

**М. Э. Пак¹, Е. А. Рогожин^{2, 4, 5}, И. А. Петухова³, А. С. Шуклина¹,
Н. С. Помыткин¹, А. П. Пахомова¹, В. С. Садыкова⁴, Н. А. Гаевский³,
И. Н. Третьякова¹**

¹Институт леса им. В. Н. Сукачева Сибирского отделения Российской академии наук - обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН, Россия, Красноярск

²Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биоорганической химии им. академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова Российской академии наук, Россия, Москва

³Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский федеральный университет», Россия, Красноярск

⁴Научно-исследовательский Институт по изысканию новых антибиотиков им. Г. Ф. Гаузе, Россия, Москва

⁵Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тюменский государственный университет», Россия, Тюмень

Научный руководитель – доктор биологических наук, профессор **И. Н. Третьякова**

Институт леса им. В. Н. Сукачева Сибирского отделения Российской академии наук - обособленное подразделение ФИЦ КНЦ СО РАН, Россия, Красноярск

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ПЕПТИДОВ РАСТИТЕЛЬНОГО И МИКРОБНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ ХВОЙНЫХ *IN VITRO* В РАННЕМ ОНТОГЕНЕЗЕ

Одним из ключевых аспектов выращивания качественного посадочного материала для лесоразведения является повышение индуцированного иммунитета и устойчивости растений к возбудителям заболеваний в период ювенильной стадии развития для предотвращения инфекционного послевсходового полегания. В многочисленных исследованиях выявлено, что продукты жизнедеятельности различных видов *Trichoderma* влияют на рост и развитие растений, в частности усиливают обмен веществ, стимулируют рост корневой системы и повышают иммунитет [1, 2]. Ранее было показано, что под влиянием пептидов триходермального происхождения наблюдалась значительная стимуляция роста пролиферирующих эмбриогенных культур (ЭК, ЭСМ) *Larix sibirica* [3]. Другими источниками защитных пептидов являются дикорастущие растения, демонстрирующие гораздо больший уровень устойчивости к стрессовым факторам окружающей среды по сравнению с возделываемыми. Такие растения выделяют защитные молекулы, интегрированные в систему врожденного иммунитета. Спектр биологической активности таких молекул включает в себя собственно антимикробную (антифунгальную, антибактериальную, противовирусную), ферментативную, а также регуляторную (сигналинг).

Для разрешения проблемы воспроизводства качественных лесов в рамках проекта были проведены работы по интеграции инновационной биотехнологии массового тиражирования генетически однородного потомства через соматический эмбриогенез листовенницы сибирской, выбранной в качестве модельного объекта, и исследований по скринингу защитных пептидов растительного и микробного происхождения (рис.). Актуальность и научная новизна проводимых исследований обуславливается выяснением молекулярных и клеточных аспектов функционирования защитных полипептидов растений как регуляторов.

В рамках проекта были получены индивидуальные пептиды из активных суммарных фракций дикорастущих растений и концентратов экстремофильных штаммов микромицетов рода *Trichoderma*. Экстракты культуральной жидкости штамма TYVI4/11 обладали высокой антибиотической активностью в отношении условно-патогенных и фитопатогенных мицеллиальных и дрожжевых грибов. Максимальная фунгицидная активность установлена в

отношении *Aspergillus niger* INA00760 и *Fusarium oxysporum* VKMF-140. Были получены фракции штамма 346 *Trichoderma viride*, обладающие антибиотической активностью в отношении *A. niger* INA00760, *Bacillus subtilis* ATCC6633. В результате исследования был установлен стимулирующий эффект биопептидов штамма 346 (*T. viride*, 2 мкг/диск) на корнеобразование регенерантов *L. sibirica*.



Рис. Схема соматического эмбриогенеза лиственницы сибирской: 1 – индукция ЭСМ, 2 – пролиферация ЭСМ, 3 – предсозревание соматических зародышей, 4 – созревание соматических зародышей, 5 – регенерация клонов на средах, обогащенных пептидными фракциями, 6 – адаптация клонов в условиях теплицы.

Исследование влияния обработки пептидами растений проводилось на стадии регенерации клонов КЛ4. Для эксперимента были выбраны тотальные белково-пептидные экстракты семян *Amaranthus retroflexus* L., колосьев *Elytrigia elongata* (Host) Nevski зрелых и в стадии молочной спелости (МС), у которых по результатам масс-спектрометрического анализа идентифицирован набор молекулярных масс в пептидном диапазоне (3,0–12,0 кДа). Данные экстракты были предварительно разделены на 3 группы методом псевдоаффинной хроматографии на полианионном сорбенте среднего давления: «связывания нет» (0 мМ NaCl), «слабое взаимодействие» (100 мМ NaCl) и «сильное взаимодействие» (500 мМ NaCl). Фракции 0 мМ всех исследованных источников защитных пептидов не оказали достоверного положительного влияния на рост в длину регенерантов *L. sibirica*. Более того, в варианте *E. elongata* МС 0 мМ (25 мкг/мл) наблюдали ингибирование роста регенерантов. Фракция *E. elongata* МС 100 мМ также оказала ингибирующее действие: при концентрациях 25 и 50 мкг/мл средняя длина проростков была в 1,2 и 1,5 меньше контроля (базовая среда ½АИ без витаминов) соответственно. В то же время фракция *A. retroflexus* 100 мМ (3,125 мкг/мл) стимулировала рост регенерантов в длину по сравнению с контролем. Согласно полученным данным, преобладающая активность локализовалась во фракциях *A. retroflexus* 100 мМ и *E. elongata* МС 500 мМ. Кроме того, все исследованные соединения снижали эффект фотоингибирования фотосинтеза у соматических проростков *L. sibirica*. Таким образом, фундаментальное изучение влияния «стимулирующих» веществ на морфологические, физиологические, гистологические особенности соматических зародышей у хвойных видов способствует оптимизации биотехнологии, которая может быть использована для практических работ, направленных на выращивание лиственничных лесов в Сибири.

Список литературы

1. Vinale F., Sivasithamparam K., Ghisalberti E. L., Marra R., Barbetti M. J., Li H., Woo S. L., Lorito M. A novel role for *Trichoderma* secondary metabolites in the interactions with plants // Physiological and Molecular Plant Pathology. 2008. V. 72. P. 80–86.
2. Садыкова В. С., Кураков А. В., Куварица А. Е., Тюрин А. П., Рогожин Е. А., Коршун В. А. Образование штаммом *Trichoderma citrinoviride* TYVI 4/11 антибиотиков-пептаиолов // Проблемы медицинской микологии. 2015. Т. 17. №. 1. С. 41–46.
3. Третьякова И. Н., Пак М. Э., Лисецкая И. А., Баранова А. А., Рогожин Е. А., Садыкова В. С. Использование антимикробных пептидов микромицетов рода *Trichoderma* для выхода эмбриогенной культуры *Larix sibirica* // Онтогенез. 2019. Т. 50. №. 1. С. 41–52.