

АННОТАЦИЯ

диссертации на соискание степени доктора философии (PhD) по специальности «6D070100-Биотехнология» Бражниковой Елены Валериевны на тему: «Микромицеты агроценозов и возможности их применения для стимулирования роста сельскохозяйственных культур»

Общая характеристика диссертационной работы. Работа посвящена исследованию особенностей распространения микромицетов агроценозов, изучению механизмов их положительного действия на растения и разработке способов применения этих микроорганизмов для улучшения роста сельскохозяйственных культур.

Актуальность темы исследования. Отрасль сельского хозяйства является стратегически важной и занимает одно из ведущих мест в экономике Республики Казахстан. В 2022 году посевная площадь всех агрокультур составила 22,9 млн га. Современные технологии возделывания агрокультур включают в себя такие приемы, как: протравливание семян, внесение минеральных удобрений, применение пестицидов. В 2022 году на посевных площадях Казахстана было внесено 626,5 тыс. тонн минеральных удобрений и применено 16,6 млн литров пестицидов. Использование минеральных удобрений и химических средств защиты растений экологически небезопасно, влечет за собой нарушение биологического равновесия в агроценозах, загрязнение сельскохозяйственной продукции и грунтовых вод.

В связи с этим актуальными направлениями как для развития сельского хозяйства, так и для решения экологических проблем и охраны окружающей среды являются повышение продуктивности сельскохозяйственных растений, снижение количества вносимых химических средств стимулирования и защиты агрокультур, а также увеличение устойчивости и адаптации растений к неблагоприятным условиям. Особенно важными и перспективными представляются микробиологические подходы, которые основаны на использовании потенциала эндофитных и почвенных микроорганизмов. Известно, что микроорганизмы способны обеспечить ряд положительных эффектов на растения, основными из которых являются: повышение доступности элементов питания и увеличение коэффициента использования питательных веществ из удобрений и почвы; продукция метаболитов с гормональными и сигнальными функциями; протекторное действие в условиях стрессов.

Таким образом, актуальным и значимым направлением исследований является разработка препаратов, основу которых составляют микроорганизмы и их метаболиты. Применение таких микроорганизмов представляется привлекательной альтернативой химическим препаратам, способствует развитию интенсивного растениеводства и экологически сбалансированного земледелия.

Микромицеты представляют особый интерес, поскольку являются одним из главных структурных и функциональных компонентов биоценозов. Также они имеют ряд преимуществ по сравнению с другими группами микроорганизмов.

Несмотря на повсеместность распространения, полифункциональность и значимость данной группы микроорганизмов, сведения о почвенных и эндофитных микромицетах агроценозов Казахстана весьма ограничены. Мало изученными остаются и вопросы, касающиеся механизмов, лежащих в основе стимулирующего действия отечественных штаммов на рост и развитие растений. Отсутствуют полифункциональные препараты на основе отечественных штаммов микромицетов. Таким образом, характеристика микромицетов агроценозов, комплексное изучение процессов, обуславливающих их положительное действие на растения, а также разработка способов применения этих микроорганизмов являются актуальными и имеют важное теоретическое и практическое значение.

Цель исследования: обоснование возможности применения микромицетов для улучшения роста агрокультур и разработка эффективных способов их применения.

Задачи исследования:

1. Характеристика количественного состава и таксономической структуры почвенных и эндофитных микромицетных сообществ агроценозов.
2. Скрининг штаммов с агрономически ценными свойствами, перспективных для улучшения роста и защиты агрокультур.
3. Исследование прямых механизмов положительного действия микромицетов на растения.
4. Определение механизмов протекторного действия микромицетов на агрокультуры при биотических и абиотических стрессах.
5. Создание коллекции эффективных штаммов микромицетов сельскохозяйственного назначения.
6. Создание композиций на основе отобранных штаммов и разработка способов их применения для улучшения роста агрокультур.

Объект исследования: штаммы микромицетов, выделенные из семи сельскохозяйственных культур (соя, ячмень, люцерна, рапс, сафлор, донник, эспарцет) и почв агроценозов данных растений.

Методы исследования: в работе использованы современные микробиологические, биохимические, молекулярно-биологические, физико-химические и вегетационные методы. Статистическая обработка данных проведена с использованием лицензированного пакета программы Statistica версия 10.0 (TIBCO Software Inc., США).

Научная новизна результатов исследования:

Впервые охарактеризован количественный состав и таксономическая структура почвенных и эндофитных микромицетных сообществ агроценозов семи сельскохозяйственных культур Казахстана.

Впервые показано, что основными компонентами сообществ микромицетов являлись мицелиальные грибы родов *Penicillium*, *Aspergillus* и *Fusarium*, среди дрожжей преобладали представители родов *Aureobasidium*, *Rhodotorula* и *Metschnikowia*.

Получены оригинальные результаты, показавшие что положительное действие микромицетов на агрокультуры обусловлено улучшением

фосфорного питания растений, продуцированием метаболитов с гормональной и сигнальной функциями, а протекторный эффект обеспечивается за счёт синтеза штаммами гидролитических ферментов и соединений с антимикробной активностью, а также поглощением и детоксикацией тяжелых металлов.

Впервые у микромицетов видов *Talaromyces pinophilus*, *Beauveria bassiana* и *Metarhizium robertsii* выявлена АЦК-дезаминазная активность и установлено стимулирующее воздействие данных АЦК-утилизирующих штаммов на развитие растений в условиях абиотического и биотического стрессов.

Впервые созданы композиции на основе отечественных штаммов микромицетов, а также их метаболитов, и разработаны эффективные способы их применения для улучшения роста сельскохозяйственных культур.

Практическая значимость исследования связана с созданием обширной коллекции эффективных штаммов микромицетов сельскохозяйственного назначения, которая является ценным биологическим ресурсом для проведения исследований. Данные штаммы обладают высоким потенциалом использования в составе препаратов для решения отдельных и комплексных задач в области развития сельского хозяйства и защиты окружающей среды.

Наиболее эффективные 7 штаммов (*Aspergillus* sp. D1, *B. bassiana* T7, *B. bassiana* T15, *M. robertsii* An1, *Metschnikowia pulcherrima* MP2, *Penicillium bilaiae* Pb14 и *T. pinophilus* T14) депонированы в РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов» (РКМ) (г. Астана, Республика Казахстан) и/или в Ведомственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения (ВКСМ) (г. Санкт-Петербург, Российская Федерация). На 2 штамма (*B. bassiana* T7 и *P. bilaiae* Pb14) получены патенты на изобретения №34305 и №34350.

Ряд наблюдений и выявленных в ходе исследования закономерностей могут быть использованы в качестве практических рекомендаций для разработки биопрепаратов на основе микроорганизмов и их применения в растениеводстве.

Практическая значимость работы обусловлена перспективами применения разработанных композиций на основе микромицетов и их метаболитов для улучшения роста агрокультур как в благоприятных, так и стрессовых условиях. Рекомендован наиболее эффективный вариант применения полученных композиций - прайминг семян путем замачивания в фильтрах в сочетании с инокуляцией штаммов в почву.

Теоретическая значимость исследования. Полученные результаты углубляют и расширяют знания о составе и свойствах почвенных и эндофитных микромицетных сообществ агроценозов, что является важным вопросом экологии микромицетов и функционирования наземных экосистем. Исследование механизмов положительного действия микромицетов на растения имеет первостепенное значение для понимания процессов, лежащих в основе улучшения роста агрокультур, а также обеспечивает фундаментальную платформу для разработки стратегий их применения. Поскольку исследование находится на стыке биотехнологии, микробиологии, биохимии и агробиологии, полученные результаты могут иметь влияние на развитие данных областей науки как в фундаментальном, так и прикладном аспекте.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

- Почвенные и эндофитные микромицетные сообщества агроценозов являются перспективным источником эффективных штаммов сельскохозяйственного назначения.

- Выделенные штаммы микромицетов улучшают фосфорное питание растений, осуществляют биоконтроль фитопатогенов и оказывают протекторное действие на растения при воздействии тяжелых металлов.

- Применение созданных композиций на основе штаммов микромицетов и их метаболитов улучшает рост и развитие агрокультур как в благоприятных, так и стрессовых условиях.

Основные результаты и выводы:

1. Показано, что количество мицелиальных грибов в почвах агроценозов на 1-3 порядка выше содержания дрожжей. Установлено преобладание микромицетов в верхних слоях почвы (0-10 см). Выявлено, что уровень колонизации и коэффициент выделения эндофитных грибных штаммов были выше аналогичных показателей для дрожжей в 3,0-3,3 раза и 2,7-4,0 раза, соответственно. Количественное распределение микромицетов в органах растений выражалось последовательностью: корни > стебли > листья. Показано, что основными компонентами сообществ мицелиальных грибов являлись различные виды родов *Penicillium*, *Aspergillus* и *Fusarium*, а среди дрожжей - представители родов *Aureobasidium*, *Rhodotorula* и *Metschnikowia*.

2. В результате широкомасштабного скрининга 848 почвенных и эндофитных микромицетов были отобраны штаммы с агрономически ценными свойствами: 9 изолятов с выраженной антагонистической активностью по отношению к 3 фитопатогенам (*F. graminearum*, *P. infestans* и *A. alternata*); 14 штаммов, обладающих полирезистентностью к 3 тяжелым металлам (кадмий, свинец, цинк); 12 микромицетов, способных к мобилизации как органического, так и неорганического Р; 10 культур, продуцирующих фитогормон ИУК.

3. Установлено, что прямые механизмы положительного действия микромицетов на растения обусловлены улучшением фосфорного питания и продукцией метаболитов с гормональной и сигнальной функциями. Выявлено пять штаммов микромицетов (*P. bilaiae* Pb14, *P. bilaiae* C11, *P. rubens* EF5, *T. pinophilus* T14 и *Aspergillus* sp. D1), обладающих высокой (до 86%) фосфат-мобилизующей активностью. Установлены основные механизмы мобилизации Р: снижение рН среды, образование органических кислот, активность кислых и щелочных фосфатаз. Данные штаммы повышали доступность Р в почве на 15-31% и увеличивали его поглощение ячменем на 13-35%. Выявлены десять штаммов микромицетов, синтезирующих ауксины, абсцизовую и салициловую кислоты. Концентрация ИУК была в пределах от 1,2 до 627,6 нг/мл.

4. Определены механизмы протекторного действия микромицетов на растения. Выявлен штамм *M. robertsii* An1, обладающий выраженной антагонистической активностью (ИИР фитопатогенов составили 41,5 - 51%). Установлены наиболее значимые механизмы антагонистического действия штамма *M. robertsii* An1: хитиназная (0,23 Ед.) и глюканазная (3,42 Ед.)

активности, синтез растворимых нелетучих (деструксины А и Е, гидроксиантрахиноны) и летучих соединений с антифунгальными свойствами. Выявлено пять штаммов (*B. bassiana* T7, *B. bassiana* T15, *Rh. mucilaginosa* RH2, *Rh. mucilaginosa* MK1 и *M. pulcherrima* MP2), обладающих полирезистентностью к ТМ и способных извлекать 37-59% кадмия из среды. Установлено, что четыре штамма (*M. robertsii* An1, *B. bassiana* T15, *B. bassiana* T7 и *T. pinophilus* T14), обладающих высокой АЦК-дезаминазной активностью (0,95 - 2,73 μ М α -КБ/мг белка/ч), улучшают рост растений ячменя в условиях фитопатогенной нагрузки и загрязнения почвы кадмием.

5. Создана обширная коллекция штаммов микромицетов сельскохозяйственного назначения. Наиболее эффективные 7 штаммов (*Aspergillus* sp. D1, *B. bassiana* T7, *B. bassiana* T15, *M. robertsii* An1, *M. pulcherrima* MP2, *P. bilaiae* Pb14 и *T. pinophilus* T14) отобраны для разработки композиций и депонированы в отечественную и зарубежную коллекции микроорганизмов.

6. Созданы два варианта композиций: 1) композиция из фильтратов микромицетов, содержащая БАВ; 2) композиция из споровых суспензий мицелиальных грибов и супернатанта дрожжевого штамма *M. pulcherrima* MP2. Разработаны 3 способа применения полученных композиций: 1) прайминг семян путем замачивания в фильтратах, 2) инокуляция споровой суспензии микромицетов в почву сразу после посева семян, 3) прайминг семян в сочетании с инокуляцией в почву. Установлено положительное влияние микромицетов на 7 видов сельскохозяйственных культур, выражающееся в повышении всхожести и энергии прорастания семян, увеличении морфометрических параметров растений и воздействии на фотосинтетические пигменты.

Публикации. Основное содержание диссертации отражено в 14 печатных работах, включая 2 статьи в журналах, индексируемых в базах данных Web of Science и Scopus, 3 статьи в республиканских научных журналах, включенных в перечень ККСОН МОН РК, 2 патента РК, 1 статью в материалах международной конференции, 6 тезисов в материалах международных конференций.

Личный вклад автора заключается в выполнении основного объема теоретических и экспериментальных исследований, анализе, интерпретации и оформлении полученных результатов, подготовке рукописей публикаций.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 136 страницах. Содержит 30 таблиц, 26 рисунков, 3 приложения, список использованных источников из 210 наименований.