

УДК 576.8

Т.Д. Мукашева*, Л.В. Игнатова, Р.Ж. Бержанова, Р.К. Сыдыкбекова*,
М.Т. Каргаева, М.Х. Шигаева, А.А. Омирбекова

Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Республика Казахстан, г. Алматы
*E-mail: Togzhan.Mukasheva@kaznu.kz

Встречаемость эндофитных микроорганизмов в растениях Заилийского Алатау

Из дикорастущих и культурных растений, произрастающих в предгорных и подгорных равнинах Заилийского Алатау, выделены эндофитные микроорганизмы. Наибольшее количество эндофитных микроорганизмов обнаружено в корнях и стеблях растений.

Ключевые слова: эндофитные микроорганизмы, дикорастущие растения, культурные растения.

Т.Д. Мукашева, Л.В. Игнатова, Р.Ж. Бержанова, Р.К. Сыдыкбекова, М.Т. Каргаева,
М.Х. Шигаева, А.А. Омирбекова

Іле Алатауында өсетін өсімдіктердің эндофитті микроорганизмдері

Іле Алатауының жазықты және таулы аймақтарында өсетін жабайы және мәдени өсімдіктерден эндофитті микроорганизмдер бөлініп алынды. Эндофитті микроорганизмдердің көп мөлшері өсімдіктердің тамырында және сабағында байқалды.

Түйін сөздері: эндофитті микроорганизмдер, жабайы өсімдіктер, мәдени өсімдіктер.

T.D. Mukasheva, L.V. Ignatova, R.Zh. Berzhanova, R.K. Sydykbekova, M.T. Kargaeva,
M.Kh. Shigaeva, A.A. Omirbekova

The incidence of endophytic microorganisms in plants Trans-Ili Alatau

Endophytic microorganisms were isolated from wild and cultivated plants growing in the foothills and piedmont plains of Trans-Ili Alatau. The largest number of endophytic microorganisms were found in the roots and stems of plants.

Keywords: endophytic microorganisms, wild plants, cultivated plants.

Казахстан представляет собой малоизученный регион земного шара в отношении микробиологического разнообразия. В природе Казахстана сосредоточены различные экосистемы, среди них высокогорные альпийские луга, степи, пустыни и т.д. Эти экосистемы являются местообитанием для различных видов высших растений и ассоциированных с ними микроорганизмов, биоразнообразия, экология и биология которых остаются практически не изученными.

Эндофитные микроорганизмы растений стали объектом исследований сравнительно недавно и в настоящее время представляют собой

весьма интересную и «перспективную» в плане научных изысканий группу микроорганизмов. Однако среди множества эндофитных видов, к числу которых относятся как представители царства прокариот, так и различные грибы, лишь небольшая группа микроорганизмов заинтересовала исследователей. Между эндофитами и высшими растениями эволюционно сложились мутуалистические взаимоотношения, при этом растения обеспечивают микроорганизмы питанием и стабильной средой обитания. Эндофиты со своей стороны выделяют различные метаболиты, влияющие положительно на жизнь и функ-

ционирование растения. Ассоциации «эндофит-растение» представляет прекрасную модель для исследования фундаментальных проблем симбиоза. В связи с этим исследование системы «эндофит-растение» в малоизученных регионах земного шара вызывает особый научный и практический интерес для понимания симбиотического склада взаимоотношений между микро- и макроорганизмами в различных климатических условиях. Выявление новых видов эндофитов вносит значительный вклад в изучение биологического разнообразия микроорганизмов и в получении продуцентов биологически активных соединений для применения их в сельскохозяйственной биотехнологии. В экологических условиях между разными группами микробов устанавливаются определенные взаимоотношения, характер которых зависит от физиологических особенностей и потребностей совместно развивающихся микробов. Адаптация к условиям внешней среды путем взаимодействий с микроорганизмами является одним из фундаментальных свойств высших растений. Обладая способностью полностью обеспечивать себя углеродом и энергией, получаемыми в процессе фотосинтеза, большинство растений испытывает недостаток во многих других элементах минерального питания, в первую очередь – в азоте и фосфоре. Поэтому симбиозы с микроорганизмами, фиксирующими азот (эндофитные и ризосферные бактерии, грибы) или оптимизирующими получение питательных веществ из почвы, характерны для подавляющего большинства растений [5-7].

Целью данной работы явилось выделение и изучение качественного состава эндофитной микрофлоры растений различных семейств: *Chenopodiaceae* (Маревые), *Asteraceae* (Астровые), *Fabaceae* (Бобовые) и *Poaceae* (Злаковые).

Материал и методы исследования

Объектами исследований явились дикорастущие и культурные растения, произрастающие в предгорных и подгорных равнинах Заилийского Алатау. Дикорастущие растения: семейства *Asteraceae* (Астровые): *Achillea millefolium* (Тысячелистник обыкновенный); *Artemisia absinthium* (Полынь горькая); семейство *Poaceae* (Злаковые): *Festuca pratensis* (Овсяница луговая); *Poa annua* (Мятлик однолетний). Культурные растения (кормовые): семейство *Fabaceae* (Бобовые): *Medicago sativa*

(Люцерна) сорт Семиреченская местная, *Glycine max* (Соя) сорт Алматы; семейство *Poaceae* (Злаковые): *Hordeum vulgare* (ячмень) сорт Арна, *Avena sativa* (Овес) Казахская 70.

Для выделения эндофитных микроорганизмов были использованы корни и стебли растений [1, 9-10]. Поверхность растительных образцов тщательно очищали и разрезанные части подвергали обработке 2,5% раствором гипохлорида натрия в течение 3 минут, затем ополаскивали стерильной водой в течение 2 минут при постоянном встряхивании. Растительную ткань (5 г) измельчали, перетирая со стерильным песком, готовили разведения, из которых производили посев на агаризованные среды [10]. Инкубировали при температуре 28°C.

Результаты и обсуждение

Растения входят в сложные взаимоотношения с микроорганизмами, населяющими не только почву, но и эндоткани здоровых растений. Изучение взаимоотношений микроорганизмов с высшими растениями привлекает возрастающее внимание исследователей, так как многие эндофитные микроорганизмы продуцируют органические кислоты и ряд ферментов, что помогает усваивать соединения ранее недоступные для растений или выделяют витамины, регуляторы роста, антибиотики, которые оказывают существенное влияние на развитие растений [6-7]. Из дикорастущих и культурных растений, произрастающих в предгорных и подгорных равнинах Заилийского Алатау, выделены эндофитные микроорганизмы, относящиеся к различным таксономическим группам: бактериям, актинобактериям, мицелиальным грибам и дрожжам. Анализируемые гербарные образцы растений были отнесены к 3 семействам: *Asteraceae* (астровые), *Poaceae* (злаковые) и *Fabaceae* (бобовые).

Распределение эндофитов в пределах семейств было неравномерным. Наибольшее количество эндофитных бактерий выявлено в семействах *Fabaceae* (бобовые) и *Poaceae* (злаковые). Данная закономерность отмечена и при распределении актинобактерий, в этих семействах наблюдалось их наибольшая численность. Количество микромицетов было на один порядок меньше по сравнению с бактериями. Однако наибольшее их количество отмечено для семейства *Fabaceae* (бобовые). Исключение составля-

ли эндофитные дрожжи, так их распределение в семействах было равномерным, но меньше чем бактерий и мицелиальных грибов.

В растениях семейства *Asteraceae* отмечено богатое разнообразие культур эндофитных

микроорганизмов. Однако наибольшее количество эндофитных микроорганизмов выделено из культурных растений – люцерны (*Medicago sativa*) сорт Семиреченская местная, соя (*Glycine max*) сорт Алматы (таблица 1).

Таблица 1 - Численность эндофитных микроорганизмов в корнях растений

Виды растений	Количество проанализированных растений	Численность эндофитных микроорганизмов, КОЕ на 1 г растительной ткани			
		бактерии	актинобактерии	мицелиальные грибы	дрожжи
Семейство <i>Asteraceae</i> (Астровые)					
<i>Achillea millefolium</i> (Тысячелистник обыкновенный)	10	181,6 ± 5,2	51,5 ± 2,5	26,7 ± 1,5	31,5 ± 1,9
<i>Festuca pratensis</i> (Овсяница луговая)	10	158,7 ± 4,8	69,2 ± 3,1	23,7 ± 1,4	24,4 ± 1,7
Семейство <i>Poaceae</i> (Злаковые)					
<i>Festuca pratensis</i> (Овсяница луговая)	10	173,8 ± 5,1	49,8 ± 2,3	27,3 ± 1,3	22,6 ± 1,2
<i>Poa annua</i> (Мятлик однолетний)	10	147,9 ± 3,4	39,7 ± 2,1	-	28,3 ± 2,2
<i>Hordeum vulgare</i> (Ячмень) сорт Арна	10	152,6 ± 3,6	38,8 ± 1,9	-	29,4 ± 3,1
<i>Avena sativa</i> (Овес) Казахская 70	10	164,2 ± 3,9	75,9 ± 3,1	25,9 ± 1,6	-
Семейство <i>Fabaceae</i> (Бобовые)					
<i>Medicago sativa</i> (Люцерна) сорт Семиреченская местная	10	331,8 ± 5,4	251,4 ± 5,3	121,4 ± 5,1	34,6 ± 3,3
<i>Glycine max</i> (Соя) сорт Алматы	10	213,4 ± 4,7	123,7 ± 5,1	59,3 ± 2,6	18,2 ± 1,31

Эндофитные грибы растут в межклеточном пространстве, однако, в отличие от фитопатогенных видов, имеют с растением мутуалистические взаимоотношения. На разных органах растений эндофиты заселяются неодинаково. Они распространены в органах и тканях растительных образцов также неравномерно. У некоторых видов растений эндофиты обитают в корнях, у других в стеблях, листьях или соцветиях. Некоторые виды эндофитов заселяют все органы или находят благоприятные условия в одном из органов растения [1-2, 5, 7]. В ходе исследований были получены изоляты бактерий: из корней – 77%, из листьев – 7% , из стеблей – 13%, из соцветий и цветов – 3%; актинобактерий: из корней – 85%, из листьев – 12, из стеблей и соцветий – 3%; мицелиальных грибов: из корней – 90%, из листьев – 2%, из стеблей – 8%; дрожжей: из корней – 8%, из листьев – 2%, из стеблей – 88%, из соцветий и цветов – 2%. Как видно из таблиц 1, 2, наи-

более заселенными являются корни и стебли. Численность эндофитных микроорганизмов в этих органах растений находится в пределах от 10^2 до 10^3 . Тогда как в тканях соцветий и цветов эндофиты заселяются редко, их численность была низкой.

Для выделения эндофитной микрофлоры подобраны оптимальные питательные среды в зависимости от группы микроорганизмов. Для выделения бактерий средами, на которых отмечали максимальную численность данной группы микроорганизмов, – среды МПА и Сабуро; для актинобактерий – крахмало-казеиновая; для мицелиальных грибов – среда Чапека; для дрожжей – среда Сабуро.

Таким образом, из дикорастущих и культурных растений, произрастающих в предгорных и подгорных равнинах Заилийского Алатау, выделены бактерии, актинобактерии, мицелиальные грибы и дрожжи. Наибольшее количество эндофитных микроорганизмов выделено из кор-

Таблица 2 - Численность эндофитных микроорганизмов в стеблях растений

Виды растений	Количество проанализированных растений	Численность эндофитных микроорганизмов, 10 ² КОЕ на 1 г растительной ткани			
		бактерии	актинобактерии	мицелиальные грибы	дрожжи
Семейство растений <i>Asteraceae</i> (Астровые)					
<i>Acillea millefolium</i> (Тысячелистник обыкновенный)	10	88,5 ± 2,2	37,6 ± 1,3	22,3 ± 1,3	24,9 ± 1,9
<i>Festuca pratensis</i> (Овсяница луговая)	10	78,6 ± 2,2	46,2 ± 1,9	19,8 ± 1,1	19,4 ± 1,1
Семейство <i>Poaceae</i> (Злаковые)					
<i>Festuca pratensis</i> (Овсяница луговая)	10	82,9 ± 2,7	31,4 ± 1,5	21,6 ± 0,9	17,6 ± 0,7
<i>Poa annua</i> (Мятлик однолетний)	10	79,6 ± 1,9	28,9 ± 1,3	-	24,6 ± 1,9
<i>Hordeum vulgare</i> (Ячмень) сорт Арна	10	86,4 ± 2,3	27,6 ± 1,3	-	23,2 ± 2,7
<i>Avena sativa</i> (Овес) Казахская 70	10	85,6 ± 2,7	46,8 ± 2,7	22,7 ± 1,3	-
Семейство <i>Fabaceae</i> (Бобовые)					
<i>Medicago sativa</i> (Люцерна) сорт Семиреченская местная	10	96,7 ± 3,6	89,2 ± 2,1	97,2 ± 4,1	27,7 ± 1,6
<i>Glycine max</i> (Соя) сорт Алматы	10	94,3 ± 3,1	76,7 ± 2,9	37,8 ± 2,1	16,3 ± 1,1

моных культур – люцерна (*Medicago sativa*) сорт Семиреченская местная, Соя (*Glycine max*) сорт Алматы. При изучении распределения эндофитных микроорганизмов по разным органам растений установлено, что наибольшее количество

бактерий, актинобактерий и микроскопических грибов обнаружено в корнях и стеблях растений. В листьях и цветках растений среди эндофитных микроорганизмов обнаружены только бактерии и мицелиальные грибы.

Литература

- 1 Bacon C W., White J. F. Microbial endophytes. - New York: Marcel Dekker, 2000. - 487 p.
- 2 Zinniel DK, Lambrecht P., Harris N.B., Feng Z. et.al. Isolation and characterization of endophytic colonizing bacteria from agronomic crops and prairie plants // Appl. Environ. Microbiol. – 2002. – № 68. – P. 2198-2208.
- 3 Kobayashi D.Y., Palumbo K. Bacterial endophytes and their effects on plants and uses in agriculture // in Microbial endophytes. - New York: Marcel Dekker, 2000. - 487 p.
- 4 Недорезков В.Д. Биологическое обоснование применения эндофитных бактерий в защите пшеницы от болезней на Южном Урале: автореф. ... док. с.-х. наук: 06.02.01. – С-Пб: ВИЗР, 2003. – 41 с.
- 5 Selosse M.-A., Baudoin E., Vandenkoornhuysen P. Symbiotic microorganisms, a key for ecological success and protection of plants//C. R. Biologies. – 2004. - № 327. – P. 639–648.
- 6 Благовещенская Е.Ю. Эндофитные грибы злаков: дис. ... канд.биол.наук: 03.02.03. – М., 2006. – 138 с.
- 7 Surette M.A. Bacterial endophytes in processing carrots (*Daucus carota* L. var. sativus): Their localization, population density, biodiversity and their effects on plant growth/ // Plant Soil. 2003. - Vol. 253. - P. 381-390.
- 8 Pérez-García A., Romero D., de Vicente A. Plant protection and growth stimulation by microorganisms: biotechnological application of *Bacilli* in agriculture // Curr. Opin. Biotechnol. – 2011. -№ 22. – P. 1-7.

9 Кураков А.В. Методы выделения и характеристики комплексов микроскопических грибов наземных экосистем. - М.: МАКС Пресс, 2001. - 92 с.

10 Нетрусов А.И. Практикум по микробиологии. – М.: Издательский центр «Академия», 2005. – 608 с.

References

1 Bacon C W., White J. F. Microbial endophytes. - New York:Marcel Dekker, 2000. - 487 p.

2 Zinniel DK, Lambrecht P., Harris N.B., Feng Z. et.al. Isolation and characterization of endophytic colonizing bacteria from agronomic crops and prairie plants // Appl. Environ. Microbiol. – 2002. – № 68. – R.2198-2208.

3 Kobayashi D.Y., Palumbo K. Bacterial endophytes and their effects on plants and uses in agriculture // in Microbial endophytes. - New York:Marcel Dekker, 2000. - 487 p.

4 Nedorezkov V.D. Biologicheskoe obosnovanie primenenija jendofitnyh bakterij v zashhite pshenicy ot boleznej na Juzhnom Urale : avtoref. ... dok. s.-h. nauk: 06.02.01. – S-Pb: VIZR, 2003. – 41 s.

5 Selosse M.-A., Baudoin E., Vandenkoornhuyse P. Symbiotic microorganisms, a key for ecological success and protection of plants. - C. R. Biologies. – 2004. - № 327. – R.639–648.

6 Blagoveshenskaja E.Ju. Jendofitnye griby zlakov: dis. ... kand.biol.nauk: 03.02.03. – Moskva, 2006. – 138 s.

7 M.A. Surette Bacterial endophytes in processing carrots (*Daucus carota* L. var. *sativus*): Their localization, population density, biodiversity and their effects on plant growth/ // Plant Soil. 2003. - Vol. 253. - P. 381-390.

8 Pérez-García A., Romero D., de Vicente A. Plant protection and growth stimulation by microorganisms: biotechnological application of Bacilli in agriculture // Curr. Opin. Biotechnol. – 2011. -№ 22. – R. 1-7.

9 Kurakov A.V. Metody vydelenija i harakteristiki kompleksov mikroskopicheskikh gribov nazemnyh jekosistem. - М.: МАКС Press, 2001. - 92 с.;

10 Нетрусов А.И. Практикум по микробиологии. – М.: Издател'ский центр «Академия», 2005. – 608 с.