

НОВЫЕ ПОДХОДЫ К ИЗУЧЕНИЮ АНТИФУНГАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ РАСТЕНИЙ НА ПРИМЕРЕ КЛЕТОЧНЫХ ЛИНИЙ *AJUGA TURKESTANICA*

Р.П. Закирова

Институт химии растительных веществ им. акад. С.Ю. Юнусова АН РУз,

<https://doi.org/10.5281/zenodo.15543945>

Аннотация. Изучена антифунгальная активность двух клеточных линий растения *Ajuga turkestanica*. При совместном культивировании растительных клеток и микроскопического гриба *Fusarium oxysporum* наблюдалось ингибирование роста колоний гриба. Выявлено, что при внесении в питательную среду цитокинина БАП антифунгальная активность клеточной культуры повышается.

Annotation. The antifungal activity of a cell culture of the plant *Ajuga turkestanica* was studied. Inhibition of fungal colony growth was observed during the co-cultivation of plant cells and the microscopic fungus *Fusarium oxysporum*. It was found that the introduction of the cytokinin BAP into the nutrient medium increases the antifungal activity of the cell culture.

Annotatsiya. *Ajuga turkestanica* o'simligi hujayra madaniyatining zamburug'larga qarshi faolligi o'rganildi. O'simlik hujayralari va mikroskopik qo'ziqorin *Fusarium oxysporum* birgalikda o'stirilganda, qo'ziqorin koloniyalarining o'sishini inhibe qilish kuzatildi. Oziq muhitga sitokinin BAP qo'shilsa, hujayra madaniyatining antifungal faolligi oshishi aniqlandi.

Ключевые слова: *Ajuga turkestanica*, морфогенная культура клеток, антифунгальная активность, *Fusarium oxysporum*,

Клеточные культуры широко используются в фундаментальных исследованиях в качестве моделей для изучения некоторых физиологических аспектов в отсутствии коррелятивных взаимодействий и контроля со стороны других тканей и целого организма. Исследования, проводимые с применением клеточных культур высших растений дают возможность углубленно изучить особенности их роста, дифференцировки, присущих им генетической и эпигенетической изменчивости, изучения механизмов биосинтеза биологически активных соединений [1].

Каллусогенез является сложным процессом, который непосредственно зависит от применяемых гормонов, их концентрации, типа первичного экспланта и исследуемого генотипа. При введении растительных клеток в условия *in vitro* возможна дифференцировка на уровне клеток, тканей, органов, стойкая дедифференцировка и приобретение способности расти без гормонов [2,3].

Растение *Ajuga turkestanica* (живучка туркестанская) известно своими адаптогенными и биологически активными свойствами, обусловленными наличием в его составе различных классов соединений, включая экдистероиды, флавоноиды и другие биологически активные соединения [4]. Биосинтез ряда этих соединений сохраняются в условиях *in vitro* [5,6].

Однако, данные о его антифунгальной активности этого вида, в частности на уровне клеточной культуры, остаются малоизученными. Ранее нами установлено, что при совместном культивировании растительных клеток и микроскопического гриба *Fusarium oxysporum* наблюдалось ингибирование роста колоний гриба. Морфогенная культура

обладала большей активностью, чем дедифференцированная культура. Также выявлено, что содержание белка – ингибиторов протеиназ в морфогенной ткани в 2,5 раз больше, чем в дедифференцированной культуре [7].

Целью данного исследования явилось изучение антифунгальной активности клеточной культуры *Ajuga turkestanica* (Rgl.) Briq. (Lamiaceae) в отношении фитопатогенного гриба *Fusarium oxysporum* в зависимости от содержания фитогормонов в питательной среде.

Методы исследований

Культивирование каллусной ткани проводили на питательной среде Мурасиге и Скуга при температуре 26°C, освещенности 5000-7000 люкс с 16 часовым фотопериодом и в темноте [8,9].

Для изучения антифунгальной активности каллусы *A. turkestanica* высаживали в чашки Петри по кругу и в центр уколом вносили споры микроскопического гриба. В контрольном варианте культуру гриба выращивали без каллусов. По мере роста колоний через каждые двое суток измеряли их диаметр (3 чашки на вариант) и рассчитывали среднее значение для каждого варианта. Эксперименты повторяли 3 раза.

Результаты

Для оценки взаимодействия растительных клеток и гриба был использован метод совместного культивирования. В работе исследовано влияние экзогенного цитокинина 6-бензиламинопурина (БАП) и ауксина α -нафтилуксусная кислота (НУК) на скорость роста колоний микроскопического гриба.

Изучение антифунгальной активности двух линий *A. turkestanica*, проведенной путем совместного культивирования каллусов и микроскопического гриба *Fusarium oxysporum* Schrf. показало, что обе линии ингибировали рост колонии гриба.

Было выявлено, что при внесении ауксина НУК в концентрации 1 мг/л наблюдалось незначительное подавление роста колоний микроскопического гриба, морфогенной культуры с грибом диаметр колоний на 2-ые и 12-ые сутки учетов составлял 1,05 см и 4,05 см и было ниже контроля, соответственно на 30,0% и 5,2%, для не морфогенной культуры - 1,2 см и 3,95 см, и уступало контролю на 20,0 и 8,1%, соответственно.

Максимальное ингибирование наблюдалось при внесении в питательную среду цитокинина БАП в количестве 1 мг/л. Морфогенная линия на 2-ые сутки (0,8 см) уступала контролю на 44,3%, на 12-ые (2,8 см) на 34,9%, дедифференцированная культура на эти периоды составляла 1,1 см и 3,2 см и была ниже контроля на 27,6 и 25,6%, соответственно.

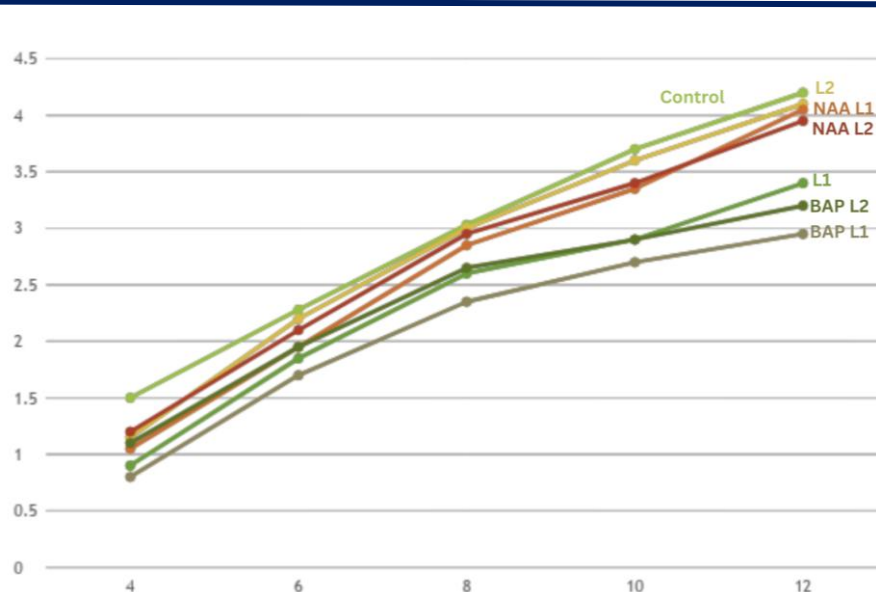


Рис. Динамика роста колоний микроскопического гриба *Fusarium oxisporum* Schrf. при выращивании его с культурой клеток *A. turkestanica* (1. «Control» - среда без фитогормонов и без каллусов, 2. L1- среда без фитогормонов с каллусами морфогенной линии, 3. L2- среда без фитогормонов с каллусами дедифференцированной ткани, 3. NAA L1 - среда с НУК и каллусами морфогенной линии, 4. NAA L1 - среда с НУК и каллусами дедифференцированной линии, 4- ВАР L1- среда с БАП и каллусами морфогенной линии, 4- среда с БАП и каллусами дедифференцированной линии).

Исследования показали, что активизация синтеза противомикробных веществ клеточными культурами *A. turkestanica* наблюдается при наличии в питательной среде цитокинина. Известно что цитокинины играют огромную роль в защите растений от биотических стрессов [10]. Возможно, они способствуют синтезу защитных белков при воздействии на растения стрессовых факторов.

Полученные результаты могут способствовать пониманию механизмов антифунгальной защиты растений и открытию новых подходов к биологическому контролю грибных заболеваний.

ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Носов А.М. Культура клеток высших растений уникальная система, модель, инструмент. Физиология растений. 1999. Т. 46. С. 837-844.
2. Sugimoto, K., Gordon, S. P., and Meyerowitz, E. M. Regeneration in plants and animals: dedifferentiation, transdifferentiation, or just differentiation? *Trends Cell Biol.* 21. P. 212–218.
3. Журавлев Ю.Н., Омелько А.М. Морфогенез у растений in vitro. Физиол. раст. 2008. Т. 55. № 5. С. 643–664.
4. Рамазанов Н.Ш. Фитоэкдистероиды и другие биологически активные соединения растений рода *Ajuga*. Химия природного сырья. 2005. №4. С. 291-396.
5. Закирова Р.П., Соболева Г.И., Харитонов Т.Д., Нигматуллаев А.М., Сагдуллаев Ш.Ш., Кочкин Д.В., Носов А.М. Получение и характеристика культур клеток живучки туркестанской *Ajuga turkestanica* (Rgl.) – продуцентов фитоэкдистероидов. Биотехнология. 2019. Т. 35. № 3. С.50-56.

6. Эшбакова К.А., Закирова Р.П., Хасанова Х.И., Бобакулов Х.М, Aisa H.A., Сагдуллаев Ш.Ш., Носов А.М. Новый фенилпропаноид-ный триглицозид из каллусной ткани *Ajuga turkestanica*. Химия природного сырья. 2019. №1. С 26-28.
7. Закирова Р.П., Рахимова Ш.Х., Межлумян Л.Г. Антифунгальная активность клеточных линий *Ajuga turkestanica*. 2023. № 6. С. 17-20.
8. Калинин Ф.Л., В.В. Сарнацкая, В.Е. Полищук. Методы культуры тканей в физиологии и биохимии растений. Киев. Наукова думка. 1980. — 488 с.
9. Murashige T., Skoog F.A. Physiol. Plant. 1962. V. 15. № 3. P. 473-482.
10. Reusche M, Klaskova J, Thole K, Truskina J, Novak O, Janz D, et al. Stabilization of cytokinin levels enhances Arabidopsis resistance against *Verticillium longisporum*. Molecular Plant-Microbe Interactions. 2013. 26. 8. P. 850-860.