

3  
НОМЕР

БОНЦ

ISSN 2304-9081

ЭЛЕКТРОННЫЙ ЖУРНАЛ

<http://www.elmag.uran.ru>

# БЮЛЛЕТЕНЬ

ОРЕНБУРГСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА УРО РАН

*Vulpes corsac* Linnaeus, 1768

Корсак

Паженков А.С.



2021

**УЧРЕДИТЕЛЬ**

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ  
ОРЕНБУРГСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР  
УРАЛЬСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

© Коллектив авторов, 2021

УДК 579.64

О.А. Гоголева<sup>1,2</sup>, А.Р. Мещеров<sup>1,2</sup>, Е.А. Рязанов<sup>1</sup>,  
Д.И. Мошенская<sup>2</sup>, В.Ю. Горшков<sup>1,2</sup>

## ВЛИЯНИЕ БАКТЕРИЙ-ЭНДОФИТОВ ОЗИМЫХ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР НА РАЗВИТИЕ ЗАБОЛЕВАНИЯ, ВЫЗЫВАЕМОГО *MICRODOCHIUM NIVALE*

<sup>1</sup> Казанский институт биохимии и биофизики – обособленное структурное подразделение Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федеральный исследовательский центр "Казанский научный центр Российской академии наук", Казань, Россия

<sup>2</sup> Федеральный исследовательский центр "Казанский научный центр Российской академии наук", Казань, Россия

**Цель.** Оценить способность эндофитных бактерий, колонизирующих озимые зерновые культуры, подавлять *in vitro* развитие фитопатогенных грибов *Microdochium nivale*, а также препятствовать развитию заболеваний, вызываемых этими грибами.

**Материалы и методы.** Штаммы эндофитных бактерий выделяли из листьев и корней озимых зерновых культур (рожь, пшеница, тритикале), выращиваемых на территории Татарского НИИ сельского хозяйства, весной 2020 года. Фунгицидную/фунгистатическую активность бактерий проверяли по общепринятым методикам в отношении штаммов фитопатогенных грибов *Microdochium nivale* F00608 и F00628 из коллекции лаборатории инфекционных заболеваний растений ФИЦ КазНЦ РАН.

**Результаты.** Установлено, что некоторые бактерии-эндофиты озимых зерновых культур способны подавлять *in vitro* развитие *M. nivale*, и этот эффект, по крайней мере, отчасти, связан с продукцией бактериями экстраклеточных метаболитов, ингибирующих рост исследуемого фитопатогена. При этом прединфекционная обработка растений бактериями-эндофитами не препятствовала развитию вызываемого *M. nivale* заболевания, а даже, в некоторой степени, увеличивала интенсивность развития симптомов у инфицированных *M. nivale* растений. В то же время, прединфекционная обработка растений экстраклеточными метаболитами бактерий-эндофитов существенно повышала устойчивость растений к *M. nivale*.

**Заключение.** Среди бактерий-эндофитов зерновых культур есть такие микроорганизмы, которые подавляют *in vitro* развитие фитопатогенного гриба *M. nivale*. Однако, несмотря на то, что такие бактерии-эндофиты в условиях *in vitro* производят экстраклеточные метаболиты, ингибирующие рост *M. nivale* и повышающие устойчивость растений к исследуемому грибу, в условиях *in planta* выявленные эндофиты не проявляют свои антагонистические свойства в отношении *M. nivale*. Обнаруженные в настоящем исследовании экстраклеточные метаболиты бактерий-эндофитов зерновых культур представляются перспективным «инструментом» для защиты растений от *M. nivale*. Однако для их эффективного использования необходимы дополнительные исследования, направленные на выяснения причин, препятствующих проявлению фитопротекторного потенциала бактерий-эндофитов в условиях *in planta*.

**Ключевые слова:** *Microdochium nivale*, розовая снежная плесень, озимая рожь, бактерии-эндофиты.

O.A. Gogoleva<sup>1,2</sup>, A.R. Meshcherov<sup>1,2</sup>, E.A. Ryazanov<sup>1</sup>,  
D.I. Moshenskaia<sup>2</sup>, V.Y. Gorshkov<sup>1,2</sup>

## THE INFLUENCE OF ENDOPHYTIC BACTERIA ASSOCIATED WITH WINTER CEREALS ON DISEASE DEVELOPMENT CAUSED BY *MICRODOCHIUM NIVALE*

<sup>1</sup> Kazan Institute of Biochemistry and Biophysics, FRC Kazan Scientific Center of RAS, Kazan, Russia

<sup>2</sup> Federal Research Center "Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences", Kazan, Russia

**Aim.** To estimate the ability of endophytic bacteria colonizing winter cereals to repress the growth of phytopathogenic fungi *Microdochium nivale in vitro* and to impede the development of disease caused by these fungi.

**Materials and methods.** Strains of endophytic bacteria were isolated from leaves and roots of winter cereals (rye, wheat, triticale) grown on the territory of the Tatar Research Institute of Agriculture in the spring 2020. Fungicide/fungistatic activity of bacterial strains was assessed according standard protocols against strains of phytopathogenic fungi *M. nivale* from the collection of the Laboratory of Plant Infectious Diseases, Federal Research Center, KazSC RAS.

**Results.** Some strains of endophytic bacteria colonizing winter cereals are able to inhibit the *in vitro* growth of *M. nivale*, and such an effect is associated (at least partially) with the ability of these bacteria to produce extracellular metabolites that repress the growth of the studied phytopathogen. Herewith, the treatment of plants with endophytic bacteria before fungal inoculation not only did not prevent the development of disease caused by *M. nivale* but also increased the manifestation of the disease symptoms. However, the treatment of plants with bacterial cultural supernatants before fungal inoculation significantly increased plant resistance to *M. nivale*.

**Conclusions.** Among the endophytic bacterial strains associated with winter cereals there are those that inhibit the *in vitro* growth of *M. nivale*. However, although these endophytic bacteria produce extracellular metabolites that inhibit the *in vitro* growth of *M. nivale* and increase plant resistance to this fungus, the revealed bacteria do not manifest their antagonistic properties against *M. nivale in planta*. The revealed extracellular metabolites of endophytic bacteria represent a promising "tool" for protecting plants from *M. nivale*. However, for the effective application of these metabolites, the additional studies are required to elucidate the reasons that prevent the manifestation of the phytoprotective potential of endophytic bacteria under *in planta* conditions.

**Key words:** *Microdochium nivale*, pink snow mold, winter rye, endophytic bacteria.

### Введение

Инфекционные заболевания растений, вызываемые грибами, являются одной из основных причин снижения урожая зерновых культур во всем мире. В последние годы значительно возрос урон, наносимый озимым зерновым культурам грибами *Microdochium nivale*. Эти грибы вызывают так называемую розовую снежную плесень, а также ряд других заболеваний (пятнистости, головня, гниль всходов, стеблевая гниль и др.) в течение практически всего периода развития озимых культур (с осени до лета) [1, 2]. В настоящее время не разработаны эффективные подходы для подавления развития розовой снежной плесени и других заболеваний, вызываемых *M. nivale*. Так как розовая снежная плесень развивается преимущественно под снежным покровом

вом, использование фунгицидов не является эффективным способом контроля этого заболевания, тем более, что у *M. nivale* быстро формируется резистентность к химическим средствам защиты растений [3]. В настоящее время большое значение приобретают способы контроля инфекционных заболеваний растений с помощью биопрепаратов на основе штаммов, проявляющих антагонистическую активность в отношении фитопатогенов и/или индуцирующих иммунитет растений. В первую очередь, в качестве антагонистов фитопатогенов и индукторов фитоиммунитета могут выступать представители эндофитной микрофлоры растений.

Эндофитные микроорганизмы и, в частности, эндофитные бактерии, в норме обитают в тканях растений на протяжении всего жизненного цикла, не вызывая заболеваний. Представители эндофитной микрофлоры положительным образом влияют на рост и развитие растений-хозяев, а также повышают их устойчивость к фитопатогенным микроорганизмам. Эндофитные бактерии, в частности, способны продуцировать иммуномодуляторы, фитогормоны, летучие антимикробные вещества, инсектициды, антиоксиданты, антибиотики и т.д. [4, 5]. Продукция широкого спектра соединений эндофитной микрофлорой делает её значимой для использования в медицине, промышленности и сельском хозяйстве [6, 7]. Таким образом, эндофиты являются перспективными для поиска как новых фунгицидных соединений, так и новых антагонистов фитопатогенов и создания на их основе биопрепаратов для борьбы с заболеваниями, вызываемыми фитопатогенными грибами [8, 9].

Целью настоящего исследования была оценка способности эндофитных бактерий, колонизирующих озимые зерновые культуры, подавлять *in vitro* развитие фитопатогенных грибов *Microdochium nivale*, а также препятствовать развитию заболеваний, вызываемых этими грибами.

#### **Материалы и методы**

Штаммы эндофитных бактерий (30 штаммов) были выделены из листьев и корней озимых зерновых культур весной 2020 года. Бактериальные штаммы изолировали на среде КСА (картофельно-сахарозный агар) с гентамицином при температуре +7°C. Морфологически все выделенные штаммы были представлены разнообразными грамотрицательными и грамположительными палочками. Краткая культурально-морфологическая характеристика и отношение к окраске по Граму выделенных изолятов бактерий представлена в таблице 1.

Таблица 1. Характеристика штаммов бактерий-эндофитов, выделенных из озимых зерновых культур

№	Штамм	Хозяин	Часть растения	Характеристика колоний на КСА	При окраске по Граму	Морфология
1	002В	пшеница	лист	Белые, полупрозрачные, выпуклые, слизистые, пигмент не диффундирующий	грамотрицательные	фрагментирующиеся палочки
2	108А					
3	009Г	рожь	лист	Белые, полупрозрачные, выпуклые, слизистые, пигмент не диффундирующий	грамотрицательные	укороченные палочки
4	109Г б	пшеница	лист	Белые, непрозрачные, выпуклые, пастообразные, пигмент не диффундирующий	грамотрицательные	крупные линзовидные палочки
5	112Д А					
6	003В	рожь	лист	Светло-желтые, полупрозрачные, выпуклые, слизистые, пигмент не диффундирующий	грамотрицательные	укороченные палочки
7	Р(О)К41		корень			
8	106Б2 2Б	пшеница	лист	Светло-желтые, полупрозрачные, выпуклые, слизистые, пигмент не диффундирующий	грамотрицательные	сильно укороченные палочки
9	109Г ж					
10	404 Д2Б					
11	Т(К)з2					
12	106Б2 1А	пшеница	лист	Светло-желтые, полупрозрачные, выпуклые, слизистые, пигмент не диффундирующий	грамотрицательные	мелкие изогнутые палочки
13	106Б2 1	пшеница	лист	Светло-желтые, полупрозрачные, выпуклые, слизистые, пигмент не диффундирующий	грамотрицательные	фрагментирующиеся палочки
14	АТ(Б)К1	тритикале	корень			
15	404Д 2А	пшеница	лист	Светло-желтые, полупрозрачные, выпуклые, слизистые, пигмент не диффундирующий	грамотрицательные	мелкие тонкие палочки
16	404 В1					
17	405Б1А					
18	Р(О)К61	рожь	корень	Светло-желтые, полупрозрачные, выпуклые, слизистые, пигмент не диффундирующий	грамотрицательные	мелкие тонкие палочки
19	Р(О)К4					
20	012Г	пшеница	лист	Желтые, полупрозрачные, выпуклые, слизистые, пигмент не диффундирующий	грамотрицательные	сильно укороченные палочки
21	012Д					
22	106Б2 2	пшеница	лист	Желтые, полупрозрачные, выпуклые, слизистые, пигмент не диффундирующий	грамотрицательные	фрагментирующиеся палочки
23	П(К)С4		сухой лист			
24	Т(Б)К5	тритикале	корень	Желтые, полупрозрачные, выпуклые, слизистые, пигмент не диффундирующий	грамотрицательные	тонкие укороченные палочки
25	104А н	пшеница	лист	Ярко-желтые, полупрозрачные, выпуклые, слизистые, пигмент не диффундирующий	грамотрицательные	укороченные палочки
26	АП(Н)з4					
27	104А	пшеница	лист	Ярко-желтые, полупрозрачные, выпуклые, слизистые, пигмент не диффундирующий	грамотрицательные	фрагментирующиеся палочки
28	110в1					
29	110в2 1					
30	202В	пшеница	лист	Розовые, непрозрачные, выпуклые, пастообразные, пигмент не диффундирующий	грамположительные	крупные округлые палочки

В качестве тестируемых фитопатогенов использовали штаммы *Microdochium nivale* F00608 и F00628 из коллекции фитопатогенных грибов лаборатории инфекционных заболеваний растений ФИЦ КазНЦ РАН.

Фунгицидную/фунгистатическую активность бактерий-эндофитов зерновых культур оценивали на агаризованной минеральной среде Mineral salts agar FA No. 5 [10] с экстрактом озимой ржи (0,1%) в качестве единственного источника углерода. Экстракт ржи готовили следующим образом. Надземную часть растений срезали, взвешивали и гомогенизировали в дистиллированной воде в соотношении 1:2 (вес/объем) и фильтровали через ткань. Затем растительную массу снова смешивали со стерильной дистиллированной водой в соотношении 1:2 и фильтровали. Полученные фильтраты объединяли и центрифугировали при 5000 об/мин 10 мин. Супернатант отбирали и прогревали на водяной бане при температуре 50°C в течение 30 мин до выпадения осадка. Затем жидкость остужали и фильтровали через фильтровальную бумагу. Фильтрат центрифугировали при 5000 об/мин 10 мин. Супернатант отбирали и стерилизовали с помощью фильтрации через мембранные фильтры Minisart NML 0,2 мкм (Sartorius Stedim Biotech, Germany). Стерильный фильтрат хранили в холодильнике при -20°C.

Для оценки фунгицидной/фунгистатической активности бактерий агаровый блок с периферийной части колонии исследуемого гриба помещали на пластинку агаризованной среды с экстрактом ржи, отступив от края среды 1,5 см, и культивировали при температуре +20°C в течение 5 суток. После того как колония гриба достигала в диаметре 2,5-3,0 см к ней на расстоянии 1,5 см штрихом подсеивали исследуемые бактериальные штаммы и продолжали культивировать при температуре +20°C в течение 3 недель.

Действие бактерий-эндофитов на *M. nivale* определяли по следующим критериям:

1. Фунгицидное действие – бактериальная колония полностью подавляла рост мицелия фитопатогенов; при этом формировалась зона отсутствия роста мицелия, которая сохранялась до конца эксперимента.

2. Фунгистатическое действие – сильное замедление роста мицелия в присутствии бактериального штамма; при этом зона отсутствия роста не формировалась, а пигментация края мицелия была слабо выражена.

3. Отсутствие фунгицидного/фунгистатического действия – рост мицелия не менялся в присутствии бактериального штамма.

Фунгицидную/фунгистатическую активность экстраклеточных метаболитов бактерий-эндофитов 012Г и 110В зерновых культур оценивали на агаризованной минеральной среде Mineral salts agar FA No. 5 с экстрактом озимой ржи (0,1%) в качестве единственного источника углерода. Для этого к 15 мл минеральной среды добавляли 0,5 мл супернатанта эндофитных бактерий 012Г и 110В. Экстраклеточные метаболиты бактерий-эндофитов получали, выращивая штаммы 012Г и 110В на жидкой минеральной среде Mineral salts agar FA No. 5 с добавлением экстракта ржи в концентрации 0,1% при +20°C в течение 48 часов. После этого культуры выросших бактерий центрифугировали при 8000 об/мин, 10 мин, и затем оставшиеся клетки удаляли с помощью фильтрации через мембранные фильтры Minisart NML 0,2 мкм (Sartorius Stedim Biotech, Germany). В середину пластинки агаризованной среды, смешанной с супернатантами культур штаммов 012Г и 110В или со средой культивирования бактерий, помещали агаровый блок с периферийной части колонии исследуемого гриба и культивировали при температуре +20°C в течение 20 суток. Действие супернатантов оценивали по наличию роста субстратного и воздушного мицелия.

Влияние бактерий-эндофитов (штаммы 012Г и 110В) на развитие заболевания, вызываемого *M. nivale* F00608, оценивали на проростках озимой ржи (*Secale cereale* L.) сорта Огонек. Семена промывали и стерилизовали согласно протоколу [11] с использованием 1% SDS (2 раза по 10 мин каждый), 0,01% перманганата калия (в течение 10 мин) и гипохлорита натрия (1% и 5% в течение 5 мин каждый). Затем для 1/3 семян проводили предпосевную обработку взвесью штаммов бактерий-эндофитов 012Г и 110В в концентрации  $10^7$  КОЕ/мл; при этом семена выдерживали в бактериальной суспензии (в 10 мМ сульфате магния) в течение двух часов. Две трети семян бактериями не обрабатывали – выдерживали в стерильном 10 мМ сульфате магния в течение двух часов.

Семена проращивали в течение 2 суток при температуре 28°C в темноте. Проростки переносили в индивидуальные стерильные 50 мл стеклянные пробирки с 7 мл разбавленной в 4 раза среды Мурасигэ и Скуга [12] без органического углерода. Проростки, полученные из обработанных и необработанных бактериями семян, обрабатывали 10 мМ сульфатом магния или взвесью бактерий-эндофитов 012Г и 110В (в 10 мМ сульфате магния) в концентрации  $10^7$  КОЕ/мл за сутки до инфицирования. Инфицирование растений

проводили, помещая в пробирку агаровый блок диаметром 8 мм, вырезанный из периферийной части колонии гриба *M. nivale* F00608.

Влияние экстраклеточных метаболитов бактерий-эндофитов на развитие заболевания, вызываемого *M. nivale* F00608, также оценивали на проростках озимой ржи (*Secale cereale* L.) сорта Огонек. Подготовку семян и получение экстраклеточных метаболитов бактерий-эндофитов 012Г и 110В проводили как описано выше. Растения обрабатывали супернатантами культур бактерий (300 мкл) за сутки до инфицирования *M. nivale* F00608. Контрольные растения обрабатывали средой для выращивания бактерий. Через 20 суток после инфицирования у растений оценивали развитие симптомов заболевания – некроз стебля, листьев и количество погибших растений, а также морфометрические показатели – длину и вес побегов и корней [13].

### Результаты и их обсуждение

*Влияние бактерий-эндофитов озимых зерновых культур на рост M. nivale in vitro.*

Из 30 протестированных штаммов бактерий-эндофитов фунгицидная/фунгистатическая активность по отношению к *M. nivale* F00608 выявлена у 25 штаммов, а по отношению к *M. nivale* F00628 – у 21 штамма. Доля штаммов бактерий с фунгицидным действием была значительной по отношению к обоим штаммам гриба (табл. 2). Бактериальные штаммы, оказывающие фунгицидное действие на *M. nivale* F00608, оказывали такое же влияние и на *M. nivale* F00628. В целом, большая часть протестированных штаммов оказывала фунгистатическое действие на фитопатогены. При фунгицидном действии бактерий на *M. nivale* наблюдали уплотнение и пигментацию края колонии гриба на границе с зоной отсутствия роста. При фунгистатическом действии бактерий на *M. nivale* наблюдали замедление роста мицелия; пигментация края колонии гриба была слабо выражена или отсутствовала.

Таблица 2. Доля (%) штаммов бактерий-эндофитов озимых зерновых культур, проявлявших фунгицидное/фунгистатическое действие в отношении штаммов гриба *Microdochium nivale* F00608 и F00628

Вариант взаимодействия	<i>M. nivale</i> F00608	<i>M. nivale</i> F00628
Фунгицидное	26,7	26,7
Фунгистатическое	43,3	56,7
Влияние отсутствует	30,0	16,6



Наибольшую антагонистическую активность в отношении *M. nivale* проявили два бактериальных штамма – 012Г и 110В, которые использовали в дальнейшей работе. Эти штаммы бактерий приводили к формированию наибольшей зоны ингибирования роста грибов *M. nivale*.

*Влияние экстраклеточных метаболитов бактерий-эндофитов озимых зерновых культур на рост M. nivale in vitro.*

Для выяснения возможности влияния экстраклеточных метаболитов бактерий-эндофитов 012Г и 110В на рост *M. nivale* исследуемые грибы выращивали на агаризованной минеральной среде, содержащей экстракт ржи и супернатанты культур исследуемых штаммов. Отмечено, что на протяжении 20 суток культивирования в присутствии супернатантов бактерий-эндофитов 012Г и 110В изоляты *M. nivale* F00608 и F00628 формировали обильный воздушный мицелий, однако формирование субстратного мицелия не происходило. Таким образом, фунгицидным/фунгистатическим действием обладают как бактериальные штаммы 012Г и 110В, так и их экстраклеточные метаболиты, содержащиеся в супернатантах культур.

*Влияние бактерий-эндофитов озимых зерновых культур и их экстраклеточных метаболитов на развитие заболевания у озимой ржи, вызываемого M. nivale.*

Несмотря на то, что штаммы эндофитных бактерий 012Г и 110В подавляли рост *M. nivale* F00608 *in vitro*, эти же штаммы бактерий не препятствовали развитию заболевания, вызываемого исследуемым фитопатогеном. Более того, у обработанных бактериальными штаммами растений симптомы заболевания, вызванного *M. nivale*, были более выражены, чем у растений, необработанных бактериями (табл. 3).

При этом обработка неинфицированных *M. nivale* растений ржи штаммами бактерий-эндофитов (контроль 012Г и контроль 110В) не приводила к развитию каких-либо симптомов заболевания и не сказывалась на морфометрических показателях инокулированных растений (длина и вес побега и корня). Это означает, что проанализированные бактерии-эндофиты сами по себе не являются фитопатогенами, несмотря на то, что они в некоторой степени усугубляют развитие заболевания, вызываемого *M. nivale*.

Таблица 3. Симптомы заболевания и морфометрические показатели растений озимой ржи сорта Огонек, не инфицированных и инфицированных *M. nivale* F00608 в отсутствии или присутствии штаммов бактерий-эндофитов 012Г или 110В

Варианты	Некроз стебля, %	Некроз листьев, %	Погибшие растения, %	Высота надземной части, см	Длина корня, см	Масса надземной части, г	Масса корней, г
<b>Контроли</b>							
Контроль Инф	100	100	27	18,30±0,59	4,18± 0,17	1,30	1,03
Контроль 012Г	0	0	0	30,76±0,14	13,91± 0,19	4,29	3,56
Контроль 110В	0	0	0	31,38±0,20	14,79± 0,28	3,99	3,69
Контроль С	0	0	0	31,58±0,23	16,36± 0,25	4,46	4,13
<b>Варианты, обработанные штаммом 110В</b>							
Опыт СП	100	100	33	16,64±0,53	3,30± 0,10	1,45	0,84
Опыт С	100	100	33	16,21±1,17	4,08± 0,84	1,35	0,94
Опыт П	100	100	80	11,20±0,88	2,02± 0,16	0,75	0,82
<b>Варианты, обработанные штаммом 012Г</b>							
Опыт СП	100	100	47	17,59±0,59	3,22± 0,09	1,13	0,83
Опыт С	100	100	53	14,49±0,58	3,55± 0,13	0,94	0,76
Опыт П	100	100	58	14,69±0,55	2,85± 0,07	0,97	0,82

*Примечание:* Контроль инф – растения, инфицированные *M. nivale* в отсутствии бактерий-эндофитов; Контроль 012Г и Контроль 110В – неинфицированные *M. nivale* растения, обработанные штаммами бактерий 012Г и 110В, соответственно; Контроль С (стерильный) – неинфицированные растения, не обработанные бактериальными штаммами. Опыт СП – растения, инфицированные *M. nivale*, после предпосевной обработки семян и послевсходовой обработки побегов бактериями; Опыт С – растения, инфицированные *M. nivale*, после предпосевной обработки семян бактериями; Опыт П – растения, инфицированные *M. nivale*, после послевсходовой обработки побегов бактериями. Симптомы заболевания анализировали через 20 суток после инфицирования *M. nivale*.

При обработке растений супернатантами культур штаммов бактерий-эндофитов 012Г или 110В симптомы заболевания, вызываемого *M. nivale*, были менее выраженными, чем у необработанных супернатантами растений (табл. 4). Наибольшие различия наблюдали в варианте, обработанном супернатантом штамма 110В. У растений к 20 суткам после инфицирования наблюдали меньшее проявление некроза листьев и гибели растений. Масса надземной части и корней инфицированных растений, обработанных бактериальными супернатантами, была близка к значениям неинфицированного контроля. Обработка растений ржи супернатантами бактерий-эндофитов (контроль 012Г и контроль 110В) не влияла на развитие растений и не сни-

жала их биомассу.

Таблица 4. Симптомы заболевания и морфометрические показатели растений озимой ржи сорта Огонек, не инфицированных и инфицированных *M. nivale* F00608 в отсутствии или присутствии супернатантов культур штаммов бактерий-эндофитов 012Г или 110В

Варианты	Некроз стебля, %	Некроз листьев, %	Погибшие растения, %	Высота надземной части, см	Длина корня, см	Масса надземной части, г	Масса корней, г
Контроль Инф	100	76	78	11,25±6,51	2,5±1,0	1,77	0,41
Контроль 012Г	0	0	0	24,35±6,61	14,5±4,56	3,41	1,78
Контроль 110В	0	0	0	25,05±3,93	18,8± 4,23	3,27	1,84
Контроль С	0	0	0	21,95±2,73	15,9±7	3,10	1,78
Опыт 012Г	100	62	67	16,80±3,1	4,4±1,45	3,01	0,79
Опыт 110В	100	41	51	17,4±3,87	5,5±1,67	3,08	0,83

Примечание: Контроль инф – растения, инфицированные *M. nivale* в отсутствии супернатантов бактерий; Контроль 012Г и Контроль 110В – неинфицированные *M. nivale* растения, обработанные супернатантами штаммов бактерий 012Г и 110В, соответственно; Контроль С (стерильный) – неинфицированные растения, не обработанные бактериальными супернатантами. Опыт 012Г – инфицированные *M. nivale* растения, обработанные супернатантом бактерий 012Г; Опыт 110В – инфицированные *M. nivale* растения, обработанные супернатантом бактерий 110В. Симптомы заболевания анализировали через 20 суток после инфицирования.

Таким образом, проведенный нами скрининг эндофитных бактерий, обитающих в листьях и корнях озимых зерновых культур, позволил выяснить, что большая часть выделенных изолятов проявляет фунгицидное или фунгистатическое действие по отношению к *M. nivale*. Однако антагонистическое действие выделенных изолятов бактерий в отношении *M. nivale* не проявлялось в системе *in planta*. Одним из важных свойств эндофитных бактерий, которое делает их эффективным средством биоконтроля, является способность к быстрой колонизации тканей хозяина [14].

В исследованиях С. Васон и D. Hinton (2006), показано, что способность антагонистов распространяться по тканям растения напрямую связана с эффективным подавлением фитопатогенов [15]. Возможно, наблюдаемая нами разница в действии бактерий-эндофитов на *M. nivale* в условиях *in vitro* и *in planta* связана с разницей в скорости колонизации растений исследуемыми бактериями-антагонистами и грибами-фитопатогенами. Данное предположение подтверждается результатами, полученными при обработке инфицированных растений супернатантами бактерий-эндофитов; супернатанты культур значительно снижали степень проявления заболевания, вызываемого исследуемы фитопатогеном. Известно, что эндофитные бактерии, живущие в

тканях растений, продуцируют широкий спектр вторичных метаболитов, таких как терпеноиды, пептиды, углеводы, ароматические соединения, углеводороды и другие [16, 17]. Эти соединения играют важную роль во взаимоотношениях между микробами и растением-хозяином, обеспечивая ему защиту, повышая устойчивость к биотическим и абиотическим стрессовым факторам, влияя на иммунитет растений [6, 18].

В нашем исследовании показано, что экстраклеточные метаболиты эндофитных бактерий озимых зерновых культур повышают устойчивость растений к *M. nivale*. Однако необходимы дальнейшие исследования по выяснению природы действующих метаболитов.

### Заключение

Среди бактерий-эндофитов зерновых культур есть такие микроорганизмы, которые подавляют развитие фитопатогенного гриба *M. nivale* в условиях *in vitro*. Несмотря на то, что такие бактерии-эндофиты при культивировании производят экстраклеточные метаболиты, ингибирующие рост *M. nivale* и повышающие устойчивость растений к исследуемому грибу, в условиях *in planta* выявленные эндофиты не проявляют свои антагонистические свойства в отношении *M. nivale*. Обнаруженные в настоящем исследовании экстраклеточные метаболиты бактерий-эндофитов зерновых культур представляются перспективным «инструментом» для защиты растений от *M. nivale*. Однако для их эффективного использования необходимы дополнительные исследования, направленные на выяснения причин, препятствующих проявлению фитопротекторного потенциала бактерий-эндофитов в условиях *in planta*.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Savary S., Ficke A., Aubertot J. N., Hollier C. Crop losses due to diseases and their implications for global food production losses and food security. *Food Secur.* 2012. 4:519–537. doi: 10.1007/s00203-017-1426-6
2. Ponomareva M.L., Gorshkov V.Y., Ponomarev S.N., Korzun V., Miedaner T. Snow mold of winter cereals: A complex disease and a challenge for resistance breeding. *Theoretical and Applied Genetics.* 2021. 134(2): 419-433. doi: 10.1007/s00122-020-03725-7
3. Щербакова Л.А. Развитие резистентности к фунгицидам у фитопатогенных грибов и их хемосенсибилизация как способ повышения защитной эффективности триазолов и стробилуринов. *Сельскохозяйственная биология.* 2019. 5: 875-891. doi: 10.15389/agrobiology.2019.5.875rus
4. Khalil A.M.A., Hassan S.E.-D., Alsharif S.M., Eid A.M., Ewais E.E.-D., Azab E., Gobouri A.A., Elkelish A., Fouda, A. Isolation and characterization of fungal endophytes isolated from medicinal plant *Ephedra pachyclada* as plant growth-promoting. *Biomolecules.* 2021. 11:140. doi: 10.3390/biom11020140

5. Strobel G. The emergence of endophytic microbes and their biological promise. *J. Fungi*. 2018. 4:57. doi.org/10.3390/jof4020057
6. Eid A.M., Fouda A., Abdel-Rahman M.A., Salem S.S., Elsaied A., Oelmüller R., Hijri M., Bhowmik A., Elkelish A., Hassan S.E. Harnessing bacterial endophytes for promotion of plant growth and biotechnological applications: an overview. *Plants (Basel)*. 2021. 10: 935. doi: 10.3390/plants10050935.
7. Sharma H., Rai A.K., Dahiya D., Chettri R., Nigam P.S. Exploring endophytes for in vitro synthesis of bioactive compounds similar to metabolites produced in vivo by host plants. *AIMS Microbiol.* 2021. 7(2):175-199. doi: 10.3934/microbiol.2021012.
8. Abdalla M.A., Matasyoh J.C. Endophytes as producers of peptides: An overview about the recently discovered peptides from endophytic microbes. *Nat. Prod. Bioprospecting*. 2014. 4:257–270.
9. Павлюшин В.А., Новикова И.И., Бойкова И.В. Микробиологическая защита растений в технологиях фитосанитарной оптимизации агроэкосистем: теория и практика (обзор). *Сельскохозяйственная биология*. 2020. 55: 421-438. doi: 10.15389/agrobiol.2020.3.421rus
10. Booth C. *Methods in microbiology. II fungal culture media*. London: Academic Press, 1971. 794 p.
11. Gorshkov V., Osipova E., Ponomareva M., Ponomarev S., Gogoleva N., Petrova O., Gogoleva O., Meshcherov A., Balkin A., Potapov K., Gogolev Y., Korzun V., Vetchinkina E. Rye Snow Mold-Associated *Microdochium nivale* Strains Inhabiting a Common Area: Variability in Genetics, Morphotype, Extracellular Enzymatic Activities, and Virulence. *J. Fungi*. 2020. 4: 335. doi: 10.3390/jof6040335
12. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*. 1962. 3: 473-497.
13. Злобин Ю. А. Принципы и методы изучения ценологических популяций растений. Казань, 1989. 147 с.
14. Nawangsih A.A., Damayanti I., Wiyono S., Kartika J.G. Selection and characterization of endophytic bacteria as biocontrol agents of tomato bacterial wilt disease *HAYATI J Biosci*. 2011 18: 66-70. doi.org/10.4308/hjb.18.2.66
15. Bacon C., Hinton D. Bacterial endophytes: the endophytic niche, its occupants, and its utility. *Book Chapter*. 2006. С. 155-194.
16. El-Tarabily K.A., Sivasithamparam K. Non-streptomycete actinomycetes as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. *Soil Biology & Biochemistry*. 2006. 38(7): 1505-1520. doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.12.017.
17. Colombo E.M., Pizzatti C., Kunova A., Gardana C., Saracchi M., Cortesi P., Pasquali M. Evaluation of in-vitro methods to select effective streptomycetes against toxigenic fusaria. *PeerJ*. 2019. 7:e6905. doi: 10.7717/peerj.6905.
18. Vurukonda S.S.K.P., Giovanardi D., Stefani E. Plant growth promoting and biocontrol activity of *Streptomyces spp.* as endophytes. *Int. J. Mol. Sci.* 2018. 19(4):952. doi: 10.3390/ijms19040952.

Поступила 17.11.2021

(Контактная информация: **Гоголева Ольга Александровна** – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории инфекционных заболеваний растений Казанского института биохимии и биофизики; адрес: 420111, РФ, Татарстан, г. Казань, ул. Лобачевского, 2/31, а/я 261.; тел. + 7(843) 292-75-97, +7(843) 231-90-00; E-mail: gogolewaoa@yandex.ru;

## LITERATURE

1. Savary S., Ficke A., Aubertot J. N., Hollier C. Crop losses due to diseases and their implications for global food production losses and food security. *Food Secur.* 2012. 4:519–537. doi: 10.1007/s00203-017-1426-6
2. Ponomareva M.L., Gorshkov V.Y., Ponomarev S.N., Korzun V., Miedaner T. Snow mold of winter cereals: A complex disease and a challenge for resistance breeding. *Theoretical and Applied Genetics.* 2021. 134(2): 419-433. doi: 10.1007/s00122-020-03725-7
3. Shcherbakova L.A. Development of resistance to fungicides in phytopathogenic fungi and its chemosensitization as a way to increase the protective efficacy of triazoles and strobilurins. *Agricultural biology.* 2019. 5: 875-891. doi: 10.15389/agrobiology.2019.5.875rus
4. Khalil A.M.A., Hassan S.E.-D., Alsharif S.M., Eid A.M., Ewais E.E.-D., Azab E., Gobouri A.A., Elkelish A., Fouda, A. Isolation and characterization of fungal endophytes isolated from medicinal plant *Ephedra pachyclada* as plant growth-promoting. *Biomolecules.* 2021. 11: 140. doi: 10.3390/biom11020140
5. Strobel G. The emergence of endophytic microbes and their biological promise. *J. Fungi.* 2018. 4: 57. doi.org/10.3390/jof4020057
6. Eid A.M., Fouda A., Abdel-Rahman M.A., Salem S.S., Elsaied A., Oelmüller R., Hijri M., Bhowmik A., Elkelish A., Hassan S.E. Harnessing bacterial endophytes for promotion of plant growth and biotechnological applications: an overview. *Plants (Basel).* 2021. 10: 935. doi: 10.3390/plants10050935.
7. Sharma H., Rai A.K., Dahiya D., Chettri R., Nigam P.S. Exploring endophytes for in vitro synthesis of bioactive compounds similar to metabolites produced in vivo by host plants. *AIMS Microbiol.* 2021. 7(2):175-199. doi: 10.3934/microbiol.2021012.
8. Abdalla M.A., Matasyoh J.C. Endophytes as producers of peptides: An overview about the recently discovered peptides from endophytic microbes. *Nat. Prod. Bioprospecting.* 2014. 4:257–270.
9. Pavlyushin V.A., Novikova I.I., Boykova I.V. Microbiological protection of plants in optimization of technologies applied for phytosanitary agroecosystem: theory and practice (review). *Agricultural biology.* 2020. 55: 421-438. doi: 10.15389/agrobiology.2020.3.421rus
10. Booth C. *Methods in microbiology. II fungal culture media.* London: Academic Press, 1971. 794 p.
11. Gorshkov V., Osipova E., Ponomareva M., Ponomarev S., Gogoleva N., Petrova O., Gogoleva O., Meshcherov A., Balkin A., Potapov K., Gogolev Y., Korzun V., Vetchinkina E. Rye Snow Mold-Associated *Microdochium nivale* Strains Inhabiting a Common Area: Variability in Genetics, Morphotype, Extracellular Enzymatic Activities, and Virulence. *J. Fungi.* 2020. 4: 335. doi: 10.3390/jof6040335
12. Murashige T., Skoog F. A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum.* 1962. 3: 473-497.
13. Zlobin Yu.A. *Principles and methods of studying cenotic plant populations.* Kazan, 1989. 147 c.
14. Nawangsih A.A., Damayanti I., Wiyono S., Kartika J.G. Selection and characterization of endophytic bacteria as biocontrol agents of tomato bacterial wilt disease HAYATI J Biosci. 2011 18: 66-70. doi.org/10.4308/hjb.18.2.66
15. Bacon C., Hinton D. Bacterial endophytes: the endophytic niche, its occupants, and its utility. *Book Chapter.* 2006. C. 155-194.
16. El-Tarabily K.A., Sivasithamparam K. Non-streptomycete actinomycetes as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. *Soil Biology & Biochemistry.* 2006. 38(7): 1505-1520. doi.org/10.1016/j.soilbio.2005.12.017.
17. Colombo E.M., Pizzatti C., Kunova A., Gardana C., Saracchi M., Cortesi P., Pasquali M. Evaluation of in-vitro methods to select effective streptomycetes against toxigenic fusaria. *PeerJ.* 2019. 7:e6905. doi: 10.7717/peerj.6905.
18. Vurukonda S.S.K.P., Giovanardi D., Stefani E. Plant growth promoting and biocontrol activ-

ity of *Streptomyces spp.* as endophytes. Int. J. Mol. Sci. 2018. 19(4):952. doi: 10.3390/ijms19040952.

**Образец ссылки на статью:**

Гоголева О.А., Мещеров А.Р., Рязанов Е.А., Мошенская Д.И., Горшков В.Ю. Влияние бактерий-эндофитов озимых зерновых культур на развитие заболевания, вызываемого *Microdochium nivale*. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2021: 14с. [Электр. ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2021-3/Articles/GOA-2021-3.pdf>). DOI: **10.24411/2304-9081-2021-13004**