

МИНОБРНАУКИ РОССИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение  
высшего образования

**«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ИМЕНИ Н. Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»**

Кафедра микробиологии и физиологии растений

**АССОЦИАТИВНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ РАСТЕНИЙ РЖИ  
СОРТА «МАРУСЕНЬКА»**

АВТОРЕФЕРАТ МАГИСТЕРСКОЙ РАБОТЫ

Студента 2 курса 241 группы

Направления подготовки магистратуры 06.04.01 Биология

Биологического факультета

Неамах Али Атийах Неамах

Научный руководитель:

доцент, канд. биол. наук

\_\_\_\_\_

Е. В. Глинская

Зав. кафедрой:

профессор, доктор биол. наук

\_\_\_\_\_

С. А. Степанов

Саратов 2020

## Введение

**Актуальность темы.** Микробно - растительные взаимодействия являются основой поддержания жизни на планете. Почвенные микроорганизмы играют важную роль в плодородии почвы и питании растений. Обитая в среде, населенной огромным количеством разнообразных микроорганизмов, растение вступает с ними в тесные связи и вне этих связей не существует. Взаимоотношение растений с ризосферной микрофлорой носит характер отдельного симбиотрофизма, то есть они обоюдно полезны и растениям, и микроорганизмам [1].

Изучение микробного населения ризосферы и филлосферы основных зерновых культур в процессе их роста и развития дает возможность выявить закономерности влияния отдельных растений на формирование микробных сообществ в почве, проникнуть в сложные взаимные связи между почвенными микроорганизмами и растениями, играющими важную роль в повышении урожайности сельскохозяйственных культур и сохранении плодородия почвы. Зоны, непосредственно примыкающие к корням живых растений, являются областями активного развития микроорганизмов. Это связано, прежде всего, с выделениями из корней (экзосмосом) органических веществ, синтезированных растениями. В зависимости от многих причин интенсивность экзосмоса может быть большей или меньшей. Количество соединений, выделяемых растениями в течение жизни, может составлять до 10 % растительной массы и более. При корневом экзосмосе образуются различные органические кислоты - яблочная, янтарная, винная, лимонная, щавелевая и др. Обнаружены и сахара, представленные альдозами и кетозами, а также некоторые аминокислоты (аланин, лизин и др.). Состав продуктов экзосмоса отдельных растений в той или иной степени различается. В выделениях корней присутствуют физиологически активные соединения - витамины, ростовые вещества, иногда алкалоиды и т. д. Многие из них в некоторых количествах выделяются и надземными органами растений. Поэтому на корнях и надземных органах растений обильно размножаются сапротрофные микроорганизмы. Подобное

явление обуславливает образование биологических сообществ, основанных на взаимодействии растений с широким спектром почвенных микроорганизмов, которые поселяются на поверхности корней или проникают в растительные ткани. Получая от растений доступное органическое вещество (корневые выделения некоторых растений составляют до 30 % синтезируемой ими биомассы), почвенные микроорганизмы поставляют своим партнерам легкоусвояемые соединения азота и фосфора, синтезируют стимулирующие развитие растений фитогормоны и витамины, снижают численность и подавляют активность почвенных фитопатогенов. Состав микрофлоры зоны корня можно разделить на две группы. «Корневые» микроорганизмы, поселяющиеся на самой поверхности корня, - микроорганизмы ризопланы, и микробы, обитающие в слое почвы, прилегающем к корню, - микроорганизмы ризосферы. Количество микроорганизмов на поверхности корня и в ризосфере в сотни раз больше, чем в остальной массе почвы. В зоне молодого корня в основном размножаются неспорообразующие бактерии (*Pseudomonas*, *Mycobacterium* и т. д.). Здесь же встречаются микроскопические грибы, дрожжи, водоросли и другие микроорганизмы [2, 3].

**Цель и задачи исследования.** Цель работы – определить структуру микробных ассоциаций растений ржи сорта «Марусенька».

Задачи исследования.

1. Определить видовой состав, индекс встречаемости и количественные показатели ассоциативных микроорганизмов растений ржи сорта «Марусенька» в фенофазы кущения и цветения.

2. Изучить биологические свойства выделенных культур микроорганизмов.

3. Выявить наличие фитопатогенных бактерий в исследуемых объектах.

**Материал и методы исследования.** Работа проводилась на базе кафедры микробиологии и физиологии растений ФГБОУ ВО «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского» в период с 2019 г. по 2020 г.

Объектом исследования являлись растения ржи сорта «Марусенька», собранные на полях ФГБНУ «НИИСХ Юго-Востока» (Саратов, Россия). Растения были собраны в фенофазы кущения и цветения.

Сорт «Марусенька» выведен в ФГБНУ «НИИСХ Юго-Востока» (РФ, Саратов) методом непрерывного индивидуального отбора. Селекционная работа с сортом была начата в 1995 г. Его вывели из гибридных популяций с участием сортов Низкорослая 3, Саратовская 5 и Саратовская 6.

Высокоурожайный сорт интенсивного типа, хорошо адаптированный к различным почвенно-климатическим условиям России. Основное достоинство сорта – высокая урожайность в сочетании с хорошими технологическими качествами зерна. По содержанию незаменимых аминокислот (лизина, триптофана), а также перевариваемых сухих веществ, протеина и кормовых единиц, превосходит Саратовскую 5. Зерно сорта Марусенька может быть использовано как в хлебопечении, так и на кормовые цели [4].

**Структура и объем работы.** Работа изложена на 69 страницах, включает в себя введение, 3 главы, заключение, выводы, список использованных источников. Работа проиллюстрирована 3 рисунками и содержит 9 таблиц. Список использованных источников 122 наименования.

**Научная новизна.** Впервые изучены ассоциативные микроорганизмы растений озимой ржи в фенофазы кущения и цветения. Выделено 3 рода бактерий (*Bacillus*, *Listeria*, *Microbacterium*) и 4 рода грибов (*Aspergillus*, *Fusarium*, *Stachybotrys*, *Trichoderma*). Фитопатогенные грибы рода *Aspergillus* выделены с поверхности листьев ржи в фенофазу кущения. Фитопатогенные грибы рода *Fusarium* обнаружены на поверхности листьев ржи в фазы кущения и цветения и в почве ризосферы растений в фазе кущения.

**Научная значимость.** Проведенное комплексное исследование микробных ассоциаций растений озимой ржи открывает перспективы использования изолированных видов бактерий в качестве биологических методов ограничения численности фитопатогенных микроорганизмов.

### **Положения, выносимые на защиту.**

1. Микробные ассоциации растений озимой ржи представлены сапрофитными бактериями.
2. Видовой состав и количественные показатели ассоциативных микроорганизмов озимой ржи зависят от фенофазы развития растений.

### **Основное содержание работы**

В главе «Основная часть» представлен анализ литературных данных о злаковых культурах, их биологических и экологических особенностях, эпифитных бактериях злаков, микроорганизмах филлосферы и ризосферы, фитопатогенных микроорганизмах.

В главе «Результаты исследования» изложены экспериментально полученные данные о составе, количественных показателях, индексе встречаемости ассоциативных микроорганизмов, которые были выделены с поверхности, внутренней среды и ризосферы растений озимой ржи сорта «Марусенька» в фенофазы кущения и цветения. Представлены данные о биологических свойствах выделенных культур микроорганизмов, обнаружении фитопатогенных микроорганизмов.

В ходе проведенных исследований из 60 образцов побегов, листьев и почвы было выделено 3 рода бактерий (*Bacillus*, *Listeria*, *Microbacterium*) и 4 рода грибов (*Aspergillus*, *Fusarium*, *Stachybotrys*, *Trichoderma*).

По видовому разнообразию преобладают бактерии рода *Bacillus*, которые представлены 5 видами. Роды *Listeria* и *Microbacterium* представлены единичными видами.

Исследования микробных ассоциаций проводили в фенофазы кущения и цветения.

При исследовании микробных ассоциаций растений ржи сорта «Марусенька» в период кущения с поверхности растений методом отпечатка выделены и идентифицированы с помощью Определителя бактерий Берджи 9

видов микроорганизмов, отнесенных к 7 родам (*Bacillus*, *Listeria*, *Microbacterium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Stachybotrys*, *Trichoderma*).

С поверхности всех исследуемых проб листьев изолированы бактерии *Bacillus coagulans* и *Bacillus flexus* (индекс встречаемости 100%). Однако показатели их численности на поверхности листьев были невысокими и составили 10 КОЕ / см<sup>2</sup>.

Индекс встречаемости бактерий *Bacillus simplex*, *Listeria innocua* и грибов *Aspergillus* sp., *Fusarium* sp. и *Trichoderma* sp. был низкий и составил 40 %.

Максимальные количественные показатели были характерны для бактерий *Bacillus simplex*, *Listeria innocua*, *Microbacterium lacticum* и грибов рода *Trichoderma*.

При изучении внутренней среды растений ржи сорта «Марусенька» в фазу кущения было выделено 2 вида бактерий, отнесенных к 2 родам (*Bacillus*, *Microbacterium*).

По результатам, приведенным в таблице 2, видно, что во внутренней среде растения в период кущения присутствуют микроорганизмы *B. simplex* (10<sup>5</sup> КОЕ / г, индекс встречаемости 70 %) и *M. lacticum* (10<sup>5</sup> КОЕ / г, индекс встречаемости 70 %).

При исследовании прикорневой почвы растений ржи сорта «Марусенька» выделено 2 рода бактерий и 3 рода грибов.

Во всех исследуемых пробах обнаружены грибы рода *Fusarium* (индекс встречаемости 100%), количественные показатели которых были также высокими и достигали 10<sup>9</sup> КОЕ / г почвы.

Максимальная численность в ризосфере растений ржи была характерна для бактерий *Listeria innocua*, но обнаружены они были только в одной пробе почвы.

При исследовании ассоциативных микроорганизмов растений ржи сорта «Марусенька» в период цветения с поверхности растений выделены и идентифицированы 3 вида бактерий рода *Bacillus* и 1 вид грибов рода *Fusarium*.

По видовому разнообразию и встречаемости на поверхности листьев растений ржи доминировали бактерии рода *Bacillus*. С поверхности всех исследуемых проб листьев изолированы бактерии *Bacillus algicola* и *Bacillus flexus* (индекс встречаемости 100%). Однако показатели их численности на поверхности листьев были невысокими.

Индекс встречаемости и количественные показатели грибов рода *Fusarium*. sp. были низкими и составили соответственно 30 % и 1 КОЕ / см<sup>2</sup>.

Во всех пробах внутренней среды растений в период цветения доминировал только один вид *Bacillus halodurans*, численность его также была достаточно высокой и составила 10<sup>5</sup> КОЕ / г.

При исследовании прикорневой почвы растений ржи сорта «Марусенька» также выделен только один вид бактерий рода *Bacillus*, который присутствовал и во внутренней среде растений в фазу цветения – *Bacillus halodurans*.

Анализируя полученные результаты, можно констатировать, что наиболее разнообразно (9 видов) микробные ассоциации растений озимой ржи сорта «Марусенька» представлены на поверхности листьев в период кущения. В период цветения происходит уменьшение количества видов до 4, на этой фазе развития растений выявляется только один род бактерий и один род грибов.

Индексы общности видового состава микроорганизмов растений ржи варьируют от 0 до 67 %. Максимальный индекс общности, равный 67 %, показан для ассоциаций, выделенных с поверхности листьев и из почвы ризосферы в период кущения растений. Значительно ниже (22 %) этот показатель для ассоциаций поверхности листьев и внутренней среды растений в фазу кущения. Во внутренней среде растений и почве ризосферы в период кущения общих видов не обнаружено. Микробоценозы поверхности листьев, внутренней среды и почвы ризосферы в фазу цветения не имеют общих видов, индекс общности равен нулю.

Сравнение видового состава разных органов растений и почвы ризосферы на разных фазах развития ржи показало, что в микробных ассоциациях

поверхности листьев в периоды кущения и цветения доминируют 3 общих вида. Индексы общности видового состава внутренней среды и почвы ризосферы в фазы кущения и цветения равны нулю.

При изучении биологических свойств бактерий, изолированных с растений ржи сорта «Марусенька», использовались различные тесты для выявления активности штаммов.

Все выделенные культуры обладают каталазной активностью, не способны к использованию цитрата натрия в качестве источника углеродного питания, 67 % не способны к редукции нитратов. Все изоляты способны к фиксации молекулярного азота.

Гидролитические свойства бактерий-ассоциантов проявляются в отношении таких субстратов, как крахмал и желатин, казеин исследуемые штаммы не расщепляют.

100 % штаммов способны к утилизации глюкозы и фруктозы, сахарозу, арабинозу, ксилозу, лактозу, манит, маннозу используют единичные виды.

Изучая устойчивость штаммов к различным условиям среды, проводили их культивирование при различных показателях температуры (10 °С и 43 °С), рН среды (5, 9, 10), концентрации солей (NaCl) в среде (2 - 15 %), в анаэробных условиях.

Все выделенные микроорганизмы не выдерживают низких температур (10 °С), а при повышении температуры культивирования до 43 °С только 33 % культур способны к росту.

Диапазон рН от 5 до 10 является допустимым для роста культур на плотных питательных средах.

Концентрация хлорида натрия в среде от 2 до 10 % не лимитирует рост исследуемых бактерий.

Большинство выделенных бактерий являются широко распространенными в окружающей среде сапрофитами.

Изолированные штаммы рода *Bacillus* обитают в почве, на поверхности растений. Бактерии *Bacillus flexus* выделяются из почвы и фекалий птиц.

Обнаружены в кишечнике человека как пробиотические микроорганизмы. Вид *Bacillus coagulans* является активным антагонистом в отношении гнилостных бактерий за счет бактериоцинов, изолирован из почвы и кишечника человека. Бактерии *Bacillus halodurans* адаптирован к щелочным почвам.

Бактерии рода *Listeria* широко распространены во внешней среде. Встречаются в почве, воде, растениях. Чаще всего листерии выделяют из почвы тех полей, где травы не скашивались несколько лет, поскольку увядшая и разложившаяся трава способствует их размножению. Листерии выделяют также из сточных вод, речной воды, ила, навозной жижи. Жизнеспособность листерий в воде зависит как от величины рН, так и от жёсткости воды. Листерии способны проникать в вегетативные органы растений через корневую систему и сохраняться там в высокой концентрации в течение месяца. Таким образом, листерии способны адаптироваться к существованию в широком диапазоне условий внешней среды.

Бактерии *Microbacterium lacticum* являются сапрофитическими обитателями почвы, филлосферы и ризосферы растений.

Грибы рода *Aspergillus* можно обнаружить почти во всех богатых кислородом средах, где они обычно растут как плесень на поверхности субстрата. Как правило, грибы растут на богатых углеродом субстратах, таких как моносахариды (к примеру, глюкоза) и полисахариды (например, амилоза). Виды аспергиллов являются распространённым заражающим фактором крахмалистых продуктов (таких, как хлеб и картофель) и растут внутри либо на поверхности многих растений и деревьев. Некоторые виды вызывают серьёзные заболевания у людей и животных. Наиболее часто патогенность проявляют виды *A. fumigatus* и *A. flavus*, производящие афлатоксины, которые одновременно являются и токсинами, и гепатоканцерогенами. Они могут заражать пищевые продукты, например, орехи, семена и зерно. Распространёнными возбудителями различных аллергических заболеваний являются виды *A. fumigatus* и *Aspergillus clavatus*. Другие виды важны как патогены сельскохозяйственных культур. Представители рода вызывают

заболевания у многих зерновых, особенно у кукурузы; некоторые синтезируют микотоксины, включая афлатоксин.

Представители рода *Fusarium* имеют существенное значение как грибы, приносящие вред народному хозяйству и патогены, вызывающие заболевания или токсикозы у растений и животных, в том числе человека. Заболевания растений, вызываемые этими грибами, имеют название фузариозы, отравления животных и человека – фузариотоксикозы. Фузариозы растений могут проявляться в форме гнили корней, увядания (трахеомикозное сосудистое увядание), поражений плодов и семян; важную роль некоторые виды фузариума выполняют в развитии кагатной гнили корнеплодов. Зерно, поражённое грибом *Fusarium sporotrichioides*, содержит ядовитое вещество vomитоксин, его употребление в пищу приводит к заболеванию алиментарно-токсической алейкией («септической ангиной»); причиной отравлений могут стать и другие виды. Некоторые фузариумы способны паразитировать на коже человека, вызывая дерматиты. Кроме паразитов, известны виды, ведущие сапротрофный образ жизни, для некоторых характерен мутуализм с растениями. Симбионтные виды обитают в почве, в корневой зоне растений, их относят к микоризным грибам. Из таких видов имеют значение для сельского хозяйства *Fusarium heterosporum* и *Fusarium sambucinum*. Они живут на корнях пшеницы и положительно влияют на развитие растения.

Грибы рода *Stachybotrys* обитают в почвах, богатых целлюлозой.

Представители рода *Trichoderma* присутствуют в различных типах почв. Многие виды этого рода можно охарактеризовать как условно-патогенные авирулентные симбионты растений. Это относится к способности нескольких видов *Trichoderma* формировать взаимные эндофитные отношения с различными видами растений [5].

## Выводы

1. Состав микробных ассоциаций растений озимой ржи представлен бактериями 3 родов (*Bacillus*, *Listeria*, *Microbacterium*) и грибами 4 родов (*Aspergillus*, *Fusarium*, *Stachybotrys*, *Trichoderma*). Количественные показатели микроорганизмов варьируют в диапазоне  $10 - 10^{10}$  КОЕ / г, индекс встречаемости – от 10 до 100 % в разные фенологические фазы развития растений.

2. Бактерии рода *Bacillus* (индекс встречаемости 93 %, численность  $10^{10}$  КОЕ / г) и грибы рода *Fusarium* (индекс встречаемости 53 %, численность  $10^9$  КОЕ / г) доминируют по количеству видов и численности в микробных ассоциациях растений озимой ржи.

3. В период кущения растений индекс общности видового состава поверхности листьев и почвы ризосферы составляет 67 %, ассоциаций поверхности листьев и внутренней среды растений – 22 %, ассоциаций внутренней среды растений и почвы ризосферы – 0 %. Микробоценозы поверхности листьев, внутренней среды и почвы ризосферы в фенофазу цветения не имеют общих видов.

4. Все изолированные из растений озимой ржи ассоциативные микроорганизмы обладают протеолитическими и сахаролитическими свойствами, способны к росту на питательных средах с добавлением 2 – 10 % NaCl и в диапазоне pH 5 – 10.

5. Фитопатогенные грибы рода *Aspergillus* выделены только с поверхности листьев ржи в фенофазу кущения. Фитопатогенные грибы рода *Fusarium* обнаружены на поверхности листьев ржи в фазы кущения и цветения и в почве ризосферы растений в фазе кущения.

## Список использованных источников

1. Клевенская, И. Л. Микробо-растительные ассоциации техногенных систем / И. Л. Клевенская // Мат-лы 8 Съезда почвоведов. – Новосибирск, 1989. –Т. 25, № 8. – С. 122 – 128.
2. Дмитричева, Д. С. Ризосферные аборигенные микроорганизмы, способствующие росту и развитию растений / Д. С. Дмитричева [и др.] // Ученые записки КГАВМ им. Н.Э. Баумана. – 2011. – Т. 207, № 3. – С. 807 – 838.
3. Звягинцев, Д. Г. Методы почвенной микробиологии и биохимии : учебное пособие / Д. Г. Звягинцев. – М. : Изд-во МГУ, 1991. – 304 с.
4. Степанов, В. Н. Сорт «Марусенька» / В. Н. Степанов [и др.]. – М. : Электронный ресурс, 2018. – 354 с.
5. Подойникова, П. А. Сезонные особенности *Zea mays* в условиях их взаимодействия с грибами рода *Trichoderma* : учебное пособие / П. А. Подойникова. – М. : Сибирский федеральный университет, 2016. – 69 с.