

УДК 58.071:579.26

ВЫЯВЛЕНИЕ ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ ПОБЕГОВ *MALUS TRANSITORIA* (BATAL.) SCHNEID. *IN VITRO*

О.А. Чурикова, А.С. Сперанская, А.А. Криницына

Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Россия, ochurikova@yandex.ru

В побегах *Malus transitoria* (Batal.) Schneid. из коллекции Ботанического сада МГУ имени М.В. Ломоносова были обнаружены бактериальные сообщества, основная часть которых (95–97%) представлена бактериями рода *Paenibacillus*, *Methylobacterium* (1%) и *Chitinophaga* (0.6%). Побеги культивировали в стерильных условиях с 2011 года.

Ключевые слова: эндофитная флора, *Malus transitoria*, культура *in vitro*.

Эндофитные бактерии обнаруживаются на семенах, в филлосфере и ризосфере растений и выполняют ряд важных функций. Так, они могут участвовать в защите растений от заболеваний, обусловленных различными фитопатогенами, насекомыми и нематодами, в усвоении азота и синтезе биологически активных веществ, в том числе, фитогормонов и витаминов, в защите растения-хозяина от вредного воздействия катионов тяжелых металлов и радионуклеидов. Жизнедеятельность эндофитных бактерий не всегда отражается на внешнем виде и состоянии растений, однако, несомненно, влияет на развитие последних. Адаптивный потенциал растений в значительной степени определяется комплексом их взаимодействий с симбиотическими микроорганизмами. Наличие генетически и функционально разнородного микробиоценоза позволяет растению компенсировать отсутствие многих адаптивно важных биохимических функций [Тихонович, Проворов, 2003].

Бактериальные эндофиты были и остаются предметом многочисленных исследований. В настоящее время накоплено некоторое количество информации о видовом составе эндофитной микрофлоры растений различных систематических групп, имеющих важное значение для сельского хозяйства [Rosenblueth, Martinez-Romero, 2006]. Например, в почках культурных яблонь сортов “Gala”, “Golden Delicious” и “Orlovim” были обнаружены культивируемые эндофитные бактерии, относящиеся к *Curtobacterium*,

Pantoea и *Pseudomonas*, которые участвуют в формировании устойчивости к патогенным бактериями, вызывающим паршу [Miliute et al., 2016].

Роль эндофитных бактерий в культуре тканей менее изучена, однако, они представляют значительный интерес как в фундаментальном, так и в прикладном аспекте. Эндофитные бактерии, в частности, рассматриваются в качестве одного из факторов, определяющего регенерационную способность эксплантов наряду с генотипом и условиями культивирования *in vitro* [Pirttila et al., 2008].

Целью настоящей работы являлось определение состава бактериального сообщества, развивающегося на питательной среде при культивировании побегов яблони в стерильных условиях. В нашей работе была использована яблоня переходная (*Malus transitoria* (Batal.) Schneid.) из коллекции Ботанического Сада МГУ имени М.В. Ломоносова на Ленинских горах, культивируемая в стерильных условиях с 2011 года. Методика микроклонального размножения яблони, включая выбор эксплантов, их предстерилизационную обработку, собственно стерилизацию, а также прописи состава питательных сред и условия культивирования эксплантов, подробно была описана ранее [Чурикова, Мурашев, 2015].

Развитие бактериального сообщества периодически визуально отмечалось на поверхности и в толще питательной среды в месте контакта с раневой поверхностью побега при проведении пассирования культивируемых

растений. Выделение тотальной ДНК из клеток бактерий проводили согласно [Park, 2007]. Пробоподготовку для проведения высокопроизводительного секвенирования участка гена 16S rRNA осуществляли согласно протоколу Illumina. ПЦР проводили при помощи T100 ThermalCycler («Bio-Rad», США), секвенирование – на MiSeq (Illumina). Полученные результаты обрабатывали с помощью сервиса «The metagenomics RAST» (<http://metagenomics.anl.gov>) [Meyer et al. 2008].

Всего было проанализировано два независимых бактериальных сообщества. В обоих основным представителем оказались бактерии рода *Paenibacillus* (95.2% и 97.3%). Также в одном из них были обнаружены бактерии, отно-

сящие к родам *Methylobacterium* (1%) и *Chitinophaga* (0.6%). Остальные полученные последовательности оказались не пригодны для идентификации, поскольку сходных последовательностей не представлено в базе данных РНК (M5RNA) используемого сервиса.

Наличие в побегах бактерий рода *Paenibacillus* и *Methylobacterium* было обнаружено у таких древесных растений, как сосна, кофе и тополь. При этом было показано, что некоторые штаммы *Paenibacillus* положительно влияют на процессы корнеобразования микропобегов тополя [Ulrich et al., 2008].

Работа была выполнена в рамках гос. темы № ААА-А-А16-116021660105-3.

Библиографический список (References)

- Тихонович И.А., Проворов Н.А. Симбиогенетика микробно-растительных взаимодействий // Экологическая генетика. 2003, Т.1. С. 35–46.
- Чурикова О.А., Мурашев В.В. Биотехнологические приемы сохранения коллекций яблони *in vivo* и *in vitro* // Вестник КазНУ, серия экологическая. 2015. Т.43 N 1/2. С. 600–606.
- Pirttilä A.M., Podolich O., Koskimäki J.J., Hohtola E., Hohtola A. Role of origin and endophyte infection in browning of bud-derived tissue cultures of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). // Plant Cell Tiss. Org. Cult. 2008. 95. P. 47–55.
- Rosenblueth M., Martinez-Romero E. Bacterial endophytes and their interactions with hosts // MPMI. 2006. V. 19. N 8. P. 827–837.
- Plant Protection News, 2016, 3(89), p. 182–183
- Meyer F., Paarmann D., D'Souza M., Olson R., Glass E.M., Kubal M., Paczian T., Rodriguez A., Stevens R., Wilke A., Wilkening J., Edwards R.A. The metagenomics RAST server – a public resource for the automatic phylogenetic and functional analysis of metagenomes // BMC Bioinformatics. 2008. V. 9. P. 386.
- Park D. Protocols for Nucleic Acid Analysis by Nonradioactive Probes, 2007. V.1. P. 3–13.
- Ulrich K., Stauber T., Ewald D. Paenibacillus — a predominant endophytic bacterium colonising tissue cultures of woody plants // Plant Cell. Tiss. Organ. Cult. 2008. V.93. P. 347–351.

IDENTIFICATION OF ENDOPHYTIC BACTERIA IN *MALUS TRANSITORIA* (BATAL.) SCHNEID. SHOOTS GROWING *IN VITRO*

O.A. Churikova, A.S. Speranskaya, A.A. Krinitsina

Lomonosov Moscow State University, ochurikova@yandex.ru

Endophytic bacteria from *Paenibacillus*, *Methylobacterium* and *Chitinophaga* genera were found in the shoots of *Malus transitoria* (Batal.) Schneid. from Moscow State University Botanical garden. The shoots were cultured in sterile conditions from 2011.