

УДК 581.1

ИЗУЧЕНИЕ РЕЦЕПТОРОВ, КОНТРОЛИРУЮЩИХ РАЗВИТИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ГОРОХА К ФИТОПАТОГЕНАМ И СИМБИОЗ С ГРИБАМИ АРБУСКУЛЯРНОЙ МИКОРИЗЫ

И.В. Леппянен, Н.А. Вишневская, Е.А. Долгих

Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, dol12helen@yahoo.com

Целью работы являлось изучение функции рецепторной киназы *PsLYK9* – наиболее вероятного кандидата на роль рецептора к хитоолигосахаридам (ХОС) у гороха *Pisum sativum* L. Рецепторная киназа *PsLYK9* у гороха активируется в ответ на обработку ХОС с разной степенью полимеризации. Было установлено, что растения с подавлением экспрессии гена *PsLyc9* в результате РНК интерференции, оказались более чувствительными к заражению слабопатогенным штаммом гриба *Fusarium culmorum* (Wm.G.Sm.) Sacc. 891. Снижение устойчивости к заражению коррелировало с пониженным уровнем экспрессии генов, кодирующих защитные белки и ферменты (*PsPR10*, *PsPR1*, *PsPAL2*). Вместе с тем, у растений с подавленной экспрессией *PsLyc9* в ответ на обработку ХОС ($n = 5$), выделяемых грибами арбускулярной микоризы (АМ), наблюдалось значительное снижение экспрессии генов, являющихся маркерами развития симбиоза с грибами АМ (*DRP*, *RAM1*, *NSP2*, *DELLA*). Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что *PsLYK9* является наиболее вероятным гомологом рецептора растений *CERK1*, который при формировании комплексов с разными ко-рецепторами, контролирует развитие устойчивости к фитопатогенам и формирование АМ симбиоза. Изучение принципов работы такого рецептора станет в дальнейшем основой для разработки научно-обоснованных подходов, направленных на управление системой устойчивости растений или повышение симбиотической эффективности.

Ключевые слова: LysM-рецепторы, хитоолигосахариды, симбиоз, защитные реакции.

В основе развития устойчивости растений к фитопатогенным грибам или, напротив, формирования симбиоза с грибами арбускулярной микоризы (АМ), лежит их способность узнавать похожие по структуре сигнальные мо-

лекулы микроорганизмов. Хитоолигосахариды (ХОС) со степенью полимеризации ($n = 6-8$) являются элиситорами защитных систем растения. Напротив, ХОС со степенью полимеризации $n = 4-5$ выделяются грибами АМ и играют

ключевую роль в развитии внутриклеточного симбиоза. Для выяснения того, как растения различают столь сходные по структуре сигнальные молекулы, большой интерес представляет поиск, а также изучение структурной организации и функционирования рецепторов растений, отвечающих за связывание ХОС.

У отдельных растений, таких как рис и арабидопсис, были выявлены первые рецепторные белки, контролирующие реакции растений на ХОС. Среди них *OsCERK1* риса, и *AtCERK1* арабидопсиса. Известно, что *AtCERK1* арабидопсиса контролирует развитие только защитных реакций, поскольку это растение не формирует симбиоз с грибами арбускулярной микоризы. Напротив, *OsCERK1* риса выполняет двойную функцию – контролирует развитие как защитных, так и симбиотических реакций при формировании комплексов с различными ко-рецепторами. Бобовые растения представляют особый интерес для изучения рецепторов к ХОС, поскольку способны взаимодействовать как с фитопатогенными грибами, так и вступать в симбиоз с грибами АМ. Однако таких рецепторов в настоящее время у бобовых растений не выявлено.

Объектом наших исследований был горох посевной *Pisum sativum* L. На основании проведенного филогенетического анализа наиболее близким гомологом CERK1 у модельного бобового растения *Medicago truncatula* Gaertn., геном которого в настоящее время расшифрован, является рецептор *MtLYK9*. Мы предположили, что ген *MtLYK9*, а также его гомолог у гороха может кодировать рецептор, контролирующий развитие ответных реакций на ХОС.

На первом этапе работы был проведен поиск и идентификация полноразмерной последовательности гена *Lyk9* у гороха. Для изучения функции гена *PsLyk9* у гороха была получена генетическая конструкция для РНК-интерференции. У трансгенных растений гороха линии Finale, трансформированных данной конструкцией, подавление экспрессии гена *PsLyk9* составило около 80%. У растений с подавленной экспрессией гена *PsLyk9* было выявлено снижение уровня экспрессии генов, кодирующих защитные ферменты и белки (*PsPAL2* и *PsPR10*), в ответ на обработку хитоолигосахаридами (ХОС, n=8). Более того, нами было выявлено у таких растений увеличение уровня заболеваемости при заражении слабопатогенным штаммом грибов *Fusarium culmorum* (Wm.G.Sm.) Sacc. 891.

Вместе с тем, у растений с подавленной экспрессией *PsLyk9* в ответ на обработку короткими ХОС (n=5) наблюдалось значительное снижение экспрессии генов, являющихся маркерами развития симбиоза с грибами арбускулярной микоризы (*DELLA*, *NSP2*, *DRP*, *RAM1*).

Таким образом, на основании полученных данных можно сделать вывод том, что что *PsLYK9* контролирует развитие защитных реакций гороха как в ответ на обработку элиситорами (ХОС n=8), так и на заражение фитопатогенным грибом, а также участвует в развитии симбиоза с грибами арбускулярной микоризы и, вероятно, контролирует ответные реакции растения на обработку короткими ХОС (n=5).

Следовательно, рецептор *PsLYK9* является CERK1-подобным рецептором у гороха, который при связывании ХОС контролирует развитие как защитных, так и симбиотических реакций.

Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 94–95

STUDYING RECEPTORS CONTROLLED OF RESISTANCE DEVELOPMENT TO PATHOGENS AND FORMING OF SYMBIOSIS WITH ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI IN PEA

I.V. Leppyanen, N.A. Vishnevskaya, E.A. Dolgikh

All-Russia Institute for Agricultural Microbiology, dol12helen@yahoo.com

The main goal of the work was to identify and study the function of receptor kinase *PsLYK9* – a candidate for the role of the receptor to chitoooligosaccharide signals in *Pisum sativum* L. Consequently, the new receptor kinase *PsLYK9* was found in pea. The plants with the suppression of this gene expression as a result of RNA interference were more susceptible to infection with phytopathogenic fungus *Fusarium culmorum* (Wm.G.Sm.) Sacc. 891. Reducing resistance to infection correlates with reduced expression of genes encoding protective proteins and enzymes (*PsPR10*, *PsPAL2*). However, in plants with repressed *PsLyk9* expression a significant decrease in the expression levels of genes that are markers of symbiosis with arbuscular mycorrhizal fungi (*DELLA*, *NSP2*, *DRP*, *RAM1*) was observed. These results allow us to conclude that *PsLYK9* is the most likely homolog to plant receptor CERK1, in which the formation of complexes with various co-receptors controls the development of resistance to phytopathogens and formation AM symbiosis. The study of the principles of such receptor operation will be further a basis for the development of evidence-based approaches to the manipulation of the resistance system of legume plants or increasing symbiotic efficiency.