СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ БИОЛОГИЯ, 2015, том 50, № 5, с. 648-654

УДК 631.8:632.9:579.64 doi: 10.15389/agrobiology.2015.5.648rus

ЭНДОФИТНЫЕ БАКТЕРИИ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ РЕСУРС И ИХ РАЗНООБРАЗИЕ*

В.К. ЧЕБОТАРЬ, А.В. ЩЕРБАКОВ, Е.Н. ЩЕРБАКОВА, С.Н. МАСЛЕННИКОВА, А.Н. ЗАПЛАТКИН, Н.В. МАЛЬФАНОВА

Эндофитными называются бактерии, способные колонизировать внутренние ткани растения, не вызывая его заболеваний и не оказывая отрицательного влияния на развитие. Открываются большие перспективы по поиску, выделению и изучению новых видов эндофитных бактерий, положительно влияющих на развитие растений, с целью создания новых микробиологических препаратов для адаптивного растениеводства. Бактериальные эндофиты колонизируют те же экологические ниши, что и фитопатогенные микроорганизмы, поэтому рассматриваются как перспективный агент биоконтроля фитопатогенов. Классические исследования биоразнообразия эндофитных бактерий основаны на характеристике изолятов, полученных из внутренних тканей растений после поверхностной стерилизации. Эндофитные бактерии способны улучшать фосфорное питание растений, продуцировать ИУК и сидерофоры. Показано, что эндофитные бактерии могут продуцировать витамины, а также обладают дополнительными свойствами, необходимыми для улучшения развития растений, такими как регуляция осмотического давления и работы устьиц, модификация развития корневой системы растений, регуляция азотного питания. Эндофитные бактерии способны уменьшать или предотвращать отрицательное воздействие фитопатогенных микроорганизмов. Инокуляция растений эндофитными бактериями способна значительно уменьшать вред, наносимый патогенными грибами, бактериями, вирусами, насекомыми и нематодами. Уникальные штаммы эндофитных бактерий могут быть использованы непосредственно для инокуляции семян или саженцев, уменьшая таким образом влияние биотических и абиотических факторов за счет активной колонизации внутренних тканей и последующего позитивного биохимического и физиологического воздействия на растение. Находясь в эндосфере, эндофиты имеют существенное преимущество перед организмами, обитающими в ризосфере и филлосфере за счет стабильного pH, влажности, потока питательных веществ и отсутствия конкуренции со стороны большого числа микроорганизмов. Для инокуляции растений эндофитными бактериями не требуется больших количеств инокулюма, учитывая высокую специфичность этого растительно-микробного симбиоза и конкурентоспособность эндофитных бактерий. Такой прием может быть весьма привлекательным для биотехнологических производств, ищущих замену традиционным химическим пестицидам.

Ключевые слова: эндофитные бактерии, биоразнообразие, растительно-микробное взаимодействие, ростстимуляция, биоконтроль, вторичные метаболиты, геном бактерий, микробные препараты.

Ассоциации растений с полезными микроорганизмами привлекают внимание ученых не только как объект для изучения фундаментальных основ взаимодействия различных организмов, но и с точки зрения возможного их использования в практике экологически ориентированного растениеводства. Помимо ризосферных микроорганизмов (1-3), известны так называемые эндофитные бактерии, которые колонизируют ткани внутри растения, не вызывая его заболеваний и не оказывая отрицательного влияния на развитие (4, 5). Из 300 000 видов растений, существующих на Земле, каждый служит хозяином для одного и более видов эндофитных бактерий (6). Однако в настоящее время всего несколько видов растений достаточно полно изучены в отношении содержания в них эндофитов.

Следовательно, поиск новых видов эндофитных бактерий, положительно влияющих на развитие растений, открывает перспективы для разработки эффективных микробиологических препаратов для адаптивного растениеводства (7). Бактериальные эндофиты колонизируют те же экологические ниши в растении, что и фитопатогенные микроорганизмы, поэтому рассматриваются как перспективный агент биоконтроля фитопатогенов (3).

* Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 14-16-00146).

В ряде работ показано, что эндофитные бактерии способны ингибировать развитие фитопатогенных микроорганизмов (8, 9) и нематод (10-12) посредством синтеза биологически активных соединений. Изучение биоразнообразия таких бактерий позволит выделить и идентифицировать вещества для создания новых препаратов для борьбы с болезнями человека, растений и животных (6). Кроме того, некоторые штаммы эндофитных бактерий могут быть использованы для фиторемедиации, т.е. очистки техногенно загрязненных территорий с помощью создания специальных растительно-бактериальных систем (7, 13-18).

Нишу эндофитов в растении способны занять лишь те бактерии, которые проникают внутрь его тканей. Обычно они колонизируют межклеточные пространства и могут быть выделены из всех частей растения, включая семена. Эндофитные бактерии обнаружены в однодольных и двудольных растениях, как древесных (дуб *Quercus* L., груша *Pyrus* L.), так и травянистых (сахарная свекла *Beta vulgaris* L., кукуруза *Zea mays* L.) (19). Классические исследования основывались на характеристике изолятов, полученных из внутренних тканей растений после поверхностной стерилизации (20, 21). Подробные списки бактериальных эндофитов, включающие грамположительные и грамотрицательные виды, приведены в нескольких обзорах (22, 23).

Изучение микробных сообществ эндофитов, населяющих стебли, корни и клубни сельскохозяйственных культур с помощью анализа последовательностей гена 16S-РНК, профиля жирных кислот и утилизации различных источников углерода показало, что они представлены родами *Cellulomonas*, *Clavibacter*, *Curtobacterium*, *Pseudomonas* и *Microbacterium* (24). Исследование надземной части *Crocus albiflorus* позволило выявить разнообразные сообщества бактериальных эндофитов, причем как ранее известных, так и не известных науке (25). Высокая плотность эндофитных бактерий отмечена в проростках тополя (*Populus* L.), ели (*Picea* A. Dietr.) и лиственницы (*Larix* Mill.), выращенных из культуры ткани (26). На основании анализа последовательностей гена 16S-РНК большинство этих изолятов отнесены к роду *Paenibacillus*. Другие эндофитные бактерии из родов *Methylobacterium*, *Stenotrophomonas* или *Bacillus* обнаружены только в некоторых культурах тканей тополя, ели и лиственницы. Виды *Paenibacillus*, близкие к *P. humicus*, накапливаются в тканях в условиях in vitro без видимого негативного эффекта на растения. Микрочеренки тополя, инокулированные эндофитным штаммом *Paenibacillus* sp. 22, имели достоверно больше корней на черенок, и такие корни были длиннее, чем корни в контроле через 3 нед культивирования (26).

В Китае (провинция Хэбэй) с помощью анализа последовательностей гена 16S-РНК изучено разнообразие эндофитных бактерий риса (*Oryza sativa* L.) (27). Показано наличие фил бактерий, относящихся к альфа-, бета-, гамма-, дельта- и эпсилон-субклассам *Proteobacteria*, *Cytophaga*, *Flexibacter*, *Deinococcus-Thermus*, *Acidobacteria* и археям. Доминирующей группой была *Betaproteobacteria* (27,08 % от всех изолятов), в которой преобладал род *Stenotrophomonas*. Более 14 % изолятов относились к некультивируемым видам бактерий (27). В Индии исследовано разнообразие эндофитных бактерий в стеблях кукурузы (*Zea mays* L.), выращиваемой в тропиках (28). Эндофиты обнаруживались в течение всего вегетационного сезона. Их численность составляла $1{,}36\times10^5$-$6{,}12\times10^5$ КОЕ/г сырой биомассы. Идентификация бактериальных изолятов, проведенная с помощью хроматографического анализа профиля жирных кислот, показала доминирование *Bacillus pumilus*, *B. subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* и *P. fluorescens*.

При исследовании четырех сельскохозяйственных культур — куку-

рузы *Zea mays* L., сорго *Sorghum* Moench, сои *Glycine max* (L.) Merr. и пшеницы *Triticum* L., а также широкого круга дикорастущих злаковых и бобовых трав было выделено 853 штамма эндофитов. Примерно половина из них принадлежала к грамположительным, остальные — к грамотрицательным бактериям. Анализ профиля жирных кислот позволил отнести изоляты эндофитов к 15 родам: *Agrobacterium*, *Bacillus*, *Bradyrhizobium*, *Cellulomonas*, *Clavibacter*, *Corynebacterium*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Escherichia*, *Klebsiella*, *Microbacterium*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Rothia*, *Xanthomonas*. Доминировали *Bacillus*, *Corynebacterium* и *Microbacterium*. Причем эндофитные бактерии из родов *Cellulomonas*, *Clavibacter*, *Curtobacterium* и *Microbacterium*, выделенные как из культурных, так и из диких растений, обладали наивысшей колонизационной активностью на кукурузе и сорго (29).

Современные методы визуализации микроорганизмов, основанные на использовании автофлуоресцирующих белков (30), помогают обнаружить и подсчитать микроорганизмы in situ на поверхности и внутри растений (30-32). Одна из таких маркерных систем представлена зеленым флуоресцирующим белком (GFP), который оказался очень удобен при мониторинге колонизации псевдомонадами внутренних тканей растений (31, 32). Бактериальные клетки с геном *gfp* под конститутивным промотором, встроенным в хромосому, можно легко идентифицировать при помощи эпилюминесцентной микроскопии или конфокального лазерного сканирующего микроскопа (15, 33). Колонизация эндофитными бактериями внутренних тканей растения также может быть визуализирована при помощи β-глюкуронидазной (GUS) репортерной системы. Так, GUS-маркированный штамм *Herbaspirillum seropedicae* Z67 был использован для инокуляции проростков риса. При этом наиболее интенсивное окрашивание наблюдалось в колеоптилях, латеральных корнях и соединениях латеральных корней с главным корнем (34). *Herbaspirillum seropedicae* впоследствии колонизирует межклеточные пространства, аэренхиму и кортикальные клетки, а некоторые бактериальные клетки могут проникать в стелу и далее в сосудистую ткань.

Для ассоциаций растений с эндофитными бактериями не характерна видимая анатомическая дифференциация партнеров. Тем не менее, в их развитие могут быть вовлечены молекулярные механизмы, описанные для бобово-ризобиального и арбускулярно-микоризного симбиозов (35).

Имеются сведения, указывающие на существование определенной специфичности взаимодействий в системе «эндофитная бактерия—растение-хозяин». Показано, что облигатный азотфиксирующий эндофит *Azoarcus* sp. (штамм BH72) индуцирует защитные механизмы растения-хозяина, что затрудняет колонизацию растений риса другими эндофитными бактериями (36). В результате инокуляции проростков кукурузы штаммами доминирующих эндофитов стеблей этой культуры *Bacillus pumilus*, *B. subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa* и *P. fluorescens* наибольшая плотность эндофитных бактерий в проростках наблюдалась в варианте с *B. subtilis* (37).

Проведены исследования ростстимулирующей активности эндофитных бактерий (37). В отличие от биоконтрольных штаммов ризосферных бактерий они не ингибируют рост фитопатогенных микроорганизмов, а стимулируют развитие растений за счет улучшения минерального питания. Эндофитные бактерии способны интенсифицировать фосфорное питание растений (38, 39), продуцировать индолилуксусную кислоту (40), сидерофоры (41) и витамины (42). Кроме того, они принимают участие в регуляции осмотического давления и работы устьиц, модификации развития корневой системы растений, регуляции азотного питания (43). В последнее время ростстимулирующие эндофиты начали активно применяться для лесовосста-

новления и фиторемедиации техногенно загрязненных почв (7).

Эндофитные бактерии способны снижать или предотвращать отрицательное воздействие фитопатогенных микроорганизмов на растения (18, 44, 45). Инокуляция растений эндофитами может значительно уменьшать вред, наносимый растениям патогенными грибами, бактериями, вирусами, насекомыми и нематодами (22, 45-47). Предполагается, что определенные виды эндофитных бактерий запускают защитный механизм растений, известный как индуцированная системная устойчивость (ISR), которая схожа с приобретенной системной устойчивостью (SAR) (7, 48). Следовательно, бактериальные эндофиты перспективны для разработки микробиологических экологически безопасных приемов борьбы с болезнями растений.

Многие эндофиты — это представители общеизвестных почвенных бактерий из родов *Pseudomonas*, *Burkholderia* и *Bacillus* (22), служащих продуцентами вторичных бактериальных метаболитов (антибиотиков, антираковых веществ, летучих органических соединений, фунгицидных, инсектицидных и иммунодепрессивных веществ). Тем не менее, эндофитные бактерии до сих пор недостаточно используются в качестве источников биологически активных веществ (7).

Уникальные штаммы эндофитных бактерий могут применяться для инокуляции семян или саженцев, уменьшая влияние биотических и абиотических факторов благодаря активной колонизации внутренних тканей и последующему положительному биохимическому и физиологическому воздействию на растение. Находясь в эндосфере, эндофиты имеют существенное преимущество перед организмами, обитающими в ризосфере и филлосфере за счет стабильного pH, влажности, потока питательных веществ и отсутствия конкуренции со стороны большого числа микроорганизмов (42). Очень важно, что эндофиты — это не случайные бактерии, занимающие нишу эндосферы. Скорее всего, они отбираются самим растением как совместимые и способные обеспечивать его необходимыми веществами для защиты от стрессовых факторов. Энергия, затраченная растением на производство биомассы эндофитных бактерий, компенсируется за счет улучшения развития и физиологического состояния хозяина.

Изучение эндофитов, находящихся во внутренних тканях тополя, показало, что они перспективны для создания микробных препаратов, используемых для фиторемедиации полей, загрязненных толуеном, летучими углеводородами и тяжелыми металлами (7, 15, 17).

Для инокуляции растений эндофитными бактериями не требуется больших количеств инокулюма, учитывая высокую специфичность данного растительно-микробного симбиоза и конкурентоспособность эндофитных бактерий. Этот прием может быть весьма привлекательным для биотехнологических производств, ищущих замену традиционным химическим пестицидам. Будущее использование комбинаций эндофитов с коммерческими пестицидами, применяемыми для обработки семян или проростков, может привести к синергическому эффекту против одного или нескольких возбудителей болезней. Химические пестициды способны оказывать кратковременное ингибирующее действие на фитопатогенные микроорганизмы, тогда как биологические агенты негативно воздействуют на фитопатогены в течение всего вегетационного сезона.

Таким образом, в природе растения развиваются в тесном содружестве с эндофитными бактериями, которые способны увеличивать урожай сельскохозяйственных культур, способствовать фиторемедиации почв, ингибировать развитие патогенов, фиксировать азот атмосферы и производить биологически активные вещества. Использование взаимодействий эн-

дофит—растение может улучшить развитие сельскохозяйственных культур, а также снизить затратность производства пищевой и технической сельскохозяйственной продукции. Понимание механизмов, обеспечивающих эндофитным бактериям способность взаимодействовать с растениями и положительно влиять на их развитие, позволит более полно использовать биотехнологический потенциал этих микроорганизмов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lindow S.E., Brandl M.T. Microbiology of the phyllosphere. Appl. Environ. Microbiol., 2003, 69: 1875-1883 (doi: 10.1128/AEM.69.4.1875-1883.2003).
2. Kuiper I., Lagendijk E.L., Bloemberg G.V., Lugtenberg B.J. Rhizoremediation: a beneficial plant—microbe interaction. Mol. Plant Microbe Interact., 2004, 17: 6-15 (doi: 10.1094/MPMI.2004.17.1.6).
3. Berg G., Eberl L., Hartmann A. The rhizosphere as a reservoir for opportunistic human pathogenic bacteria. Environ. Microbiol., 2005, 7: 1673-1685 (doi: 10.1111/j.1462-2920.2005.00891.x).
4. Holliday P. A dictionary of plant pathology. Cambridge University Press, Cambridge, 1989.
5. Schulz B., Boyle C. What are endophytes? In: Microbial root endophytes /B.J.E. Schulz, C.J.C. Boyle, T.N. Sieber (eds.). Springer-Verlag, Berlin, 2006: 1-13.
6. Strobel G., Daisy B., Castillo U., Harper J. Natural products from endophytic microorganisms. J. Nat. Prod., 2004, 67: 257-268 (doi: 10.1021/np030397v).
7. Ryan R.P., Germaine K., Franks A., Ryan D.J., Dowling D.N. Bacterial endophytes: recent developments and applications. FEMS Microbiol. Lett., 2008, 278: 1-9 (doi: 10.1111/j.1574-6968.2007.00918.x).
8. Lima A.C.F., Pizauro Junior J.M., Macari M., Malheiros E.B. Efeito do uso de probiotico sobre o desempenho e a atividade de enzimas digestivas de frangos de corte. Revista Brasileira de Zootecnia, 2003, 32: 200-207.
9. Koumoutsi A., Chen X.-H., Henne A., Liesegang H., Hitzeroth G., Franke P., Vater J., Borriss R. Structural and functional characterization of gene clusters directing nonribosomal synthesis of bioactive cyclic lipopeptides in *Bacillus amyloliquefaciens* strain FZB42. J. Bacteriol., 2004, 186(4): 1084-1096 (doi: 10.1128/JB.186.4.1084-1096.2004).
10. Azevedo J.L., Maccheroni J. Jr., Pereira O., Ara W.L. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. Electr. J. Biotech., 2000, 3: 40-65 (doi: 10.2225/vol3-issue1-fulltext-4).
11. Hallmann J., Quadt-Hallmann A., Mahaffee W.F., Kloepper J.W. Bacterial endophytes in agricultural crops. Can. J. Microbiol., 1997, 43: 895-914 (doi: 10.1139/m97-131).
12. Hallmann J., Quadt-Hallmann A., Rodriguez-Kabana R., Kloepper J.W. Interactions between *Meloidogyne incognita* and endophytic bacteria in cotton and cucumber. Soil Biol. Biochem., 1998, 30: 925-937 (doi: 10.1016/S0038-0717(97)00183-1).
13. Siciliano S., Fortin N., Himoc N., Siciliano S.D., Fortin N., Mihoc A., Wisse G., Labelle S., Beaumier D., Ouellette D., Roy R., Whyte L.G., Banks M.K., Schwab P., Lee K., Greer C.W. Selection of specific endophytic bacterial genotypes by plants in response to soil contamination. Appl. Environ. Microbiol., 2001, 67: 2469-2475 (doi: 10.1128/AEM.67.6.2469-2475.2001).
14. Barac T., Taghavi S., Borremans B., Provoost A., Oeyen L., Colpaert J.V., Vangronsveld J., van der Lelie D. Engineered endophytic bacteria improve phytoremediation of water-soluble, volatile, organic pollutants. Nat. Biotechnol., 2004, 22: 583-588 (doi: 10.1038/nbt960).
15. Germaine K.J., Keogh E., Garcia-Cabellos G., Borremans B., Lelie D., Barac T., Oeyen L., Vangronsveld J., Moore F.P., Moore E.P., Campbell C.D., Ryan D., Dowling D.N. Colonisation of poplar trees by *gfp* expressing bacterial endophytes. FEMS Microbiol. Ecol., 2004, 48: 109-118 (doi: 10.1016/j.femsec.2003.12.009).
16. Germaine K., Liu X., Cabellos G., Hogan J., Ryan D., Dowling D.N. Bacterial endophyte-enhanced phyto-remediation of the organochlorine herbicide 2,4-dichlorophenoxyacetic acid. FEMS Microbiol. Ecol., 2006, 57: 302-310.
17. Porteous-Moore F., Barac T., Borremans B., Oeyen L., Vangronsveld J., van der Lelie D., Campbell D., Moore E.R.B. Endophytic bacterial diversity in poplar trees growing on a BTEX-contaminated site: the characterisation of isolates with potential to enhance phytoremediation. Sys. Appl. Microbiol., 2006, 29: 539-556.
18. Ryan R.P., Ryan D.J., Sun Y.C., Li F-M., Wang Y., Dowling D.N. An acquired efflux system is responsible for copper resistance in *Xanthomonas* strain IG-8 isolated from China. FEMS Microbiol. Lett., 2007, 268: 40-46 (doi: 10.1111/j.1574-6968.2006.00592.x) .
19. Posada F., Vega F.E. Establishment of the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* (*Ascomycota:Hypocreales*) as an endophyte in cocoa seedlings (*Theobroma cacao*). Mycologia, 2005, 97: 1195-1200 (doi: 10.3852/mycologia.97.6.1195).
20. Miche L., Balandreau J. Effects of rice seed surface sterilization with hypochlorite on

inoculated *Burkholderia vietnamiensis*. Appl. Environ. Microbiol., 2001, 67: 3046-3052 (doi: 10.1128/AEM.67.7.3046-3052.2001).
21. Lodewyckx C., Vangronsveld J., Porteous F., Moore E.R.B., Taghavi S., Mezgeay M., van der Lelie D. Endophytic bacteria and their potential applications. Crit. Rev. Plant Sci., 2002, 21: 583-606 (doi: 10.1080/0735-260291044377).
22. Rosenblueth M., Martinez-Romero E. Bacterial endophytes and their interactions with hosts. Mol. Plant Microbe Interact., 2006, 19: 827-837 (doi: 10.1094/MPMI-19-0827).
23. Berg G., Hallmann J. Control of plant pathogenic fungi with bacterial endophytes. In: Microbial root endophytes /B.J.E. Schulz, C.J.C. Boyle, T.N. Sieber (eds.). Springer-Verlag, Berlin, 2006.
24. Franks A., Ryan P.R., Abbas A., Mark G.L., O'Gara F. Molecular tools for studying plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Molecular techniques for soil and rhizosphere microorganisms. CABI Publishing, Wallingford, Oxfordshire, UK, 2006.
25. Reiter B., Sessitsch A. Bacterial endophytes of the wildflower *Crocus albiflorus* analyzed by characterization of isolates and by a cultivation-independent approach. Can. J. Microbiol., 2006, 52: 140-149 (doi: 10.1139/w05-109).
26. Ulrich K., Stauber T., Ewald D. *Paenibacillus* — a predominant endophytic bacterium colonising tissue cultures of woody plants. Plant Cell Tiss. Organ. Cult., 2008, 93: 347-351 (doi: 10.1007/s11240-008-9367-z).
27. Sun L., Qiu F., Zhang X., Dai X., Dong X., Song W. Endophytic bacterial diversity in rice (*Oryza sativa* L.) roots estimated by 16S rDNA sequence analysis. Microb. Ecol., 2008, 55: 415-424 (doi: 10.1007/s00248-007-9287-1).
28. Rai R., Prasanta K., Dash P.K., Prasanna B.M., Singh A. Endophytic bacterial flora in the stem tissue of a tropical maize (*Zea mays* L.) genotype: isolation, identification and enumeration. World J. Microbiol. Biotechnol., 2007, 23: 853-858 (doi: 10.1007/s11274-006-9309-z).
29. Zinniel D.K., Lambrecht P., Harris N.B., Feng Z, Kuczmarski D., Higley P., Ishimaru C.A., Arunakumari A., Raul B.G., Vidaver A.K. Isolation and characterization of endophytic colonizing bacteria from agronomic crops and prairie plants. Appl. Environ. Microbiol., 2002, 68(5): 2198-2208 (doi: 10.1128/AEM.68.5.2198-2208.2002).
30. Larrainzar E., O'Gara F., Morrissey J.P. Applications of autofluorescent proteins for in situ studies in microbial ecology. Ann. Rev. Microbiol., 2005, 59: 257-277 (doi: 10.1146/annurev.micro.59.030804.121350).
31. Gage D.J., Bobo T., Long S.R. Use of green fluorescent protein to visualize early events of symbiosis between *Rhizobium meliloti* and alfalfa (*Medicago sativa*). J. Bacteriol., 1996, 178: 7159-7166.
32. Tombolini R., Unge A., Davey M.E., de Bruijn F.J., Jansson J.K. Flow cytometric and microscopic analysis of GFP-tagged *Pseudomonas fluorescens* bacteria. FEMS Microbiol. Ecol., 1997, 22: 17-28 (doi: 10.1111/j.1574-6941.1997.tb00352.x).
33. Tombolini R., Jansson J.K. Monitoring of GFP-tagged bacterial cells. In: Methods in molecular biology: bioluminescence methods and protocols /R.A. LaRossa (ed.). Totowa, NJ, 1998: 285-298.
34. Villacieros M., Power B., Sanchez-Contreras M., Lloret J., Oruezabal R.I., Martin M., Fernandez-Pinas F., Bonilla I., Whelan C., Dowling D.N., Rivilla R. Colonization behaviour of *Pseudomonas fluorescens* and *Sinorhizobium meliloti* in the alfalfa (*Medicago sativa*) rhizosphere. Plant Soil, 2003, 251: 47-54 (doi: 10.1023/A:1022943708794).
35. James E.K., Gyaneshwar P., Mathan N., Barraquio W.L., Reddy P.M., Iannetta P.P., Olivares F.L., Ladha J.K. Infection and colonization of rice seedlings by the plant growth-promoting bacterium *Herbaspirillum seropedicae* Z67. Mol. Plant Microbe Interact., 2002, 15: 894-906 (doi: 10.1094/MPMI.2002.15.9.894).
36. Miche L., Battistoni F., Gemmer S., Belghazi M., Reinhold-Hurek B. Up regulation of jasmonate-inducible defense proteins and differential colonization of roots of Oryza sativacultivars with the endophyte *Azoarcus* sp. Mol. Plant. Microbe Interact., 2006, 1: 502-511 (doi: 10.1094/MPMI-19-0502).
37. Verma S.C., Ladha J.K., Tripathi A.K. Evaluation of plant growth promoting and colonization ability of endophytic diazotrophs from deep water rice. J. Biotechnol., 2001, 91: 127-141 (doi: 10.1016/S0168-1656(01)00333-9).
38. Wakelin S., Warren R., Harvey P., Ryder M. Phosphate solubilization by *Penicillium* spp. closely associated with wheat roots. Bio. Fert. Soils, 2004, 40: 36-43 (doi: 10.1007/s00374-004-0750-6).
39. Lee S., Flores-Encarnacion M., Contreras-Zentella M., Garcia-Flores L., Escamilla J.E., Kennedy C. Indole-3-acetic acid biosynthesis is deficient in *Gluconacetobacter diazotrophicus* strains with mutations in cytochrome C biogenesis genes. J. Bacteriol., 2004, 186: 5384-5391 (doi: 10.1128/JB.186.16.5384-5391.2004).
40. Costa J.M., Loper J.E. Characterization of siderophore production by the biological-control agent *Enterobacter cloacae*. Mol. Plant Microbe Interact., 1994, 7: 440-448.
41. Pirttila A., Joensuu P., Pospiech H., Jalonen J., Hohtola A. Bud endophytes of Scots pine produce adenine derivatives and other compounds that affect morphology and mitigate browning of callus cultures. Physiol. Plant, 2004, 121: 305-312 (doi: 10.1111/j.0031-9317.2004.00330.x).
42. Compant S., Duffy B., Nowak J., Clement C., Barka E.A. Use of plant growth-

promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. Appl. Environ. Microbiol., 2005, 71: 4951-4959 (doi: 10.1128/AEM.71.9.4951-4959.2005).
43. Compant S., Reiter B., Sessitsch A., Nowak J., Clement C., Barka E.A. Endophytic colonization of *Vitis vinifera* L. by a plant growth-promoting bacterium, *Burkholderia* sp. strain PsJN. Appl. Environ. Microbiol., 2005, 71: 1685-1693 (doi: 10.1128/AEM.71.4.1685-1693.2005).
44. Gray E.J., Smith D.L. Intracellular and extracellular PGPR: commonalities and distinctions in the plant-bacterium signalling processes. Soil Biol. Biochem., 2005, 37: 395-412 (doi: 10.1016/j.soilbio.2004.08.030).
45. Kerry B.R. Rhizosphere interactions and the exploitation of microbial agents for the biological control of plant-parasitic nematodes. Ann. Rev. Phytopathol., 2000, 38: 423-441 (doi: 10.1146/annurev.phyto.38.1.423).
46. Sturz A.V., Christie B.R., Nowak J. Bacterial endophytes: potential role in developing sustainable systems of crop production. Crit. Rev. Plant Sci., 2000, 19: 1-30 (doi: 10.1080/07352680091139169).
47. Ping L., Boland W. Signals from the underground: bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. Trends Plant Sci., 2004, 9: 263-266 (doi: 10.1016/j.tplants.2004.04.008).
48. Kloepper J.W., Ryu C.-M. Bacterial endophytes as elicitors of induced systemic resistance. In: Microbial root endophytes /B.J.E. Schulz, C.J.C. Boyle, T.N. Sieber (eds.). Springer-Verlag, Berlin, 2006.

ФГБНУ Всероссийский НИИ сельскохозяйственной микробиологии,
196608 Россия, г. Санкт-Петербург—Пушкин, ш. Подбельского, 3,
e-mail: vladchebotar@rambler.ru

Поступила в редакцию 24 апреля 2015 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [*Agricultural Biology*], 2015, V. 50, № 5, pp. 648-654

BIODIVERSITY OF ENDOPHYTIC BACTERIA AS A PROMISING BIOTECHNOLOGICAL RESOURCE

V.K. Chebotar', A.V. Shcherbakov, E.N. Shcherbakova, S.N. Maslennikova, A.N. Zaplatkin, N.V. Mal'fanova

All-Russian Research Institute for Agricultural Microbiology, Federal Agency of Scientific Organizations, 3, sh. Podbel'skogo, St. Petersburg, 196608 Russia, e-mail vladchebotar@rambler.ru
Acknowledgements:
Supported by Russian Science Foundation (project No. 14-16-00146)
Received April 24, 2015
doi: 10.15389/agrobiology.2015.5.648eng

Abstract

Endophytic called bacteria are those colonizing the internal tissues of plants without causing disease and not rendering negative influence on its development. There are great prospects for search, selection and study of new species of endophytic bacteria, improving the development of plants, with the aim of creating new microbial preparations for adaptive crop production. Since bacterial endophytes colonize the same ecological niches in the plant as phytopathogenic microorganisms, they are a promising agent for biocontrol of phytopathogens. Classical studies of biodiversity of endophytic bacteria based on a characterization of isolates obtained from internal plant tissues after surface sterilization. Endophytic bacteria are able to improve phosphorus nutrition of plants, to produce IAA and siderophores. It is shown that endophytic bacteria are capable of producing vitamins, have a number of additional properties necessary for the improvement of plant development, such as: regulation of osmotic pressure, regulation of stomata, modification of root development of plants, regulation of nitrogen nutrition of plants. Endophytic bacteria are able to reduce or prevent the negative effects of pathogenic microorganisms on plants. Inoculation of plants by endophytic bacteria is able to significantly reduce the harm caused to plants by pathogenic fungi, bacteria, viruses, insects and nematodes. Unique strains of endophytic bacteria can be used directly for inoculation of seeds or seedlings, reducing, thus, the influence of biotic and abiotic factors on the plant, due to the active colonization of internal tissues of plants and subsequent positive biochemical and physiological effect on the plant. While in endosphere, endophytes have a significant advantage over organisms that live in the rhizosphere and phyllosphere due to the stable pH, humidity, flow of nutrients and lack of competition from a large number of microorganisms. For the inoculation of plants with endophytic bacteria do not require large amounts of inoculum, taking into account high specificity of such plant-microbe symbiosis and competitiveness of endophytic bacteria. This technique can be very attractive for biotechnological productions, seeking the replacement of traditional chemical pesticides.

Keywords: endophytic bacteria, biodiversity, plant-microbial interaction, plant growth promotion biocontrol, secondary metabolites, the genome of bacteria, microbial preparations.