

ЭНДОФИТНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ В ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ И СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ

© Е.Н. Васильева^{1,2}, Г.А. Ахтемова², В.А. Жуков², И.А. Тихонович^{1,2}

¹ ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург;

² ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», Санкт-Петербург

Для цитирования: Васильева Е.Н., Ахтемова Г.А., Жуков В.А., Тихонович И.А. Эндوفитные микроорганизмы в фундаментальных исследованиях и сельском хозяйстве // Экологическая генетика. – 2019. – Т. 17. – № 1. – С. 19–32. <https://doi.org/10.17816/ecogen17119-32>.

Поступила: 21.11.2018

Одобрена: 24.12.2018

Принята: 25.03.2019

☼ Повсеместное распространение эндوفитных микроорганизмов является общепризнанным фактом, а открывающиеся возможности использования их в сельском хозяйстве вызывают огромный интерес к ним со стороны научного сообщества. В отличие от ризосферных (населяющих поверхность корней) и филлосферных (колонирующих надземные органы) представителей растительно-микробного сообщества, эндوفиты способны вступать с хозяином в более тесные взаимоотношения, в некоторых случаях сильно влияя на его фенотип и в целом принося определенную пользу, не формируя, однако, специфических структур, таких как клубеньки, в случае бобово-ризобияльного симбиоза. Выполняя целый набор функций, среди которых модуляция уровней фитогормонов, продукция витаминов и улучшение снабжения питательными веществами, эндوفиты могут служить основой для биопрепаратов, что позволит в перспективе снизить необходимость использования минеральных удобрений в практике сельского хозяйства и вследствие этого негативное влияние последних на плодородие почв, биоразнообразие и здоровье человека. В этом обзоре рассмотрены такие аспекты растительно-эндوفитного симбиоза, как биоразнообразие эндوفитов бобовых и небобовых культур, экология данных микроорганизмов, вопросы их функциональной значимости, распространенные способы изучения, а также возможности их применения в сельском хозяйстве.

☼ **Ключевые слова:** сельское хозяйство; бактерии; эндوفиты; симбиоз; горох.

ENDOPHYTIC MICROORGANISMS IN FUNDAMENTAL RESEARCH AND AGRICULTURE

© E.N. Vasileva^{1,2}, G.A. Akhtemova², V.A. Zhukov², I.A. Tikhonovich^{1,2}

¹ Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia;

² All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, Saint Petersburg, Russia

For citation: Vasileva EN, Akhtemova GA, Zhukov VA, Tikhonovich IA.

Endophytic microorganisms in fundamental research and agriculture. *Ecological genetics*. 2019;17(1):19-32.

<https://doi.org/10.17816/ecogen17119-32>.

Received: 21.11.2018

Revised: 24.12.2018

Accepted: 25.03.2019

☼ The ubiquity of endophytic microorganisms is an accepted fact nowadays and the possibility of using it in agriculture keeps attracting attention of scientific community. In contrast to rhizospheric (living on root surface) and phyllospheric (colonizing aerial parts of plants) members of plant-microbial interactions endophytes are able to establish closer relationships with host-plant, in some cases strongly influencing its phenotype, bringing benefits. However, these microorganisms do not form any specific structures like nodules in case of symbiosis between legumes and rhizobium bacteria. Having a great amount of functions including phytohormone level modulation, vitamins production and nutrient supply improving, endophytes could serve as a basis for biofertilizer, which could potentially minimize the necessity of mineral fertilizers, thus reducing the negative impact of the latter on soil fertility, biodiversity and human health. Our main aim here is to highlight the question of functional significance of endophytes and endophytic bacteria in particular, as well as the way of its application in agriculture and to identify key points in understanding biology of these organisms. In this review we will consider such aspects of plant-endophytic symbiosis as biodiversity of legume and non-legume endophytes, ecology of endophytes and some ways which are commonly in use by studying these microorganisms.

☼ **Keywords:** agriculture; bacteria; endophytes; symbiosis; peas.

ВВЕДЕНИЕ

Повсеместное распространение микроорганизмов в окружающей среде уже давно не является новостью, а наличие тесных взаимоотношений между ними и дру-

гими обитателями биосферы вызывает все больший интерес исследователей и побуждает как к изучению фундаментальных основ симбиоза микроорганизмов с высшими растениями, так и к поиску путей практи-

ческого применения таких отношений. Особенно примечательна возможность использования растительно-микробных взаимодействий в области сельского хозяйства. Растения, как известно, часто выступают мишенью для патогенных микроорганизмов, однако, что более интересно, они также участвуют в симбиозах с полезной микрофлорой, включающей в себя бактерии и грибы, способные стимулировать рост и развитие растения [1]. Понимание того, что представленные во внутренней среде растения микробные сообщества не просто являются безучастными «пассажирами», но играют важную роль в развитии растения-хозяина, его устойчивости к стрессам разной природы, стало одним из самых захватывающих открытий за последние десять лет [2].

На данный момент наиболее изучены взаимоотношения растений с микроорганизмами ризосферы [3–5]. Под ними понимают грибы арбускулярной микоризы, способные обеспечивать ассимиляцию труднорастворимых фосфатов и других питательных элементов почвы; клубеньковые бактерии из семейства *Rhizobiaceae* и ассоциативные азотфиксаторы из родов *Azospirillum*, *Azotobacter* и *Klebsiella*, дающие преимущество растению-хозяину при недостатке связанного азота; а также полезные бактерии группы PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) [6, 7]. Последняя группа ризосферных микроорганизмов является весьма гетерогенной, ее представители способны синтезировать витамины, фитогормоны (ауксины, цитокинины, гиббереллины) и другие биологически активные вещества, что способствует адаптации растения к внешним стрессовым факторам [8, 9].

Однако, помимо ризосферных бактерий, колонизирующих поверхность корней, а также филлосферных, населяющих надземные части растений, существует и целое сообщество эндофитов — непатогенных микроорганизмов, которые обитают внутри растения и способны сосуществовать с ним, не нанося вреда и принося определенную пользу [1, 10]. Эндофитные бактерии не формируют специфических анатомических структур наподобие клубеньков и галлов, но вступают с растением в более тесные взаимоотношения, чем свободноживущие микроорганизмы. Действительно, бактериальные эндофиты способны улучшать снабжение растения питательными веществами, модулировать уровень гормонов, продуцировать витамины, тем самым положительно влияя на рост, развитие и устойчивость растения к стрессам [11]. Вероятно, это служит причиной большей урожайности растительных организмов, населенных эндофитами. Была показана эффективность эндофитов в случае таких абиотических стрессов, как засуха [12], засоление [13, 14], чрезмерное оводнение, низкие температуры [15], а также содержание в почве токсичных органических соединений и тяжелых металлов [16]. Кроме этого, некоторые эндофиты обладают

способностью переводить азот и фосфор в легкоусвояемые для растений формы [17, 18].

Используя микроорганизмы, изолированные из внутренней среды растений, исследователи получают возможность создавать высокоэффективные биопрепараты, которые уже сейчас достаточно широко применяются в сельском хозяйстве [19–21]. В отличие от минеральных удобрений, процесс получения которых является самым энергоемким в практике сельского хозяйства, производство микробиологических биопрепаратов не настолько затратно, а кроме того, их применение не оказывает негативного влияния на здоровье человека, плодородие почв и биоразнообразие [22]. В некоторых случаях использование таких биопрепаратов избавляет от необходимости обработки растений пестицидами [20].

В данном обзоре освещена роль эндофитов в растительно-микробном симбиозе как с точки зрения фундаментальных исследований, так и в случае практического применения; рассмотрены биоразнообразие эндофитов бобовых и небобовых растений, пути проникновения микроорганизмов в растение, заселение внутренних тканей и поддержание (персистенция) бактерий в них, разные аспекты функциональной значимости эндофитных бактерий, а также способы применения эндофитов в сельском хозяйстве.

РАЗНООБРАЗИЕ ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ

Изучение биоразнообразия эндофитных микроорганизмов — относительно молодое направление, однако, основываясь на уже проведенных исследованиях, можно утверждать, что практически все растения содержат эндофиты: культурные и дикорастущие, травянистые — сахарная свекла, кукуруза, сорго, соя, пшеница, рис; древесные — дуб, груша, тополь, ель, а также сфагновые мхи [10, 23–30]. Их обнаруживали также в различных частях растений: эндофиты удалось выделить из листьев, стеблей, корней, семян различных видов растений, а в некоторых случаях эндофиты обнаружили в плодах и цветках (работа была проведена на растении винограда, откуда были выделены бактерии родов *Pseudomonas* и *Bacillus*) [1, 31, 32]. Классические исследования биоразнообразия эндофитных бактерий были основаны на характеристике изолятов, полученных из внутренних тканей поверхностно стерилизованных растений [33, 34]. Однако на данный момент все большую значимость приобретает изучение таксономического разнообразия бактерий, опирающееся на методы высокопроизводительного секвенирования последнего поколения (NGS — next generation sequencing), которые, в отличие от традиционных методов культивирования, биохимических тестов и микроскопии, дают информацию не только о культивируемых, но и о некультивируемых таксонах (табл. 1).

Бактериальные сообщества различных органов в значительной степени перекрываются. Так, эндофиты зоны корня, как правило, представлены в своем большинстве бактериями из филы *Proteobacteria* (примерно 50 % сообщества), *Actinobacteria*, *Firmicutes* и *Bacteroidetes* (по 10 % соответственно). Представители других фил, появление которых в роли эндофитов зачастую оказывалось неожиданным, также встречались в эндосфере корня, хотя их доля в сообществе была намного меньше. К таким микроорганизмам можно отнести бактерии из фил *Cyanobacteria*, *Chloroflexi*, *Verrucomicrobiae*, *Planctomycetes*, *Fusobacteria*, *Nitrospirae* [35, 36]. Кроме того, удалось установить во внутренних тканях корня присутствие архей и бактерий филы *Acidobacteria*, хотя их количество было значительно меньше, чем у вышеупомянутых представителей (около 1 %) [35].

Поскольку одним из путей эндофитной колонизации является проникновение бактерий в корень растений и дальнейшее распространение их по сосудам ксилемы или по межклетникам [37, 38], неудивительно, что доминирующими филами в стеблях и листьях оказываются *Proteobacteria*, *Firmicutes* и *Actinobacteria*. В частности, такой результат был показан на фасоли (*Phaseolus vulgaris*) [39].

Известно, что растения имеют возможность обеспечить себе индивидуальный микробиом, то есть избирательно допускать в свою эндосферу определенные необходимые микроорганизмы [1, 11]. Недавние исследования эндосферы корня показали, что в этой среде доминирует лишь несколько бактериальных групп, что свидетельствует в пользу данного положения. Это было продемонстрировано на растениях картофеля [40] и риса [35, 41, 42]. И в том и в другом случае в бактериальном сообществе доминировали *Enterobacter*, *Pseudomonas* и *Stenotrophomonas* из филы *Gamma**proteobacteria*, причем в рисе они

насчитывали до 98 % наблюдаемых ОТЕ (операционные таксономические единицы — группы микроорганизмов, характеризующиеся сходством диагностических фрагментов, использованных при молекулярно-генетическом анализе). Иногда в корне обнаруживали всего лишь одну наиболее представленную группу, как, например, в случае с бактериями типа *Pseudomonas* в корнях тополя *Populus deltoids* [43]. В проростках пшеницы и арабидопсиса типичным доминирующим семейством является *Streptomyetaceae* из филы *Actinobacteria* [2, 44, 45].

ЭНДОФИТНЫЕ БАКТЕРИИ БОБОВЫХ КУЛЬТУР

Из корня и клубеньков бобовых культур удалось изолировать бактерии, принадлежащие к различным таксонам, в том числе к родам *Aerobacter*, *Aeromonas*, *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Chryseomonas*, *Curtobacterium*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavimonas*, *Pseudomonas* и *Sphingomonas*, *Rhizobium* [24, 31, 46–50]. В работе López-López et al., проведенной в 2010 г., были идентифицированы 99 бактериальных изолятов фасоли (*Phaseolus vulgaris*): все они принадлежали к филам *Firmicutes*, *Actinobacteria* и *Proteobacteria*, причем всего было выявлено примерно 50 видов. Наиболее разнообразной филлой оказалась фила *Firmicutes*. Кроме уже известных видов из родов *Enterococcus*, *Nocardioideis*, *Roseomonas*, *Leptothrix*, *Cohnella*, *Rhizobium*, *Phyllobacterium*, *Microbacterium*, *Janibacter*, *Knoellia*, *Macroccoccus*, *Brachyacterium* и *Streptomyces*, были обнаружены новые виды родов *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Enterococcus*, *Nocardioideis*, *Paracoccus*, *Phyllobacterium* и *Sphingomonas* [51].

Горох — представитель семейства бобовых, модельный объект и важная сельскохозяйственная культура — также изучается в отношении его эндофитного сообщества. В 2013 г. было проведено исследование,

Таблица 1

Разнообразие эндофитов небобовых растений

Растение	Представленные эндофиты	Ссылка
Каннабис (<i>Cannabis sativa</i>)	<i>Achromobacter</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Alcaligenes</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Acinetobacter</i> и <i>Bacillus</i>	[61]
Виноград (<i>Vitis vinifera</i> L.)	<i>Pseudomonas</i> , <i>Bacillus</i>	[1, 31, 32]
Картофель (<i>Solanum tuberosum</i>)	<i>Enterobacter</i> , <i>Pseudomonas</i> и <i>Stenotrophomonas</i>	[40]
Рис (<i>Oryza sativa</i>)	<i>Enterobacter</i> , <i>Pseudomonas</i> и <i>Stenotrophomonas</i>	[35, 41, 42]
Тополь (<i>Populus deltoids</i>)	<i>Pseudomonas</i>	[43]
Пшеница (<i>Triticum</i> sp.)	<i>Streptomyetaceae</i>	[2, 44]
Арабидопсис (<i>Arabidopsis thaliana</i>)	<i>Streptomyetaceae</i>	[2, 45]

в ходе которого из поверхностно стерилизованных корней и клубеньков удалось выделить 75 бактериальных изолятов. Большая их часть — около 67 % — относилась к грамположительным бактериям, из которых 70 % и 90 % клубеньковых и корневых изолятов соответственно оказались спорообразующими и были отнесены авторами к роду *Bacillus* [31]. Отдельного внимания заслуживают сведения о том, что помимо бактерий рода *Rhizobium*, в клубеньках бобовых могут быть широко представлены и различные неризобийные бактерии (*Pantoea*, *Escherichia*, *Bosea*, *Phyllobacterium*, *Sphingomonas*, *Pseudomonas*, *Agromyces*, *Microbacterium*, *Paenibacillus*, *Aerobacter*, *Agrobacterium*, *Chryseomonas*, *Curtobacterium*, *Erwinia*, *Flavimonas*, *Sphingomonas*, *Methylobacterium*, *Blastobacter*, *Devosia*, *Rhodopseudomonas*, *Paracraurococcus*, *Phyllobacterium*, *Ochrobactrum*, *Cupriavidus*, *Herbaspirillum*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Leclercia*, *Ochrobactrum*, *Starkeya*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Ornithinococcus*, *Bacillus*, а также *Serratia*), хотя они и не относятся к типичным представителям клубеньковой микрофлоры [52–55]. Ввиду возможности использования эндофитов в сельском хозяйстве, были проведены исследования, результатом которых стало выявление ростостимулирующих бактерий (PGPB) в растениях гороха. Путем анализа последовательности гена 16S рРНК удалось установить таксономическую принадлежность выделенных изолятов: *Ochrobactrum* и *Enterobacter* [56]. Кроме того, в корнях гороха посевного недавно было обнаружено большое количество представителей рода *Micromonospora* (*M. aurantiaca*, *M. auratinigra*, *M. chaiyapumensis*, *M. chersina*, *M. coerulea*, *M. coriariae*, *M. coxensis*, *M. fulviviridis*, *M. lupini*, *M. matsumotoense*, *M. pattaloongensis*, *M. saelicesensis*, *M. sagamiensis*, *M. Siamensis*, “*Micromonospora zeae*”, “*Micromonospora jinlon-*

gensis” и *Micromonospora zamorensis*) [57, 58]. Исходно же актинобактерии этого рода были выявлены во внутренних тканях бобового растения *Lupinus angustifolius* [57].

Другие бобовые также изучаются на предмет состава их эндофитного сообщества. Корневые бактериальные эндофиты нута (*Cicer arietinum* L.), произрастающего в условиях засоленных почв, были представлены 40 изолятами. Причем некоторые из них значительно улучшали общее состояние растения-хозяина в условиях высокого содержания солей в почве, при этом защищая его от патогенного гриба *Fusarium solani*. Такими полезными эндофитами оказались *Bacillus cereus*, *Achromobacter xylosoxidans*, *Bacillus thuringiensis* и *Bacillus subtilis* [14].

Модельный объект генетических экспериментов, *Medicago truncatula*, не является исключением из общего правила и может содержать эндофитные бактерии. В частности, обитателями эндосферы этого растения могут оказаться патогены человека *Klebsiella pneumonia* и *Salmonella enterica ser. Typhimurium*, в данном случае играющие роль PGPB [59].

В клубеньковом сообществе бобов обыкновенных (*Vicia faba*) удалось обнаружить несколько видов бактерий из рода *Pseudomonas*, а также родов *Rahnella*, *Stenotrophomonas* и *Enterobacter*, что может служить подтверждением того, что клубеньки бобовых бактерий могут быть населены не только ризобийными клубенькообразующими бактериями [60].

Более редко изучают надземные органы бобовых растений — стебли и листья. В частности, при помощи метода определения профиля жирных кислот удалось установить, что наиболее часто встречающимися эндофитами стеблей и листьев гороха посевного являются бактерии из родов *Pantoea*, *Pseudomonas* и *Bacillus* [48] (табл. 2).

Таблица 2

Разнообразие эндофитов бобовых

Растение	Представленные эндофиты	Ссылка
Маш (<i>Vigna radiata</i> L.)	<i>Bacillus</i> , <i>Agrobacterium</i> , <i>Bradyrhizobium</i>	[54]
Клевер (<i>Trifolium pretense</i> L.)	<i>Agrobacterium</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Bortedella</i> , <i>Comamonas</i> , <i>Curtobacterium</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Methylobacterium</i> , <i>Pantoea</i> , <i>Pasteurella</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Rhizobium</i> , <i>Xanthomonas</i>	[52]
Кудзу (<i>Pueraria thunbergiana</i>)	<i>Sinorhizobium</i> , <i>Mesorhizobium</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Serratia</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Pantoea</i>	[53]
Фасоль (<i>Phaseolus vulgaris</i>)	<i>Enterococcus</i> , <i>Nocardioides</i> , <i>Roseomonas</i> , <i>Leptothrix</i> , <i>Cohnella</i> , <i>Rhizobium</i> , <i>Phyllobacterium</i> , <i>Microbacterium</i> , <i>Janibacter</i> , <i>Knoellia</i> , <i>Macroccoccus</i> , <i>Brachyбактерium</i> , <i>Streptomyces</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Nocardioides</i> , <i>Paracoccus</i> , <i>Phyllobacterium</i> и <i>Sphingomonas</i>	[51]
Горох посевной (<i>Pisum sativum</i> L.)	<i>Bacillus</i> , <i>Micromonospora</i> , <i>Ochrobactrum</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Pantoea</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Serratia</i>	[48, 54, 55, 57, 58]

Окончание табл. 2

Растение	Представленные эндофиты	Ссылка
Люпин (<i>Lupinus angustifolius</i>)	<i>Micromonospora</i>	[58]
Нут (<i>Cicer arietinum</i> L.)	<i>Bacillus cereus</i> , <i>Achromobacter xylosoxidans</i> , <i>Bacillus thuringiensis</i> и <i>Bacillus subtilis</i>	[14]
Люцерна (<i>Medicago truncatula</i>)	<i>Bacillus cereus</i> , <i>Achromobacter xylosoxidans</i> , <i>Bacillus thuringiensis</i> и <i>Bacillus subtilis</i>	[59]
Боб (<i>Vicia faba</i>)	<i>Rahnella</i> , <i>Stenotrophomonas</i> и <i>Enterobacter</i>	[60]

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИДЕНТИФИКАЦИЯ ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ

Методы по определению локализации эндофитных бактерий в тканях растений можно подразделить на количественные и качественные. В случае количественного определения исследователь получает возможность точно установить количество бактериальных клеток в растении. Обычно для этого используют метод qPCR (quantitative polymerase chain reaction, или ПЦР в реальном времени, который основан на амплификации и измерении количества молекул ДНК в реальном времени после каждого цикла амплификации), позволяющий определить количество с точностью до клетки [62]. Иногда к количественным методам относят и изоляцию *de novo*, однако в данном случае необходимо каким-либо образом отделить инокулируемые штаммы от остального микробиома, например путем отбора на установленную прежде антибиотикоустойчивость [63].

Существуют и биоинженерные подходы, основанные на визуализации бактерий (качественные методы). В этом случае берут микроорганизмы, содержащие плазмиду с репортерным геном. В частности, используют GFP (Green Fluorescent Protein), RFP (Red Fluorescent Protein) и GUS-меченые клетки [37, 64]. Однако применение GFP в качестве сигнальной молекулы ограничено ввиду наличия у растительных тканей достаточно интенсивной автофлуоресценции. Кроме того, проводят работы с бактериями, мечеными иммуномаркерами, и используют флуоресцентную гибридизацию *in situ* (FISH) в сочетании с лазерной сканирующей конфокальной микроскопией. В последнем случае применяют меченые олигонуклеотидные зонды на основе последовательности гена 16S рРНК, таким образом, становится возможным обнаружить рРНК в морфологически интактных клетках [65]. Методы визуализации в некоторой степени могут быть отнесены к количественным: в каждом поле зрения возможно посчитать количество клеток интересующего штамма. Еще одним простым, быстрым методом качественной оценки является классическая ПЦР. При этом обязательна постановка контролей во избежание ложноположительных результатов, а количественная оценка в этом случае невозможна [62].

Для локализации и подсчета эндофитов также можно использовать иммунологические инструменты. Методы такого рода предполагают качественную и/или количественную оценку взаимодействий типа антиген – антитело. Сигнальная молекула, в роли которой может выступать флуорохром, взаимодействует с антителом, что делает возможной визуализацию [65].

Традиционные методы культивирования с постановкой биохимических тестов и микроскопированием, ранее широко применявшиеся для изучения таксономического разнообразия, на сегодняшний день уступили свое место методам NGS. Новые технологии позволили идентифицировать и культивируемые, и некультивируемые группы микроорганизмов, а также характеризовать не только отдельных представителей внутреннего сообщества, но и весь растительный микробиом в целом. Это открыло новые возможности для исследования взаимоотношений как между растением-хозяином и бактериальным симбионтом, так и между микроорганизмами растительной эндосферы, что необходимо при изучении растительно-микробного симбиоза.

ЭКОЛОГИЯ ЭНДОФИТНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Эндофитные микроорганизмы распространены повсеместно: они обнаружены в стеблях, листьях, корнях и семенах различных видов растений [1, 31]. Сообщалось также о присутствии бактерий в тканях таких генеративных органов, как цветки и плоды, хотя такое явление наблюдалось сравнительно редко, а количество обнаруженных эндофитов было невелико [23, 32]. Микроорганизмы являются хорошими помощниками для своего растения-хозяина в обеспечении жизненно важных функций. Для бактерий растение служит своего рода резервуаром, питательной средой, растение же в свою очередь способно выбирать для себя наиболее эффективные комплексы микроорганизмов, обеспечивая свой индивидуальный микробиом [1, 11].

Бактериальные эндофиты обыкновенно населяют межклеточное пространство тканей растений, и раньше предполагалось, что их распространение возможно исключительно через межклетники [23, 37, 66]. Позже, однако, было показано, что некоторые эндофиты способны перемещаться по просвету ксилемы, что яв-

ляется характерным способом распространения патогенов. Из одного элемента ксилемы в другой переход осуществляется через отверстия перфорационных пластинок [37].

Бактерии, обитающие в тканях растения, могут заселять эндосферу *de novo* из окружающей среды с каждым новым поколением либо передаваться последующим от семени к семени [13, 67, 68]. На способ передачи влияют экологические и эволюционные аспекты взаимоотношений: путь вертикальной трансмиссии обеспечивает передачу полезного симбионта от поколения к поколению [69]. Этот вариант распространен в случаях, когда бактериальный симбионт отвечает за важную функцию [70].

Большинство бактериальных эндофитов, скорее всего, будут передаваться горизонтально. Во-первых, об этом свидетельствует разнообразие бактерий в семенах и саженцах, выращенных в полевых условиях, которое, как правило, шире, нежели разнообразие эндофитов в растениях, выращенных в стерильных условиях. Этот факт указывает на то, что большинство эндофитов происходит из окружающей среды [68, 71]. Кроме того, бактериальные эндофиты часто не обладают высокой специфичностью к растению-хозяину [19, 72, 73], а микроорганизмы, заражающие многие виды растений, должны распространяться между ними горизонтально и вряд ли будут наследоваться строго вертикально.

Многие авторы склоняются к мнению, что большая часть эндофитных бактерий проникает в растения через корневую систему, а затем распространяется по всему растению с током воды и питательными веществами [37, 74]. Однако есть мнения, что заселение надземной части растений может происходить воздушно-капельным путем через устьица и чечевички [11, 75–77].

Бактериальные клетки в первую очередь колонизируют ризосферу растения, «узнавая» вещества корневых экссудатов. Общась с помощью сигнальных молекул, растения могут привлекать мутуалистов и ограничивать проникновение болезнетворных микроорганизмов [8]. С этой целью растения могут использовать салициловую и жасмоновую кислоты, а также этилен [59, 78]. Многие бактерии не останавливаются на уровне ризосферы и ризопланы, а проникают внутрь растения через трещины (пассивно) или активно, обуславливая положительные для хозяина эффекты. В местах пассивного проникновения бактерии образуют биопленки [16]. При активном способе проникновения растение реагирует на эндофитные микроорганизмы, например, усилением клеточных стенок и выделением смолы, однако действие этих механизмов в ответ на эндофитную колонизацию менее выражено, чем в случае атаки патогенов [19, 78, 79].

Как уже было описано выше, эндофитной колонизации могут подвергаться не только вегетативные, но и генеративные органы растений. В частности, это

явление было описано у винограда: из плодов, цветков и семян данного растения изолированы бактерии родов *Pseudomonas* и *Bacillus* [32]. В некоторых случаях цветки и плоды растений населяли уникальные виды эндофитов, не встречающиеся в корнях, на основании чего было сделано предположение о присутствии эндофитов практически во всех органах растений [1, 37, 80]. Чрезвычайно интересными представляются сообщения о присутствии эндофитов на поверхности и внутри пыльцы различных видов растений [81–84]. Причем данные экспериментов Madmony et al. свидетельствуют о том, что изолированные из пыльцы эндофиты происходили именно из родительского растения, что является вертикальным наследованием.

ФУНКЦИИ ЭНДОФИТНЫХ БАКТЕРИЙ

Существует мнение, что ассоциации бактерий с растениями могли возникнуть и закрепиться в результате положительного отбора в пользу эндофитов [85]. Это предполагает наличие взаимовыгодного сотрудничества, и, действительно, при исследовании функциональной активности эндофитных штаммов оказалось, что они оказывают положительное влияние на рост и развитие растительного организма, улучшают снабжение питательными веществами. Их присутствие положительно сказывается на устойчивости к стрессам различной природы, а кроме того, в ходе длительной коэволюции растений и эндофитов последние приобрели способность синтезировать химические соединения, первоначально производимые растением-хозяином [11, 86]. В этом плане особого внимания заслуживает тот факт, что в стрессовых условиях повышается частота инфекции эндофитами [17].

Способность эндофитных микроорганизмов производить витамины и фитогормоны объясняет то, что заселенные эндофитами растения, как правило, более устойчивы к заболеваниям и дают высокие урожаи. Например, эндофиты *Rhizobium aquatilis* и *Pseudomonas putida*, способные синтезировать индолилуксусную кислоту, положительно влияют на рост и развитие некоторых злаков и редиса [87]. Эндофит *Bacillus subtilis*, производящий гиббереллины, также положительно воздействует на растения [88].

Особенный интерес представляет эффект стрессоустойчивости, обусловленный присутствием эндофитов в тканях растения. В частности, было показано, что некоторые микроорганизмы способны повышать толерантность к стрессам, вызванным засухой, чрезмерным оводнением, засолением, содержанием в почве тяжелых металлов, токсичных органических соединений и патогенов за счет модуляции уровня этилена. Этилен является стрессовым гормоном, ответственным за множество реакций. Его биосинтез жестко регулируется целым рядом биотических и абиотических факторов. Некоторые эндофитные бактерии продуцируют определенный

фермент (1-аминоциклопропан-1-карбоксилат-деаминаза), вызывающий деградацию предшественника этилена, тем самым снижая уровень его в растении, вследствие чего уменьшается влияние многих стрессов [16].

Нельзя оставить незамеченным и то, что фитопатогены и эндофитные бактерии занимают сходные экологические ниши, что говорит о существовании конкуренции между этими организмами и о возможном месте эндофитов в биоконтроле [80]. Многие эндофиты способны контролировать численность патогенов, включая нематод и насекомых [89, 90].

Эндофитные бактерии могут продуцировать антибиотики. Например, большинство бактерий из рода *Bacillus* синтезирует такие соединения, как циркулин, колистин и полимиксин, подавляющие рост грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также многих патогенных грибов [91]. Кроме того, почти все бактерии способны производить бактериоцины — специфические белки, подавляющие жизнедеятельность клеток других штаммов того же вида или родственных видов бактерий [92].

У представителей эндофитного сообщества часто встречается такое свойство, как синтез противогрибковых метаболитов. В частности, бактерия *Pseudomonas viridiflava*, обыкновенно населяющая наземную часть травянистых растений, производит экомицин, действующий против таких патогенов человека, как *Cryptococcus neoformans* и *Candida albicans*; а производимый эндофитами псевдомицин эффективен против *Ceratocystis ulmi* и *Mycosphaerella fijiensis* [93]. Сообщается и об антифунгальной активности эндофитов гороха и фасоли по отношению к *Bipolaris sorokiniana* и *Fusarium oxysporum* [94].

Существуют данные о том, что эндофиты способны продуцировать сидерофоры (низкомолекулярные вещества, хелатирующие ионы Fe^{3+}) и витамины, присутствие которых повышает иммунитет растения и резистентность к патогенам [90, 95–97].

Известны эндофиты, производящие иммунодепрессанты, противоопухолевые и противовирусные соединения [90]; регулирующие осмотическое давление, работу устьиц, модифицирующие развитие корневой системы [19]; запускающие индуцированную систему устойчивости растений (ISR) [98]. Нельзя забывать и об одной из самых основных функций эндофитных микроорганизмов — обеспечении хозяина питательными элементами, такими как азот и фосфор, посредством их перевода в легкоусвояемые формы [17].

ЭНДОФИТНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ

В практике традиционного сельского хозяйства самым распространенным, но также и самым энергоемким является процесс получения минеральных удобрений, которые, при применении в высоких дозах, оказывают

негативное влияние на здоровье человека, плодородие почв и биоразнообразие [22]. Хорошую альтернативу химическим удобрениям составляют микробиологические препараты, применяемые в практике экологически ориентированного земледелия, подразумевающего использование устоявшихся симбиотических связей. Возможность использования микроорганизмов, населяющих внутренние ткани растений, для производства высокоэффективных биопрепаратов делает эту тему все более привлекательной для исследования. Существуют работы, демонстрирующие более высокую эффективность такого рода удобрений по сравнению с минеральными, в частности, в работе на штаммах *Bacillus subtilis*, полученных из борщевика, показано, что продуктивность ярового ячменя (*Hordeum vulgare* L.) была выше, чем при использовании минеральных удобрений в рекомендованной дозе [21]. Разработан ряд микробных препаратов на основе бактерий *Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Herbaspirillum*, *Acetobacter* [19, 20]. Часто с их помощью удавалось даже избежать необходимости обработки пестицидами [20]. В опытах Гарипова и др. продемонстрировали целесообразность бактериальных обработок: болезненные проявления у обработанных штаммами *Bacillus subtilis* и *Rhizobium leguminosarum* растений фасоли были существенно снижены. Инокуляция также увеличивала массу растений, количество бобов и семян, а кроме того, и массу семян с одного растения [99]. Нельзя недооценивать роль эндофитов и в области биоремедиации почв и фундаментальных исследований растительно-микробных взаимодействий [4, 7, 80, 100–103].

В частности, известно, что растения, произрастающие на загрязненных ксенобиотиками почвах, обычно содержат микроорганизмы, не только устойчивые к такого рода соединениям, но и способные их разлагать [104]. Эндофитные бактерии из деревьев тополя белого, произрастающего на загрязненном толуолом участке, усиливали эффект фиторемедиации летучих органических веществ и гербицидов [105], а изолированные из *Cannabis sativa* бактерии родов *Achromobacter* sp., *Pseudomonas* sp., *Alcaligenes* sp., *Enterobacter* sp., *Acinetobacter* sp. и *Bacillus* sp. обладали способностью к деградации фенола и бензола [61]. Особенно интересным и важным фактом в сфере биоремедиации является возможность этих эндофитных «утилизаторов» разлагать ксенобиотики внутри растения, тем самым снижая фитотоксический эффект, например, в отношении растительной фауны [90].

Однако нельзя забывать о том, что внутренняя среда растения населена множеством различных эндофитов. Длительное изучение микробиомов растений показало, насколько велик вклад микроорганизмов в фенотип и физиологические характеристики хозяина. На данный момент широко известны такие свойства эндофитных микроорганизмов, как ростостимулирующая актив-

ность, снабжение питательными веществами (особенно выделяют снабжение азотом и фосфором), увеличение устойчивости к стрессам различной природы, модуляция уровня гормонов и др.

Не удивительно, что тема манипуляций с микробным сообществом становится все более актуальной в сфере сельского хозяйства. Однако так называемый MAP (MAP — microbiome-associated phenotype) — фенотип, обусловленный микробиомом, был основан на таксономии, а не на имеющихся признаках [106, 107]. По этой причине долгое время переход от фундаментальных знаний к практическому применению, а именно к разработке эффективных сообществ и манипуляции с микробиомом, вызывал значительные трудности. Об этом свидетельствуют неоднократные неудачные попытки использования одного штамма в качестве биоудобрения в различных климатических и географических условиях [107].

Однако в 2018 г. исследователи предложили новую концепцию «модульного микробиома», представляющего собой микробные консорциумы, разработанные в соответствии с генотипом растения, что придает различные, но взаимодополняющие MAP отдельному растению-хозяину или целой популяции [106]. Поскольку фактически относительная важность микробиома для роста, развития и здоровья растений не была экспериментально исследована для большинства видов сельскохозяйственных культур, крайне интересным является новый подход MAPs-first, подразумевающий выбор консорциумов и реализующий определенный MAP на основе математических моделей [106]. Полученные данные составят необходимую базу для экспериментов, которая позволит не действовать «вслепую», подбирая стратегии по разработке синтетических эндофитных сообществ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Повсеместное распространение эндофитов в настоящее время — факт, не подвергающийся сомнению. Судя по вышеприведенным данным, оно происходило в результате длительной коэволюции и отбора в пользу этих микроорганизмов. Большинство бактериальных эндофитов вступают в тесные взаимоотношения со своим растением-хозяином и предоставляют им значительные преимущества: производя целый ряд биологически активных веществ, они служат ростостимуляторами; способны повышать иммунный статус растения, увеличивать стресс-толерантность последних, а кроме того, обеспечивать защиту от заболеваний, конкурируя с фитопатогенами. Как видно из литературных данных, эндофитные бактерии являются активными «игроками» в многокомпонентных симбиотических системах, взаимодействуя не только с растением, но и с другими микроорганизмами в составе сообщества. Неудивительно, что данные организмы

привлекают к себе все больше внимания с точки зрения не только фундаментальных исследований растительно-микробных взаимодействий, но и практического применения в сельском хозяйстве. О растущем интересе свидетельствуют совершенствование методов исследования и новые предложения по методам изучения уже не только конкретных представителей той или иной части сообщества, но и многокомпонентной сети в целом. Интеграция различных подходов позволит достичь более глубокого понимания взаимодействия микроорганизмов и растения, что в будущем послужит основой для все более перспективных проектов и стратегий по использованию полученных данных на практике.

Научная деятельность авторов статьи поддержана грантом РФФ 17-76-30016.

ЛИТЕРАТУРА

1. Partida-Martinez LP, Heil M. The microbe-free plant: fact or artifact? *Front Plant Sci.* 2011;2:100. <https://doi.org/10.3389/fpls.2011.00100>.
2. Liu H, Carvalhais LC, Crawford M, et al. Inner Plant values: diversity, colonization and benefits from endophytic bacteria. *Front Microbiol.* 2017;8:2552. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02552>.
3. Clay K. Fungal endophyte symbiosis and plant diversity in successional fields. *Science.* 1999;285(5434):1742-1744. <https://doi.org/10.1126/science.285.5434.1742>.
4. Lindow SE, Brandl MT. Microbiology of the phyllosphere. *Appl Environ Microbiol.* 2003;69(4):1875-83. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.4.1875-1883.2003>.
5. Шапошников А.И., Белимов А.А., Кравченко Л.В., Виванко Д.М. Взаимодействие ризосферных бактерий с растениями: механизмы образования и факторы эффективности ассоциативных симбиозов // Сельскохозяйственная биология. — 2011. — № 3. — С. 16–22. [Shaposhnikov AI, Belimov AA, Kravchenko LV, Vivanko DM. Interaction of rhizosphere bacteria with plants: mechanisms of formation and factors of efficiency in associative symbiosis (review). *Agricultural Biology.* 2011;(3):16-22. (In Russ.)]
6. Умаров М.М. Ассоциативная азотфиксация. — М.: Изд-во Московского гос. ун-та, 1986. — 136 с. [Umarov MM. Assotsiativnaya azotfiksiatsiya. Moscow: Izd-vo Moskovskogo Gosudarstvennogo Universiteta; 1986. 136 p. (In Russ.)]
7. Штарк О.Ю., Жуков В.А., Сулима А.С., и др. Перспективы использования многокомпонентных симбиотических систем бобовых // Экологическая генетика. — 2015. — Т. 13. — № 1. — С. 33–46. [Shtark OY, Zhukov VA, Sulima AS, et al. Prospects for the use of multi-component symbiotic systems

- of the Legumes. *Ecological Genetics* 2015;13(1): 33-46. (In Russ.). <https://doi.org/10.17816/ecogen13133-46>.
8. Bais HP, Weir TL, Perry LG, et al. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annu Rev Plant Biol.* 2006;57:233-266. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.57.032905.105159>.
 9. Цавкелова Е.Л., Климова С.Ю., Чердынцева Т.Л., Нетрусов Л.И. Микроорганизмы-продуценты стимуляторов роста растений и их практическое применение (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. — 2006. — Т. 42. — № 2. — С. 133–143. [Tsavkelova EA, Klimova SY, Cherdynitseva TA, Netrusov AI. Microbial producers of plant growth stimulators and their practical use: a review. *Applied Biochemistry and Microbiology* 2006;42(2):133-143. (In Russ.)]
 10. Щербаков А.В., Кузьмина Е.Ю., Мунтян А.Н., и др. Эндофитные бактерии сфагновых мхов как перспективные объекты сельскохозяйственной микробиологии // Микробиология. — 2013. — Т. 82. — № 3. — С. 312–322. [Shcherbakov AV, Bragina AV, Kuzmina EY, et al. Endophytic bacteria of Sphagnum mosses as promising objects of agricultural microbiology. *Microbiology* 2013;82(3):312-322. (In Russ.)]
 11. Santoyo G, Moreno-Hagelsieb G, Orozco-Mosqueda Mdel C, Glick BR. Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiol Res.* 2016;183:92-99. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2015.11.008>.
 12. Rolli E, Marasco R, Vigani G, et al. Improved plant resistance to drought is promoted by the root-associated microbiome as a water stress-dependent trait. *Environ Microbiol.* 2015;17(2):316-331. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12439>.
 13. Ali S, Duan J, Charles TC, Glick BR. A bioinformatics approach to the determination of genes involved in endophytic behavior in *Burkholderia spp.* *J Theor Biol.* 2014;343:193-198. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2013.10.007>.
 14. Egamberdieva D, Wirth S, Jabborova D, et al. Coordination between *Bradyrhizobium* and *Pseudomonas* alleviates salt stress in soybean through altering root system architecture. *J Plant Interact.* 2017;12(1):100-107. <https://doi.org/10.1080/17429145.2017.1294212>.
 15. Su F, Jacquard C, Villaume S, et al. Burkholderia phytofirmans PsJN reduces impact of freezing temperatures on photosynthesis in *Arabidopsis thaliana*. *Front Plant Sci.* 2015;6:810. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00810>.
 16. Mercado-Blanco J, Lugtenberg B. Biotechnological applications of bacterial endophytes. *Curr Biotechnol.* 2014;3(1):60-75. <https://doi.org/10.2174/22115501113026660038>.
 17. Zhang HW, Song YC, Tan RX. Biology and chemistry of endophytes. *Nat Prod Rep.* 2006;23(5):753-771. <https://doi.org/10.1039/b609472b>.
 18. Beltran-Garcia MJ, White JF, Jr., Prado FM, et al. Nitrogen acquisition in *Agave tequilana* from degradation of endophytic bacteria. *Sci Rep.* 2014;4:6938. <https://doi.org/10.1038/srep06938>.
 19. Compant S, Duffy B, Nowak J, et al. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. *Appl Environ Microbiol.* 2005;71(9):4951-9. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.9.4951-4959.2005>.
 20. Чеботарь В.К., Макарова Н.М., Шапошников А.И., Кравченко Л.В. Антифунгальные и фитостимулирующие свойства ризосферного штамма *Bacillus subtilis* ч-13 продуцента биопрепаратов // Прикладная биохимия и микробиология. — 2009. — Т. 45. — № 4. — С. 465–469. [Chebotar VK, Makarova NM, Shaposhnikov AI, Kravchenko LV. Antifungal and phytostimulating characteristics of *Bacillus subtilis* Ch-13 rhizospheric strain, producer of biopreparations. *Applied Biochemistry and Microbiology* 2009;45(4):465-469. (In Russ.)]
 21. Чеботарь В.К., Заплаткин А.Н., Щербаков А.В., и др. Микробные препараты на основе эндофитных и ризобактерий, которые перспективны для повышения продуктивности и эффективности использования минеральных удобрений у ярового ячменя (*Hordeum vulgare* L.) и овощных культур // Сельскохозяйственная биология. — 2016. — Т. 51 — № 3. — С. 335–342. [Chebotar VK, Zaplatkin AN, Shcherbakov AV, et al. Microbial preparations on the basis of endophytic and rhizobacteria to increase the productivity in vegetable crops and spring barley (*Hordeum vulgare* L.), and the mineral fertilizer use efficiency. *Agricultural biology.* 2016;51(3):335-342. (In Russ.)]
 22. Sutton MA, Howard CM, Erisman JW, et al. The challenge to integrate nitrogen science and policies: the European Nitrogen Assessment approach. In: The European Nitrogen Assessment: Sources, Effects and Policy Perspectives. Ed. by M.A. Sutton, C.M. Howard, J.W. Erisman, et al. Cambridge: Cambridge University Press; 2011. P. 82-96. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511976988.008>.
 23. Hallmann J, Quadt-Hallmann A, Mahaffee WF, Klopper JW. Bacterial endophytes in agricultural crops. *Can J Microbiol.* 1997;43(10):895-914. <https://doi.org/10.1139/m97-131>.
 24. Rosenblueth M, Martinez-Romero E. Bacterial endophytes and their interactions with hosts. *Mol Plant Microbe Interact.* 2006;19(8):827-837. <https://doi.org/10.1094/MPMI-19-0827>.
 25. Posada F, Vega FE. Establishment of the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) as an endophyte in cocoa seedlings (*Theo-*

- broma cacao*). *Mycologia*. 2005;97(6):1195-1200. <https://doi.org/10.3852/mycologia.97.6.1195>.
26. Franks A, Ryan PR, Abbas A, et al. Molecular tools for studying plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Molecular techniques for soil and rhizosphere microorganisms. Wallingford: CABI Publishing; 2006.
 27. Zinniel DK, Lambrecht P, Harris NB, et al. Isolation and characterization of endophytic colonizing bacteria from agronomic crops and prairie plants. *Appl Environ Microbiol* 2002;68(5):2198-2208. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.5.2198-2208.2002>.
 28. Sun L, Qiu F, Zhang X, et al. Endophytic bacterial diversity in rice (*Oryza sativa* L.) roots estimated by 16S rDNA sequence analysis. *Microb Ecol*. 2008;55(3):415-424. <https://doi.org/10.1007/s00248-007-9287-1>.
 29. Ulrich K, Stauber T, Ewald D. Paenibacillus — A predominant endophytic bacterium colonising tissue cultures of woody plants. *Plant Cell Tissue Organ Cult*. 2008;93(3):347-351. <https://doi.org/10.1007/s11240-008-9367-z>.
 30. Tiwari K, Thakur HK. Diversity and molecular characterization of dominant Bacillus amyloliquefaciens (JNU-001) endophytic bacterial strains isolated from native Neem varieties of Sanganer region of Rajasthan. *J Biodivers Biopros Dev*. 2014;1(1):1000115. <https://doi.org/10.4172/ijbbd.1000115>.
 31. Narula S, Anand RC, Dudeja SS, Kumar V. Molecular Diversity of Root and Nodule Endophytic Bacteria from Field Pea (*Pisum Sativum* L.). *Legume Res — Int J*. 2013;36(4):344-350.
 32. Compant S, Mitter B, Colli-Mull JG, et al. Endophytes of grapevine flowers, berries, and seeds: identification of cultivable bacteria, comparison with other plant parts, and visualization of niches of colonization. *Microb Ecol*. 2011;62(1):188-197. <https://doi.org/10.1007/s00248-011-9883-y>.
 33. Miche L, Balandreau J. Effects of rice seed surface sterilization with hypochlorite on inoculated Burkholderia vietnamiensis. *Appl Environ Microbiol*. 2001;67(7):3046-3052. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.7.3046-3052.2001>.
 34. Lodewyckx C, Vangronsveld J, Porteous F, et al. Endophytic Bacteria and Their Potential Applications. *Crit Rev Plant Sci* 2002;21(6):583-606. <https://doi.org/10.1080/0735-260291044377>.
 35. Sessitsch A, Haroim P, Doring J, et al. Functional characteristics of an endophyte community colonizing rice roots as revealed by metagenomic analysis. *Mol Plant Microbe Interact*. 2012;25(1):28-36. <https://doi.org/10.1094/MPMI-08-11-0204>.
 36. Edwards J, Johnson C, Santos-Medellin C, et al. Structure, variation, and assembly of the root-associated microbiomes of rice. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2015;112(8):E911-920. <https://doi.org/10.1073/pnas.1414592112>.
 37. Compant S, Clément C, Sessitsch A. Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. *Soil Biol Biochem*. 2010;42(5):669-678. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2009.11.024>.
 38. Chi F, Shen SH, Cheng HP, et al. Ascending migration of endophytic rhizobia, from roots to leaves, inside rice plants and assessment of benefits to rice growth physiology. *Appl Environ Microbiol*. 2005;71(11):7271-8. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.11.7271-7278.2005>.
 39. Costa LE de O, de Queiroz MV, Borges AC, et al. Isolation and characterization of endophytic bacteria isolated from the leaves of the common bean (*Phaseolus vulgaris*). *Braz J Microbiol*. 2012;43(4):1562-1575. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822012000400041>.
 40. Marques JM, da Silva TF, Vollú RE, et al. Bacterial endophytes of sweet potato tuberous roots affected by the plant genotype and growth stage. *Appl Soil Ecol*. 2015;96:273-281. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.08.020>.
 41. Ferrando L, Fernandez Scavino A. Strong shift in the diazotrophic endophytic bacterial community inhabiting rice (*Oryza sativa*) plants after flooding. *FEMS Microbiol Ecol*. 2015;91(9): fiv104. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiv104>.
 42. Ren G, Zhu C, Alam MS, et al. Response of soil, leaf endosphere and phyllosphere bacterial communities to elevated CO₂ and soil temperature in a rice paddy. *Plant Soil*. 2015;392(1-2):27-44. <https://doi.org/10.1007/s11104-015-2503-8>.
 43. Gottel NR, Castro HF, Kerley M, et al. Distinct microbial communities within the endosphere and rhizosphere of *Populus deltoides* roots across contrasting soil types. *Appl Environ Microbiol*. 2011;77(17):5934-44. <https://doi.org/10.1128/AEM.05255-11>.
 44. Bulgarelli D, Rott M, Schlaeppi K, et al. Revealing structure and assembly cues for Arabidopsis root-inhabiting bacterial microbiota. *Nature*. 2012;488(7409):91-95. <https://doi.org/10.1038/nature11336>.
 45. Lundberg DS, Lebeis SL, Paredes SH, et al. Defining the core *Arabidopsis thaliana* root microbiome. *Nature*. 2012;488(7409):86-90. <https://doi.org/10.1038/nature11237>.
 46. Gagné S, Richard C, Rousseau H, Antoun H. Xylem-residing bacteria in alfalfa roots. *Can J Microbiol*. 1987;33(11):996-1000. <https://doi.org/10.1139/m87-175>.
 47. Hung PQ, Annapurna K. Isolation and characterization of endophytic bacteria in soybean (*Glycine Sp.*). *Omonrice*. 2004;12:92-101.
 48. Elvira-Recuenco M, van Vuurde JW. Natural incidence of endophytic bacteria in pea cultivars under field con-

- ditions. *Can J Microbiol* 2000;46(11):1036-1041. <https://doi.org/10.1139/w00-098>.
49. Burbano CS, Gronemeyer JL, Hurek T, Reinhold-Hurek B. Microbial community structure and functional diversity of nitrogen-fixing bacteria associated with *Colophospermum mopane*. *FEMS Microbiol Ecol*. 2015;91(4). <https://doi.org/10.1093/femsec/fiv030>.
 50. Zgadzaj R, James EK, Kelly S, et al. A legume genetic framework controls infection of nodules by symbiotic and endophytic bacteria. *PLoS Genet*. 2015;11(6): e1005280. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1005280>.
 51. Lopez-Lopez A, Rogel MA, Ormeno-Orrillo E, et al. *Phaseolus vulgaris* seed-borne endophytic community with novel bacterial species such as *Rhizobium endophyticum* sp. nov. *Syst Appl Microbiol*. 2010;33(6):322-7. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2010.07.005>.
 52. Sturz AV, Christie BR, Matheson BG, Nowak J. Biodiversity of endophytic bacteria which colonize red clover nodules, roots, stems and foliage and their influence on host growth. *Biol Fertil Soils*. 1997;25(1):13-19. <https://doi.org/10.1007/s003740050273>.
 53. Selvakumar G, Kundu S, Gupta AD, et al. Isolation and characterization of nonrhizobial plant growth promoting bacteria from nodules of Kudzu (*Pueraria thunbergiana*) and their effect on wheat seedling growth. *Curr Microbiol*. 2008;56(2):134-139. <https://doi.org/10.1007/s00284-007-9062-z>.
 54. Tariq M, Hameed S, Yasmeen T, Ali A. Non-rhizobial bacteria for improved nodulation and grain yield of mung bean [*Vigna radiata* (L.) Wilczek]. *Afr J Biotechnol* 2012;11:15012-15019. <https://doi.org/10.5897/AJB11.3438>.
 55. Гарипова С.Р., Гарифуллина Д.В., Маркова О.В., и др. Комплексная биологическая активность *in vitro* эндофитных бактерий, выделенных из клубеньков гороха и фасоли // Известия Уфимского научного центра Российской академии наук. – 2015. – № 4–1. – С. 25–28. [Garipova SR, Garifullina DV, Markova OV, et al. Complex biological activity *in vitro* of endophytic bacteria isolated from pea and bean nodules. *Izvestiya Ufimskogo Nauchnogo Tsentra Rossiyskoy Akademii Nauk*. 2015;(4-1):25-28. (In Russ.)]
 56. Tariq M, Hameed S, Yasmeen T, et al. Molecular characterization and identification of plant growth promoting endophytic bacteria isolated from the root nodules of pea (*Pisum sativum* L.). *World J Microbiol Biotechnol*. 2014;30(2):719-725. <https://doi.org/10.1007/s11274-013-1488-9>.
 57. Carro L, Sproer C, Alonso P, Trujillo ME. Diversity of Micromonospora strains isolated from nitrogen fixing nodules and rhizosphere of *Pisum sativum* analyzed by multilocus sequence analysis. *Syst Appl Microbiol*. 2012;35(2):73-80. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2011.11.003>.
 58. Carro L, Riesco R, Sproer C, Trujillo ME. *Micromonospora luteifusca* sp. nov. isolated from cultivated *Pisum sativum*. *Syst Appl Microbiol*. 2016;39(4):237-42. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2016.04.003>.
 59. Iniguez AL, Dong Y, Carter HD, et al. Regulation of enteric endophytic bacterial colonization by plant defenses. *Mol Plant Microbe Interact*. 2005;18(2):169-78. <https://doi.org/10.1094/MPMI-18-0169>.
 60. Bahroun A, Jousset A, Mhamdi R, et al. Anti-fungal activity of bacterial endophytes associated with legumes against *Fusarium solani*: Assessment of fungi soil suppressiveness and plant protection induction. *Appl Soil Ecol*. 2018;124:131-140. <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.10.025>.
 61. Iqbal A, Arshad M, Hashmi I, et al. Biodegradation of phenol and benzene by endophytic bacterial strains isolated from refinery wastewater-fed *Cannabis sativa*. *Environ Technol*. 2018;39(13):1705-1714. <https://doi.org/10.1080/09593330.2017.1337232>.
 62. Orozco-Mosqueda MDC, Rocha-Granados MDC, Glick BR, Santoyo G. Microbiome engineering to improve biocontrol and plant growth-promoting mechanisms. *Microbiol Res*. 2018;208:25-31. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2018.01.005>.
 63. Wicaksono WA, Jones EE, Casonato S, et al. Biological control of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Psa), the causal agent of bacterial canker of kiwifruit, using endophytic bacteria recovered from a medicinal plant. *Biol Control*. 2018;116:103-112. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2017.03.003>.
 64. Mitter B, Pfaffenbichler N, Flavell R, et al. A new approach to modify plant microbiomes and traits by introducing beneficial bacteria at flowering into progeny seeds. *Front Microbiol*. 2017;8:11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00011>.
 65. Gamalero E, Lingua G, Berta G, Lemanceau P. Methods for studying root colonization by introduced beneficial bacteria. In: Sustainable Agriculture. Ed. by E. Lichtfouse, M. Navarrete, P. Debaeke, et al. Dordrecht: Springer; 2009. P. 601-615. https://doi.org/10.1007/978-90-481-2666-8_37.
 66. Chanway C. Bacterial endophytes: ecological and practical implications. *Sydowia*. 1998;50:149-170.
 67. Truyens S, Weyens N, Cuypers A, Vangronsveld J. Bacterial seed endophytes: Genera, vertical transmission and interaction with plants. *Environ Microbiol Rep*. 2014;7(1):40-50. <https://doi.org/10.1111/1758-2229.12181>.
 68. Frank AC, Saldierna Guzman JP, Shay JE. Transmission of bacterial endophytes. *Microorganisms*. 2017;5(4). <https://doi.org/10.3390/microorganisms5040070>.
 69. Herre E, Knowlton N, Mueller U, Rehner S. The evolution of mutualisms: exploring the paths between conflict and cooperation. *Trends Ecol Evol*. 1999;14(2):49-53. [https://doi.org/10.1016/S0169-5347\(98\)01529-8](https://doi.org/10.1016/S0169-5347(98)01529-8).

70. Moran NA. Symbiosis. *Curr Biol*. 2006;16(20): R866-871. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.09.019>.
71. Hardoim PR, Hardoim CC, van Overbeek LS, van Elsas JD. Dynamics of seed-borne rice endophytes on early plant growth stages. *PLoS One*. 2012;7(2):e30438. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030438>.
72. Ma Y, Rajkumar M, Luo Y, Freitas H. Inoculation of endophytic bacteria on host and non-host plants — effects on plant growth and Ni uptake. *J Hazard Mater*. 2011;195:230-237. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2011.08.034>.
73. Khan Z, Guelich G, Phan H, et al. Bacterial and yeast endophytes from poplar and willow promote growth in crop plants and grasses. *ISRN Agron*. 2012;2012:1-11. <https://doi.org/10.5402/2012/890280>.
74. Sprent JI, de Faria SM. Mechanisms of infection of plants by nitrogen fixing organisms. *Plant and Soil*. 1988;110(2):157-165. <https://doi.org/10.1007/bf02226795>.
75. Menpara D, Chanda S. Endophytic bacteria-unexplored reservoir of antimicrobials for combating microbial pathogens. In: Microbial pathogens and strategies for combating them: science, technology and education. Ed. by A. Méndez-Vilas. Formatex Research Center; 2013. P. 1095-1103.
76. Sharrock KR, Parkes SL, Jack HK, Rees-George J, Hawthorne BT. Involvement of bacterial endophytes in storage rots of buttercup squash (*Cucurbita maxima* d. hybrid 'delica'). *N Z J Crop Hortic Sci*. 1991;19(2):157-65. <https://doi.org/10.1080/01140671.1991.10421794>.
77. Coutinho BG, Licastro D, Mendonca-Previato L, et al. Plant-Influenced gene expression in the rice endophyte *Burkholderia kururiensis* M130. *Mol Plant Microbe Interact*. 2015;28(1):10-21. <https://doi.org/10.1094/MPMI-07-14-0225-R>.
78. Miche L, Battistoni F, Gemmer S, et al. Upregulation of jasmonate-inducible defense proteins and differential colonization of roots of *Oryza sativa* cultivars with the endophyte *Azoarcus* sp. *Mol Plant Microbe Interact*. 2006;19(5):502-511. <https://doi.org/10.1094/MPMI-19-0502>.
79. White JF, Belanger F, Meyer W, Sullivan RF, Bischoff JF, Lewis EA. Clavicipitalean fungal epibionts and endophytes — development of symbiotic interactions with plants. *Symbiosis*. 2002;33:201-213.
80. Berg G, Krechel A, Ditz M, et al. Endophytic and ectophytic potato-associated bacterial communities differ in structure and antagonistic function against plant pathogenic fungi. *FEMS Microbiol Ecol*. 2005;51(2):215-229. <https://doi.org/10.1016/j.femsec.2004.08.006>.
81. Pitzschke A. Developmental Peculiarities and Seed-Borne Endophytes in Quinoa: Omnipresent, Robust Bacilli Contribute to Plant Fitness. *Front Microbiol*. 2016;7:2. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.00002>.
82. Ambika Manirajan B, Ratering S, Rusch V, et al. Bacterial microbiota associated with flower pollen is influenced by pollination type, and shows a high degree of diversity and species-specificity. *Environ Microbiol*. 2016;18(12): 5161-74. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.13524>.
83. Madmony A, Chernin L, Pleban S, et al. Enterobacter cloacae, an obligatory endophyte of pollen grains of *Mediterranean pines*. *Folia Microbiol (Praha)*. 2005;50(3):209-216. <https://doi.org/10.1007/BF02931568>.
84. Jojima Y, Mihara Y, Suzuki S, et al. *Saccharibacter floricola* gen. nov., sp. nov., a novel osmophilic acetic acid bacterium isolated from pollen. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2004;54(Pt 6):2263-2267. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02911-0>.
85. Thrall PH, Hochberg ME, Burdon JJ, Bever JD. Coevolution of symbiotic mutualists and parasites in a community context. *Trends Ecol Evol*. 2007;22(3):120-6. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.11.007>.
86. Strobel GA. Endophytes as sources of bioactive products. *Microbes Infect*. 2003;5(6):535-544. [https://doi.org/10.1016/S1286-4579\(03\)00073-X](https://doi.org/10.1016/S1286-4579(03)00073-X).
87. Malfanova N, Lugtenberg BJJ, Berg G. Bacterial endophytes: who and where, and what are they doing there? In: Molecular Microbial Ecology of the Rhizosphere. Vol. 1. Ed. by F.J. de Bruijn. Hoboken: John Wiley & Sons, Ltd.; 2013. <https://doi.org/10.1002/9781118297674.ch36>.
88. Malfanova N, Kamilova F, Validov S, et al. Characterization of *Bacillus subtilis* HC8, a novel plant-beneficial endophytic strain from giant hogweed. *Microb Biotechnol*. 2011;4(4):523-532. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7915.2011.00253.x>.
89. Azevedo JL, Maccheroni W, Pereira JO, De Araújo WL. Endophytic microorganisms: A review on insect control and recent advances on tropical plants. *Electron J Biotechnol*. 2000;3(1):40-65. <https://doi.org/10.2225/vol3-issue1-fulltext-4>.
90. Ryan RP, Germaine K, Franks A, et al. Bacterial endophytes: recent developments and applications. *FEMS Microbiol Lett*. 2008;278(1):1-9. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00918.x>.
91. Maksimov IV, Abizgil'dina RR, Pusenkova LI. Plant growth promoting rhizobacteria as alternative to chemical crop protectors from pathogens (review). *Appl Biochem Microbiol*. 2011;47(4):333-345. <https://doi.org/10.1134/S0003683811040090>.
92. Riley MA, Wertz JE. Bacteriocins: evolution, ecology, and application. *Annu Rev Microbiol*. 2002;56:117-137. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.56.012302.161024>.
93. Strobel G, Daisy B, Castillo U, Harper J. Natural products from endophytic microorganisms. *J Nat Prod*. 2004;67(2):257-268. <https://doi.org/10.1021/np030397v>.

94. Гарипова С.Р., Гарифуллина Д.В., Маркова О.В., и др. Изучение бактериальных ассоциаций эндофитов клубеньков, способствующих увеличению продуктивности бобовых растений // *Агрехимия*. — 2010. — № 11. — С. 50–58. [Garipova SR, Garifulina DV, Markova OV, et al. Bacterial Endophyte Associations of Nodules Increasing the Productivity of Legumes. *Agrokhimiya*. 2010;(11):50-58 (In Russ.)]
95. Verma S. Evaluation of plant growth promoting and colonization ability of endophytic diazotrophs from deep water rice. *J Biotechnol*. 2001;91(2-3):127-141. [https://doi.org/10.1016/s0168-1656\(01\)00333-9](https://doi.org/10.1016/s0168-1656(01)00333-9).
96. Costa JM, Loper JE. Characterization of siderophore production by the biological control agent enterobacter cloacae. *MPMI-Mol Plant Microbe Interact*. 1994;7(4):440-448. <https://doi.org/10.1094/MPMI-7-0440>.
97. Pirttila AM, Joensuu P, Pospiech H, et al. Bud endophytes of Scots pine produce adenine derivatives and other compounds that affect morphology and mitigate browning of callus cultures. *Physiol Plant*. 2004;121(2):305-312. <https://doi.org/10.1111/j.0031-9317.2004.00330.x>.
98. Ryan RP, Ryan DJ, Sun YC, et al. An acquired efflux system is responsible for copper resistance in *Xanthomonas* strain IG-8 isolated from China. *FEMS Microbiol Lett*. 2007;268(1):40-46. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2006.00592.x>.
99. Гарипова С.Р., Иргалина Р.Ш., Дмитриева Д.Ф., Кутуева А.Г. Оценка новых штаммов эндофитных бацилл и ризобий при инокуляции фасоли сорта Уфимская в условиях Предуралья // Доклады Башкирского университета. — 2016. — Т. 1. — № 4. — С. 705–10. [Garipova SR, Irgalina RS, Dmitrieva DF, Kutueva AG. Evaluation of new strains of endophytic bacilli and rhizobia when inoculated of common bean Ufimskaya variety under South Ural. *Doklady Bashkirskogo Universiteta*. 2016;1(4):705-710. (In Russ.)]
100. Kuiper I, Lagendijk EL, Bloembergen GV, Lugtenberg BJ. Rhizoremediation: a beneficial plant-microbe interaction. *Mol Plant Microbe Interact*. 2004;17(1):6-15. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2004.17.1.6>.
101. Chebotar VK, Malfanova NV, Shcherbakov AV, et al. Endophytic bacteria in microbial preparations that improve plant development (review). *Appl Biochem Microbiol*. 2015;51(3):271-277. <https://doi.org/10.1134/S0003683815030059>.
102. Shtark OY, Sulima AS, Zhernakov AI, et al. Arbuscular mycorrhiza development in pea (*Pisum sativum* L.) mutants impaired in five early nodulation genes including putative orthologs of NSP1 and NSP2. *Symbiosis*. 2016;68(1-3):129-144. <https://doi.org/10.1007/s13199-016-0382-2>.
103. Гарипова С.Р. Перспективы использования эндофитных бактерий в биоремедиации почв агроэкосистем от пестицидов и других ксенобиотиков // Успехи современной биологии. — 2014. — Т. 134. — № 1. — С. 35–47. [Garipova SR. Prospects of Using Endophytic Bacteria for Bioremediation of Arable Soils Polluted by Residual Amounts of Pesticides and Xenobiotics. *Uspekhi Sovremennoi Biologii*. 2014;134(1):35-47. (In Russ.)]
104. Siciliano SD, Fortin N, Mihoc A, et al. Selection of specific endophytic bacterial genotypes by plants in response to soil contamination. *Appl Environ Microbiol*. 2001;67(6):2469-2475. <https://doi.org/10.1128/AEM.67.6.2469-2475.2001>.
105. Moore FP, Barac T, Borremans B, et al. Endophytic bacterial diversity in poplar trees growing on a BTEX-contaminated site: the characterisation of isolates with potential to enhance phytoremediation. *Syst Appl Microbiol*. 2006;29(7):539-556. <https://doi.org/10.1016/j.syapm.2005.11.012>.
106. Oyserman BO, Medema MH, Raaijmakers JM. Road MAPs to engineer host microbiomes. *Curr Opin Microbiol*. 2018;43:46-54. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.11.023>.
107. Dini-Andreote F, Raaijmakers JM. Embracing community ecology in plant microbiome research. *Trends Plant Sci*. 2018;23(6):467-469. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.03.013>.

✪ Информация об авторах

Екатерина Николаевна Васильева — техник 1-й категории, лаборатория генетики растительно-микробных взаимодействий, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», Пушкин, Санкт-Петербург; студент, кафедра микробиологии, биологический факультет, ФГБУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург. E-mail: evasilieva@arriam.ru.

Гульнар Асановна Ахтемова — канд. биол. наук, старший научный сотрудник, лаборатория генетики растительно-микробных взаимодействий, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», Пушкин, Санкт-Петербург. E-mail: ahgulya@yandex.ru.

✪ Information about the authors

Ekaterina N. Vasileva — Technician, Laboratory of Genetics of Plant-Microbe Interactions, All-Russian Research Institute for Agricultural Microbiology, Pushkin, St. Petersburg, Russia; Student, Faculty of Biology, Department of Microbiology, Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russia E-mail: evasilieva@arriam.ru.

Gulnar A. Akhtemova — PhD, Senior Scientist, Laboratory of Genetics of Plant-Microbe Interactions, All-Russian Research Institute for Agricultural Microbiology, Pushkin, St. Petersburg, Russia. E-mail: ahgulya@yandex.ru.

☼ Информация об авторах

Владимир Александрович Жуков — канд. биол. наук, заведующий лабораторией, лаборатория генетики растительно-микробных взаимодействий. ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», Пушкин, Санкт-Петербург. E-mail: vzhukov@arriam.ru.

Игорь Анатольевич Тихонович — д-р биол. наук, научный руководитель института, академик РАН, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии», Пушкин, Санкт-Петербург; декан, биологический факультет, ФГБУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный университет», Санкт-Петербург. E-mail: arriam2008@yandex.ru.

☼ Information about the authors

Vladimir A. Zhukov — PhD, Head of the Lab, Laboratory of Genetics of Plant-Microbe Interactions. All-Russian Research Institute for Agricultural Microbiology, Pushkin, St. Petersburg, Russia. E-mail: vzhukov@arriam.ru.

Igor A. Tikhonovich — Sc.D., Professor PI, Academician of RAS, All-Russian Research Institute for Agricultural Microbiology, Pushkin, St. Petersburg, Russia; Dean of the Faculty, Faculty of Biology, Saint Petersburg State University, St. Petersburg, Russia. E-mail: arriam2008@yandex.ru.