Уфа, 450054 Россия

*e-mail: veselova75@rambler.ru

Поступила в редакцию 23.04.2025 г.

После доработки 22.05.2025 г.

Принята к публикации 05.07.2025 г.

В работе показана способность эндофитных бактерий *Bacillus subtilis* (Cohn.) штаммы 26Д и Ttl2 подавлять размножение Y вируса (YVK) и X вируса картофеля (XVK) на растениях томатов (*Solanum lycopersicum* L.) и стимулировать рост инфицированных растений за счет регуляции окислительно-восстановительного баланса. Бактериальные штаммы *B. subtilis* 26Д и *B. subtilis* Ttl2 снижали титр YVK и XVK у растений томатов, восстанавливали их рост до контрольных значений, что сопровождалось уменьшением симптомов и тяжести заболевания. YVK и XVK нарушали окислительно-восстановительный баланс растений для своего развития. Однако обработка штаммами *B. subtilis* 26Д и *B. subtilis* Ttl2 регулировала генерацию пероксида водорода путем изменения активности каталазы и положительно влияла на активность пероксидаз растений томатов, инфицированных YVK или XVK. Это позволило предположить возможность использования этих штаммов как основы для создания биопрепаратов для защиты растений томатов от вирусных заболеваний.

Ключевые слова: *Bacillus subtilis*, вирусы растений, каталаза, перекись водорода, пероксидаза, системная индуцированная устойчивость

DOI: 10.7868/S3034574X25060051

Томаты (*Solanum lycopersicum* L.) – одна из самых распространенных и ценных овощных культур в мире и модельное растение для различных исследований. Растения томата подвержены высокой заболеваемости во время выращивания и послеуборочного периода и могут быть поражены более чем 500 болезнями, вызываемыми различными патогенами по всему миру [1]. На сегодняшний день установлен 181 вид вирусов, относящихся к пяти родам *Begomovirus*, *Orthotospovirus*, *Tobamovirus*, *Potyvirus* и *Crinivirus*, которые поражают культуру томатов и приводят к потерям урожая от 40 до 100% в наиболее серьезных случаях [1]. Наиболее опасные из них – вирус желтой курчавости листьев томата (ВЖКЛТ), вирус мозаики томата (ВТом), вирус табачной мозаики (ВТМ), Y вирус картофеля (YVK) и X вирус картофеля (XVK) [2– 6].

Основным методом борьбы с вирусными заболеваниями на сегодняшний день остается применение химических агентов с противовирусной активностью, а также пестицидов и фунгицидов против переносчиков вирусов, однако эти агенты токсичны для растений, животных и человека [1, 7]. Другой стратегией борьбы с вирусами является выведение устойчивых к вирусам сортов растений, однако этот процесс требует больших затрат и времени и часто устойчивость, созданная селекционерами, преодолевается вирусами [1]. Наиболее перспективным и экологически безопасным методом борьбы с вирусными заболеваниями в настоящее время считается использование стимулирующих рост растений бактерий (СРРБ), в том числе, проявляющих свойства эндофитов, и их метаболитов в качестве новых противовирусных агентов [7–9].

Во многих работах показано, что СРРБ, в частности, из рода *Bacillus*, обладают прямой противовирусной активностью за счет работы бактериальных рибонуклеаз (биназ, барназ и балифаз), благодаря им бактерии могут напрямую воздействовать на распространение и размножение вирусов в растениях [7–10]. СРРБ также проявляют косвенную противовирусную активность посредством фунгицидной и инсектицидной активности против фитопатогенов и насекомых-вредителей, являющихся переносчиками вирусов [7–9]. И, наконец, СРРБ активируют против вирусов защитные системы самих растений, запускают индуцированную системную устойчивость (СИУ) и механизмы, задействованные в явлении РНК-интерференции [7–9, 11]. К сожалению, практически нет сообщений об эндофитных СРРБ, проявляющих противовирусную активность [10].

СИУ, опосредованная СРРБ, характеризуется быстрой генерацией активных форм кислорода (АФК), индукцией экспрессии генов защитных сигнальных путей, изменениями в содержании фитогормонов и синтезом различных метаболитов [8, 9, 11]. Роль АФК во время вторжения вирусов в растительные клетки неоднозначна: умеренные концентрации АФК способствуют передаче сигнала и развитию реакций защиты, а высокие концентрации АФК могут вызывать окислительное повреждение клеточных компонентов и приводить к возникновению некроза или мозаичных симптомов [12]. Многие вирусы, такие как ВТМ, вирус огуречной мозаики (ВОМ), УВК и многие другие вызывают окислительный стресс и развитие некрозов, хлорозов, крапчатости и других симптомов, при этом вирусные белки (эффекторы) манипулируют работой ферментов про-/антиоксидантной системы каталазы (КАТ), пероксидазы (ПО), супероксиддисмутазы, аскорбатпероксидазы, глутатионредуктазы и др. [12, 13]. Вместе с тем, показано, что СРРБ регулируют генерацию АФК и активность про-/антиоксидантных ферментов уменьшая вирусную нагрузку в растениях табака, томатов, перца и картофеля, инфицированных ВОМ, ВТМ, ВТом, ХВК и УВК [4–6, 9, 14, 15]. Однако механизмы взаимодействия СРРБ–хозяин–вирус требуют дальнейшего изучения.

Цель работы – изучение влияния эндофитных бактерий *Bacillus subtilis* 26Д и *B. subtilis* Ttl2 на редокс-статус растений томатов при формировании устойчивости к УВК и ХВК.

МЕТОДИКА

Объектами исследования в работе служили растения томатов (*Solanum lycopersicum* L.) гибрида Урал F1 (умеренно устойчив к вирусам по данным фирмы-производителя “Гавриш”, Россия) и сорта Воловье сердце (ВС) (восприимчив к вирусам по данным фирмы-производителя “Гавриш”, Рос-

сия). Также в работе были использованы суспензионные культуры двух эндофитных бактериальных штаммов из коллекции ИБГ УФИЦ РАН *B. subtilis* 26Д и *B. subtilis* Ttl2, выращенные на лизогенном бульоне (LB) (бакотриптон – 1.0%, дрожжевой экстракт – 0.5%, NaCl – 0.5%) в ротационном инкубаторе 200 об./мин при 28°C в течение 72 ч до полной споруляции.

Для подтверждения эндофитных свойств штаммов *Bacillus* spp. 15-дневные, выращенные в стерильных условиях, растения томатов сорта ВС в асептических условиях инокулировали суспензией клеток *B. subtilis* 26Д и *B. subtilis* Ttl2 (10^8 кл./мл) путем нанесения 5 мкл суспензии на нижнюю треть стебля. Количество колониеобразующих единиц (КОЕ) микроорганизмов в тканях побегов или корней определяли через 7 сут после инокуляции как описано ранее [11]. Подсчет КОЕ производили во втором и третьем разведении, и их количество пересчитывали на 1 г сырой массы побегов или корней [10].

В исследовании использовали природные изоляты ХВК (PVX-19AA) и УВК (PVY-19KV), полученные с единичных растений картофеля, произрастающих в Республике Башкортостан [11]. Сок был получен из листьев инфицированных растений картофеля и хранился при температуре –20°C. Предварительно наличие вирусов в соке было проверено методом иммуноферментного анализа (ИФА), а наличие достаточного количества вирусного белка было протестировано с помощью вестерн-блота [11].

Эксперименты проводились в ростовой камере KBW E6 (“Binder GmbH”, Германия) при 16-часовом световом периоде с интенсивностью освещения 146 Вт/м² и температуре 25°C/22°C (день/ночь). Растения томатов выращивали на универсальном грунте “Велторф Премиум” (состав: фрезерный торф, агроперлит, известняковая мука, комплексное минеральное удобрение, “Велторф”, Россия) в отдельных сосудах объемом 1 л.

Бактериальная обработка проводилась на 30-дневных растениях томатов в стадии развития четвертого листа путем опрыскивания бактериальной суспензией с титром 10^8 спор/мл, контрольные растения опрыскивали дистиллированной водой (в количестве 5 мл на одно растение для всех вариантов обработок). Сосуды с растениями накрывали полиэтиленовыми пакетами на ночь для лучшего проникновения эндофитных бактерий в ткани растений. Через 7 сут после бактериальной обработки растения томатов инфицировали соком листьев картофеля, пораженных изолятами PVX-19AA или PVY-19KV, разведенным дистиллированной водой 1 : 1, путем механического поранения и закрывали на ночь.

Содержание ХВК и УВК определяли с помощью ИФА неконкурентным “сэндвич-методом”

с использованием наборов DAS-ELISA Complete kits, согласно протоколу фирмы поставщика (“Bioreba”, Швейцария), с использованием анализатора УНИПЛАН АИФР-01 (“Пикон”, Россия) при длине волны 405 нм, как описано ранее [10] в инокулированных и неинокулированных листьях томатов через 1, 2 и 5 недель (7, 14 и 35 сут) после инфицирования. Образцы считались положительными на наличие ХВК и УВК, если значение поглощения A_{405} превышало в три раза пороговое значение, равное среднему значению поглощения здоровых контрольных образцов (отрицательный контроль) (“Bioreba”, Швейцария), которое составило 180 опт. ед. для системы ХВК и 133 опт. ед. для системы УВК.

Оценка прироста длины побегов растений томатов измерялась до бактериальной обработки и инокуляции вирусами и каждые 7 сут в течение 5 недель после инокуляции у 10 растений для каждой обработки, как описано ранее [11]. Развитие симптомов ХВК и УВК на листьях томатов наблюдали в течение двух недель и фотографировали с помощью Olympus SP-800UZ Image Stabilization (“Olympus”, Индонезия).

Для биохимических исследований растительный материал гомогенизировали в 0.05 М Na-фосфатном буфере, рН 6.2, в соотношении 1 : 5, экстрагировали в течении 30 мин при 4°C и супернатант отделяли от растительных остатков при 15000 g на центрифуге 5415K (“Eppendorf”, США). Измерение генерации пероксида водорода (H_2O_2) и активности ферментов пероксидазы (КФ 1.11.1.7) и каталазы (КФ 1.11.1.6) проводили через 7 и 14 сут после инфицирования растений томатов ХВК и УВК, как описано ранее [16].

Эксперименты проводились 3 раза с тремя повторами для каждой обработки (пять растений на повтор), измерения длины побегов и фиксация симптомов заболевания были выполнены в 10 биологических повторях. Оценка эндофитных свойств проводилась в 20 биологических повторях. На рисунках и в таблицах приведены средние арифметические значения и их доверительные интервалы, рассчитанные по стандартным ошибкам, с использованием программного обеспечения MS Excel. Достоверность различий была оценена с помощью однофакторного дисперсионного ана-

лиза (ANOVA) в соответствии с тестом Дункана ($p \leq 0.05$) с помощью программного обеспечения STATISTICA 10.0.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

СРРБ уже много лет используются в качестве экологически чистых агентов биологической борьбы с патогенами и вредителями и только недавно их начали использовать против вирусов растений [7, 9]. В последние годы интенсивно изучаются эндофитные СРРБ – способные колонизировать внутренние ткани растений [7]. Изученные в данной работе бактериальные штаммы *B. subtilis* 26Д и *B. subtilis* Ttl2 проявляли эндофитность, но в разной степени (табл. 1). Установлено, что во внутренних тканях побегов томатов после поверхностной стерилизации количество живых клеток штамма *B. subtilis* 26Д было вдвое больше, чем живых клеток штамма *B. subtilis* Ttl2 (табл. 1). Содержание клеток этих штаммов в корнях было в 11–15 раз меньше, чем в побегах (табл. 1).

Размножение вирусов в растениях визуально было подтверждено наличием симптомов на листьях, зафиксированных на 14 день после инфицирования (рис. 1). Так, ХВК проявлялся в виде скрученности листьев и морщинистости у растений гибрида Урал F1, у растений сорта ВС к этим симптомам добавлялись хлоротические пятна (рис. 1а, б). УВК вызывал появление хлоротической мозаики и скручивания листьев у растений гибрида Урал F1 и хлоротической и морщинистой мозаики у растений сорта ВС (рис. 1а, б). Обработка штаммами *B. subtilis* 26Д и *B. subtilis* Ttl2 уменьшала проявление симптомов заболеваний, вызванных ХВК и УВК, однако штамм *B. subtilis* 26Д влиял на этот показатель в большей степени, чем штамм *B. subtilis* Ttl2 (рис. 1а, б). Так, у растений гибрида Урал F1, обработанных *B. subtilis* 26Д и инфицированных УВК, симптомы заболевания не были обнаружены (рис. 1а).

Результаты анализа содержания ХВК и УВК с помощью ИФА показали, что титры обоих вирусов в растениях сорта ВС были выше, чем в растениях гибрида Урал F1 через 7 и 14 дней инфицирования (табл. 2). Обработка растений томатов штаммами *B. subtilis* 26Д и *B. subtilis* Ttl2 значитель-

Таблица 1. Содержание жизнеспособных бактерий во внутренних тканях побегов и корней растений томатов сорта Воловье сердце через 7 сут после инокуляции*

Количество КОЕ*10 ⁴ /г сырой массы	Орган растения	
	побег	корень
<i>B. subtilis</i> 26Д	26.0 ± 6.71a	2.23 ± 0.56a
<i>B. subtilis</i> Ttl2	12.0 ± 3.14b	0.80 ± 0.04b

* Варианты в одном столбце с разными буквами – средние значения, статистически отличающиеся друг от друга согласно тесту Дункана ($n = 20, p \leq 0.05$).

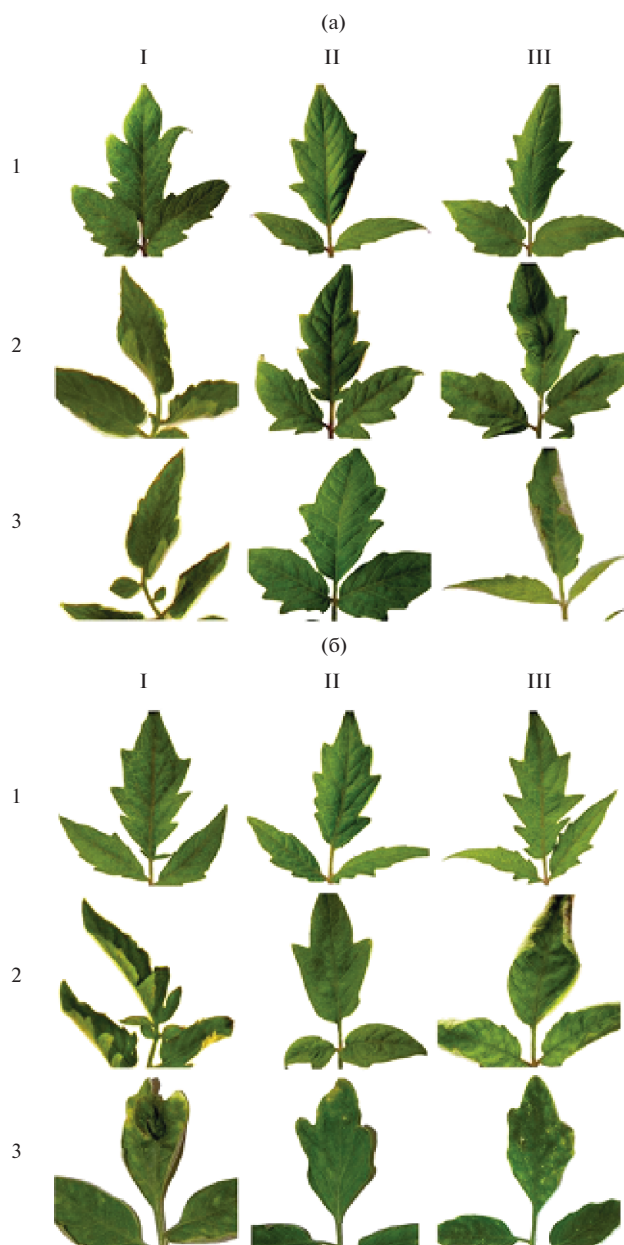


Рис. 1. Влияние обработки эндофитными бактериями *B. subtilis* 26Д (II) и *B. subtilis* Ttl2 (III) растений томатов гибрида Урал F1 (а) и сорта ВС (б) на развитие симптомов заболеваний, вызванных ХВК (2) и YVK (3) через 14 сут после инфицирования: 1 – контрольные растения; I – растения без бактериальной обработки. На фотографиях показаны результаты типичного варианта из серии экспериментов ($n = 30$).

но снижала титры ХВК и YVK в течение всего эксперимента (табл. 2). Однако штамм *B. subtilis* 26Д действовал на размножение вирусов сильнее. Так, у обработанных этим штаммом растений гибрида Урал F1 YVK не был обнаружен, как с помощью ИФА метода (табл. 2), так и визуально (рис. 1а). Таким образом, снижение титра вирусных частиц

в растениях при бактериальной обработке сопровождалось уменьшением симптомов и тяжестью заболевания у таких растений, что предполагает наличие у эндофитных бактерий *B. subtilis* 26Д и *B. subtilis* Ttl2 потенциала для защиты растений томатов от ХВК и YVK.

Полученные результаты хорошо согласуются с полученными ранее данными, где была показана защита растений томатов, перца, табака и картофеля от различных вирусов обработкой СРРБ, которая снижала титр вирусов в растениях при выращивании в теплице или полевых условиях [2, 4–6, 10, 14]. Так, с помощью ИФА была показана способность штамма *B. amyloliquefaciens* MBI600 снижать титр YVK [2], а штамма *Streptomyces ovatisporus* LC597360 – снижать титр ВТом в растениях томатов [4]. Обработка СРРБ либо полностью устраняла развитие вирусных симптомов, либо снижала тяжесть заболевания вызванного ВТМ у растений томатов [5, 6], ВОМ у растений табака и перца [14], ХВК и YVK у растений томатов и картофеля [2, 10], ВТом или ВЖКЛТ у растений томатов [3, 4].

Одним из основных симптомов вирусных заболеваний является подавление роста растений и снижение качества и количества урожая [9]. В связи с этим способность СРРБ стимулировать рост растений в стрессовых условиях привлекает все большее внимание [9, 17]. В ходе настоящей работы показано, что растения гибрида и сорта, инфицированные ХВК, и растения только сорта ВС, инфицированные YVK, значительно отставали в росте от контрольных растений уже через 3 недели инфицирования (рис. 2). YVK не влиял на рост растений гибрида Урал F1 (рис. 2а). Бактериальные штаммы *B. subtilis* 26Д и *B. subtilis* Ttl2 показали рост-стимулирующий эффект, увеличивая высоту растений томатов на 10–20% по сравнению с контрольными растениями (рис. 2). Также обработка штаммами *B. subtilis* 26Д и *B. subtilis* Ttl2 уменьшала повреждающее действие вирусов и восстанавливала рост до контрольных значений у растений гибрида и сорта, инфицированных как ХВК, так и YVK (рис. 2). Штамм *B. subtilis* Ttl2 в меньшей степени влиял на рост растений сорта ВС, инфицированных YVK (рис. 2б).

В недавних работах показано, что применение некоторых СРРБ (*Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp. и *Streptomyces* spp.) улучшало рост растений, количество и вес клубней, а также плодов по сравнению с необработанными инфицированными растениями [2, 4, 5, 10, 14]. Так, обработка растений томатов штаммом *B. amyloliquefaciens* TBorg1 значительно увеличила длину побегов и корней, а также сырую массу растений, инфицированных ВТМ, по сравнению с необработанными инфицированными растениями [5].

Таблица 2. Влияние эндофитных бактерий *B. subtilis* 26Д и *B. subtilis* Ttl2 на накопление вирусного белка ХВК и УВК в растениях томатов

Сорт/гибрид томатов**	Вариант обработки	Количество вирусного белка, опт. ед. при A ₄₀₅		
		7 сут	14 сут	35 сут
ВС	контроль	—*	—	—
	ХВК	3.50 ± 0.15a	3.98 ± 0.18a	2.71 ± 0.21d
	<i>B. subtilis</i> 26Д + ХВК	0.88 ± 0.09b	2.17 ± 0.16c	1.90 ± 0.17c
	<i>B. subtilis</i> Ttl2 + ХВК	0.61 ± 0.07b	3.26 ± 0.21d	2.01 ± 0.14c
	УВК	0.90 ± 0.10a	1.81 ± 0.19b	2.73 ± 0.12c
	<i>B. subtilis</i> 26Д + УВК	—	0.56 ± 0.03a	1.24 ± 0.07d
	<i>B. subtilis</i> Ttl2 + УВК	—	0.72 ± 0.06a	1.57 ± 0.08b
Урал F1	Контроль	—	—	—
	ХВК	0.73 ± 0.05a	2.71 ± 0.15b	1.87 ± 0.12d
	<i>B. subtilis</i> 26Д + ХВК	—	1.37 ± 0.09c	—
	<i>B. subtilis</i> Ttl2 + ХВК	—	1.23 ± 0.07c	1.49 ± 0.11c
	УВК	—	0.92 ± 0.08a	2.13 ± 0.15c
	<i>B. subtilis</i> 26Д + УВК	—	—	—
	<i>B. subtilis</i> Ttl2 + УВК	—	0.59 ± 0.04b	1.15 ± 0.07a

* “—” (вирусный белок отсутствует) – A₄₀₅ не превышало в три раза пороговое значение отрицательного контроля.

** Варианты сорта и гибрида, на разных стадиях инфицирования определенным вирусом, отмеченные разными буквами, представлены средними значениями, статистически отличающимися друг от друга согласно тесту Дункана ($n = 9, p \leq 0.05$).

СРРБ могут влиять на рост растений как напрямую, благодаря синтезу большого разнообразия вторичных метаболитов, стимулирующих рост, в том числе гормонов (цитокининов, ауксинов, гиббереллинов и др.), так, и опосредованно, через улучшение минерального питания или индукцию устойчивости растений к патогенам и вредителям [9, 17]. Ранее [11] было показано, что эндофитные штаммы *B. subtilis* 26Д и *B. subtilis* Ttl2 синтезировали цитокинины и ауксины соответственно и могли тем самым стимулировать рост инфицированных растений. Для определения способности бактерий *B. subtilis* 26Д и *B. subtilis* Ttl2 регулировать СИУ в растениях томатов против ХВК и УВК был изучен редокс-статус инфицированных растений.

Во многих работах показано, что ХВК и УВК для своего развития нарушают окислительно-восстановительный баланс растений [12, 13, 18]. Повышенная генерация АФК ингибировала размножение ХВК в растениях табака, а обработка растений КАТ подавляла развитие устойчивости и увеличивала размножение вируса [18]. В зависимости от стадии развития болезни высокое содержание вирусных частиц УВК коррелировало с повышенным содержанием АФК и развитием симптомов мозаики на листьях табака, или УВК влиял на пул антиоксидантов, регулировал

экспрессию генов антиоксидантных ферментов и повышал активность КАТ у растений [13]. КАТ – фермент разлагающий H₂O₂ и способствующий поддержанию окислительно-восстановительного баланса клетки, часто становится мишенью вирусных белков, которые управляют работой фермента [12].

Изучение редокс-статуса растений томатов в данной работе показало, что инфицирование ХВК не влияло на содержание H₂O₂ и активность КАТ у растений устойчивого гибрида Урал F1 (рис. 3а, в), но приводило к снижению содержания H₂O₂ у растений восприимчивого сорта ВС, скорее всего, за счет повышения активности КАТ, через 7 и 14 сут после инфицирования (рис. 3б, г). Сходное повышение активности КАТ было обнаружено на растениях картофеля пяти различных сортов, инфицированных ХВК [19]. Обработка растений бактериальными штаммами *B. subtilis* 26Д и *B. subtilis* Ttl2 повышала содержание H₂O₂ и снижала активность КАТ через 7 и 14 сут после инфицирования ХВК у гибрида и сорта по сравнению с инфицированными необработанными растениями (рис. 3), что сопровождалось снижением титра вируса и уменьшением проявления симптомов заболевания (табл. 2, рис. 1). Подобное снижение активности КАТ и других антиоксидантных

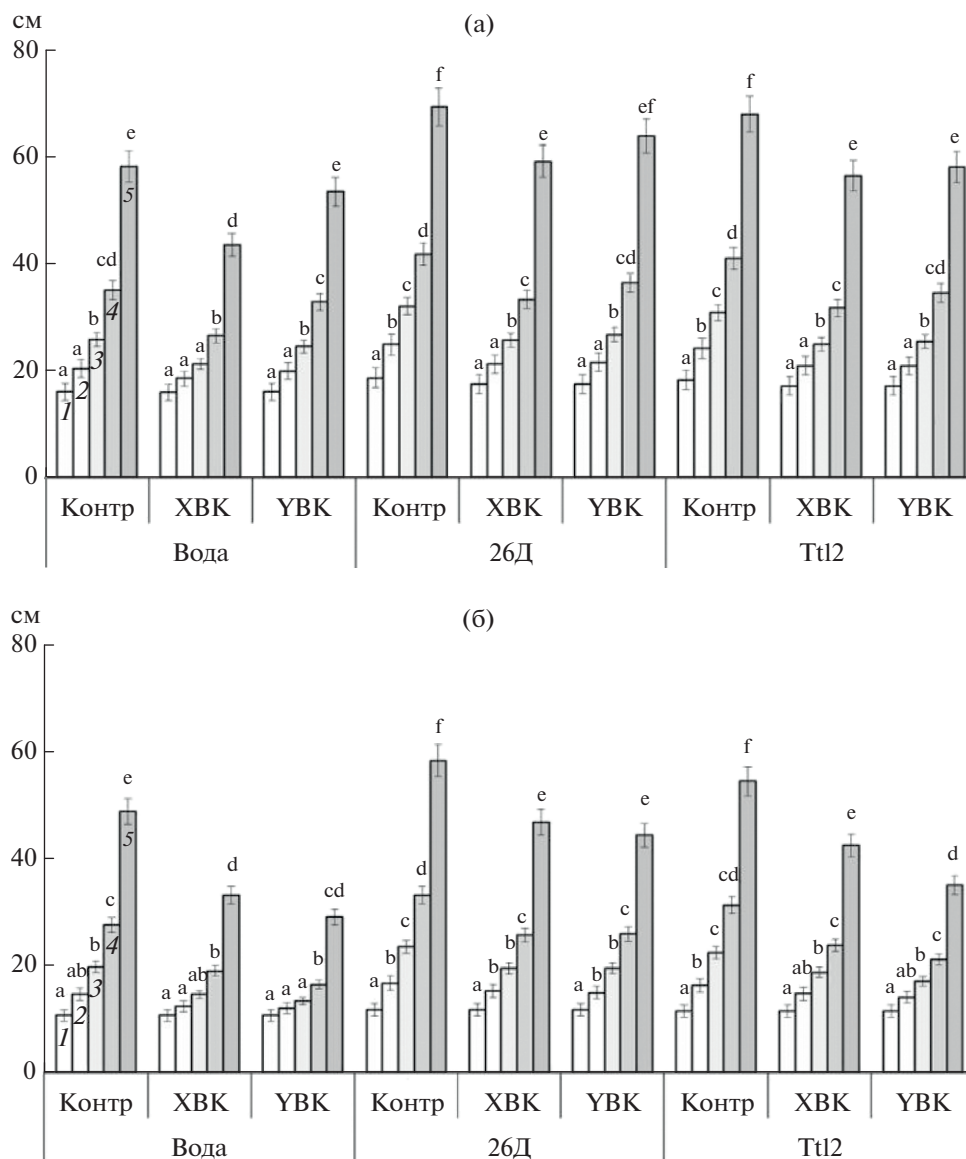


Рис. 2. Влияние эндофитных бактерий *B. subtilis* 26Д и *B. subtilis* Tt12 на прирост побегов растений томатов гибрида Урал F1 (а) и сорта ВС (б) здоровых (контроль) и инфицированных ХВК и УВК на 7 сут (1), 14 (2), 21 (3), 28 сут (4) и 35 сут (5) после инфицирования. Варианты на одной гистограмме, отмеченные разными буквами, представлены средними значениями, статистически отличающимися друг от друга согласно тесту Дункана ($n = 30, p \leq 0.05$).

ферментов, приводящее к снижению вирусной нагрузки и стимуляции роста, было обнаружено на растениях табака, обработанных *Paenibacillus lentimorbus* В-30488 и инфицированных ВОМ [14].

У растений томатов через 7 сут после инфицирования УВК снижение содержания H_2O_2 и повышение активности КАТ наблюдали только у восприимчивого сорта ВС (рис. 3б, г) и не обнаружили у растений устойчивого гибрида Урал F1 (рис. 3а, в). Через 14 сут после инфицирования растений УВК было обнаружено резкое повышение содержания H_2O_2 и падение активности КАТ у гибрида и сорта по сравнению с 7 сут заболевания (рис. 3). Это совпадало с повышением содержания вирус-

ных белков (табл. 2) и могло свидетельствовать о сильном окислительном стрессе в растениях при размножении вируса. Однако у растений гибрида Урал F1 всплеск генерации АФК был в 1.4 раза слабее, чем у растений сорта ВС (рис. 3а, б), что совпадало с меньшим титром вируса (табл. 2). Полученные результаты согласуются с исследованиями, в которых было описано сильное раннее увеличение экспрессии генов, связанных с метаболизмом антиоксидантов, в листьях картофеля восприимчивых, но не устойчивых сортов, инокулированных УВК [20]. При дальнейшем размножении вируса активность антиоксидантов снижалась, но накапливались АФК, вызывающие окислительный

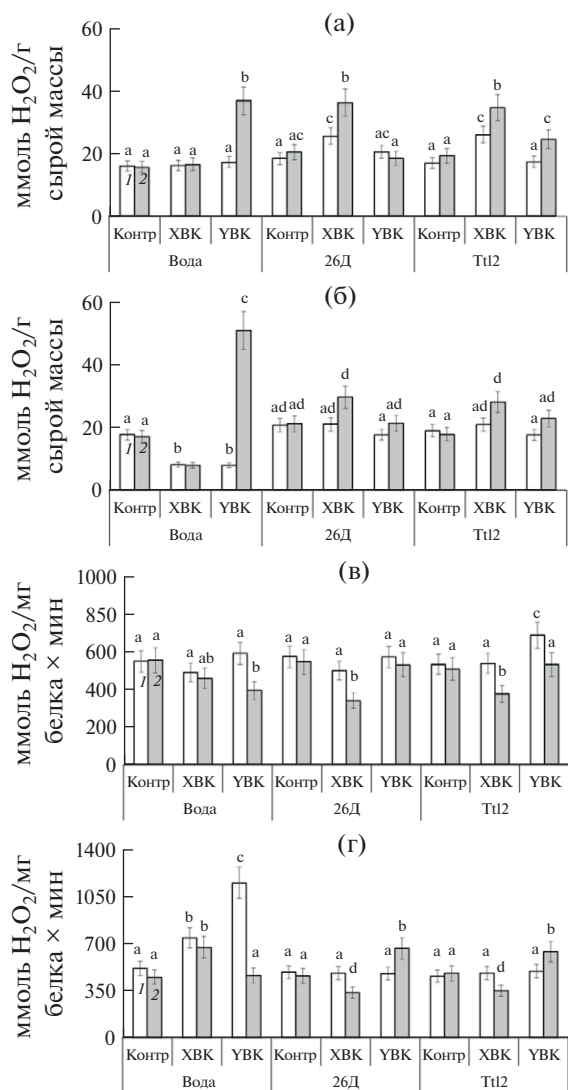


Рис. 3. Влияние эндофитных бактерий *B. subtilis* 26Д и *B. subtilis* Tt12 на содержание H_2O_2 (а, б) и активность каталазы (в, г) растений томатов гибрида Урал F1 (а, в) и сорта ВС (б, г) здоровых (контроль) и инфицированных ХВК и YVK на 7 сут (1) 14 сут (2) после инфицирования. Варианты на одной гистограмме, отмеченные разными буквами, представлены средними значениями, статистически отличающимися друг от друга согласно тесту Дункана ($n = 9, p \leq 0.05$).

стресс, что было показано на растениях картофеля и табака [13, 20].

Обработка растений бактериальными штаммами *B. subtilis* 26Д и *B. subtilis* Tt12 сдерживала резкие изменения редокс-статуса растений томатов, инфицированных YVK, поддерживая тем самым окислительно-восстановительный баланс (рис. 3). Так, у растений, обработанных бактериальными суспензиями, отсутствовало резкое падение содержания H_2O_2 и повышение активности КАТ через 7 сут после инфицирования (рис. 3). Также через

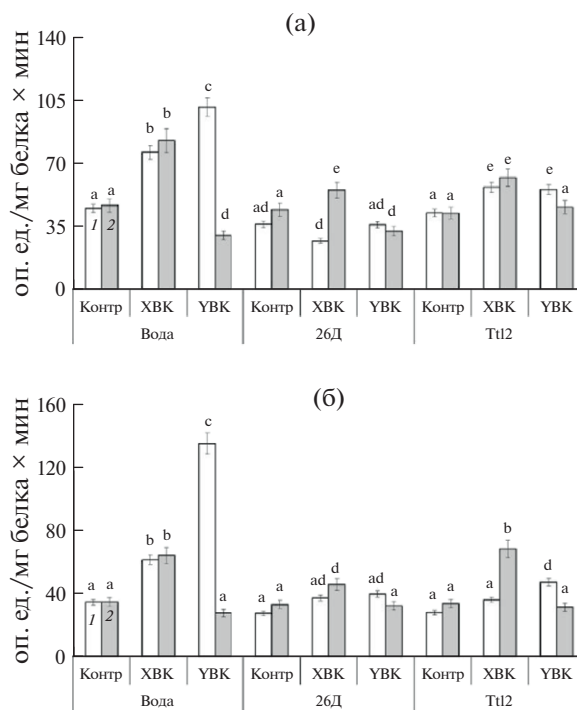


Рис. 4. Влияние эндофитных бактерий *B. subtilis* 26Д и *B. subtilis* Tt12 на активность пероксидазы растений томатов гибрида Урал F1 (а) и сорта ВС (б) здоровых (контроль) и инфицированных ХВК и YVK: 1 – 7 сут после инфицирования; 2 – 14 сут после инфицирования. Варианты на одной гистограмме, отмеченные разными буквами, представлены средними значениями, статистически отличающимися друг от друга согласно тесту Дункана ($n = 9, p \leq 0,05$).

14 сут после инфицирования у таких растений было менее выражено резкое накопление H_2O_2 (рис. 3а, б) по сравнению с инфицированными необработанными растениями, что, скорее всего, происходило благодаря повышению активности КАТ (рис. 3в, г) и сопровождалось уменьшением симптомов заболевания (рис. 1). Подобное снижение содержания H_2O_2 , повышение активности КАТ и общего антиоксидантного потенциала с последующим уменьшением вирусной нагрузки наблюдали у растений томатов, обработанных *S. ovatisporus* LC597360 и инфицированных ВТом [4], или обработанных *B. amyloliquefaciens* TBoRG1, или *B. subtilis* HA1 и инокулированных ВТМ [5, 6], а также у растений картофеля, обработанных *Rhizophagus irregularis* и инфицированных YVK [13].

Еще одна группа ферментов редокс-системы – пероксидазы (ПО), основной функцией которых является защита растительного организма от вредного воздействия АФК [8, 15]. Предполагается, что повышенная активность ПО связана с клеточным повреждением, вызванным размножением вируса и может быть ответственна за снижение роста и пороки развития у растений. Однако также ак-

тивность ПО может быть связана с ограничением проникновения патогенов за счет укрепления клеточных стенок [5, 6, 21]. Развитие ХВК на растениях томатов приводило к повышению активности ПО у гибрида и сорта через 7 и 14 сут после инфицирования по сравнению с контролем (рис. 4а, б). Развитие УВК на растениях томатов приводило к резкому повышению активности ПО через 7 сут после инфицирования и снижению активности фермента через 14 сут после инфицирования у гибрида и сорта по сравнению с контролем (рис. 4а, б). Увеличение активности ПО также наблюдали у растений табака, инфицированных ВТМ или УВК [21, 22], у растений огурца, инфицированных ВОМ, у растений фасоли, инфицированных вирусом мозаики белого клевера (ВМБК) [21], у растений хлопка, инфицированных вирусом курчавости листьев хлопка (ВКЛХ) [23], у растений картофеля, инфицированных ХВК или УВК [15, 19], что может быть связано с повреждающим действием вирусов [21].

Обработка растений клетками бактериальных штаммов *B. subtilis* 26Д и *B. subtilis* Tt12 снижала активность ПО у гибрида и сорта, инфицированных ХВК или УВК по сравнению с инфицированными необработанными растениями (рис. 4а, б), что может быть связано со снижением повреждающего действия вирусов в бактериализованных растениях (рис. 1, табл. 2). Тем не менее, активность ПО оставалась во многих вариантах выше контрольного уровня (рис. 4), что говорит о влиянии бактерий на активность пероксидазного комплекса и свидетельствует об иммуномодулирующем эффекте бактериальных штаммов *B. subtilis* 26Д и *B. subtilis* Tt12. Положительное влияние СРРБ на активность ПО при вирусной инфекции было показано во многих работах [4–6, 15].

Таким образом, бактериальные штаммы *B. subtilis* 26Д и *B. subtilis* Tt12 индуцировали устойчивость растений томатов к ХВК и УВК, регулируя редокс-статус растений и поддерживая их окислительно-восстановительный баланс. Полученные результаты предполагают возможность использования этих штаммов для создания биопрепаратов с комплексной активностью для увеличения устойчивости растений томатов к вирусным заболеваниям.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант РНФ № 24-26-00025 “Перспектива применения выделенных на территории Южного Урала эндофитных штаммов бактерий рода *Bacillus* для повышения устойчивости сельскохозяйственных растений к комплексу биотических факторов среды” с использованием оборудования ЦКП “Биомика” (Отделение биохимических методов исследований и нанобиотехнологии РЦКП “Агидель”) и УНУ “КОДИНК”.

мических методов исследований и нанобиотехнологии РЦКП “Агидель”) и УНУ “КОДИНК”.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Shahriari Z., Su X., Zheng K., Zhang Z.* // Int. J. Mol. Sci. 2023. V. 24. P. 15448. <https://doi.org/10.3390/ijms242015448>
2. *Beris D., Theologidis I., Skandalis N., Vassilakos N.* // Sci. Rep. 2018. V. 8. P. 10320. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-28677-3>
3. *Guo, Q., Li Y., Lou Y., Shi M., Jiang Y., Zhou J. et al.* // Appl. Soil Ecol. 2019. V. 137. P. 154–166. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.01.015>
4. *Taha M., Ghaly M., Atwa H., Askoura M.* // Curr. Microbiol. 2021. V. 78. P. 3032–3043. <https://doi.org/10.1007/s00284-021-02567-w>
5. *Abdelkhalek A., Aseel D.G., Király L., Künstler A., Moawad H., Al-Askar A.A.* // Viruses. 2022. V. 14. P. 1830. <https://doi.org/10.3390/v14081830>
6. *El-Gendi H., Al-Askar A.A., Király L., Samy M.A., Moawad H., Abdelkhalek A.* // Horticulturae. 2022. V. 8. P. 301. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8040301>
7. *Maksimov I.V., Sorokan A.V., Burkhanova G.F., Veselova S.V., Alekseev V.Y., Shein M.Y., Avalbaev A.M., Dhaware P.D., Mehetre G.T., Singh B.P.* // Plants. 2019. V. 8. P. 575. <https://doi.org/10.3390/plants8120575>
8. *Максимов И.В., Сорокань А.В., Шеин М.Ю., Хайруллин Р.М.* // Прикл. биохимия и микробиология. 2020. Т. 56. № 6. С. 536–550. <https://doi.org/10.31857/s0555109920060100>
9. *Manjunatha L., Rajashekara H., Uppala L.S., Ambika D.S., Patil B., Shankarappa K.S. et al.* // Plants. 2022. V. 11. P. 3449. <https://doi.org/10.3390/plants11243449>
10. *Sorokan A., Cherepanova E., Burkhanova G., Veselova S., Rumyantsev S., Alekseev V. et al.* // Front. Microbiol. 2020. V. 11. P. 569457. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.569457>
11. *Veselova S.V., Sorokan A.V., Burkhanova G.F., Rumyantsev S.D., Cherepanova E.A., Alekseev V.Y. et al.* // Biomolecules. 2022. V. 12. P. 288. <https://doi.org/10.3390/biom12020288>
12. *Xu Y., Zhang S., Zhang M., Jiao S., Guo Y., Jiang T.* // Plant Cell Reports. 2024. V. 43. P. 197. <https://doi.org/10.1007/s00299-024-03280-1>
13. *Deja-Sikora E., Werner K., Hrynkiwicz K.* // Front. Microbiol. 2023. V. 14. P. 1127278. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1127278>

14. Kumar S., Chauhan P.S., Agrawal L., Raj R., Srivastava A., Gupta S. et al. // PLoS ONE. 2016. V. 11. P. e0149980.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0149980>
15. Янчевская Т.Г., Гриц А.Н., Макарова Т.Б., Олешук Е.Н., Романовская Т.В. // Ботаника (Исследования). 2016. Т. 45. С. 376–385.
16. Rutyantsev S.D., Veselova S.V., Burkhanova G.F., Alekseev V.Y., Maksimov I.V. // Microorganisms. 2023. V. 11. P. 2983.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms11122983>
17. Kudoyarova G., Arkhipova T., Korshunova T., Bakayeva M., Loginov O., Dodd I.C. // Front. Plant Sci. 2019. V. 10. P. 1368.
<https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01368>
18. Király L., Albert R., Zsemberi O., Schwarczinger I., Hafez Y.M., Künstler A. // Phytopathology. 2021. V. 111. № 10. P. 1870–1884.
<https://doi.org/10.1094/PHYTO-12-20-0540-R>
19. Гаджимурадова А.М., Евлоева Х.С., Жаумитова Н.Н., Исмуканова Г.Ж., Турпанова Р.М. // Вестник науки казахского агротехнического исследовательского университета имени С. Сейфуллина. 2023. Т. 4. № 119. С. 106–117.
20. Kogovšek P., Pompe-Novak M., Baebler S., Rotter A., Gow L., Gruden K. // Plant Pathol. 2010. V. 59. P. 1121–1132.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2010.02340.x>
21. Clarke S.F., Guy P.L., Burritt D.J., Jameson P.E. // Physiol. Plant. 2002. V. 114. № 2. P. 157–164.
<https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2002.1140201.x>
22. Nie X. // Phytopathology. 2006. V. 96. № 3. P. 255–263.
<https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-0255>
23. Khan M.F., Umar U.U.D., Alrefaei A.F., Rao M.J. // Metabolites. 2023. V. 13. P. 1148.
<https://doi.org/10.3390/metabo13111148>

Effect of Endophytic Bacteria *Bacillus subtilis* on Components of the Pro-/Antioxidant System of Tomato Plants (*Solanum lycopersicum* L.) Infected with Potato Viruses X and Y

S. V. Veselova^a, *, A. V. Sorokan^a, V. Y. Alekseev^a, and I. V. Maksimov^a

^aInstitute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Center, Russian Academy of Sciences, Ufa, 450054 Russia

*e-mail: veselova75@rambler.ru

Currently, the most promising and environmentally friendly method of combating viral diseases is considered to be the use of plant growth promoting bacteria (PGPB) and their metabolites, which can exhibit both direct antiviral activity and stimulate the defense mechanisms of host plants. In this work, the ability of endophytic bacteria *Bacillus subtilis* (Cohn.) strains 26D and Tt12 to suppress the reproduction of potato virus Y (PVY) and potato virus X (PVX) on tomato plants (*Solanum lycopersicum* L.) and to stimulate the growth of infected plants by regulating the redox balance was discovered. Bacterial strains *B. subtilis* 26D and *B. subtilis* Tt12 reduced the titer of PVY and PVX in tomato plants, restored their growth to control values, which was accompanied by a decrease in symptoms and severity of the disease. PVY and PVX disrupted the redox status of plants for their development. Bacterial strains *B. subtilis* 26D and *B. subtilis* Tt12 regulated the generation of hydrogen peroxide by changing the activity of catalase and positively affected the activity of peroxidases of tomato plants infected with PVY or PVX, which suggests the possibility of using these strains as a basis for creating an antiviral biocontrol agent.

Keywords: *Bacillus subtilis*, plant viruses, catalase, hydrogen peroxide, peroxidase, systemic induced resistance