

Растительно-микробные
взаимодействия как основа
устойчивого растениеводства

- Сегодня все больше внимания уделяется развитию экологически устойчивых систем сельскохозяйственного производства , в которых продуктивность растений и животных обеспечивается использованием их биологических возможностей, при минимальном использовании минеральных удобрений, пестицидов и регуляторов роста.
- Один из основных способов достижения этой цели – частичное или полное замещение агрохимикатов препаратами симбиотических микроорганизмов, которые в природе успешно обеспечивают своих хозяев питательными веществами и защищают их от биотических и абиотических стрессов.

Изучение взаимодействий между растения и микроорганизмами – одно из увлекательных и бурно развивающихся направлений современной биологии

- Исследование растительно-микробных взаимодействий восходит к трудам Антона де Бари, который сформулировал концепцию **симбиоза**.
- Симбиоз он определил как «сожительство разноименных организмов» (1879).



Основные типы микробно-растительных симбиозов

(по Тихонович И.А., Проворов Н.А., 2009)

Роль в жизни растений	Механизмы действия	Наиболее изученные микросимбионты
Улучшение минерального питания	Фиксация молекулярного азота	Ризобии (<i>Rhizobium</i> , <i>Sinorhizobium</i> , <i>Bradyrhizobium</i> , <i>Mezorhizobium</i> , <i>Azorhizobium</i>), <i>Frankia</i> , <i>Nostoc</i> , <i>Azospirillum</i> и др.
	Мобилизация минеральных веществ из почвы	Микоризные грибы, фосфатмобилизующие бактерии
Защита от фитопатогенов	Ингибирование патогенов (синтез антибиотиков, конкуренция за питательные субстраты), активация защитных систем растений	Ризосферные и эндосимбиотические бактерии и грибы
Защита от растительноядных животных	Синтез токсинов	Эндوفитные микроорганизмы: грибы-аскомицеты (сем. <i>Clavicipitaceae</i>), коринефомные бактерии (<i>Clavibacter</i>)
Адаптация к стрессам	Накопление пролина, адсорбция тяжелых металлов	Ризосферные бактерии
Регуляция развития	Модификация развития корней (синтез фитогормонов)	Микоризные грибы, ризосферные бактерии
	Образование новых органов	Ризобии, <i>Frankia</i> , <i>Nostoc</i>
	Стимуляция эмбриогенеза	Микоризные грибы в симбиозе с орхидными

Использование микробно-растительных взаимодействий для улучшения питания растений

- **Симбиозы растений с азотфиксирующими микроорганизмами**

Усвоение молекулярного азота атмосферы бактериями носит название биологической азотфиксации.

Азотфиксирующие микробно-растительные симбиозы могут быть разделены на три группы: внутриклеточные, эндофитные и ассоциативные.

К группе **внутриклеточных** (симбиотических) азотфиксаторов относят бактерий, развивающиеся внутри клеток в образованных на корнях, листьях или стеблях клубеньках.

Эндофитные бактерии развиваются в межклетниках, сосудах или внутренних полостях растения.

Ассоциативные бактерии локализуются на поверхности корней и надземной части растений. К ним относятся

Симбиозы азотфиксирующих микроорганизмов и растений (по Тихонович И.А., Проворов Н.А., 2009 с изм.)

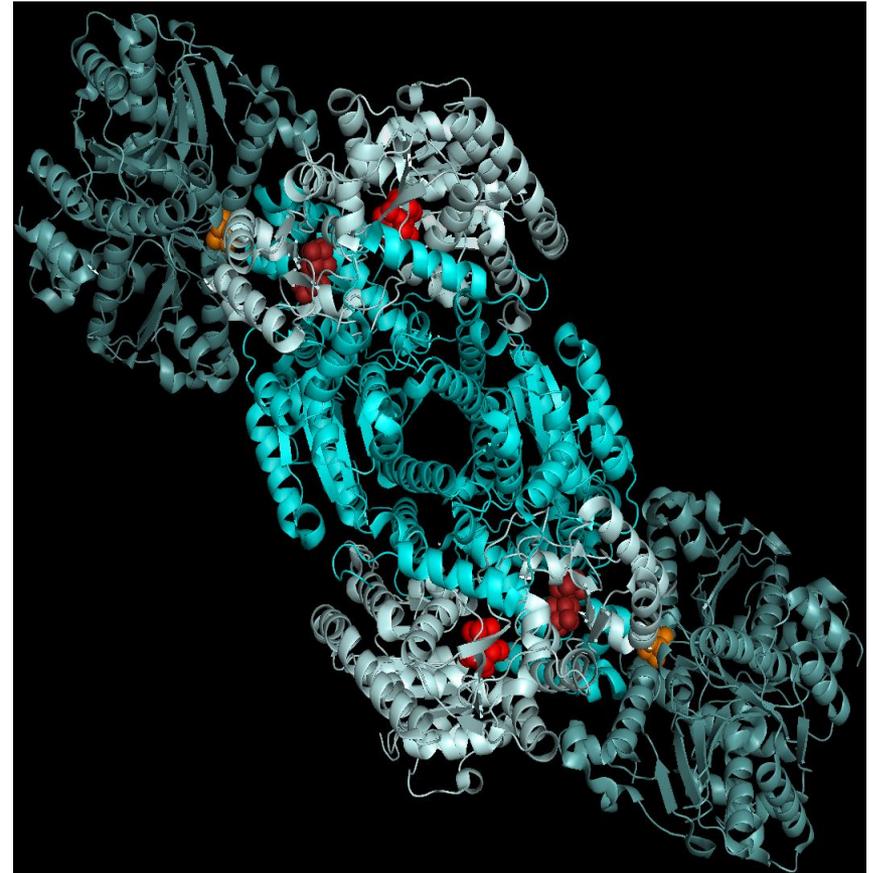
Группы симбиозов	Симбиозы с участием		
	эубактерий	цианобактерий	актиномицетов
внутриклеточные	Ризобии-бобовые	<i>Nostoc-Gunnera</i>	<i>Frankia</i> -лох, облепиха
эндофитные	<i>Azoarcus, Acetobacter, Herbaspirillum</i> - злаковые	<i>Nostoc/Anabaena - Azolla;</i> <i>Nostoc</i> -печеночники	Нет данных
ассоциативные	<i>Azospirillum, Enterobacter</i> -разные растения	<i>Nostoc-Sphagnum</i>	Нет данных

Генетика азотфиксации

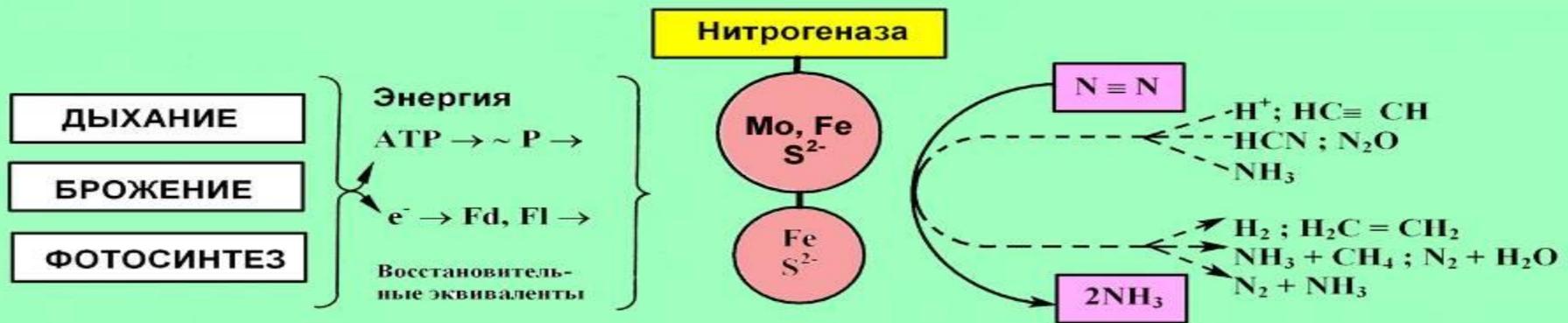
- Гены, вовлеченные в процесс азотфиксации, обозначаются индексами *nif* и *fix*.
- Комплекс *nif*-генов, которые кодируют синтез и регуляцию фермента, восстанавливающего азот (нитрогеназа), имеются лишь у некоторых прокариот. У эукариот *nif*-гены пока не обнаружены.
- У некоторых азотфиксирующих микроорганизмов *nif*-гены активизируются при отсутствии других источников азота кроме N_2 (дiazотрофы). У некоторых (*Rhizobium*, *Frankia*) *nif*-гены активизируются только в симбиозе с растениями. Некоторые бактерии совмещают способность к diaзотрофии и симбиотической азотфиксации.

Структура нитрогеназы

- Нитрогеназа состоит из белков трех типов и двух кофакторов : MoFe-кофактор и Fe-кофактор.
- Эти компоненты организованы в две субъединицы: большую дегидрогеназу и малую – редуктазу дегидрогеназы.
- Восстановление азота происходит при взаимодействии с дегидрогеназой, которая получает активированные электроны от редуктазы дегидрогеназы.



Участие нитрогеназы в трансформации различных соединений



- Синтез нитрогеназного комплекса у микроорганизмов непосредственно кодируется *nif*-генами, которые либо входят в состав бактериальной хромосомы (*Klebsiella*, *Bradyrhizobium*), либо существуют в форме огромной мегаплазмиды (*Rhizobium*). Остальные гены, участвующие в азотфиксации (кроме *nif*-генов), относятся к *fix*-генам.
- Гены *nif* высококонсервативны, поэтому при переносе в другие виды бактерий продукты указанных генов легко «вписываются» в метаболизм нового хозяина. Следовательно, способность к связыванию азота может передаваться от одной бактерии к другой при прямом межклеточном контакте.

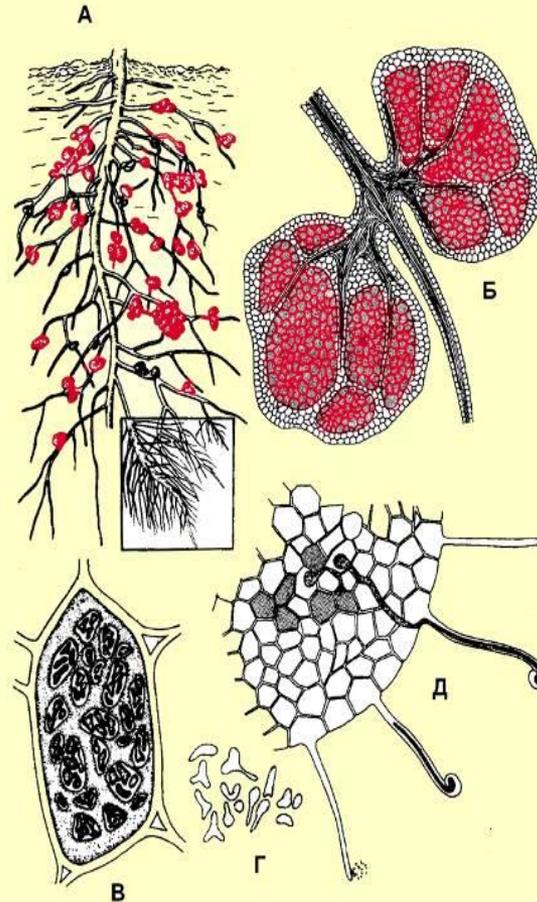
Бобово-ризобиальный симбиоз

Симбиоз бобовых растений и клубеньковых бактерий - одна из наиболее эффективных систем биологической азотфиксации, имеющая огромное экологическое и практическое значение.



Онтогенез клубеньков

- А – корень гороха с клубеньками
- Б – клубеньки в разрезе
- В – растительная клетка, заполненная бактериями
- Г – бактериоиды
- Д – внедрение бактерий через корневые волоски

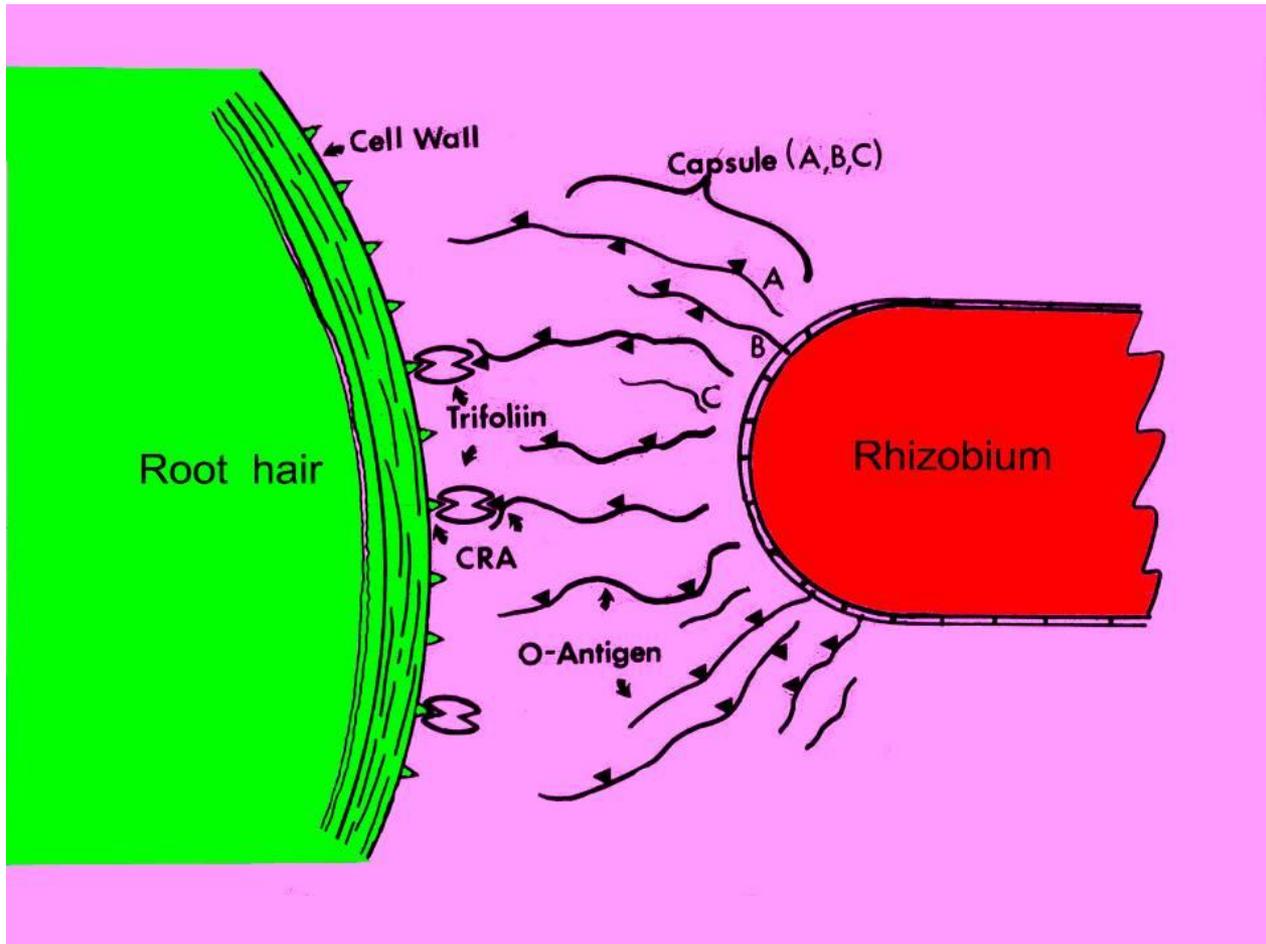


Видовая специфичность клубеньковых бактерий

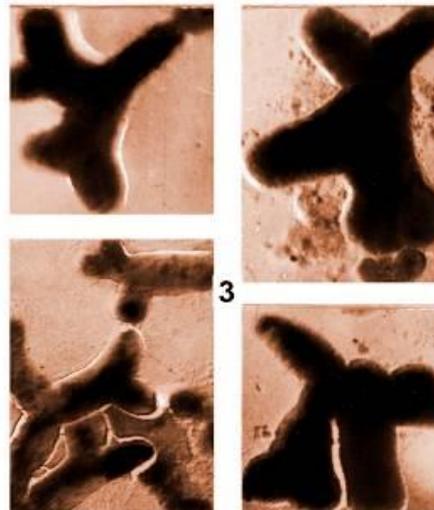
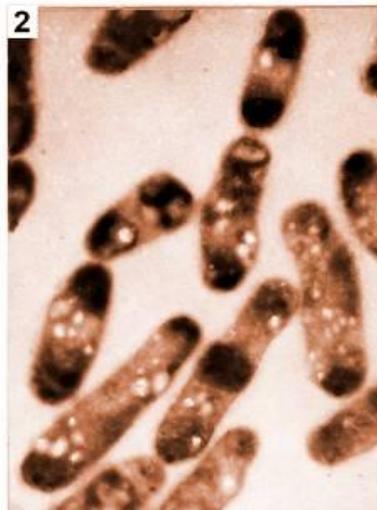
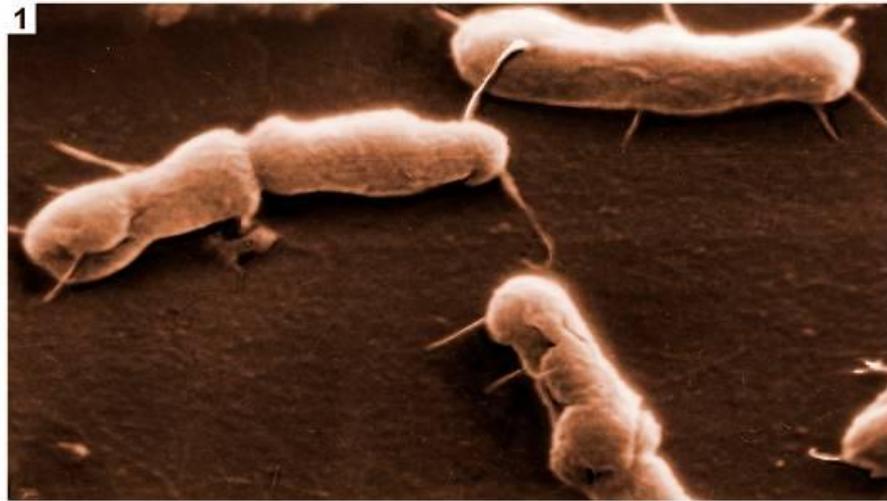
Клубеньковые бактерии формируют симбиотические ассоциации с бобовыми растениями семейства *Leguminosae*.

Клубеньковые бактерии характеризуются видовой специфичностью (избирательностью) по отношению к растению-хозяину. Определенный вид бактерий обычно образует клубеньки только на одном или нескольких видах бобовых растений. Так, *Rhizobium leguminosarum* инфицирует горох, вику, кормовые бобы и чечевицу; *Rhizobium phaseoli* – фасоль; *Bradyrhizobium japonicum* – сою; *Bradyrhizobium lupini* – люпин; *Bradyrhizobium vigna* – вигну, маш и арахис и т.д.

Узнавание партнеров («лектиновая» гипотеза определения симбиотической специфичности)



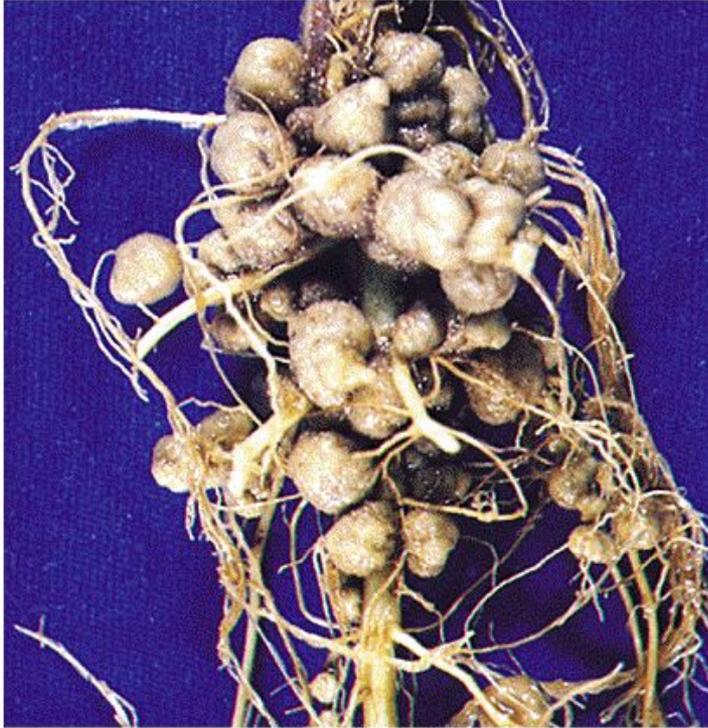
Цитодифференцировка ризобий при симбиозе с бобовым растением



Клубеньки бобовых

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.

Nodules of a legume



Courtesy Nitragin Company, Inc.



Ассоциативная азотфиксация

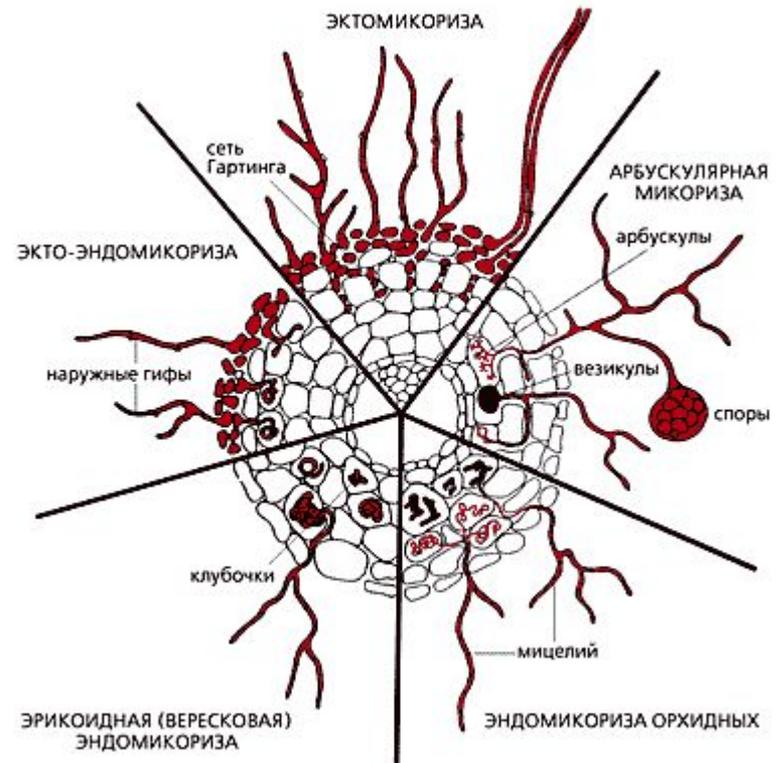
В ризосфере небобовых растений достаточно широко распространены ассоциативные азотфиксирующие бактерии родов *Azospirillum* (*A. lipoferum*, *A. brasilense*, *A. amazonense*, *A. halopraeferans*), *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Erwinia*, *Citrobacter*, *Bacillus* (*B. polymyxa*, *B. macerans*, *B. azotofixans*) и др.

Рост и развитие ассоциативных бактерий связаны с поступлением к ним от растений легкодоступных источников углерода и энергии в виде корневых выделений (сахаров, органических кислот и других органических веществ), а также корневого отпада и опада.

За счет ассоциативной азотфиксации фиксируется от 10-20 до 45-80 кг/га азота в год.

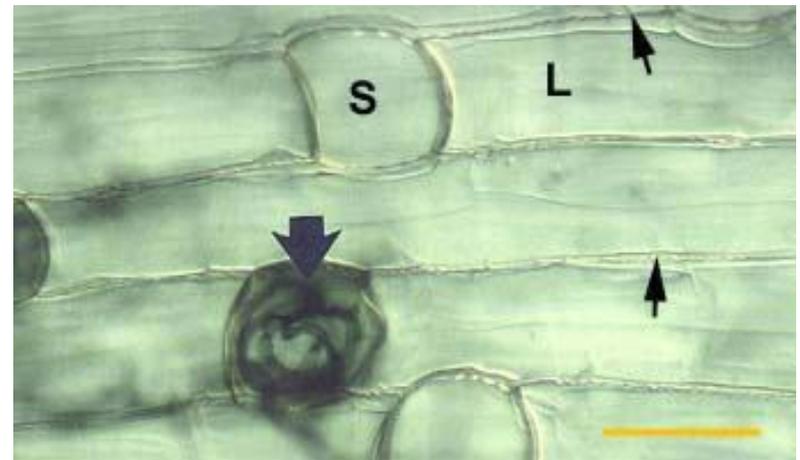
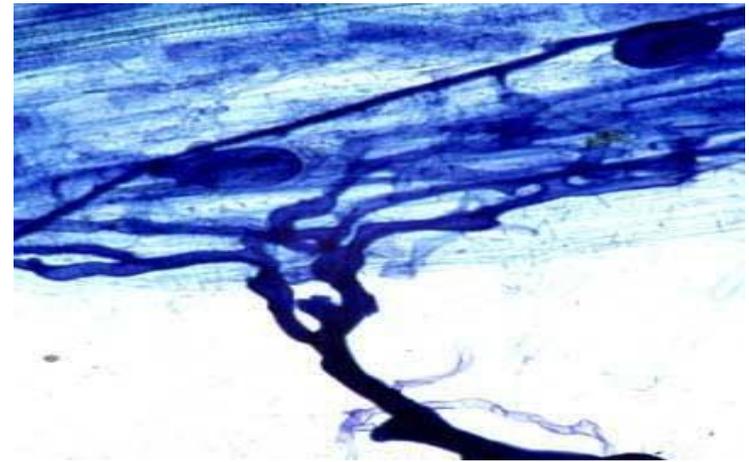
Микориза

- Микориза – сложный симбиоз грибов с корнями высших растений.
- Различают три типа микориз: эндотрофную, эктотрофную и экто-эндотрофную.



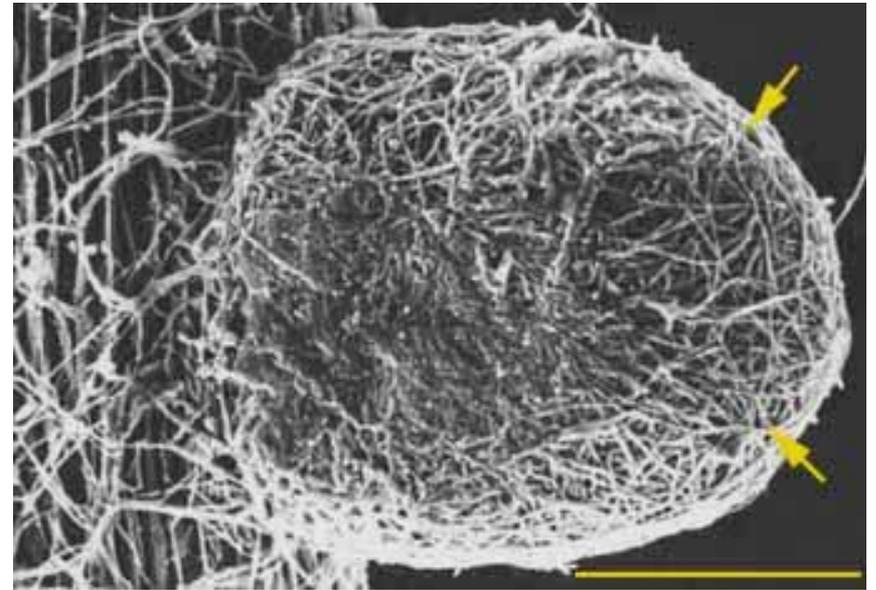
Эндотрофная микориза

- Мицелий гриба распространяется преимущественно внутри тканей корня и относительно мало выходит наружу.
- При этом часто образуются клубки гиф – везикулы и внутриклеточные разветвления в виде гаусторий – арбускулы. Такой тип микоризы называют арбускулярной.
- Она образуется микроскопическими грибами из отделов *Zygomycota*, *Ascomycota* или анаморфными грибами.
- Эндотрофная микориза встречается у многих травянистых растений.



Эктотрофная микориза

- На корнях формируется чехол из гиф. Собственных корневых волосков корень при этом не образует.
- Такая микориза характерна для древесных растений и редко встречается у травянистых.



Экто-эндотрофная микориза

- При таком типе микоризы гифы гриба густо оплетают корень снаружи и в тоже время проникают в коровую паренхиму.
- Мицелий идет по межклетникам, отчасти внутриклеточно, образуя в клетках везикулы и арбускулы.
- Наружные свободные гифы гриба широко расходятся в почве от корня, заменяя ему корневые волоски.
- Такая микориза характерна для древесных пород, Ее образуют микромицеты из отдела Basidiomycota (это преимущественно шляпочные грибы)

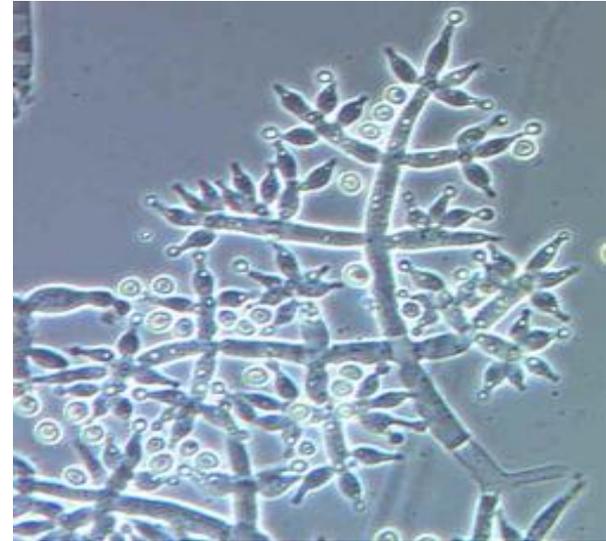
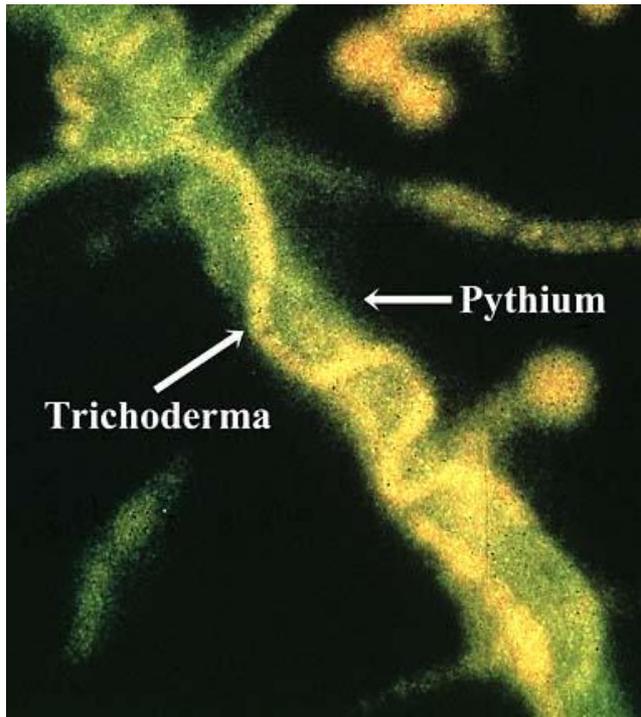


Экологическое значение микоризы

- Роль в питании растений. Микоризные грибы не только являются поставщиками питательных веществ из почвы, но и осуществляют их перераспределение между растениями . Можно рассматривать растительно-грибное сообщество как «социальный комплекс» , в котором микоризные грибы выполняют функцию интеграции членов экосистемы. Микоризы более эффективно выполняют функции осмотрофного питания растений, чем корневые волоски.
- Защита растений от широкого спектра биотических и абиотических стрессов, в том числе и от корневых патогенов. Наиболее этот эффект выражен у эктомикориз.

Защита от фитопатогенов

- Ингибирование патогенов



Триходерма как агент биоконтроля

Суммарное количество органических кислот и сахаров (мкг/раст.) в
корневых выделениях при выращивании на среде PNS (M±m)
(по Кравченко Л.В. и др., 2011)

Культура, сорт по каталогу ВИР	Органические кислоты	Сахара
Овощные культуры		
Томат, сорт Кармелло	53,5 ± 5,8	2,6±0,4
Огурец, сорт Грендель	23,0±3,0	7,0±0,9
Сладкий перец, сорт Spitfire	48,3±5,2	6,5±0,8
Гексаплоидная пшеница <i>Triticum aestivum</i>		
Сорт Безостая 1	79,45 ± 8,2	253,0 ± 27,1
Сорт Обелиск	19,7±2,4	249,3±26,1
Сорт Buchanan	49,1±5,4	158,9±17,0
Сорт Finley	22,6 ± 3,0	209,3 ± 21,4
Диплоидная пшеница		
<i>T. boeoticum</i> (К-40117)	28,3±3,2	55,5±5,8
<i>T. monosocum</i> (К-46750)	17,1±1,9	28,1±3,1

Качественные состав корневых выделений некоторых растений при выращивании на среде PNS (M±m)

(по Кравченко Л.В. и др., 2011)

Культура, сорт по каталогу ВИР	Органические кислоты	Сахара
Овощные культуры		
Томат, сорт Кармелло	лимонная 79%, янтарная 14%	фруктоза 54%; глюкоза 29%
Огурец, сорт Грендель	яблочная 32,4% ; янтарная 41,4%	глюкоза 70,5%
Сладкий перец, сорт Spitfire	лимонная 45,3%; яблочная 30,6% янтарная 23,5%	глюкоза 54%; фруктоза 43,3%
Гексаплоидная пшеница <i>Triticum aestivum</i>		
Сорт Безостая 1	яблочная >90%	мальтоза 19,5%; мелибиоза 66,5%
Сорт Обелиск	яблочная 55,3%	мальтоза 61,0%; мелибиоза 8,0%
Сорт Buchanan	яблочная 39,7%; янтарная 56,8%	Нет данных
Сорт Finley	яблочная 39,7%; янтарная 56,8%	Нет данных
Диплоидная пшеница		
T. boeoticum (К-40117)	Янтарная кислота 90%	мальтоза 66,0%; фруктоза 17,4%, глюкоза -7,7%
T. monosocum (К-46750)	Янтарная кислота 90%	мальтоза 63,5%; фруктоза 11,7%, глюкоза -10,0%

- Повышение доли сахаров в корневых выделениях может ослабить конкуренцию ризобактерий и фитопатогенных грибов за источники питания. Что приведет к снижению фитопатогенной нагрузки как за счет повышения активности ризобактерий, так и за счет уменьшения агрессивности фитопатогена.

Продуктивность овсяницы красной сорта Юлишка и синтетических популяций Ю1-Ю5 Syn1 на четвертый год жизни, данные 2008 г.

Образец овсяницы красной	Вариант инокуляции	Сухое вещество			
		2008 г.		Сумма 2006-2008 г	
		кг/1,5 м2	%	кг/1,5 м2	%
Юлишка	Без инокуляции	0,73	100	1,89	100
Ю1 Syn1	Мизорин	1,52	210	3,10	164
Ю2 Syn1	Флавобактерин	1,6	220	3,28	173
Ю3 Syn1	Мобилин	1,68	231	3,27	173
Ю4 Syn1	Азоризин 6	1,63	224	3,37	178
Ю5 Syn1	Азоризин 8	1,52	209	3,28	173
НСР 05		0,16	23	0,21	11
НСР01		0,23	32	0,29	15

Посевы овсяницы красной сорта Юлишка и гибрида Ю5 Syn1 на четвертый год жизни

- Слева - исходный сорт Юлишка
- Справа – гибрид Ю5 Syn1 с повышенной симбиотрофностью



- **Интенсивные технологии сельского хозяйства** – максимальное приближение к промышленному производству; основа – управление развитием культурных растений, посредством искусственных приемов (применение агрохимикатов, агротехнические приемы). Селекция растений, направленная, например, на повышение эффективности использования удобрений.

- **Адаптивные технологии сельскохозяйственного производства** получение продукции путем использования биологических возможностей культивируемых организмов при минимальной антропогенной нагрузке на агроценозы.
- Для таких технологий не подходят сорта интенсивного типа, которые в силу своих генетических особенностей утратили способность полноценного взаимодействия с полезной микрофлорой.
- Необходима перестройка селекции и генной инженерии растений – создание «адаптивных» сортов, обладающих высокой продуктивностью за счет потенциала симбиотических связей, сформировавшихся в ходе длительной коэволюции растений с окружающими организмами.

Пути решения этой задачи:

- воссоздание в условиях агропроизводства естественных биоценологических (симбиотических) связей между растениями и полезной микрофлорой;
- качественное улучшение природных растительно-микробных систем, придание им дополнительных адаптивных функций;
- Конструирование принципиально новых симбиотических комплексов.

Общие принципы решения и основные методические подходы

- **Оценка симбиотических признаков при доместикации и селекции растений** (Применение коэффициента симбиотической эффективности: $E = (M_c/M_a)100\%$, где M_c и M_a – показатели продуктивности растений, определенные в условиях, оптимальных для симбиотрофного и автотрофного питания азотом соответственно .
- **Формирование новых популяций микросимбионтов** . Возможны несколько сценариев: 1. генетические процессы в популяции микросимбионта ограничены его адаптацией к новым местным условиям; 2. адаптация интродуцируемых растений к местной микрофлоре благодаря их генетическим модификациям; 3. образование принципиально новых симбиозов (перенос симбиогенов в местные бактерии из исходных симбионтов, сопровождающих растение – хозяина).
- **Полиморфизм симбиоза как основа для его генетического улучшения**. Вовлечение в селекцию дикорастущих и мало окультуренных форм. Создание сорто-микробных систем.