



СОВМЕСТНОЕ ВЛИЯНИЕ *BACILLUS THURINGIENSIS* B-5351 И САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ НА УСТОЙЧИВОСТЬ РАСТЕНИЙ КАРТОФЕЛЯ К *PHYTOPHTHORA INFESTANS* И УРОЖАЙНОСТЬ В ПОЛЕВЫХ УСЛОВИЯХ

¹Сорокань А.В., ¹Бурханова Г.Ф., ¹Алексеев В.Ю., ²Гордеев А.А., ³Марданшин И.С., ¹Максимов И.В.

¹Институт биохимии и генетики УФИЦ РАН, Россия, Уфа, 450054,

²Башкирский педагогический университет им. М. Акмуллы, Россия, Уфа, 450000

³Башкирский научно-исследовательский институт сельского хозяйства УФИЦ РАН, Россия, Уфа, 450059,

Резюме

Bacillus thuringiensis - наиболее распространенные агенты биологического контроля численности насекомых-вредителей. Некоторые штаммы *B. thuringiensis* способны к эндофитному существованию, однако механизмы их взаимодействия с растениями и роль в этом фитогормонов, например, салициловой кислоты, которая играет ключевую роль в развитии иммунных реакций растений против патогенных микроорганизмов, не исследованы. При обработке картофеля эндофитным штаммом *B. thuringiensis* B-5351 и салициловой кислотой наблюдалось увеличение количества живых клеток бактерий во внутренних тканях растений и выявлено более чем двукратное сокращение площади поражения фитофторозом на листьях, относительно контроля и действия *B. thuringiensis* B-5351 в отдельности. Увеличение устойчивости растений сопровождалось накоплением транскриптов гена AY089962, кодирующего ингибитор протеиназ и активацией его белкового продукта, более значительным, чем при индивидуальных обработках. В полевых условиях обработка *B. thuringiensis* B-5351 в отдельности не снижала пораженность растений листовыми пятнистостями, однако в сочетании с салициловой кислотой этот показатель снижался на 20-25% (2020-2021 гг.). В 2020 г совместная обработка растений приводила к увеличению в среднем на 20% общей урожайности относительно контрольных показателей, а так же выход товарных клубней фракции >80 г. В 2021 г к увеличению общей урожайности приводила обработка салициловой кислотой, но при совместной обработке с *B. thuringiensis* B-5351 увеличивалась масса крупных клубней.

Ключевые слова: *Bacillus thuringiensis*, салициловая кислота, картофель, фитофтороз, ингибитор протеиназ, урожайность.

Цитирование: Сорокань А.В., Бурханова Г.Ф., Алексеев В.Ю., Гордеев А.А., Марданшин И.С., Максимов И.В. Совместное влияние *Bacillus thuringiensis* B-5351 и салициловой кислоты на устойчивость растений картофеля к *Phytophthora infestans* и урожайность в полевых условиях // *Biomixs*. 2023. Т.15(1). С. 1-6. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2023-1

© Авторы

SIMULTANEOUS EFFECT OF *BACILLUS THURINGIENSIS* B-5351 AND SALICYLIC ACID ON THE RESISTANCE OF POTATO PLANTS TO *PHYTOPHTHORA INFESTANS* AND YIELD IN THE FIELD

¹Sorokan A.V., ¹Burkhanova G.F., ¹Alekseev V.Yu., ²Gordeev A.A., ³Mardanshin I.S., ¹Maksimov I.V.

¹Institute of Biochemistry and Genetics, UFRC RAS, Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia

²Bashkir Pedagogical University named after M. Akmulla, Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia

³Bashkir Scientific Research Institute of Agriculture, UFRC RAS, Ufa, Republic of Bashkortostan, Russia

Resume

Bacillus thuringiensis are the most common biological insect pest control agents. Some strains of *B. thuringiensis* are capable of endophytic existence, but the mechanisms of their interaction with plants and the role of phytohormones in this, for example, salicylic acid, which plays a key role in the development of plant immune responses against pathogenic microorganisms, have not been studied. When potato plants were treated with the endophytic strain *B. thuringiensis* B-5351 and salicylic acid simultaneously, an increase in the number of living bacterial cells in the internal tissues and a more than two-fold reduction in the area affected by late blight on the leaves was observed, relative to the control and action of *B. thuringiensis* B-5351 separately. The increase in plant resistance was accompanied by the accumulation of transcripts of the gene *AY089962* encoding the proteinase inhibitor and the activation of its protein product, which was more significant than after individual treatments. Under the field conditions (2020-2021), the treatment of plots with *B. thuringiensis* B-5351 alone did not reduce the degree of leaf spots infestation, however, in combination with salicylic acid, this indicator decreased by 20-25%. In 2020, the joint treatment of plants led to an increase in the total yield by an average of 20% relative to the control plots, as well as the yield of marketable tubers of the >80 g fraction. In 2021, only the treatment with salicylic acid led to an increase of total yield, but when combined with *B. thuringiensis* B-5351, the mass of large tubers increased.

Keywords: *Bacillus thuringiensis*, salicylic acid, potato, late blight, proteinase inhibitor, yield

Citation: Sorokan A.V., Burkhanova G.F., Alekseev V.Yu., Gordeev A.A., Mardanshin I.S., Maksimov I.V. Simultaneous effect of *Bacillus thuringiensis* B-5351 and salicylic acid on the resistance of potato plants to *Phytophthora infestans* and yield in the field. *Biomics*. 2023. V.15(1). P. 1-6. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2023-1 (In Russian)

© Authors

Введение

Необходимость разработки средств защиты растений от патогенов и вредителей, альтернативных экологически небезопасным химическим пестицидам, очевидна. Так, спорообразующие бактерии *Bacillus thuringiensis* (Berliner), продуцирующие инсектотоксичные белки, это наиболее распространенные агенты биологического контроля численности насекомых-вредителей [Tao et al., 2014]. Однако, в отличие от химических соединений, бактериальные культуры, как всякие живые организмы, при введении в агроэкосистемы приходят во взаимодействие как с вредителями, так и с растениями-хозяевами, становясь частью микробиома растений. [Kumar et al., 2021].

Настоящую революцию в исследовании растительно-микробных взаимодействий произвело открытие эндофитов – непатогенных грибов и бактерий, колонизирующих внутренние ткани растений. В работе [Tao et al., 2014] показано, что эндофитные штаммы бактерий *B. thuringiensis* 58-2-1, 37-1 и YC-1, выделенные из листьев пшеницы, подавляют развитие флаговой головки (*Urocystis agropyri*). Методом электронной сканирующей микроскопии исследователи [Praca et al., 2012] показали наличие вегетативных клеток, спор и кристаллов четырех бразильских штаммов бактерий *B. thuringiensis* в проростках капусты как вблизи устьиц,

через которые бактерии могут проникать в ткани, так и в сосудах ксилемы. Ключевую роль во взаимодействии растений с микроорганизмами окружающей среды, регуляции эндофитной колонизации и разнообразия эндофитных бактерий в популяции играют фитогормоны, такие как салициловая (СК) и жасмоновая кислоты [Bagautdinova et al., 2022].

Интересно, что устойчивость растений томата к *Ralstonias olanacearum*, которая наблюдалась под действием *B. thuringiensis*, в основе имела салицилат-зависимые механизмы [Takahashi et al., 2014]. Ранее мы наблюдали увеличение транскрипционной активности СК-зависимого гена PR1 в растениях картофеля под действием *B. thuringiensis* B-5351 после инфицирования возбудителем фитофтороза [Sorokan et al., 2020]. Одним из ключевых факторов защитных реакций растений на воздействие патогенов является образование ингибиторов, подавляющих активность гидролитических ферментов микроорганизмов, например, продуцируемых возбудителем фитофтороза оомицетом *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary трипсиноподобных экзопротеиназ [Kudriavtseva et al., 2013].

Цель данной работы – исследование влияния СК и *B. thuringiensis* B-5153 на активность ингибитора трипсина картофеля при инфицировании

возбудителем фитофтороза оомицетом *P. infestans*, а так же полевую устойчивость к фитопатогенам и урожайность картофеля.

Материалы и методы

Был использован штамм *B. thuringiensis* В-5351, пробирочные растения картофеля сорта Ранняя Роза, штамм *Phytophthora infestans* ИСМ из коллекции ИБГ УФИЦ РАН. Растения картофеля обрабатывали 1 мМ раствором СК, суспензией клеток *B. thuringiensis* В-5351 (10^8 клеток/мл) в дистиллированной воде, либо в 1 мМ растворе СК путем нанесения по 5 мкл суспензии на 4 верхних листа (20 мкл/растение).

Об эндофитных свойствах судили по числу КОЕ бактерий на г сырой массы растений через 7 дней после обработки [Sorokan et al., 2020], в тот же срок производили инфицирование растений суспензией ооспор возбудителя фитофтороза (10^5 спор/мл, 20 мкл/растение). Транскрипционную активность гена ингибитора трипсина AY089962 исследовали при помощи Real-Time ПЦР, активность его белкового продукта изучали с использованием субстрата БАПНА [Raju et al., 2009] через 24 часа после инфицирования. В качестве контроля использовали неповрежденные растения, обработанные водой. Измерения проводили в трех биологических повторностях, в двух независимых экспериментах.

Полевые исследования проводились на полях Уфимского федерального научного центра РАН (опытная станция пгт Чишмы, 55 54°34'46.1"N 55°25'37.0"E) в посевных сезонах 2020 и 2021 гг. Клубни картофеля сорта Удача высаживали в трех повторностях по 40 растений на делянку для каждого варианта. Планируемая густота стояния растений 45 000 шт./га. Использовалась сажалка Grimme GL 34T (ГРИММЕ-Рус, Россия). Растения были обработаны на стадии всходов бактериальными суспензиями (106 клеток/мл) *B. thuringiensis* В-5351, а так же салициловой кислотой (1 мг/л) и смесью СК и бактерий в приведенных концентрациях путем опрыскивания бытовым опрыскивателем «Жук». В контрольном варианте растения опрыскивали водой.

Клубни картофеля собирали со всех 40 растений на делянке. В день сбора урожая учитывались масса товарных клубней (> 80 г) и общая масса клубней для расчета урожайности. Для статистической обработки использовали Статистика 2.0 (Россия), о значимости различий судили по t-тесту Тьюки.

Результаты и обсуждение

На 7-е сут после инокуляции стерильных пробирочных растений картофеля суспензией клеток *B. thuringiensis* В-5351 в растительных тканях присутствовало до $7,3 \pm 1,6$ КОЕ $\times 10^5$ /г сырой массы

бактериальных клеток (Рис. 1А). В этих же условиях, при совместной обработке суспензией бактерий *B. thuringiensis* В-5351 и СК их количество значительно возросло ($23,4 \pm 1,5$ КОЕ $\times 10^5$ /г сырой массы). На листьях контрольных растений и растений, обработанных суспензией клеток штамма *B. thuringiensis* В-5351, развитие симптомов фитофтороза происходило наиболее активно (Рис. 1В). СК при индивидуальном применении снизила интенсивность проявления симптомов на 40%. Важно, что обработка растений суспензией бактерий *B. thuringiensis* В-5351, использованной совместно с СК, сократила площадь распространения симптомов фитофтороза на листьях растений в наибольшей степени. Инфицирование обработанных водой растений вызвало снижение активности ингибиторов трипсина, но под воздействием *B. thuringiensis* В-5351 активность ингибитора трипсина сохранялась на уровне контроля, а под действием СК и *B. thuringiensis* В-5351 + СК происходило увеличение его активности через 24 ч, почти двукратное в последнем случае (Рис. 1С).

Анализ транскрипции гена AY089962, кодирующего ингибиторы трипсина, показал, что в неинфицированных растениях, обработанных водой, СК и *B. thuringiensis* В-5351 в отдельности, значительных изменений в накоплении транскриптов этого гена не наблюдалось (Рис. 1D). В варианте с совместной обработкой СК и бактериями *B. thuringiensis* В-5351 этот показатель трехкратно превышал контрольный. Инфицирование растений, обработанных СК как в отдельности, так и совместно с *B. thuringiensis* В-5351, вызывало активацию его транскрипции, особенно выраженную в последнем варианте.

По-видимому, такой регулируемый растениями титр бактериальных клеток в тканях является важным фактором формирования их устойчивости. Подобное совместное высокое защитное действие СК и бактерий *B. subtilis* ранее обнаружено, например, на растениях огурца, подвергнутых инфицированию возбудителем фузариоза [Yousefi et al., 2011]. Одним из основных факторов агрессивности патогенов являются продуцируемые ими гидролитические ферменты, разрушающие клеточные стенки растений и обеспечивающие внедрение гриба в ткани. Цистеиновые протеазы PpCys44 и PpCys45 называют важными факторами вирулентности *P. parasitica* и запускают NPK1-зависимую гибель клеток у различных видов *Nicotiana* spp., что в данной патосистеме приводит к распространению инфекции [Zhang et al., 2020]. Ответная защитная реакция растений сопровождается синтезом ингибиторов этих ферментов.

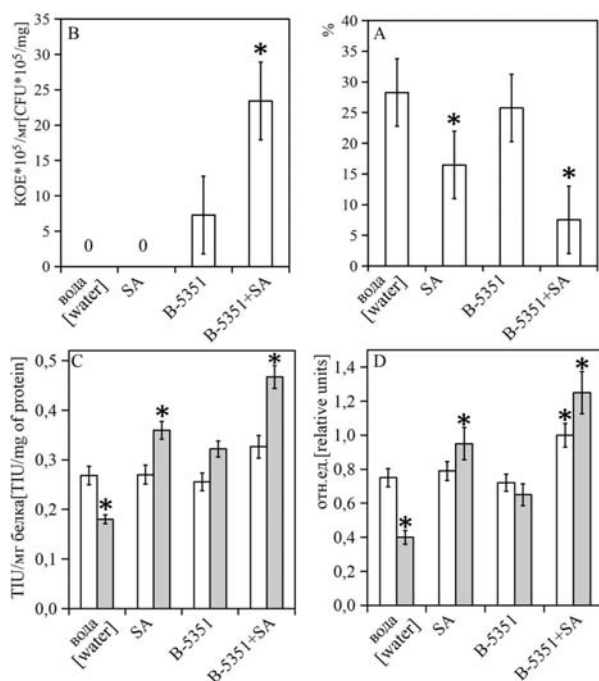


Рис. 1. Влияние салициловой кислоты (SA) и *B. thuringiensis* B-5351 на содержание эндофитных клеток бактерий (A), процент пораженной площади листьев, искусственно инфицированных *P. infestans* (B), активность ингибитора протеиназ (C) и транскрипционная активность гена ингибитора протеиназ (D) в растениях картофеля через 6 часов после инфицирования патогеном.
*статистически значимые отличия от контрольного варианта (обработка водой) при $p \leq 0,05$.

Fig. 1. Influence of salicylic acid (SA) and *B. thuringiensis* B-5351 on the content of bacterial endophytic cells (A), the percentage of affected area of leaves artificially infected with *P. infestans* (B), proteinase inhibitor activity (C), and transcriptional activity of the proteinase inhibitor gene (D) in potato plants 6 hours after pathogen infection.
*statistically significant differences from the control variant (treatment with water) at $p \leq 0.05$.

Увеличение активности ингибиторов трипсина и появление их новых изоформ наблюдали в корнях и побегах устойчивого к *F. oxysporum* сорта нута, обработанных СК, что так же увеличивало способность корневых экстрактов обработанных СК растений ингибировать рост *F. oxysporum in vitro* [Raju et al., 2009] Снижение интенсивности проявления симптомов фитофтороза на листьях растений картофеля, обработанных СК и бактериальным штаммом, в которых было обнаружено увеличение содержания транскриптов гена *AY089962* и активности его белкового продукта, говорит о важности ингибиторов протеиназ в защите картофеля от фитофтороза.

Было исследовано распространение и интенсивность проявления симптомов листовых пятнистостей картофеля, которые могут быть вызваны комплексом возбудителей, таких как *Alternaria* sp., *Fusarium* sp, *P. infestans* и различные вирусные заболевания. Для обработанных водой растений было характерно более чем 80% поражение листы в двухлетнем эксперименте (Таблица 1).

Таблица 1.

Влияние салициловой кислоты (SA) и *B. thuringiensis* B-5351 на пораженность картофеля листовыми пятнистостями и показатели урожайности в полевых условиях

Table 1 - Effects of salicylic acid (SA) and *B. thuringiensis* B-5351 on potato leaf blotch performance and yield in the field

Показатель [Parameter]	Год [Year]	Вода [Water]	SA	B-5351	B-5351+SA
Пораженность, % /куст [damaged leaves/plant, %]	2020	89,6±13,76	40,7±10,47	55,6±11,85	35,3±7,47
	2021	83,4±9,34	60,4±8,95	63,3±5,67	53,0±12,67
Урожайность, ц/га [Total yield, 100 kg/ha]	2020	146,4±8,22	161,9±7,61	174,6±8,47	170,3±14,8
	2021	25,4±4,77	44,84±3,12	34,8±5,08	38,9±9,54
Клубни >80 г, г/куст [Tubers >80 g, g/plant]	2020	201,0±5,96	229,63±7,93	249,5±16,64	256,53±34,07
	2021	11,5±3,26	15,9±3,46	14,72±6,36	25,5±9,49

В 2020 г. обработка *B. thuringiensis* B-5351 снизила пораженность растений на треть, а СК в отдельности и в сочетании с бактериальным штаммом - в два раза относительно обработанных водой делянок. Однако в 2021 году СК и *B. thuringiensis*

B-5351 в отдельности снизили этот показатель менее чем на 30%, а в сочетании - менее чем на 40%. Таким образом, совместная обработка картофеля *B. thuringiensis* B-5351 и СК увеличивала

устойчивость растений к патогенам в лабораторных и полевых условиях.

Показано, что в 2020 г. обработка растений бактериальной суспензией, а так же бактериями и СК приводила к увеличению общей урожайности и выхода товарных клубней фракции >80 г. Сезон 2021 г. характеризовался крайне неблагоприятными погодными условиями для роста картофеля, что привело к крупному падению продуктивности растений по сравнению с 2020 г. Показано, что обработка растений *B. thuringiensis* В-5351 как в отдельности, так и в сочетании с СК не приводила к статистически значимому увеличению общей урожайности, но в последнем случае наблюдалось увеличение массы товарных клубней с одного куста. Увеличение урожайности на делянках, обработанных СК, определялось увеличением массы клубней менее 80 г в структуре урожая.

Принимая во внимание инсектицидную активность исследуемого штамма против колорадского жука *Leptinotarsa decemlineata* [Sorokan et al., 2020], а так же эффективность применения СК против вирусных заболеваний растений [Bagautdinova et al., 2022], возможность увеличения устойчивости растений путем совместной обработки бактериями *B. thuringiensis* В-5351 с СК может открыть один из подходов в комплексной защите растений от биотических воздействий.

Работа выполнена в рамках проекта РНФ «Физиологические основы формирования симбиотических взаимоотношений растений картофеля с эндофитными бактериями рода *Bacillus*» № 20-76-00003.

Литература

1. Bagautdinova Z.Z., Omelyanchuk N., Tyapkin A.V., Kovrizhnykh V.V., Lavrekha V.V., Zemlyanskaya E.V. Salicylic acid in root growth and development // *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. V. 23(4). P. 2228-2237. doi: 10.3390/ijms23042228
2. Kudriavtseva N.N., Sofin A.V., Revina T.A., Gvozdeva E.L., Ievleva E.V., Valueva T.A. Secretion of proteolytic enzymes by three phytopathogenic microorganisms // *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2013. V. 49 (5). P. 513–521. doi: 10.1134/S0003683813050074
3. Kumar, P., Kamle, M., Borah, R. *Bacillus thuringiensis* as microbial biopesticide: uses and application for sustainable agriculture // *Egyptian Journal of Biological Pest Control*. 2021. V. 31. P. 95-102. doi: 10.1186/s41938-021-00440-3
4. Praca L.B., Gomes A.C.M.M., Cabral G., Martins E.S., Sujii E.H., Monnerat R.G. Endophytic colonization by brazilian strains of *Bacillus thuringiensis* on cabbage

seedlings grown *in vitro* // *Bt Research*. 2012. V. 3. P. 11–19. doi: 10.5376/BT.2012.03.0003

5. Raju S., Jayalakshmi S.K., Sreeramulu K. Differential elicitation of proteases and protease inhibitors in two different genotypes of chickpea (*Cicer arietinum*) by salicylic acid and spermine // *J Plant Physiology*. 2009. V. 166(10). P. 1015-1022. doi: 10.1016/j.jplph.2008.12.005

6. Sorokan A.V., Benkovskaya G.V., Burkhanova G.F., Blagova D.K., Maksimov I.V. Endophytic strain *Bacillus subtilis* 26DCryChS producing CryIIa toxin from *Bacillus thuringiensis* promotes multifaceted potato defense against *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary and pest *Leptinotarsa decemlineata* Say // *Plants*. 2020. V. 9. P. 1115–1123. doi: 10.3390/plants9091115

7. Takahashi H, Nakaho K, Ishihara T, Ando S, Wada T, Kanayama Y, Asano S, Yoshida S, Tsushima S, Hyakumachi M. Transcriptional profile of tomato roots exhibiting *Bacillus thuringiensis*-induced resistance to *Ralstonia solanacearum* // *Plant Cell Reports*. 2014. V.33(1). P.99–110. doi: 10.1007/s00299-013-1515-1

8. Tao A., Panga F., Huang S., Yu G., Li B., Wang T. Characterization of endophytic *Bacillus thuringiensis* strains isolated from wheat plants as biocontrol agents against wheat flag smut // *Biocontrol Science and Technology*. 2014. V. 24(8). P. 901–924. doi: 10.1080/09583157.2014.904502

9. Yousefi H., Sanebani N., Mirabolfathy M. The effect of salicylic acid and *Bacillus subtilis* on cucumber root and stem rot, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *Radices cucumerinum* // *Iranian Journal of Plant Pathology*. 2011. V.46(4). P.293-308. Available at: <https://www.sid.ir/en/journal/ViewPaper.aspx?id=216346> (accessed 24.10.2022)

10. Zhang Q, Li W, Yang J, Xu J, Meng Y, Shan W. Two *Phytophthora parasitica* cysteine protease genes, PpCys44 and PpCys45, trigger cell death in various *Nicotiana* spp. and act as virulence factors // *Molecular Plant Pathology*. 2020. V.21(4). P.541–554. doi: 10.1111/mpp.12915

References

1. Bagautdinova Z.Z., Omelyanchuk N., Tyapkin A.V., Kovrizhnykh V.V., Lavrekha V.V., Zemlyanskaya E.V. Salicylic acid in root growth and development. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. V. 23(4). P. 2228-2237. doi: 10.3390/ijms23042228
2. Kudriavtseva N.N., Sofin A.V., Revina T.A., Gvozdeva E.L., Ievleva E.V., Valueva T.A. Secretion of proteolytic enzymes by three phytopathogenic microorganisms. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2013. V. 49(5). P. 513–521. doi: 10.1134/S0003683813050074
3. Kumar, P., Kamle, M., Borah, R. *Bacillus thuringiensis* as microbial biopesticide: uses and application for sustainable agriculture. *Egyptian Journal of Biological*

- Pest Control*. 2021. V. 31. P. 95-102. doi:10.1186/s41938-021-00440-3
4. Praca L.B., Gomes A.C.M.M., Cabral G., Martins E.S., Sujii E.H., Monnerat R.G. Entophytic colonization by brazilian strains of *Bacillus thuringiensis* on cabbage seedlings grown *in vitro*. *Bt Research*. 2012. V.3. P. 11–19. doi: 10.5376/BT.2012.03.0003
5. Raju S., Jayalakshmi S.K., Sreeramulu K. Differential elicitation of proteases and protease inhibitors in two different genotypes of chickpea (*Cicer arietinum*) by salicylic acid and spermine. *J Plant Physiology*. 2009. V. 166(10). P. 1015-1022. doi: 10.1016/j.jplph.2008.12.005
6. Sorokan A.V., Benkovskaya G.V., Burkhanova G.F., Blagova D.K., Maksimov I.V. Endophytic strain *Bacillus subtilis* 26DCryChS producing CryIIa toxin from *Bacillus thuringiensis* promotes multifaceted potato defense against *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary and pest *Leptinotarsa decemlineata* Say. *Plants*. 2020. V. 9. P. 1115–1123. doi: 10.3390/plants9091115
7. Takahashi H, Nakaho K, Ishihara T, Ando S, Wada T, Kanayama Y, Asano S, Yoshida S, Tsushima S, Hyakumachi M. Transcriptional profile of tomato roots exhibiting *Bacillus thuringiensis*-induced resistance to *Ralstonia solanacearum*. *Plant Cell Reports*. 2014. V. 33(1). P. 99–110. doi: 10.1007/s00299-013-1515-1
8. Tao A., Panga F., Huang S., Yu G., Li B., Wang T. Characterization of endophytic *Bacillus thuringiensis* strains isolated from wheat plants as biocontrol agents against wheat flag smut. *Biocontrol Science and Technology*. 2014. V. 24(8). P. 901–924. doi: 10.1080/09583157.2014.904502
9. Yousefi H., Sanebani N., Mirabolfathy M. The effect of salicylic acid and *Bacillus subtilis* on cucumber root and stem rot, caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *Radices cucumerinum*. *Iranian Journal of Plant Pathology*. 2011. V.46(4). P.293-308. Available at: <https://www.sid.ir/en/journal/ViewPaper.aspx?id=216346> (accessed 24.10.2022)
10. Zhang Q, Li W, Yang J, Xu J, Meng Y, Shan W. Two *Phytophthora parasitica* cysteine protease genes, PpCys44 and PpCys45, trigger cell death in various *Nicotiana* spp. and act as virulence factors. *Molecular Plant Pathology*. 2020. V. 21 (4). P. 541–554. doi: 10.1111/mpp.12915