



**РОЛЬ ГЕНОВ *RDR*, *AGO*, *DCL* СИСТЕМЫ РНК-ИНТЕРФЕРЕНЦИИ В ФОРМИРОВАНИИ ЗАЩИТНОГО ОТВЕТА РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ К ОБЫКНОВЕННОЙ ЧЕРЕМУХОВОЙ ТЛЕ *RHOPALOSIPHUM PADI* L.**

Румянцев С.Д., Алексеев В.Ю., Веселова С.В., Максимов И.В.

Институт биохимии и генетики - обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного научного учреждения Уфимского Федерального исследовательского центра РАН, Уфа, Россия, e-mail: [rumyantsev-serg@mail.ru](mailto:rumyantsev-serg@mail.ru)

**Резюме**

Механизм РНК-интерференции (РНКи) и малые РНК в настоящее время интенсивно изучаются и рассматриваются как важные регуляторы перепрограммирования экспрессии генов в иммунных реакциях растений и вирулентности патогена или вредителя. При этом проблемой является нехватка знаний о механизмах работы РНКи в клетках насекомых и растений при их взаимодействии. В данной работе была изучена обыкновенная черемуховая тля *Rhopalosiphum padi* L., которая распространена повсеместно и является олигофагом. Проведенные тесты на антибиоз и выносливость показали, что образцы ряда видов пшениц разного уровня ploidyности *T. monococtum* к-39471 и *T. timopheevii* к-58666, из коллекции ГРП ВИР и сорт мягкой яровой пшеницы Жница были устойчивыми к *R.padi*. Сорта Омская35 и Салават Юлаев проявили сильную и среднюю восприимчивость по отношению к *R.padi*, соответственно. Гены системы РНКи были активированы гораздо сильнее у восприимчивых генотипов, чем у устойчивых образцов. Транскрипционный анализ генов ферментов системы РНКи и генов транскрипционных факторов (ТФ) показал, что *AGO4* и *DCL2* предположительно могут иметь решающее значение в регуляции защитного ответа на заселение *R.padi* посредством влияния на ТФ салицилатного и этиленового сигнальных путей.

**Ключевые слова:** РНК-интерференция, *AGO4*, *DCL2*, *Rhopalosiphum padi* L., транскрипционные факторы, гормональные сигнальные пути.

**Цитирование:** Румянцев С.Д., Алексеев В.Ю., Веселова С.В., Максимов И.В. Роль генов *RDR*, *AGO*, *DCL* системы РНК-интерференции в формировании защитного ответа растений пшеницы к обыкновенной черемуховой тле *Rhopalosiphum padi* L. // *Biomics*. 2022. Т.14(3). С. 220-226. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2022-16

© Авторы

**ROLE OF *RDR*, *AGO*, *DCL* GENES OF THE RNA INTERFERENCE SYSTEM IN FORMATION OF WHEAT PLANTS DEFENSE RESPONSE AGAINST THE BIRD CHERRY-OAT APHID *RHOPALOSIPHUM PADI* L.**

Rumyantsev S.D., Alekseev V.Yu., Veselova S.V., Maksimov I.V.

Institute of Biochemistry and Genetics of Ufa Federal Research Centre RAS, Ufa, Russian Federation, E-mail: [rumyantsev-serg@mail.ru](mailto:rumyantsev-serg@mail.ru)

**Resume**

The mechanism of RNA interference (RNAi) and small RNAs are currently being intensively studied and considered as important regulators of gene expression reprogramming in plant immune responses and

pathogen or pest virulence. At the same time, the problem is the lack of knowledge about the mechanisms of RNAi functioning in insect and plant cells during their interaction. In this work, we studied the bird cherry aphid *Rhopalosiphum padi* L., which is ubiquitous and is an oligophage. Check of antibiosis and endurance showed that samples of some species wheat with different levels of ploidy *T. monococcum* k-39471 and *T. timopheevii* k-58666 from the Vavilov wheat collection and soft spring wheat variety Zhnitsa were resistant against *R. padi*. Cultivars Omskaya35 and Salavat Yulaev showed strong and moderate susceptibility against *R. padi*, respectively. The genes of the RNAi system were upregulated much more in susceptible genotypes than in resistant samples. Transcriptional analysis of the RNAi system enzyme genes and transcription factor (TF) genes showed that *AGO4* and *DCL2* presumably may be of decisive importance in the regulation of the protective response against *R. padi* colonization through the influence on TF of the salicylate and ethylene signaling pathways.

**Keywords:** RNA interference, *AGO4*, *DCL2*, *Rhopalosiphum padi* L., transcription factors, hormonal signaling pathways.

**Citation:** Rumyantsev S.D., Alekseev V.Yu., Veselova S.V., Maksimov I.V. Role of *RDR*, *AGO*, *DCL* genes of the RNA interference system in formation of wheat plants defense response against the bird cherry-oat aphid *Rhopalosiphum padi* L. *Biomics*. 2022. Т.14(3). С. 220-226. DOI: 10.31301/2221-6197.bmcs.2022-16 (In Russian)

© Authors

### Введение

В ответ на длительное инфекционное давление со стороны патогенов и вредителей у растений развилась сложная врожденная иммунная система, которая включает в себя внутриклеточные и ассоциированные с плазматической мембраной рецепторные белки для распознавания молекулярных структур патогенов и вредителей, консервативные сигнальные каскады и перепрограммирование экспрессии генов [Jones, Dangl, 2006]. В последнее время механизм РНК-интерференции (РНКи или РНК сайленсинг) и малые РНК стали рассматривать как важные регуляторы перепрограммирования экспрессии генов в иммунных реакциях растений, вирулентности патогена или вредителя и коммуникации в растительно-микробных взаимодействиях [Huangetal., 2019]. Механизм РНКи это регуляция экспрессии генов на основе специфического узнавания и деградации целевых РНК (вирусных, информационных, транспозонных) и/или ингибирования их трансляции или репликации.

Механизм сайленсинга РНК начинается с производства малых РНК (small RNAs - sRNAs) длиной от 20 до 26 нуклеотидов с помощью ряда ключевых компонентов, таких как Dicer-подобные белки (Dicer-like- DCL), белки Argonaute (AGO) и РНК-зависимые РНК полимеразы (RNA-dependent RNA polymerases - RdR) [Huang et al., 2019]. Одноцепочечная мРНК превращается в дцРНК при участии RdR. Белки DCL разрезают дцРНК на малые РНК, затем малые РНК загружаются в комплекс RISC (RNA-induced silencing complex – РНК -индуцируемый сайленсинговый комплекс), который содержит белки AGO [Huang et al., 2019]. По происхождению и

формированию эти малые РНК делятся на малые интерферирующие РНК (siРНК) и микроРНК (миРНК). Белки AGO связывают малые РНК и взаимодействуют с гомологичными РНК, что влияет на метилирование ДНК, эндонуклеазную активность или репрессию трансляции мРНК [Huang et al., 2019].

Значительный ущерб посевам пшеницы среди насекомых-вредителей наносят злаковые тли, такие вредоносные виды как обыкновенная злаковая тля (*Schizaphis graminum* Rond.), обыкновенная черемуховая тля (*Rhopalosiphum padi* L.), ячменная (русская пшеничная) тля (*Diuraphis noxia* Kurdjumov) и большая злаковая тля (*Sitobion avenae* F.), относящиеся к отряду Hemiptera [Radchenko et al., 2022]. Взаимодействие тлей с растениями подчиняется отношениям ген-на-ген, т.е. каждому гену устойчивости хозяина соответствует специфичный ген вирулентности паразита [Radchenko et al., 2022]. Так известно 14 генов (*Gb*) принимающих участие в устойчивости растений пшеницы к обыкновенной злаковой тле *S. graminum*, к ячменной (русской пшеничной) тле *D. noxia* в настоящее время известно 11 генов (*Dn*), а гены устойчивости пшеницы к *R. padi* до сих пор не идентифицированы [Crespo-Herrera, 2012; Radchenko et al., 2022].

Механизм РНК-интерференции в защите растений от насекомых-вредителей интенсивно изучается последние десять лет. Однако большинство работ в этой области посвящено функциональному анализу генов-кандидатов насекомых, сайленсинг которых приводит вредителя к гибели, а механизм РНКи используется как технология для контроля численности насекомых. При этом проблемой является нехватка знаний о механизмах работы РНКи

в клетках насекомых и растений при их взаимодействии.

Более изученными объектами в этом отношении, на данный момент, в отряде Hemiptera являются вредители широкого профиля персиковая тля *Myzus persicae* и белокрылка *Bemisia tabaci* [Sibisi, Venter, 2020]. Практически нет работ по изучению механизма РНК-интерференции у злаковых тлей. На сегодняшний день проведено только несколько исследований посвященных изучению роли малых РНК и белков AGO у пшеницы, зараженной *D. noxia* [Nicolis et al., 2017; Sibisi, Venter, 2020].

В связи с этим, целью данной работы было изучение экспрессии генов, кодирующих ферменты системы РНК-интерференции *RdR*, *AGO*, *DCL* и генов, кодирующих транскрипционные факторы (ТФ) гормональных сигнальных путей у устойчивых и восприимчивых генотипов пшениц представителей рода *Triticum* L. при формировании защитного ответа к черемуховой тле *Rhopalosiphum padi* L.

#### Материалы и методы

**Объекты исследования.** Обыкновенную черемуховую тлю (*Rhopalosiphum padi*) для экспериментов размножали на молодых проростках мягкой яровой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) сорта Салават Юлаев, выращенных в изолированных сосудах с прожаренной при 180°C почвой в контролируемых лабораторных условиях на светоплощадках с 16-ти часовым световым периодом при температуре 20/24°C (ночь/день), интенсивность света 146 Вт/м<sup>2</sup> (лампы Osram L 36W/77). В экспериментах использовали три сорта мягкой яровой гексаплоидной пшеницы *T. aestivum* – Жница, Омская35 (Ом35) и Салават Юлаев (СЮ), а также один образец диплоидной пшеницы *T. monoccoccum* L. к-39471 и один образец тетраплоидной пшеницы *T. timopheevii* Zhuk. к-58666, из коллекции генетических ресурсов растений Всероссийского института генетических ресурсов растений им. Н.И. Вавилова (коллекции ГРР ВИР) (Санкт-Петербург).

Эксперименты с растениями проводили на проростках пшеницы, которые выращивали в изолированных пластиковых сосудах на водной культуре (10% раствор Хогланда-Арнона). Проростки заселяли тлями в возрасте трех суток. Плодовитость тлей подсчитывали через 14 дней после заселения насекомыми трехсуточных всходов пшеницы. Для этого выращивали по 5 растений одного экспериментального варианта в отдельных сосудах объемом 500 мл в 100 мл 10%-ного раствора Хогланда-Арнона на пластиковом плотике, обернутом стерильной фильтровальной бумагой. На 3-х суточные всходы под изоляторы подсаживали личинок первого возраста из расчета 1 особь на растение [Rumyantsev et

al., 2019]. Тест на выносливость растений проводили путем измерения длины проростков (первого и второго листа) от уровня плотика до кончика листа в возрасте 3-х суток до заселения тлей, затем каждое растение заселяли 20-ю бескрылыми самками и изолировали. Постоянную численность тлей поддерживали путем удаления через каждые 48 ч отрождающихся личинок в течение 14 дней. В конце эксперимента проводили повторное измерение высоты первого и второго листьев растений, незаселенных и заселенных тлями, и результаты сравнивали с первоначальным измерением. Выносливость выражали в виде % прироста листа по сравнению с незараженным контролем [Румянцев и др., 2018].

Выделение РНК из контрольных и опытных листьев пшеницы, зафиксированных в жидком азоте, через 24 и 72 часа после заселения обыкновенной черемуховой тлей (*R. padi*), проводили с использованием реагента «Trizol» согласно протоколу фирмы-поставщика (Sigma, Германия). Анализ экспрессии генов, кодирующих ферменты системы РНК-интерференции и транскрипционные факторы (ТФ) проводили методом количественной ПЦР в режиме реального времени на приборе iCycler iQ5 Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad, США) с использованием интеркалирующего красителя SYBR Green I (Синтол, Россия). ПЦР в реальном времени проводили с использованием праймеров для генов, кодирующих следующие ферменты РНКи: *TaAGO1* (JQ805149.1), *TaAGO2* (KY794780), *TaAGO4* (JQ805150.1), *RdR1* (AJ011978), *DCL2* (KY794782.1), *DCL4* (KY794783.1), а также ТФ: ТФ салицилатного сигнального пути *TaWRKY13* (EF397614) и *TaWRKY45* (EF397613); ТФ *TaWRKY53b* (EF368364), который положительно регулирует этиленовый сигнальный путь; ТФ этиленового сигнального пути EIN3-LIKE1 (ETHYLENEINSENSITIVE3-LIKE1 – *TaEIN3* (KU030837) и транскрипционный фактор первичного ответа на этилен ERF1 (ETHYLENERESPONSEFACTOR1 – *TaERF1*, EF583940), кроме того ERF1 отвечает за интеграцию сигнальных путей этилена и ЖК; ТФ *TaMYC2* (AY625684), который отвечает за активацию MYC-ветви сигнального пути ЖК, индуцирующуюся поранением и при атаке насекомым. Все праймеры были разработаны с помощью онлайн ресурса IDT PrimerQuest (<http://eu.idtdna.com/PrimerQuest/Home>).

**Статическая обработка.** Все эксперименты повторяли 3 раза и проводили в 3 биологических и 3 аналитических повторностях (общее n = 9), кроме тестов на плодовитость тли, а также выносливость растений, где эксперименты включали в себя не менее 10 биологических повторов (общее n = 30). В таблицах приведены средние арифметические

значения и их доверительные интервалы, рассчитанные по стандартным ошибкам.

### Результаты и обсуждение

Генофонд *T.aestivum* L. относительно беден устойчивыми формами, поэтому возникает необходимость изучать виды пшеницы различной плоидности. Показано, что *T. monococtum* и *T. timopheevii* обладают комплексной устойчивостью к целому ряду вредителей и болезней [Rumyantsev et al., 2019; Radchenko et al., 2022]. Нами ранее было установлено, что образцы *T. monococtum* к-39471 и *T. timopheevii* к-58666 проявляли устойчивость по

отношению к обыкновенной злаковой тле *S. graminum* [Румянцев и др., 2018; Rumyantsev et al., 2019]. Тля плохо размножалась и не ингибировала рост листьев при кормлении на этих пшеницах [Румянцев и др., 2018]. Также ранее нами были проверены на устойчивость к *S. graminum* три сорта мягкой яровой пшеницы *T. aestivum* Жница, Омская35 (Ом35) и Салават Юлаев (СЮ) [Румянцев и др., 2018]. Сорт Ом35 показал устойчивость сходную с образцом *T. timopheevii* к-58666, а сорта Жница и СЮ проявили восприимчивость [Румянцев и др., 2018].

Таблица 1.

Плодовитость обыкновенной черемуховой тли и выносливость растений пшеницы отдельных представителей рода *Triticum* по отношению к *R. padi*.

Table 1 - The fecundity of the bird cherry-oat aphid and the endurance of wheat plants of individual representatives of the genus *Triticum* in relation to *R.padi*

Показатели Indicators	Вид пшеницы / Species of wheat				
	<i>T. timopheevii</i> к-58666	<i>T. monococtum</i> к-39471	<i>T. aestivum</i>		
			Жница / Zhnltsa	Ом35 / Om35	СЮ / SY
Прирост 1-ого листа, % / 1st leaf growth, %*	93.5± 4.5	108.9± 6.1	90.4± 5.1	77.4± 6.4	87.5 ±3.2
Прирост 2-ого листа, % / 2nd leaf growth, %	98.9± 4.3	101.3± 5.8	90.8± 4.9	69.9± 5.1	85.8± 3.3
Плодовитость, нимф на 1 растение / Fertility, nymphs per 1 plant	21.8± 1.9	22.6± 2.1	35.0± 2.8	51.8± 4.2	43.9 ±3.9

Примечание: \*Прирост 1-ого и 2-ого листьев, не заселенных тлей растений принят за 100%.

Note: \*Growth of the 1st and 2nd leaves of plants not colonized by aphids is taken as 100%.

В данной работе была изучена обыкновенная черемуховая тля *R.padi*, которая распространена повсеместно и является олигофагом. Наибольший ущерб *R.padi* приносит озимой и яровой пшенице, ячменю, ржи, овсу, кукурузе, сорго. Питается также на дикорастущих злаковых травах. Наши результаты показали, что лучше всего *R.padi* размножалась на сортах мягкой пшеницы *T.aestivum* (табл. 1). Причем сорт Ом35 проявил самую высокую восприимчивость, менее восприимчивым был сорт СЮ, а сорт Жница оказался средневосприимчивым и даже выносливым (табл. 1). Образцы полиплоидных видов пшениц *T. monococtum* к-39471 и *T. timopheevii* к-58666 проявляли устойчивость по отношению к *R.padi*, тля почти в два раза хуже размножалась на этих пшеницах, чем на сорте Ом35 (табл.1).

Оценку толерантности сортов обычно проводят с помощью теста на выносливость при сильном заселении растений насекомыми [Румянцев и др.,

2018]. В наших экспериментах установлена очень низкая выносливость сорта Ом35 по отношению к *R. padi*, проявлявшаяся в сильном ингибировании роста 1-ого и 2-ого листьев (табл. 1). Прирост 1-ого листа снижался на 22.6%, а 2-ого на 30.1% по сравнению с контрольными растениями (табл.1). У сорта СЮ выносливость была низкая, рост листьев снижался на 14.4%, а у сорта Жница выносливость была выше, чем у Ом35 и СЮ и ингибирование роста листьев было средним до 9.6% (табл.1). Образцы *T. timopheevii* к-58666 и *T. monococtum* к-39471 показали высокую выносливость к обыкновенной черемуховой тле (табл. 1). Наиболее толерантным оказался образец *T. monococtum* к-39471, так как заселение тлями не ингибировало рост 1-ого и 2-ого листьев (табл. 1).

Белки DCL и AGO являются наиболее важными компонентами механизма РНК-интерференции в защите растений, поскольку микро РНК генерируются DCL и функционируют через AGO, подавляя гены-мишени

[Huang et al., 2019]. Анализ экспрессии генов ферментов системы РНКи показал накопление транскриптов всех шести генов *RdR*, *AGO1*, *AGO2*, *AGO4*, *DCL2* и *DCL4* через 24 часа после заселения тлей у восприимчивого сорта Ом35 (табл. 2). Однако только у двух генов *AGO4* и *DCL2* обнаружено значительное повышение транскриптов в 30 раз и в 4 раза, соответственно (табл. 2). У средневосприимчивого сорта СЮ обнаружено повышение транскриптов генов *AGO1* и *AGO4* в 1.5 и 4 раза, соответственно, через 24 часа после заселения тлей (табл. 2). У устойчивых к *R.padi* генотипов пшениц *T. timopheevii* к-58666 и *T. monosocum* к-39471 и сорта

Жница не обнаружено значительного увеличения экспрессии изученных генов через 24 часа после заселения тлей (табл. 2). Через 72 часа после заселения тлей накопления транскриптов всех шести генов не обнаружено, как у самого восприимчивого сорта Ом35, так и у самого устойчивого образца *T. monosocum* к-39471 (табл. 2). Напротив, у устойчивых к *R.padi* пшениц *T. timopheevii* к-58666 и сорта Жница и средневосприимчивого сорта СЮ выявлено повышение уровня транскриптов гена *AGO4* в 7.7, 2.1 и 5 раз, соответственно, и гена *DCL2* в 1.3, 1.3 и 1.9 раз, соответственно (табл. 2).

Таблица 2.

Относительная экспрессия генов ферментов системы РНК-интерференции и транскрипционных факторов гормональных сигнальных путей у отдельных представителей рода *Triticum*, заселенных *R. padi*  
Table 2 - Relative expression genes of the RNA interference system enzymes and genes of transcription factors of hormonal signaling pathways in individual representatives of the genus *Triticum* colonized by *R. padi*

Показатели / Indicators		Вид пшеницы / Species of wheat				
Ген* / Gene	Время после заселения тлей, часы / Time after aphid colonization, hours	<i>T. timopheevii</i> к-58666	<i>T. monosocum</i> к-39471	<i>T. aestivum</i>		
				Жница / Zhnitsa	Ом35 / Om35	СЮ / SY
Гены ферментов системы РНК-интерференции / Genes of RNA interference system enzymes						
<i>RdR1</i>	24	0.8 ± 0.1	1.1 ± 0.1	1.0 ± 0.1	1.4 ± 0.2	0.9 ± 0.1
	72	1.3 ± 0.2	0.8 ± 0.1	0.9 ± 0.1	1.0 ± 0.1	1.2 ± 0.2
<i>AGO1</i>	24	0.6 ± 0.05	1.5 ± 0.4	0.6 ± 0.03	1.7 ± 0.8	1.0 ± 0.1
	72	0.9 ± 0.1	1.1 ± 0.2	1.1 ± 0.1	1.5 ± 0.1	1.5 ± 0.1
<i>AGO2</i>	24	1.0 ± 0.1	1.2 ± 0.1	1.0 ± 0.1	1.4 ± 0.2	1.2 ± 0.3
	72	0.7 ± 0.05	1.3 ± 0.2	0.9 ± 0.1	0.7 ± 0.05	1.6 ± 0.5
<i>AGO4</i>	24	0.2 ± 0.01	0.8 ± 0.1	0.1 ± 0.01	29.8 ± 3.1	3.9 ± 1.2
	72	7.7 ± 1.8	0.2 ± 0.01	2.1 ± 0.8	0.3 ± 0.02	5.0 ± 1.1
<i>DCL2</i>	24	0.8 ± 0.1	0.9 ± 0.1	0.4 ± 0.05	3.8 ± 1.8	1.1 ± 0.6
	72	1.3 ± 0.2	0.8 ± 0.1	1.3 ± 0.9	0.7 ± 0.05	1.9 ± 0.9
<i>DCL4</i>	24	0.8 ± 0.1	0.7 ± 0.05	0.5 ± 0.01	1.5 ± 0.6	0.9 ± 0.1
	72	0.9 ± 0.1	0.7 ± 0.05	0.9 ± 0.1	1.1 ± 0.1	0.9 ± 0.2
Гены ТФ салицилатного сигнального пути / Genes of TF of salicylate signaling pathway						
<i>WRKY13</i>	24	0.5 ± 0.03	0.1 ± 0.01	0.2 ± 0.01	3.3 ± 1.4	0.7 ± 0.05
	72	4.5 ± 1.2	0.1 ± 0.01	2.0 ± 0.9	0.9 ± 0.1	1.3 ± 0.8
<i>WRKY45</i>	24	0.2 ± 0.01	4.0 ± 1.5	1.7 ± 1.1	0.3 ± 0.01	0.7 ± 0.1
	72	0.6 ± 0.03	1.1 ± 0.1	1.7 ± 1.2	1.3 ± 0.9	0.8 ± 0.1
Гены ТФ жасмонатного сигнального пути / Genes of TF of jasmonate signaling pathway						
<i>ERF1</i>	24	0.7 ± 0.06	0.6 ± 0.03	0.5 ± 0.01	1.5 ± 0.5	1.6 ± 0.6
	72	1.3 ± 0.7	1.2 ± 0.4	1.2 ± 0.2	0.9 ± 0.1	1.3 ± 0.2
<i>MYC2</i>	24	0.8 ± 0.2	0.9 ± 0.1	0.8 ± 0.1	1.2 ± 0.5	1.5 ± 0.7
	72	1.0 ± 0.5	1.2 ± 0.3	0.7 ± 0.06	1.2 ± 0.3	0.9 ± 0.3
Гены ТФ этиленового сигнального пути / Genes of TF of ethylene signaling pathway						
<i>WRKY53b</i>	24	0.2 ± 0.01	0.4 ± 0.02	1.7 ± 0.8	0.9 ± 0.3	0.9 ± 0.2
	72	0.6 ± 0.1	0.2 ± 0.01	0.6 ± 0.1	1.2 ± 0.5	0.7 ± 0.05
<i>EIN3</i>	24	0.6 ± 0.1	1.3 ± 0.9	0.2 ± 0.01	5.4 ± 1.5	1.3 ± 0.5
	72	1.2 ± 0.8	0.4 ± 0.1	1.2 ± 0.9	0.7 ± 0.1	0.8 ± 0.2

Примечание: \*Экспрессия гена у контрольного варианта растения, не заселенного тлей принята за 1.  
Note: \*Gene expression in the control variant of a plant not colonized by aphids was taken as 1.

Наши результаты совпадают с результатами, полученными при изучении влияния ячменной тли *Diuraphis noxia* на систему РНК-интерференции у пшеницы [Sibisi, Venter, 2020]. Анализ экспрессии *TaAGO5* показал повышение транскрипции у восприимчивой линии пшеницы Tugela в 3 раза через 6, 24 и 48 часов после заселения ячменной тлей, у устойчивой линии Tugela DN с геном устойчивости *Dn1* такого повышения обнаружено не было [Sibisi, Venter, 2020]. Делается вывод, что *TaAGO5* имеет решающее значение в регуляции ответа на заражение *D. noxia*, так как нокадаун *TaAGO5* у устойчивой линии Tugela DN привел к полностью восприимчивому фенотипу [Sibisi, Venter, 2020].

Выдвигается предположение о том, что AGO5 участвует в устойчивости пшеницы к тле при наличии гена устойчивости *R* у хозяина во время развития специфического иммунитета. В отсутствие гена устойчивости *R* при запуске неспецифических реакций защиты тля индуцирует AGO5 для активации и захвата гормональных путей для успешного кормления и размножения тлей [Sibisi, Venter, 2020].

В системе РНК-интерференции у микроРНК мишенями часто являются ТФ гормональных сигнальных путей [Nicolis et al., 2017]. Ранее нами было показано, что устойчивость пшеницы к обыкновенной злаковой тле *S. graminum* индуцировалась благодаря активации СК-сигнального пути, что имело решающее значение в дальнейшем каскаде химических реакций, ведущих к развитию устойчивости [Rumyantsev et al., 2019]. В данной работе нами была изучена транскрипция шести генов ТФ, представленная в таблице 2. У восприимчивого к *R. padi* сорта Ом35 через 24 часа после заселения тлей значительно повышался уровень транскриптов гена ТФ СК-сигнального пути *WRKY13*, отвечающего за NPR1-зависимый путь, и гена ТФ этиленового-сигнального пути *EIN3* в 3.3 и 5.4 раза, соответственно (табл. 2). У устойчивых к *R. padi* генотипов пшеницы *T. timopheevii* к-58666 и сорта Жница выявлено повышение уровня транскриптов гена *WRKY13* в 4.5 и 2 раза, соответственно, и гена *EIN3* в 1.2 раза только через 72 часа после заселения вредителем (табл. 2). У самого устойчивого образца *T. monosocum* к-39471 обнаружено повышение содержания только транскриптов гена ТФ СК-сигнального пути *WRKY45*, отвечающего за NPR1-независимый путь, в 4 раза через 24 часа после заселения тлей (табл. 2). Так в работе по изучению системы РНКи при взаимодействии *Nicotiana attenuata* – *Manduca sexta* в развитии устойчивости растений к личинкам насекомого было показано участие RdR1, DCL3, DCL4 и AGO8 [Pradhan et al., 2017]. Было показано, что белок AGO8 влиял на ТФ

MYB8, WRKY6, WRKY8, MYC2 и различные микро РНК [Pradhan et al., 2017].

Таким образом, транскрипционный анализ генов ферментов системы РНКи и генов ТФ показал, что *AGO4* и *DCL2* предположительно могут иметь решающее значение в регуляции защитного ответа на заселение *R. padi* посредством влияния на ТФ салицилатного и этиленового сигнальных путей.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда № 22-76-00056.

### Литература

1. Румянцев С.Д., Веселова С.В., Черепанова Е.А., Максимов И.В. Устойчивость различных видов пшеницы к обыкновенной злаковой тле *Schizaphis graminum* Rond. // «Известия Уфимского научного центра РАН». 2018. №3(1), С. 18-24. DOI: 10.31040/2222-8349-2018-5-3-18-24
2. Crespo-Herrera L.A. Resistance to aphids in wheat. From a plant breeding perspective // Introductory paper at the faculty of landscape planning, horticulture and agricultural science. Alnarp: Swedish University of Agricultural Science. 2012. 36 p.
3. Huang Ch.-Y., Wang H., Hu P., Hamby R., Jin H. Small RNAs - big players in plant-microbe interactions // *Cell Host Microbe*. 2019. V. 26. P. 173. doi: 10.1016/j.chom.2019.07.021
4. Jones J.D.J., Dangl J.L. The plant immune system // *Nature*. 2006. V. 444. P. 323-329. doi: 10.1038/nature05286
5. Nicolis V. F., Greyling S.-M., Venter E. Isolation of early-responsive microRNA from *Diuraphis noxia* (Hemiptera: Aphididae) - Resistant Wheat // *Journal of Economic Entomology*. 2017. V. 110. № 3. P. 1298–1306. doi:10.1093/jee/tox103
6. Pradhan M., Pandey P., Gase K., Sharaff M., Singh R.K., Sethi A., Baldwin I.T., Pandeya S.P. Argonaute 8 (AGO8) mediates the elicitation of direct defenses against herbivory // *Plant Physiology*. 2017. V. 175. P. 927–946. doi: 10.1104/pp.17.00702
7. Radchenko E.E., Abdullaev R.A., Anisimova I.N. Genetic resources of cereal crops for aphid resistance // *Plants*. 2022. V. 11. Art. 1490. doi: 10.3390/plants11111490
8. Rumyantsev S.D., Veselova S.V., Burkhanova G.F., Maksimov I.V. Induced resistance to the greenbug aphid *Schizaphis graminum* Rond. in species of the genus *Triticum* // *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii* = *Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2019. V. 23. № 7. P. 865-872. DOI: 10.18699/VJ19.560
9. Sibisi P., Venter E. Wheat Argonaute 5 functions in aphid-plant interaction // *Front. Plant Sci*. 2020. V. 11. Art. 641. doi: 10.3389/fpls.2020.00641

### References

1. Crespo-Herrera L.A. Resistance to aphids in wheat. From a plant breeding perspective // Introductory paper at the faculty of landscape planning, horticulture and agricultural science. Alnarp: Swedish University of Agricultural Science. 2012. 36 p.
2. Huang Ch.-Y., Wang H., Hu P., Hamby R., Jin H. Small RNAs - big players in plant-microbe interactions. *Cell Host Microbe*. 2019. V. 26. P. 173. doi: 10.1016/j.chom.2019.07.021
3. Jones J.D.J., Dangl J.L. The plant immune system. *Nature*. 2006. V. 444. P. 323-329. doi: 10.1038/nature05286
4. Nicolis V. F., Greyling S.-M., Venter E. Isolation of early-responsive microRNA from *Diuraphis noxia* (Hemiptera: Aphididae) - Resistant Wheat. *Journal of Economic Entomology*. 2017. V. 110(3). P. 1298–1306. doi: 10.1093/jee/tox103
5. Pradhan M., Pandey P., Gase K., Sharaff M., Singh R.K., Sethi A., Baldwin I.T., Pandeya S.P. Argonaute 8 (AGO8) mediates the elicitation of direct defenses against herbivory. *Plant Physiology*. 2017. V. 175. P. 927–946. doi: 10.1104/pp.17.00702
6. Radchenko E.E., Abdullaev R.A., Anisimova I.N. Genetic resources of cereal crops for aphid resistance // *Plants*. 2022. V. 11. Art. 1490. doi: 10.3390/plants11111490
7. Rumyantsev S.D., Veselova S.V., Cherepanova E.A., Maksimov I.V. The resistance of different wheat species to greenbug aphid *Schizaphis graminum* Rond. *Proceedings of the RAS Ufa scientific centre*. 2018. № 3(5). P. 18–24. DOI: 10.31040/2222-8349-2018-5-3-18-24 (In Russian)
8. Rumyantsev S.D., Veselova S.V., Burkhanova G.F., Maksimov I.V. Induced resistance to the greenbug aphid *Schizaphis graminum* Rond. in species of the genus *Triticum*. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding*. 2019. V. 23(7). P. 865-872. DOI: 10.18699/VJ19.560
9. Sibisi P., Venter E. Wheat Argonaute 5 functions in aphid–plant interaction. *Front. Plant Sci*. 2020. V. 11. Art. 641. doi: 10.3389/fpls.2020.00641