

Введение Охрана и защита лесов от вредителей и болезней – важная проблема не только в плане их экономического значения, но и общебиологического и географического: леса определяют состояние многих видов природных ресурсов, водного баланса речных бассейнов [1], формируют местный и мировой климат, а также вносят вклад в цикл углерода. Предупреждение инфекционных болезней и улучшение роста и развития древесных растений представляет современную задачу многих специалистов-биологов. Борьба с потерями и убытками лесного хозяйства от массовой гибели лесных насаждений и снижение качества древесины в результате бактериальных и грибных заболеваний, защита сеянцев в питомниках при выращивании стандартного посадочного материала на промышленной основе должны рассматриваться с точки зрения экологической безопасности применяемых методов [2]. В основе такого безопасного и перспективного способа подавления инфекционных заболеваний, а также стимулирования роста и развития лесных древесных пород лежит использование симбиотических бактерий. Есть данные, что эндофиты, выделенные из почек сосны обыкновенной, могут улучшать рост сеянцев сосны в той же степени, как и микоризные грибы [3]. Поэтому многие эндофитные бактерии могут предоставить большие возможности для лесного хозяйства в качестве стимуляторов роста и оздоровления древесных растений. В настоящее время уже созданы и повсеместно применяются биопрепараты на основе эндофитных и ризосферных бактерий для сельскохозяйственных культур. Однако, этот положительный опыт не нашел своего применения в лесоводстве, и до сегодняшнего времени биопрепараты для лесных культур созданы не были. Целью настоящего обзора явился анализ существующих данных об эндофитных микроорганизмах древесных растений, а также потенциальных путей их применения в области лесного хозяйства. Разнообразие эндофитных симбионтов в древесных растениях К эндофитам принадлежат микроорганизмы, в основном бактерии и грибы, которые могут быть обнаружены в отдельный момент времени в тканях внешне здорового растения [4]. Большое количество работ в настоящее время направлено на изучение грибных популяций лесных деревьев, и имеется очень мало данных об эндофитных бактериях и особенно их функциях в тканях дерева [5]. Эндофитные бактерии родов *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Paenibacillus*, *Erwinia* и *Burkholderia* обнаружены практически во всех древесных тканях. Большинство исследований направлено на эндофитные бактерии, ассоциированные с корнями древесных растений, которые, по всей видимости, отличаются по разнообразию и функциям от бактерий, ассоциированных с побегами [6]. Надземная часть деревьев подвергается УФ излучению, быстро меняющейся температуре, влажности и обладает лимитированным количеством питательных веществ по сравнению с корнями. Обычно эндофитные бактерии побегов обнаруживаются при использовании культуры тканей, т.к. меристема побегов или зародышей очень часто используется как стартовый материал.

Например, эндофитные бактерии были обнаружены в культуре тканей лесного ореха (*Corylus avellana* L., *C. contorta* C.) [7], вишни (*Prunus cerasus* L.) [8], различных видах тополей, лиственницы, белой акации (*Robinia pseudoacacia* L.), ели обыкновенной (*Picea abies* Karst.) [9, 10] и сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) [11, 12]. В опытах Ульриха и соавторов [9] большая часть эндофитов 5-летних культур, выращенных из побегов и зрелых и незрелых зигот тополей, лиственницы, белой акации и ели, были идентифицированы как представители рода *Paenibacillus*. Иногда в этих культурах встречались бактерии родов *Methylobacterium*, *Stenotrophomonas* и *Bacillus* spp. *Paenibacillus* spp. не оказывал видимого негативного влияния на развитие растения, а один штамм, выделенный из культуры тополя, оказывал стимулирующее влияние на рост сеянцев [9]. Присутствие эндофитной микрофлоры в хвое отмечают многие авторы. Так, Мюллер с коллегами изучали эндофиты хвои ели обыкновенной. Всего было выделено 182 изолята, 90% от общего числа которых было идентифицировано как *Lophodermium piceae*. Основная роль этих грибных эндофитов, как было доказано в опыте, состоит в разложении хвои после ее опада [13]. Хеландер с коллегами [14] обнаруживали в хвое сосны обыкновенной следующих эндофитных грибных штаммы: *Cenangium ferruginosum* (64 % от общего числа выделенных грибных эндофитов) и *Cyclaneusma minus* (12 %). Также авторы отмечают, что старая хвоя населена микроорганизмами больше, чем молодая. Таким образом, имеются возрастные различия в эндофитной микрофлоре. Помимо этого, наблюдается и сезонная периодичность: количество эндофитов в молодой хвое нарастает в течение лета, тогда как в старой хвое численность ассоциативной микрофлоры не изменяется. Отмечается, что наиболее распространёнными бактериальными эндофитами почек сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) являются штаммы *Methylobacterium extorquens* и *Pseudomonas synxantha* [12]. Другие авторы так же сообщают, что *Methylobacterium* spp. – доминирующие представители эндофитной микрофлоры почек сосны обыкновенной [15], симбиоз которых положительно влияет на рост и развитие растения-хозяина. В опытах было доказано, что инокуляция сеянцев сосны обыкновенной штаммом *Methylobacterium extorquens* увеличивает образование боковых корней, стимулирует их рост, а также увеличивает биомассу надземной части сеянцев по сравнению с контрольными образцами. Некоторые исследователи отмечают о наличии в почках и представителей микобактерий. Пирттила и коллеги изучили локализацию и распределение эндофита *Mycobacterium* sp. в почках сосны обыкновенной [16]. Примечательно, что данные бактерии в изобилии присутствовали до удлинения и дифференцировки почки, но как только ткани полностью сформировались, микобактерии больше не обнаруживались, и метаболическая активность эндофитов восстанавливалась только к следующему сезону роста. Помимо бактерий, в почках сосны обнаруживаются и представители микромицетов.

Этими же авторами из почек сосны обыкновенной было изолировано 2 эндофитных гриба: *Hormonema dematioides* и *Rhodotorula minuta* [17].

Эндофитные бактерии также содержатся и в репродуктивных органах хвойных деревьев. Бактерия *Enterobacter cloacae* была выделена из пыльцы *Pinus halepensis* и *P. pinea* и оплодотворённых яйцеклеток *Pinus brutia* [18]. В пыльце сосны обыкновенной эндофиты обнаружены не были, однако спорогенные клетки мужских цветков содержали эндофиты в виде биоплёнкоподобных структур (согласно данным, полученных методом *in situ* гибридизации) [5].

Меньшее количество эндофитов было обнаружено в женских соцветиях сосны обыкновенной, несмотря на то, что зародыши семян были хорошо заселены бактериальной микрофлорой [5]. Были также выделены бактериальные эндофиты рода *Rahnella* из зародыша и эндосперма семян ели обыкновенной [19]. Отмечается, что количество эндофитов в семенах ели со временем снижается [19]. Пыльца и семена других лесных деревьев изучены крайне мало. Были выделены эндофиты таких родов, как *Bacillus*, *Enterococcus*, *Paenibacillus* и *Methylobacterium*, из семян и сеянцев эвкалиптов (*Eucalyptus*) [20]. Специфичные штаммы *Bacillus*, *Paenibacillus* и *Enterococcus* присутствовали сразу и в семенах, и сеянцах, выращенных из семян, что подтверждает вертикальный транспорт эндофитов. В аналогичных опытах эндофитный штамм *Pantoea agglomerans* был выделен из *E. grandis*, помечен GFP (от англ. «green fluorescent protein» зеленый флуоресцентный белок) и инокулирован в семена двух видов и одного гибрида эвкалипта. И затем наблюдали колонизацию с помощью флуоресцентной микроскопии. Колонизация сеянцев была подтверждена для *E. grandis* и гибрида *E. grandis* x *E. globulus*, и не подтверждена для *E. urophylla*. Штамм заселял корни сеянцев (в основном межклеточных пространства) и ксилемные сосуды стебля. Отмечается, что ни один лист сеянцев GFP-помеченным штаммом колонизирован не был, что говорит об отсутствии горизонтального транспорта. Присутствие эндофитной микрофлоры в семенах норвежской ели было показано с использованием культуральных и молекулярно-генетических методов [19]. Оба подхода выявили непатогенных представителей рода *Pseudomonas* и *Rahnella*.

Гвоздяком с соавторами [21] из семян сосны обыкновенной (класс качества – I-III) были изолированы облигатные фитопатогенные (*Pseudomonas syringae*, *Erwinia carotovora*, *E. nimipressuralis*), факультативные фитопатогенные (*Pseudomonas fluorescens*, *Pantoea agglomerans*) и сапротрофные (*Bacillus subtilis*, *B. pumilus*, *Paenibacillus polymyxa*) бактерии, а также грибы из родов *Mucor*, *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Penicilium*, *Alternaria*, *Acremonium* и дрожжи (р. *Torula*).

Физиологическая активность эндофитных бактерий Бактериальные эндофиты колонизируют экологические ниши, сходные с таковыми фитопатогенов, что позволяет функционировать им как агентам биоконтроля [22]. Этот факт подтверждается многочисленными исследованиями, в которых показана способность эндофитных микроорганизмов подавлять рост растительных

патогенов [23, 24, 25], насекомых [26] и нематод [27, 28]. Помимо этого, эндофитные бактерии способны улучшать появление всходов, а также оказывать стимулирующее воздействие на рост и развитие растения [29, 30]. Подобно действию многих ризосферных бактерий, механизмы положительного влияния эндофитов можно разделить на две группы: непосредственное влияние на рост путем продукции веществ-стимуляторов и/или опосредованное действие через ингибирование фитопатогенов. В большинстве исследований отмечается позитивное влияние эпифитных и эндофитных бактерий, главным образом бактерий рода *Methylobacterium*, на органо- и эмбриогенез древесных растений [31, 32, 33, 34]. Метилотрофы обладают уникальной способностью утилизировать метанол и метан и использовать в качестве источника энергии, и являются экологически важными организмами, поскольку они минимизируют выброс метанола и метана растениями в атмосферу [35, 36, 37]. В литературных данных часто отмечается, что многие эндофитные бактерии способны улучшать рост растения-хозяина. Так, Канкаром и коллегами были изолированы бактериальные штаммы из семян ели обыкновенной (*Picea abies* L. Karst), принадлежащие родам *Pseudomonas* и *Rahnella*, которые в опытах проявляли ростостимулирующую активность [19]. Эндофитные бактерии способны переводить атмосферный азот в формы, доступные для усвоения, и тем самым стимулировать рост растительного хозяина [38, 39]. Наряду с фиксацией атмосферного азота и улучшением азотного питания ассоциативные микросимбионты синтезируют фитогормоны – ауксины, цитокинины и гиббереллины. Стимулирующий эффект заключается в том, что экзогенные фитогормоны вызывают усиленный рост корневой системы растения, что, в свою очередь, приводит к улучшению минерального питания. Визуально это выражается в приросте биомассы, в частности, корневой системы. Эндофитные микроорганизмы способны синтезировать антибиотики и экзоферменты с антагонистическими свойствами по отношению к широкому кругу фитопатогенов [40]. Сумара с соавторами [41] были выделены эндофиты из белой восточной сосны (*Pinus strobus*), метаболиты которых (алифатический поликетид, пиренофорол и впервые выделенное вещество неизвестной структуры) обладают фунгицидной активностью против ржавчины *Microbotryum violaceum* и *Saccharomyces cerevisiae*. Перспективы использования эндофитных бактерий Одним из прикладных направлений в биологии семян является разработка методов обработки, позволяющих улучшить прорастание семян, а также защитить их от фитопатогенов. Внедрение штаммов эндофитных бактерий во внутренние структуры семян рассматривают как перспективный способ расширения физиологических возможностей семян. В литературе данный метод биологической обработки семян получил название биопрайминга [42]. В отличие от других методов обработки, при которых бактериальные клетки наносят на поверхность семян, биопрайминг предполагает проникновение бактерий во внутренние ткани. Колонизируя

внутреннюю среду, бактерии выдерживают процедуру сушки и длительное хранение семян [42]. Постоянное присутствие эндофитных симбионтов снижает вероятность инфицирования семян патогенами, а также стимулирует прорастание семян. В последнее десятилетие отмечается устойчивый рост применения биопрепаратов в растениеводстве в России, производственные испытания которых подтверждают их высокую экономическую эффективность. К преимуществам микробиологических препаратов в отличие от химических можно отнести безопасность использования, снижение химической нагрузки на агроценоз и ландшафт прилегающих территорий, восстановление нормальной структуры микробиоценоза обрабатываемых почв. Биопрепараты подавляют возбудителей болезней, при этом «включая» собственные иммунные механизмы растения, увеличивают устойчивость обработанных растений к неблагоприятным климатическим условиям, обеспечивают фиксацию атмосферного азота и мобилизуют запасы элементов питания из почвы. В связи с этим другим перспективным способом применения эндофитных бактерий древесных растений могут стать микробиологические препараты для лесного хозяйства, которые до настоящего момента созданы не были, поэтому их разработка является весьма актуальной и своевременной. Авторами работ [43, 44] выделены эндофитные бактерии из семян сосны обыкновенной и ели гибридной, проявляющих фунгицидную и ростостимулирующую активность. Выделенные штаммы планируется использовать при создании биопрепаратов для стимулирования развития и роста лесных культур. Таким образом, к настоящему времени накоплен большой экспериментальный материал, доказывающий огромное и разнообразное значение эндофитной микрофлоры в жизни древесных растений. Способность стимулировать рост растений, улучшать питание, выделять гормоны, снижать заболеваемость растений, повышать устойчивость к абиотическим стрессовым факторам позволяет эндофитным бактериям стать потенциальными эффективными агентами в биологической защите лесных культур.