



18. Бурханова Г. Ф., Яруллина Л. Г., Максимов И. В. Регуляция хитоолигосахаридами защитных реакций растений пшеницы при инфицировании *Viralis sorokiniana* // Физиология растений. 2007. Т. 54, № 1. С. 119–126.
19. Скоупс Р. Методы очистки белков. М.: Мир, 1985. 315 с.
20. Кораблева Н. П., Платонова Т. А. Биохимические аспекты гормональной регуляции покоя и иммунитета растений: (Обзор) // Прикладная биохимическая микробиология. 1995. Т. 31, № 1. С. 103–114.
21. Yegorenkova I. V., Fomina A. A., Tregubova K. V., Konnova S. A., Ignatov V. V. Physical-chemical properties and biological activity of the exopolysaccharides of the rhizobacterium *Paenibacillus polymyxa* 1465 // Sci. conf. boil. active substances: fundamental and applied problems. AR Crimea, Ukraine, May 25–30, 2009. Киев, 2009. P. 267–268.
22. Федорова В. Я., Чайкина Е. Л., Бакунина И. Ю., Анастасюк С. Д., Исаков В. В., Анисимов М. М., Звягинцева Т. Н. Влияние 1,3;1,6-β-D-глюкана и продуктов его ферментативной трансформации на формирование проростков гречихи *Fagopyrum esculentum* Mönch // Химия растительного сырья. 2009. № 3. С. 139–146.
23. Елякова Л. А. Регуляция β-1,3;1,6-глюканами растительного и животного иммунитетов. Энзиматический синтез новых иммуностимуляторов // Вестн. ДВО РАН. 1995. № 2. С. 74–85.
24. Озерцековская О. Л., Васюкова Н. И. При использовании элиситоров для защиты сельскохозяйственных растений необходима осторожность // Прикладная биохимия и микробиология. 2002. № 3. С. 322–325.
25. Яруллина Л. Г. Механизмы индуцирования устойчивости пшеницы к грибным патогенам: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Уфа, 2006.

Образец для цитирования:

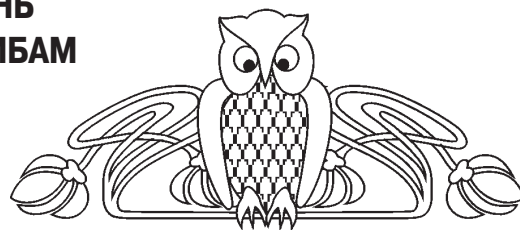
Егоренкова И. В., Трегубова К. В., Коннова С. А., Бугреева Л. В., Игнатов В. В. Влияние экзополисахаридов бактерий *Paenibacillus Polymyxa* 1465 на рост и защитные реакции пшеницы // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2016. Т. 16, вып. 4. С. 414–420. DOI: 10.18500/1816-9775-2016-16-4-414-420.

УДК 579.26

АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ БАКТЕРИЙ-АССОЦИАНТОВ ПОБЕГОВ ЯБЛОНЬ ПО ОТНОШЕНИЮ К ФИТОПАТОГЕННЫМ ГРИБАМ

Х. Мохамед, А. М. Петерсон, Г. С. Ткаченко

Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского
E-mail: alexandra.peterson@yandex.ru



Исследована микробная ассоциация поверхности и внутренней среды побегов яблонь сортов Голден Делишес, Уэлси и Беркутовское с признаками поражения микозами. Выделено 195 штаммов эпифитных и эндофитных бактерий, из которых 8 штаммов обладали выраженной антагонистической активностью по отношению к фитопатогенным грибам *Alternaria alternaria*, *Aspergillus tubiengensis*, *Fusarium incarnatum equiseti*, *Fusarium tricinctum* и *Phoma fungicola*, изолированным с этих же побегов. Штаммы-антагонисты идентифицированы как *Bacillus amyloliquefaciens* SA77, *B. badius* SA68, *B. gibsonii* SA104, *B. methyloprophicus* SA94, *B. pumilus* SA171, *B. simplex* SA101, *Brevibacterium halotolerans* SA87 и *Pantoea agglomerans* SA108. Изучены биологические свойства бактерий-антагонистов.

Ключевые слова: побеги яблони, фитопатогенные грибы, бактерии-антагонисты.

Antagonistic Activity of Bacterial Association of Apple Shoots Against Phytopathogenic Fungi

H. Mohamed, A. M. Peterson, G. S. Tkachenko

Microbial associations on surfaces and internal environment on shoots of apple sorts Golden Delicious, Wealthy and Berkutovka

with symptoms of fungal infections were studied. 195 strains of epiphytic and endophytic bacteria, of which 8 strains had marked antagonistic activity against phytopathogenic fungi *Alternaria alternaria*, *Aspergillus tubiengensis*, *Fusarium incarnatum equiseti*, *Fusarium tricinctum* and *Phoma fungicola* were isolated. Antagonistic bacterial strains are identified as *Bacillus amyloliquefaciens* SA77, *B. badius* SA68, *B. gibsonii* SA104, *B. methyloprophicus* SA94, *B. pumilus* SA171, *B. simplex* SA101, *Brevibacterium halotolerans* SA87 and *Pantoea agglomerans* (SA108). Biological properties of antagonistic bacteria were studied.

Key words: apple shoots, phytopathogenic fungi, antagonistic bacteria.

DOI: 10.18500/1816-9775-2016-16-4-420-425

Введение

Яблони – наиболее возделываемая древесная культура, которая широко выращивается почти во всей области умеренного климата в Северном и Южном полушариях [1]. В последнее время субтропические и тропические зоны также стали



входить в области выращивания данной культуры [2]. Во всех климатических зонах существенный ущерб садоводству наносят фитопатогенные микроорганизмы, прежде всего грибы, вызывающие повреждения как самих деревьев, так и плодов.

В настоящее время химические препараты остаются основным средством борьбы с микозами [3, 4]. Однако применение химических средств защиты растений имеет ряд негативных последствий, важнейшие из которых – появление резистентных штаммов патогенов и загрязнение окружающей среды. В связи с этим в последние годы растёт спрос на биологические средства защиты растений, основанные на антагонистической активности некоторых микроорганизмов-ассоциантов растений по отношению к фитопатогенам [5, 6]. Чаще всего антагонисты действуют на своих конкурентов продуктами метаболизма (аллелопатия), в том числе антибиотиками, или вытесняют конкурентов с помощью более интенсивного размножения или первичного использования пищи [7].

Наибольшее внимание в литературе сосредоточено на использовании в защите растений бактерий, принадлежащих к родам *Pseudomonas*, *Erwinia* [8–12], *Bacillus* [13, 14].

Биологические методы борьбы применяются и в отношении возбудителей болезней яблонь. Выявлено большое количество штаммов бактерий, проявляющих антагонистическую активность по отношению к *Erwinia amylovora* – возбудителю бактериального ожога яблонь. Уже налажен выпуск препаратов на основе *Pseudomonas fluorescens* A506 [15], *Pantoea vagans* C9-1 [16], *P. agglomerans* E325 [17], *P. agglomerans* P10c [18], *Bacillus subtilis* QST713 [19] и *B. subtilis* BD170 [20]. Есть положительный опыт и в применении биопрепаратов для борьбы с микозами яблонь. Так, показана эффективность использования биопрепаратов бациллин (на основе *Bacillus licheniformis* Б-5), вермикул (Penicillium *vermiculatum* РК-С), веррукозин (*P. verrucosum* var. *cyclopium* PV-3), фуникулозум (*P. funiculosum* PF-1) и хетомин (*Chaetotium olivaceum* ХК-1-4) при поражениях яблонь паршой и мучнистой росой [21]. Однако микроорганизмы, использованные в данных биопрепаратах, изначально были изолированы не с побегов яблонь и, следовательно, плохо адаптированы к существующим там специфическим условиям обитания.

В связи с этим целью данной работы стало выявление фунгицидной активности бактерий-ассоциантов побегов яблонь по отношению к возбудителям микозов этой культуры.

Материал и методы

Исследования проводились в 2014–2015 гг. на территории Саратовской области. Объектами микробиологических исследований послужили побеги яблонь сортов Голден Делишес, Уэлси и Беркутовское с признаками поражения побегов микозами (растрескивание и почернение коры). Материал для исследований отбирали в восьми районах Саратовской области: Балашовском, Аткарском, Саратовском, Базарно-Карабулакском, Энгельском, Пугачевском, Дергачевском и Перелюбском. Всего было исследовано 560 проб побегов яблонь.

Микробиологические исследования побегов проводили по методике, описанной ранее [22]. Для оценки количественного содержания бактерий-антагонистов на побегах яблонь делали перерасчёт содержания микроорганизмов на 1 см² поверхности побега и на 1 г внутренних тканей побегов.

Видовую принадлежность выделенных фитопатогенных грибов и штаммов бактерий-антагонистов подтверждали путем выявления видоспецифичных участков рибосомальных РНК методом ПЦР в Институте фармацевтической биологии и биотехнологии (г. Дюсельдорф, Германия) и в лаборатории микологии и фитопатологии Всероссийского института защиты растений (г. Санкт-Петербург, Россия).

Фунгицидная активность изучалась у штаммов, которые при первичном посеве проявили антагонистическую активность по отношению к какому-либо грибу. Культуры бактерий-антагонистов засеивали газоном на ГРМ-агар, культивировали при 28°C в течение двух суток. Культуры грибов засеивали аналогичным образом на среду PDA, культивировали при 28°C в течение пяти суток. Затем из полученных газонов вырезали диски диаметром 5 мм и накладывали их на чашку Петри со средой PDA. На каждую чашку накладывали один диск с культурой бактерии-антагониста и один диск с культурой тестируемого гриба. Расстояние между дисками составляло 6 см. Чашки с дисками культивировали при 28°C в течение семи суток. Микробные взаимодействия оценивали по наличию зоны ингибирования роста гриба.

Лецитиназная, плазмокоагулязная, гемолитическая, целлюлолитическая и пектолитическая активность бактерий-антагонистов изучалась по стандартным методикам [23, 24].

Для выявления возможного негативного воздействия штаммов-антагонистов на вегетативные органы растений были проведены биопробы на листьях яблонь. Из суточных культур



штаммов бактерий-антагонистов по стандарту мутности готовили взвесь в физиологическом растворе концентрацией 10^9 м.к./мл. На нижней стороне листьев яблонь сорта Уэлси делали надрез центральной жилки длиной 2–3 мм и в него бактериологической петлёй вносили приготовленную взвесь. Нанесение бактериальных взвесей проводили в утренние часы в сухую погоду. Каждый штамм наносился на 5 листьев. В качестве контроля в аналогичные надрезы вносили стерильный физиологический раствор.

Результаты и их обсуждение

В результате проведённых исследований с побегов яблонь выделено 195 штаммов эпифитных и эндофитных бактерий, из которых 8 штаммов обладали выраженной антагонистической активностью по отношению к фитопатогенным грибам *Alternaria alternaria*, *Aspergillus tubiengensis*, *Fusarium Incarnatum equiseti*, *Fusarium tricinctum* и *Phoma fungicola*, изолированным с этих же побегов. Штаммы-антагонисты идентифицированы как *Bacillus amyloliquefaciens* (SA77), *B. badius* (SA68), *B. gibsonii* (SA104),

B. methyloprophicus (SA94), *B. pumilus* (SA171), *B. simplex* (SA101), *Brevibacterium halotolerans* (SA87) и *Pantoea agglomerans* (SA108).

Все штаммы-антагонисты были выделены с побегов яблонь, произрастающих в окрестностях г. Саратова (заброшенные сады бывшего Саратовского опытно-производственного хозяйства) в период с апреля по июль 2014 г. Выделение бактерий-антагонистов преимущественно из данного садового массива связано с тем, что деревья были сильно поражены микозами. Однако в сезон 2015 г. бактерии-антагонисты с побегов этих же яблонь не выделялись. 3 штамма являлись эпифитами, т.е. были изолированы с поверхности побегов, а 5 штаммов – эндофитами, выделенными из внутренних тканей побегов после тщательной стерилизации их поверхности (табл. 1). Все штаммы были хорошо адаптированы к обитанию на поверхности или во внутренней среде побегов яблонь, о чём свидетельствуют высокие количественные показатели содержания их в растительном организме (10^5 – 10^6 КОЕ/см² на поверхности побегов и 10^6 КОЕ/г во внутренней среде).

Таблица 1

Экологические характеристики штаммов бактерий-антагонистов

Штамм	Объект выделения	Экологическая ниша	Колич. содержание
<i>Bacillus methyloprophicus</i> SA 94	Побеги яблони сорта Уэлси	Эпифит	10^5 КОЕ/см ²
<i>B. badius</i> SA68			10^6 КОЕ/см ²
<i>B. pumilus</i> SA171			
<i>B. amyloliquefaciens</i> SA77	Побеги яблони сорта Беркутовское	Эндофит	10^6 КОЕ/г
<i>B. gibsonii</i> SA104			
<i>B. simplex</i> (SA101)			
<i>Brevibacterium halotolerans</i> SA87			
<i>Pantoea agglomerans</i> SA108			

Наиболее широкий спектр антагонистической активности был выявлен у штамма *Bacillus amyloliquefaciens* SA77, который подавлял рост 4 видов фитопатогенных грибов из пяти (табл. 2). По три вида фитопатогенов подавляли

B. methyloprophicus SA94, *B. pumilus* SA171 и *Brevibacterium halotolerans* SA87. Остальные штаммы бактерий-антагонистов обладали фунгицидной активностью по отношению к 1–2 видам грибов.

Таблица 2

Антагонистическая активность бактерий-ассоциантов побегов яблонь по отношению к фитопатогенным грибам

Микроорганизмы	Фитопатогенные грибы					
	<i>Alternaria alternaria</i>	<i>Aspergillus tubiengensis</i>	<i>Fusarium incarnatum equiseti</i>	<i>Fusarium tricinctum</i>	<i>Phoma fungicola</i>	
Бактерии-антагонисты	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SA77	+	+	-	+	+
	<i>B. badius</i> SA68	-	-	+	+	-
	<i>B. gibsonii</i> SA104	+	-	-	-	-
	<i>B. methyloprophicus</i> SA94	+	+	-	-	+
	<i>B. pumilus</i> SA171	+	+	-	-	+
	<i>B. simplex</i> SA101	-	-	+	+	-
	<i>Brevibacterium halotolerans</i> SA87	-	+	+	+	-
	<i>Pantoea agglomerans</i> SA108	-	+	-	-	-

Примечание. + наличие антагонистической активности, – отсутствие антагонистической активности.



Ни один штамм бактерий не подавлял рост всех выделенных фитопатогенных грибов, и ни один фитопатогенный гриб не был чувствителен к воздействию всех бактерий-антагонистов.

В связи с тем что данные штаммы бактерий-ассоциантов в перспективе могут быть использованы как основа для создания микробного фунгицида, представляло интерес определение у них факторов патогенности для растений, животных и человека.

Оказалось, что лецитиназной и плазмокоагуляционной активностью данные штаммы не обладали, гемолитической активностью обладали

B. methyloprophicus SA94, *B. pumilus* SA171 и *B. simplex* SA101 (табл. 3). Для бацилл характерна способность к синтезу гемолизина. Так, гемолизины обнаружены у *B. cereus*, *B. thuringiensis*, *B. subtilis*, широко используемых в биотехнологических производствах [25, 26]. Наличие у бацилл гемолитической активности при отсутствии других факторов патогенности ещё не является показателем их патогенности для животных и человека, так как гемолитические представители данного рода повсеместно встречаются в почве, воде, в составе нормальной микрофлоры людей и животных [27].

Таблица 3

Выявление факторов патогенности у штаммов бактерий-антагонистов

Штамм	Факторы патогенности		
	Лецитиназа	Плазмокоагулаза	Гемолизины
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SA77	–	–	–
<i>B. badius</i> SA68	–	–	–
<i>B. gibsonii</i> SA104	–	–	–
<i>B. methyloprophicus</i> SA94	–	–	+
<i>B. pumilus</i> SA171	–	–	+
<i>B. simplex</i> SA101	–	–	+
<i>Brevibacterium halotolerans</i> SA87	–	–	–
<i>Pantoea agglomerans</i> SA108	–	–	–

Примечание. + положительная реакция; – отрицательная реакция.

При определении факторов фитопатогенности установлено, что большая часть штаммов была способна к мацерации тканей некоторых тест-растений, но ни один штамм не обладал ярко выраженной мацерирующей активностью, которая проявлялась бы по отношению ко всем тестируемым растительным тканям. Целлюло-

литических ферментов у исследуемых штаммов не выявлено (табл. 4).

При нанесении на листовую пластинку яблони сорта Уэлси бактериальных взвесей (10^9 м.к./мл) через неделю в месте надреза жилки регистрировалась небольшая зона некроза, не отличающаяся от контроля.

Таблица 4

Выявление факторов фитопатогенности у штаммов бактерий-антагонистов

Штамм	Факторы фитопатогенности			
	Способность к мацерации тканей			Целлюлолитическая активность
	Картофеля	Свёклы	Моркови	
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> SA77	–	–	–	–
<i>B. badius</i> SA68	+	–	–	–
<i>B. gibsonii</i> SA104	–	+	–	–
<i>Bacillus methyloprophicus</i> SA94	+	+	–	–
<i>Bacillus pumilus</i> SA171	–	+	–	–
<i>B. simplex</i> SA101	–	+	–	–
<i>Brevibacterium halotolerans</i> SA87	+	+	+	–
<i>Pantoea agglomerans</i> SA108	–	–	–	–

Таким образом, ни один из штаммов бактерий-антагонистов не проявил фитопатогенных свойств по отношению к заражённому растению.

При разработке биопрепарата для борьбы с данным комплексом фитопатогенных грибов целесообразно сочетать несколько видов бак-



терий-антагонистов, поскольку ни один из них не обладал способностью подавлять рост всех видов фитопатогенных грибов, обнаруженных на побегах яблони.

Наиболее целесообразно сочетать *B. amylo-liquefaciens* SA77, обладающий наиболее широким спектром антагонистической активности, с *B. badius* SA68, *B. simplex* SA101 или *Brevibacterium halotolerans* SA87, которые активно подавляли рост обоих видов *Fusarium*.

Список литературы

1. Brown S. Apple // Fruit Breeding, Handbook of Plant Breeding / eds. M. L. Badenes, D. H. Byrne. Philadelphia : Springer Science Business Media, 2012. P. 329–367.
2. Karakurt H., Aslantas R. Effects of some plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) strains on plant growth and leaf nutrient content of apple // J. of Fruit and Ornamental Plant Res. 2010. Vol. 18. P. 101–110.
3. Imre J. H. Fungal Disease Management in Environmentally Friendly Apple Production // Sustain. Agricult. Rev. 2009. Vol. 2. P. 219–292.
4. Jonsson A., Nybom H., Rumpunen K. Fungal Disease and Fruit Quality in an Apple Orchard Converted from Integrated Production to Organic Production // J. of Sustain. Agricult. 2010. Vol. 34. P. 15–37.
5. Zhenzhen Z., Qiushuo W., Kaimei W., Kemp B., Changhong L., Yucheng G. Study of the antifungal activity of *Bacillus vallismortis* ZZ185 in vitro and identification of its antifungal components // Biores. Techn. J. 2010. Vol. 101. P. 292–297.
6. Li H., Guoying Z., Lili L., Junang L. Isolation and identification of endophytic bacteria antagonistic to *Camellia oleifera* anthracnose // Afric. J. of Microbiol. Res. 2009. Vol. 3. P. 315–318.
7. Shazia S., Zaki A. S., Iqbal A. Evaluation of fluorescent *Pseudomonads* and *Bacillus* isolates for the biocontrol of a wilt disease complex of pigeonpea // World J. of Microbiol. and Biotechnol. 2005. Vol. 21, №. 5. P. 729–732.
8. Braun-Kiewnick A., Jacobsen B. J., Sands D. C. Biological control of *Pseudomonas syringae* pv *syringae*, the causal agent of basal kernel blight of barley, by antagonistic *Pantoea agglomerans* // Phytopathology. 2000. Vol. 90. P. 368–375.
9. Cartwright D. K., Chilton W. S., Benson D. M. Pyrrolnitrin and phenazine production by *Pseudomonas cepacia* strain 5.5b, a biocontrol agent of *Rhizoctonia solani* // Appl. Microbiol. and Biotechnol. 1995. Vol. 43. P. 211–216.
10. Costa E. N., Teixido J., Usall E., Atarés I. Production of the biocontrol agent *Pantoea agglomerans* strain CPA-2 using commercial products and by-products // Appl. Microbiol. and Biotechnol. 2001. Vol. 56. P. 367–371.
11. Shoda M. Bacterial control of plant diseases // J. of Biosci. and Bioengin. 2000. Vol. 89. P. 515–521.
12. Slininger P. J., Burkhead K. D., Schihsler D. A., Bothats R. J. Isolation, identification and accumulation of 2-acetamidophenol in liquid cultures of the wheat take-all biocontrol agent *Pseudomonas fluorescens* 2–79 // Appl. Microbiol. and Biotechnol. 2000. Vol. 54. P. 376–381.
13. Ikotun T., Adekunle F. Inhibition of growth of some plant pathogenic fungi by antagonistic microorganisms isolated from the soil // J. of Basic Microbiol. 1990. Vol. 30. P. 95–108.
14. Thomashow L. S., Weller D. M. Application of *Fluorescent Pseudomonas* to control root diseases of wheat and some mechanisms of disease suppression // Biological control of soil-borne plant pathogens / ed. D. Hornby. Wallingford, UK : C.A.B. International, 1990. P. 109–122.
15. Wilson M., Lindow S. E. Interaction between the biological control agent *Pseudomonas fluorescens* A506 and *Erwinia amylovora* in pear blossoms // Phytopathology. 1993. Vol. 83. P. 117–123.
16. Smits T. H. M., Rezzonico F., Kamber T., Goesmann A., Ishimaru C. A., Stockwell V. O. Complete genome sequence of *Pantoea vagans* plant-beneficial strain C9-1 // J. of Bacteriol. 2010. Vol. 192. P. 6486–6487.
17. Pusey P. L. Crab apple blossoms as a model for research on biological control of fire blight // Phytopathology. 1997. Vol. 87. P. 1096–1102.
18. Vanneste J. L. Fire Blight; the Disease and its Causative Agent *Erwinia amylovora*. L. : CAB International, 2000. 236 p.
19. Aldwinckle H. S., Bhaskara M. V., Reddy J., Norelli L. Evaluation of control of fire blight infection of apple blossoms and shoots with SAR inducers, biological agents, a growth regulator, copper compounds, and other materials // Acta Horticulturae. 2002. Vol. 590. P. 325–331.
20. Broggini-Schärer G. A. L., Duffy B., Holliger E., Schärer H. J., Gessler C., Patocchi A. Detection of the fire blight biocontrol agent *Bacillus subtilis* BD170 (Biopro®) in a Swiss apple orchard // Europ. J. of Plant Pathol. 2005. Vol. 111. P. 93–100.
21. Якуба Г. В., Маслиенко Л. В., Гусин Д. Н. Оперативный контроль микозов яблони на основе микробиологических препаратов // Науч. тр. ГНУ СКЗНИИСиВ. 2013. Т. 2. С. 53–61.
22. Мохамед Х., Петерсон А. М., Козлова А. В. Ассоциативные микроорганизмы побегов яблони (*Malus p. Mill*, 1754) в Саратовской области // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2015. Т. 15, вып. 3. С. 80–84.
23. Непрусов А. И., Егорова М. А., Захарчук Л. М. Практикум по микробиологии. М. : Академия, 2005. 608 с.
24. Желдакова П. А., Мямин В. Е. Фитопатогенные микроорганизмы. Минск : БГУ, 2006. 246 с.
25. Honda T., Shiba A., Seo S., Yamamoto J., Matsuyama J., Miwatani T. Identity of hemolysins produced by *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus cereus* // FEMS Microbiol. Lett. 1991. № 63. P. 205–209.
26. Liu J., Fang C., Jiang Y., Yan R. Characterization of a hemolysin gene *ytjA* from *Bacillus subtilis* // Curr Microbiol. 2009. Vol. 58, № 6. P. 642–647.



27. Андреева И. С., Пилипенко А. С., Пучкова Л. И., Емельянова Е. К., Репин В. Е., Молодин В. И. Фенотипические и геномные признаки микроорганизмов,

изолированных при раскопках мерзлотных курганов Пазырыкской культуры Олон-Куриин-Гол // Междунар. науч.-исслед. журн. 2013. Вып. 7. С. 64–70.

Образец для цитирования:

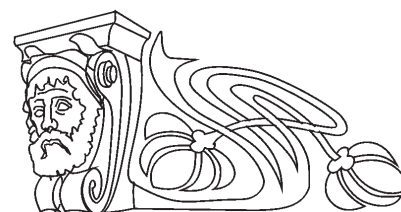
Мохамед Х., Петерсон А. М., Ткаченко Г. С. Антагонистическая активность бактерий-ассоциантов побегов яблонь по отношению к фитопатогенным грибам // Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2016. Т. 16, вып. 4. С. 420–425. DOI: 10.18500/1816-9775-2016-16-4-420-425.

УДК 581.331

ОСОБЕННОСТИ СТРОЕНИЯ ЖЕНСКОГО ГАМЕТОФИТА ДВУХ МУТАНТНЫХ ЛИНИЙ *NICOTIANA TABACUM* L.

И. В. Парфирова, Л. П. Лобанова, А. Ю. Колесова

Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского
E-mail: lobanova-lp@yandex.ru



Проведено исследование зародышевых мешков двух мутантных линий *Nicotiana tabacum* L. Установлено, что обе линии характеризуются нарушениями в ходе развития женского гаметофита. Мутация у линии М-3 подавляет митотическую активность ядер и заложение клеточных перегородок в зародышевых мешках, вследствие чего возникают малоядерные ценоцитные и клеточные гаметофиты. У растений линии М-2 доминируют клеточные зародышевые мешки с увеличенным числом клеток и ядер, что обусловлено увеличением числа митозов на стадии гаметофитогенеза. Обе линии могут использоваться для изучения генетического контроля и механизмов развития зародышевых мешков.

Ключевые слова: *Nicotiana tabacum* L., гаметофитные мутации, зародышевый мешок.

The Female Gametophyte Structure Features of Two *Nicotiana Tabacum* L. Mutant Lines

I. V. Parfirova, L. P. Lobanova, A. Yu. Kolesova

The embryo sacs structure in the two mutant lines of *Nicotiana tabacum* L. was investigated. The various disturbances in the megagametophyte structure were detected. In the M-3 line the gametophyte mutation suppresses the nucleus mitotic activity and cell walls initiation in embryo sacs. These disturbances lead to the formation of low-nuclear coenocytic or cellular gametophytes. In M-2 line the cellular gametophytes with increased number of cells and nucleus was dominated. The reason of this phenomenon is an increase of mitosis number during a gametophytogenesis. Tested lines can be used as the model for investigation of embryo sacs development mechanisms and its genetic control.

Key words: *Nicotiana tabacum* L., gametophyte mutations, embryo sac.

DOI: 10.18500/1816-9775-2016-16-4-425-428

Введение

Познание особенностей генетической регуляции размножения растений является одним из фундаментальных направлений современной

биологии. Женский гаметофит, или зародышевый мешок (ЗМ), является ключевым элементом системы размножения растений, в котором происходят процессы оплодотворения, развития зародыша и эндосперма. Осуществление этих событий и судьба следующего поколения зависят от структурно-функциональной организации ЗМ. Анализ гаметофитных мутаций позволяет выделить ключевые цитологические события, определяющие структуру зрелого ЗМ [1, 2].

Коллекция *Nicotiana tabacum* L. отдела генетики и цитологии Ботанического сада СГУ содержит уникальные мутанты, которые были получены Н. Х. Еналеевой с использованием методов культуры изолированных пыльников и рентгеновского облучения [3, 4]. Полученные мутантные линии характеризовались нарушениями развития женского гаметофита и, как следствие, изменением его структуры. У разных мутантных линий преобладали зрелые зародышевые мешки с характерным фенотипом. Некоторые мутанты четко отличались друг от друга образованием ЗМ с контрастными признаками: уменьшенным или увеличенным числом клеток и ядер, ценоцитным или клеточным состоянием, моно- или биполярностью. Данные линии являются носителями мутаций, влияющих на разные цитологические процессы формирования ЗМ (число митозов, цитокинез, поляризацию), могут использоваться для изучения генетического контроля развития женского гаметофита.

Исследования полученных мутантных линий табака были начаты еще в 1992 г. Н. Х. Енале-