На правах рукописи

Хуснетдинова

Кира Амировна

СТРУКТУРА СООБЩЕСТВ ЭПИФИТНЫХ БАКТЕРИЙ КУЛЬТУРНЫХ И СОРНЫХ РАСТЕНИЙ

Специальность 03.02.03 – микробиология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Москва – 2017

Диссертационная работа выполнена на кафедре биологии почв факультета почвоведения Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Научный руководитель: **Добровольская Татьяна Глебовна**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник кафедры биологии почв факультета почвоведения ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова»

Официальные оппоненты: **Емцев Всеволод Тихонович**, доктор биологических наук, профессор кафедры микробиологии и иммунологии факультета почвоведения, агрохимии и экологии ФГБОУ ВО «Российский государственный аграрный университет – МСХА имени К.А. Тимирязева»,
Заслуженный деятель науки РФ, академик РАЕН, Лауреат Государственной премии СССР
Шеховцова Нина Валентиновна, кандидат биологических наук, доцент, заведующий кафедрой ботаники и микробиологии факультета биологии и экологии Ярославского государственного университета им. П.Г. Демидова

Ведущее учреждение: Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Почвенный институт имени В. В. Докучаева»

Защита диссертации состоится «___»_____2017 г. в ___часов___минут в аудитории М-2 на заседании Диссертационного совета Д 501.002.13 при ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» по адресу: 119991, ГСП-1, г. Москва. Ленинские горы, д. 1, строение 12, МГУ имени М.В. Ломоносова, факультет почвоведения.

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке МГУ имени М.В. Ломоносова (Ломоносовский проспект, д.27, отдел диссертаций) и на сайтах http://istina.msu.ru/dissertations/47501499/ и http://soil.msu.ru/nauka/uchenyj-sovet

Автореферат разослан «____»_____2017 г.

Отзывы на автореферат в двух экземплярах, заверенные печатью организации, просим направлять по адресу: 119991, ГСП-1, г. Москва. Ленинские горы, д. 1, строение 12, МГУ имени М.В. Ломоносова, факультет почвоведения, Ученый совет. Тел/Факс: (495)9392947

Ученый секретарь
диссертационного совета Д 01.002.13
доцент, кандидат биологических наук Костина Н. В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы

В настоящее время изменился взгляд на преобразовательную деятельность в природе, которую считается правильнее называть регулированием, а не управлением. В учебнике В.И. Кирюшина «Экологические основы земледелия» (1996) рассмотрены системы агроэкологической оценки сельскохозяйственных культур и агроландшафтов, агроэкологической типологии и классификация земель. При этом подчёркивается роль биоты как основного фактора стабилизации ландшафтов с неустойчивым равновесием, когда растительность предотвращает эрозию, дефляцию, сдерживает заболачивание и засоление. Агроценоз – это искусственная экосистема, созданная человеком с целью получения сельскохозяйственной продукции, которая включает в себя растения, животных и микроорганизмы. Образцами таких систем могут послужить поля, огороды, сады, парки, пастбища. В агроценозах действует преимущественно искусственный отбор, направленный человеком, прежде всего, на максимальное повышение урожайности сельскохозяйственных культур. По этой причине экологическая устойчивость агроценозов невелика. Они не способны к саморегуляции и самовозобновлению, подвержены угрозе гибели при массовом размножении вредителей или возбудителей болезней. Ассоциированные с растениями микроорганизмы играют важную роль в их развитии, участвуя в снабжении растений элементами питания, фитогормонами, витаминами и другими факторами роста. Многие из ассоциативных микроорганизмов продуцируют соединения, ингибирующие фитопатогенов (Cattelan et al., 1999).

На современном этапе развития научного земледелия парадигма борьбы с сорными растениями сменяется парадигмой управления сорным компонентом агрофитоценоза (Захаренко, 2000). В странах северной Европы, особенно Ирландии, применяется посев специальных полос травянистых растений по обочинам пашен (Marshall, Moonen, 2004). В числе растений, которые высаживают по краям полей, кроме лесных растений (фиалка, плющ, и др.), используют и рудеральные – бодяк полевой, подмаренник цепкий. Это связано с тем, что в травяных полосах разводятся полезные насекомые-опылители, кроме того, травы могут предохранять посевы в какой-то мере от механических повреждений, которые могут наблюдаться на краю поля, а так же от ветра и пыли.

В последнее время в зарубежной литературе появились сведения об использовании сорных растений в качестве источников бактерий, являющихся стимуляторами роста культурных растений (Kremer et al., 1990; Sturz et al., 2001). Однако в литературе нет сведений, касающихся сравнения состава бактериальных сообществ культурных и сорных растений, а также выделении из сорных растений бактерий, являющихся антагонистами фитопатогенных бактерий.

Цель исследования: изучение в динамике структуры бактериальных сообществ в разных компонентах агроценозов, включая культурные и сорные растения, а также почв под ними и выявление роли бактериальных комплексов в поддержании гомеостаза агрофитоценозов.

Задачи исследования

1. Определить в динамике численность бактерий в филлосфере и ризосфере культурных и сорных растений, а также в почве, используя традиционные методы посева.
2. Создать коллекцию культур, выделенных из разных растений и почвы, определить их таксономическую принадлежность с помощью как фенотипических, так и молекулярно-биологических методов.
3. Сравнить таксономическую структуру эпифитных бактериальных сообществ на разных органах культурных и сорных растений в процессе смены фенологических фаз их развития.
4. Провести дисперсионный многофакторный анализ, который позволит выявить влияние следующих факторов на численность и таксономическую структуру исследуемых бактериальных комплексов: орган растения, фаза развития, микрониша (лес, окраина поля, середина поля), вид растения.
5. Изучить влияние гуминовых удобрений на урожай и эколого-трофическую структуру бактериальных комплексов культурных растений.
6. Провести поиски среди культур бактерий, выделенных из сельскохозяйственных и сорных растений, антагонистов фитопатогенных бактерий.

Научная новизна

Впервые проведено сравнение структуры эпифитного комплекса бактерий на культурных и сорных растениях. Выявлены различия в их таксономическом составе. На основании проведения дисперсионного многофакторного анализа впервые установлено, что на структуру бактериальных комплексов исследованных растений влияют в порядке убывания: фаза развития, орган растения, микрониша, вид растения. Выявлен большой процент антагонистов фитопатогенных бактерий, выделенных из разных видов культурных, сорных растений и почвы.

Практическая значимость

Нахождение бактерий-антагонистов фитопатогенов в разных ярусах агроценозов позволит рекомендовать их в качестве биопрепаратов для повышения устойчивости сельскохозяйственных культур. Выявлено положительное влияние гуминовых удобрений на урожай и эколого-трофическую структуру бактериальных сообществ, заключающееся в смене эккрисотрофных бактерий на гидролитический комплекс бактерий, способных к разложению удобрений на более простые соединения, которые могут использоваться растениями в качестве питательных веществ.

Апробация работы

Результаты работы были представлены на российских и международных конференциях: Международная научно-практическая конференция «Современные проблемы окружающей среды и пути их решения» (Москва, 2010), Всероссийская научно-практическая конференция «Актуальные проблемы педагогики, экологии и философии», (Москва, 2011), Всероссийская научно-практическая конференция «Современные проблемы загрязнения окружающей среды и пути их решения» (Москва, 2012), XIX Международная научная конференция студентов, аспирантов и

молодых ученых «Ломоносов-2012» (Москва, 2012), VI Всероссийский съезд общества почвоведов им. В.В. Докучаева (Петрозаводск, 2012), Международная научно-практическая конференция «Фундаментальные и прикладные науки, проблемы и перспективы» (25 апреля 2014 г.), (Москва, 2014), Международная научная конференция «Роль почв в биосфере и жизни человека»: К 100-летию со дня рождения академика Г.В. Добровольского, к Международному году почв (Москва, 5-7 октября 2015 г.), Международная конференция «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования» (Ялта , 6-10 июня 2016 г.), Международная конференция "Современные аспекты сельскохозяйственной микробиологии" (Москва, 2016).

Публикации

По результатам исследования опубликовано 15 печатных работ, из них 5 статей в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК РФ.

Соответствие диссертации паспорту научных специальностей

В соответствии с формулой специальности 03.02.03 «Микробиология»

Объем и структура работы

Диссертация включает введение, обзор литературы, описание объектов и методов исследования, изложение результатов экспериментов и их обсуждение, заключение, выводы и список упоминаемых в тексте литературных источников. Работа изложена на 162 страницах текста, иллюстрирована 59 рисунками, содержит 17 таблиц. Список литературы состоит из 134 наименований, из них 49 на иностранном языке.

Благодарности

Выражаю глубокую благодарность и искреннюю признательность научному руководителю кандидату биологических наук, ведущему сотруднику Т.Г. Добровольской за постоянную помощь и повседневное внимание при выполнении работы. Благодарю сотрудников кафедры Н.А. Манучарову за оказанную помощь в проведении молекулярно-биологических анализов, А.В. Головченко за помощь в проведении дисперсионного многофакторного анализа, А.В. Якушева за помощь при проведении анализа методом главных компонент при сравнении структуры культурных и сорных растений.

Выражаю особую благодарность сотрудникам кафедры общего земледелия и агроэкологии за предоставление данных по характеристике почвы, урожайности сельскохозяйственных культур и отборе образцов для микробиологических исследований.

Спасибо всем сотрудникам кафедры биологии почв за внимательное отношение и ценные советы.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Объекты и методы исследования

Объекты исследования

Исследования проводились в Солнечногорском районе Московской области, на территории Учебно-опытного почвенно-экологического центра МГУ им. М.В. Ломоносова «Чашниково». Станция расположена вдоль Ленинградского шоссе в 43 км от Москвы в верховьях реки Клязьмы.

Объектами исследования явились культурные и сорные растения, а также дерново-подзолистая почва под растениями.

Из культурных растений для исследования были взяты: картофель - сорт «Брянский деликатес», морковь посевная (*Daucus carota* subsp. *sativus*), свёкла обыкновенная (*Beta vulgaris*) , овес посевной (*Avena sativa* L.), вика посевная (Vicia sativa L.), горох посевной (*Pisum sativum*), которые произрастали на дерново-подзолистой хорошо окультуренной среднесуглинистой почве.

Из сорных растений исследовали: пастушья сумка обыкновенная (*Capsella bursa-pastoris*), лебеда раскидистая (*Atriplex patula*), пикульник обыкновенный (*Galeopsis tetrahit*), осот полевой (*Sonchus arvensis*), подмаренник настоящий *(Galium verum),* сурепка обыкновенная *(Barbarea vulgaris)* , сныть обыкновенная *(Aegopodium podagraria)*, расторопша пятнистая (*Silybum marianum*).

Методы исследования

Образцы листьев, корней и цветков сорных растений измельчали с помощью ножниц. Взвешивали по 1 г этих субстратов, а также почвенных образцов и вносили их в колбы, содержащие 100 мл стерильной воды. Для десорбции микроорганизмов из образцов использовали прибор Вортекс, затем отделяли раствор центрифугированием (5000 об/мин, 5 мин), численность и таксономический состав десорбированых бактериальных комплексов исследовали методом посева. Посев проводили в пятикратной повторности из разведений 10^5 – 10^8 на агаризованную глюкозо-пептонно-дрожжевую среду (г/л): пептон – 0.5, глюкоза – 0.5, дрожжевой экстракт – 0.5, гидролизат казеина – 0.5, агар – 10, мел – 5, вода – 1л. В среду вносили 50мг нистатина для ингибирования развития грибов. Посевы культивировали в течение 7-10 сут при комнатной температуре. После подсчета общего числа колоний проводили их микроскопирование в световом микроскопе с фазово-контрастным устройством (ЛОМО, Микмед-2, Россия). Основных представителей бактерий, выросших на плотной среде, выделяли в чистые культуры. Морфологические признаки изучали у молодых 24 ч и 3-5-сут культур. Численность бактерий выражали в колониеобразующих единицах на г субстрата (КОЕ/г). Родовую принадлежность выделенных культур бактерий устанавливали на основании морфологических, культуральных и хемотаксономических признаков, используя «Определитель бактерий Берджи», а также методическое пособие (Лысак с соавт., 2003). Кроме того, для идентификации микроорганизмов до рода были использованы диагностические системы, позволяющие определить такие биохимические свойства как: утилизация цитрата натрия, малоната натрия, глюкозы, лактозы, манита, сахарозы, инозита,

сорбита, арабинозы, мальтозы, образование индола, сероводорода, ацетилметилкарбинола (реакция Фогес-Проскауэра), наличие уреазы, β-галактозидазы, декарбоксилаз орнитина и лизина, дегидролазы аргинина, дезаминазыфенилаланина.

Определение таксономического состава представителей грамотрицательных аэробных и факультативно-анаэробных бактерий проводили с помощью молекулярной диагностики 16SрРНК, выделяя ДНК из клеток чистых культур с последующей амплификацией и секвенированием.

Выделение ДНК. Для экстрагирования тотальной ДНК из клеток чистых культур микроорганизмов применяли стандартные методики, модифицированные на кафедре биологии почв МГУ (PowerSoil DNA IsolationKit (MO BIO, США) (Манучарова с соавт., 2008).

Выбор олигонуклеотидных праймеров и амплификация ДНК. Для проведения полимеразной цепной реакции и дальнейшего секвенирования ПЦР-фрагментов гена 16SрРНК была использована система универсальных праймеров (Манучарова с соавт., Edwards et al, 2008; 1989).

Филогенетический анализ. Для предварительного анализа полученных нуклеотидных последовательностей генов 16S rRNA использовали программное обеспечение баз данных GenBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast). Анализ и выравнивание последовательностей проводили с помощью программы BioEdit (http://jwbrown.mbio.ncsu.edu/BioEdit/bioedit.html). Построение дендрограмм осуществляли с помощью алгоритма neighbor-joining (NJ) в программе MEGA 4. Статистическую достоверность филогенетических реконструкций оценивали методом «Bootstrap» путем построения 1000 альтернативных деревьев (Thompson et al, 1994). Вновь полученные последовательности генов были депонированы в базу данных нуклеотидных последовательностей (GenBank) с присвоением им индивидуальных номеров доступа.

Для изучения влияния внекорневой подкормки на урожай картофеля препаратами гумистим и БИОУД-1 была использована следующая схема опыта: 1 - Фон – $N_{100}P_{120}K_{120}$ (Контроль); 2 - Фон ($N_{100}P_{120}K_{120}$) + гумистим - разведение препарата с водой в соотношении 1:10; 3 - Фон ($N_{100}P_{120}K_{120}$) + БИОУД-1 - разведение препарата с водой в соотношении 1:10. Опрыскивание картофеля препаратами гумистим и БИОУД-1 проводили рабочим раствором: на 1 га 5 л препарата + 50 л воды.

Жидкое органическое удобрение гумистим - это вытяжка из смеси торфа и навоза крупного рогатого скота переработанного дождевыми червями. Препарат гумистим содержит в себе все компоненты биогумуса в растворенном состоянии: гумины, фульвокислоты, витамины, природные фитогормоны, микро- и макроэлементы в виде биодоступных органических соединений и споры полезных почвенных микроорганизмов. Фунгицидные и бактерицидные свойства препарата обусловлены присутствием природных фунгицидов и антибиотиков, выделяемых микроорганизмами кишечника дождевого червя в процессе вермикультивирования.

БИОУД-1 - продукт переработки навоза крупного рогатого скота в газовых установках (Панцхава и др., 2001). Жидкое удобрение БИОУД-1 является экологически чистым концентрированным органическим удобрением. В процессе переработки навоза уничтожаются семена сорных растений, а также фитопатогенные микроорганизмы, яйца гельминтов, отрицательно влияющие как на плодородие почвы,

так и на рост и развитие растений. В состав жидкого органического удобрения входят, практически, все необходимые компоненты минерального питания: минерализованный азот в виде аммонийных солей органических кислот, окись фосфора, окись калия, микроэлементы в доступном виде и в соотношениях необходимых для растений.

Для определения антибиотической активности бактериальных культур использовался общепринятый метод агаровых блоков. В качестве фитопатогенных бактерий использовались следующие виды бактерий: *Rotayebacter tritici, Pseudomonas syringae, Clavibacter michiganensis* и *Erwinia carotovora. Pseudomonas syringae* вызывает бурое слизеточение, обморожение, повреждения плодов и пятнистость листьев, *Clavibacter michiganensis* вызывает заболевание, которое проявляется в виде увядания и некрозов на стеблях, листьях и плодах во время цветения растений. Бактериоз проявляется в виде коричневых язвочек (из них может выступать желтая слизь) на молодых чашелистиках, стеблях, черешках и особенно на плодоножках. *Erwinia carotovora* вызывает болезни картофеля и других растений, называемых «чёрная ножка» и «мягкая гниль»

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Бактериальные сообщества овощных культур

На поверхности всходов картофеля численность бактерий составила десятки тысяч КОЕ/г. На стадии бутонизации количество бактерий на наземных и подземных органах возросло на 4-6 порядков и составило 2.7-5× 10^{11} КОЕ/г на листьях и корнях картофеля. Такая большая численность связана со вспышкой развития эпифитных бактерий в период с высокой летней температурой и наличием влаги в виде обильной росы по утрам – созданием оптимальных условий для размножения бактерий. На стадии цветения картофеля наблюдали уменьшение численности бактерий на листьях и корнях на 2-4 порядка и сохранение плотности бактериальных популяций на уровне 10^8 – 10^9 КОЕ/г на стадии созревания. Максимальной численности эпифитное бактериальное сообщество на надземных и подземных органах картофеля достигало в период бутонизации.

Для бактериальных комплексов свеклы и моркови наблюдали другие закономерности – на листьях и корнях этих растений численность бактерий изменялась незначительно – она колебалась в пределах 10^7-10^8 КОЕ/г, на корнеплодах она составила 10^6·КОЕ/г. Отсутствие таких резких колебаний в плотности бактериальных популяций на этих овощных культурах, в отличие от картофеля, связаны с разными погодными условиями в годы исследования.

Таксономический состав овощных культур рассмотрим на примере свеклы. На листьях свёклы на стадии всходов доминировали артробактер и энтеробактерии (*Pantoea agglomerans*). В качестве субдоминанта выделялись актинобактерии рода *Rhodococcus* (рис. 1). В период цветения появляются 2 других доминанта, представленных целлюлозоразрушающими бактериями порядка Мухococcales и родом *Cytophaga.* На стадии формирования клубней бактерии рода *Cytophaga* остаются в доминантах на листьях, в качестве второго доминанта выявлены целлюлозоразрушающие коринеподобные бактерии рода *Cellulomonas* (рис. 1).

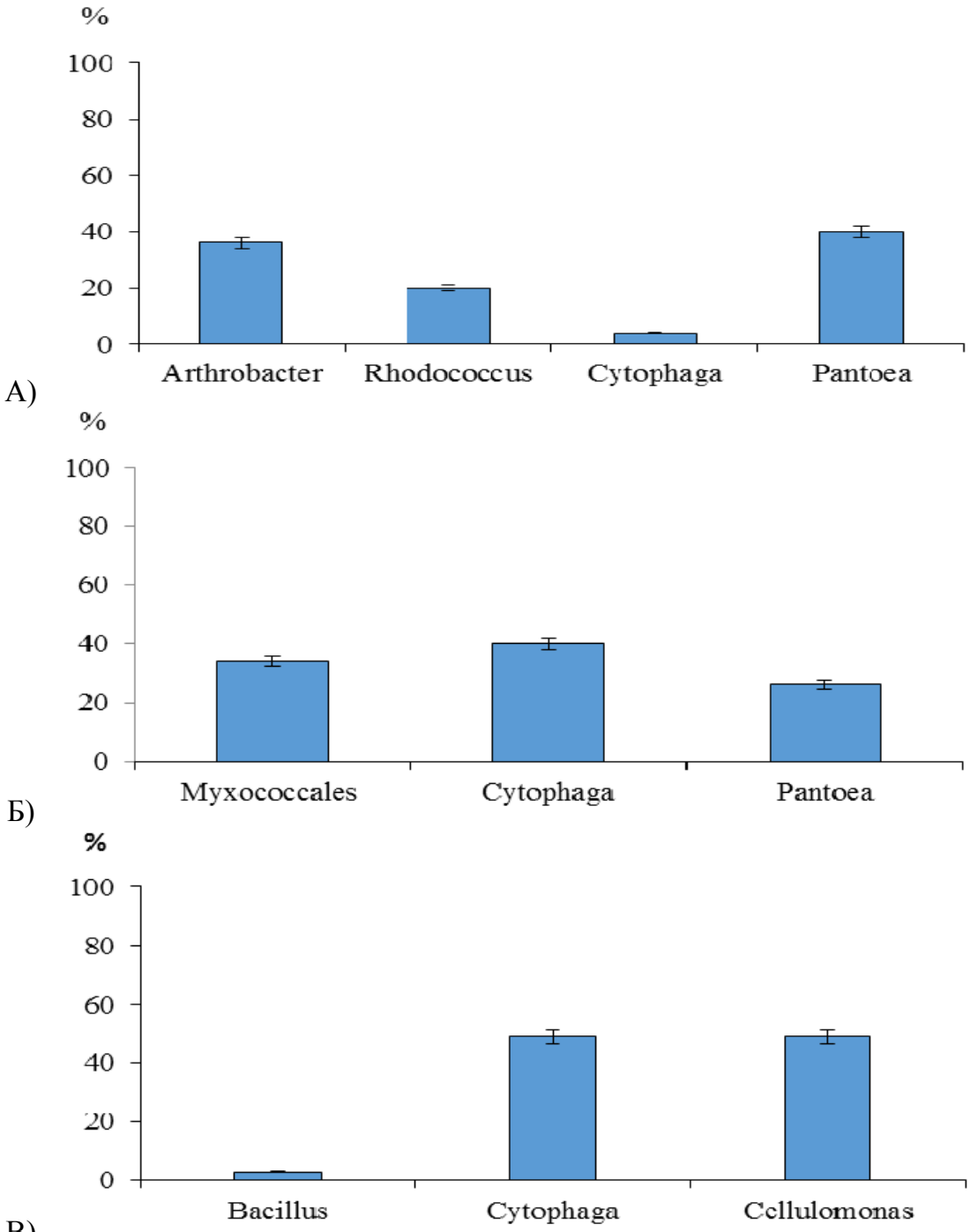

Рисунок 1. Таксономическая структура бактериальных сообществ на листьях свеклы

А - Всходы; Б - Стадия цветения ; В – Стадия созревания корнеплодов

На корнях свёклы на стадии всходов доминировали бактерии рода *Pantoea*, артробактер выделялся в качестве минорного компонента (рис. 2). В период цветения, как и на листьях, преобладали представители факультативно-анаэробных бактерий рода *Pantoea*, в качестве второго доминанта выявлены бактерии рода *Pseudomonas*. На стадии образования зрелых плодов на корнеплодах свёклы доминантами становятся целлюлозоразрушающие бактерии, представленные миксобактериями и цитофагами (рис. 2).

В процессе вегетации других овощных культур (морковь и картофель) наблюдали, как и на свёкле, постепенную замену актинобактерий и эрвиний (*Pantoea*) в периоды всходов и цветения бактериями гидролитического блока – целлюлозоразрушающими бактериями на стадии формирования плодов овощных культур. Следовательно, при старении растительных тканей развиваются бактерии, которые способны проводить их деструкцию.

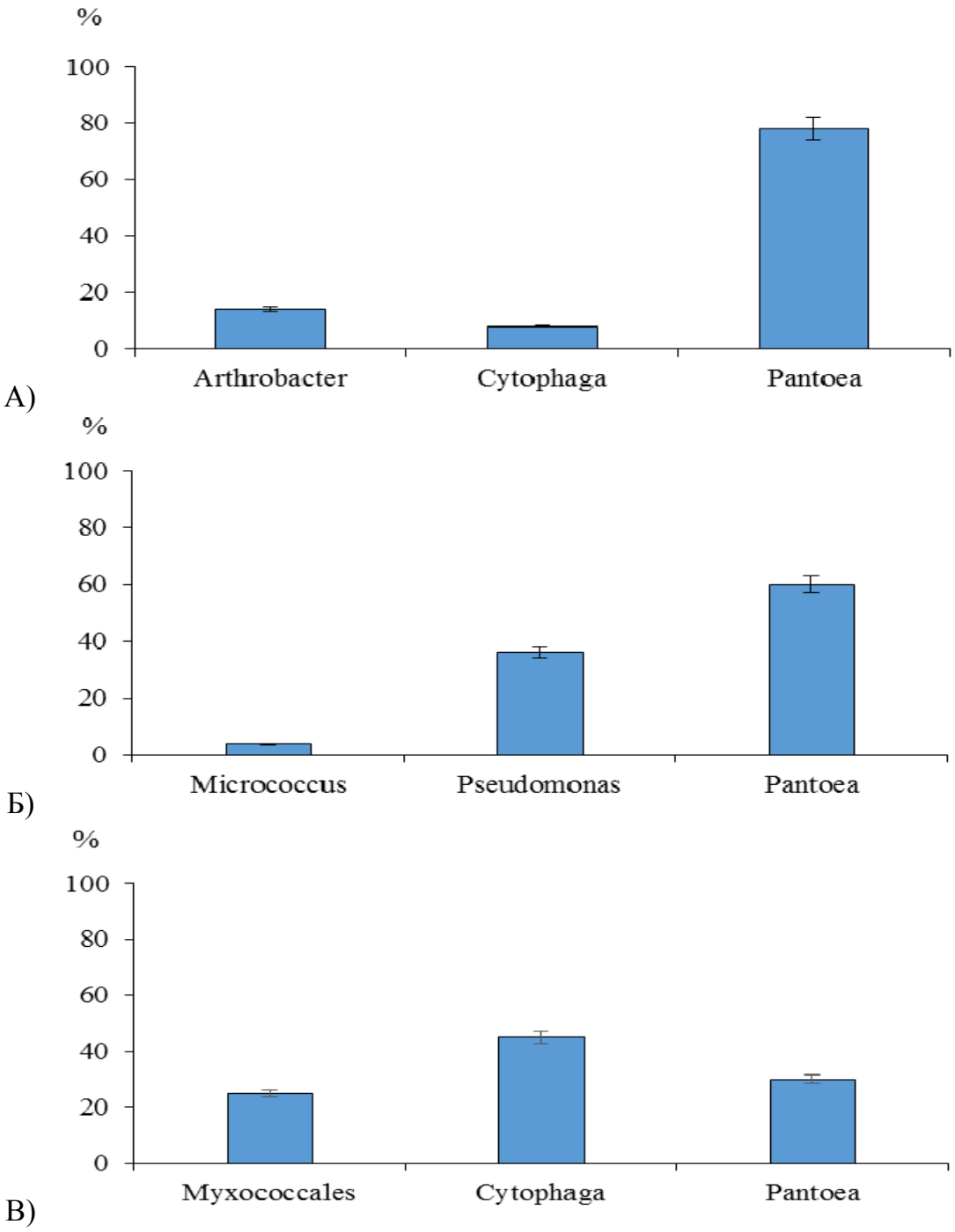

Рисунок 2. Таксономическая структура бактериальных сообществ на корнях и корнеплодах свеклы
А - Всходы; Б - Стадия цветения ; В – Стадия созревания корнеплодов

Бактериальные сообщества зерновых и бобовых культур

Численность бактерий на листьях, корнях и плодах зерновых и бобовых культур была такая же, как на овощных, и колебалась в пределах 10^5 - 10^9 КОЕ/г, увеличиваясь в процессе развития растений. Из всех трёх исследованных растений (овёс, вика, горох) максимальная плотность бактериальных популяций была обнаружена на цветках и корнях гороха и составила 10^9 КОЕ/г. Для почвы под культурными растениями была выявлена противоположная закономерность – уменьшение (на порядок) плотности бактерий по мере развития растений (10^4-10^6 КОЕ/г).

На основании проведённого 3-х факторного анализа (вид растения, субстрат, стадия вегетации) установлено, что на численность бактерий в одинаковой степени достоверное влияние оказывают 2 фактора - субстрат (листья, корни, почва) и стадия вегетации растений.

На семенах овса перед их посевом в качестве монодоминанта были выделены коринеподобные бактерии рода *Arthrobacter,* которые перешли на стадии всходов в филлосферу и ризосферу овса, оставаясь монодоминантами в исследуемом бактериальном комплексе (рис. 3). В качестве субдоминанта в ризосферу с семенами перешли бактерии рода *Cytophaga*, в филлосферу – *Micrococcus.*

На листьях овса во время отбора образцов во влажный период были выделены различные подвижные протеобактерии, которые трудно идентифицировать на основании фенотипических признаков. В результате культуры из этой группы бактерий были определены до рода и вида на основании молекулярно-биологических методов. Для всех штаммов уровень сходства с теми видами, к которым они были отнесены, составил 99–100%. Результаты родовой и видовой идентификации исследуемых культур протеобактерий на основании молекулярно-биологических методов представлены в табл. 1. Следует отметить, что бактерии рода *Pantoea* (ранее *Erwinia*) – факультативно-анаэробные бактерии, двух других родов – аэробные. Представители всех этих родов упоминаются при описании бактериальных комплексов агроценозов (Шильникова и др., 2006). Выявленные нами бактерии вида *Pantoea vagans* используются в качестве биологического контроля над фитопатогенными бактериями *Erwinia amylovora*, так как они образуют антибиотик, ингибирующий размножение этого вида бактерий (*Smits T.H.* 2010.)

Таблица 1. Таксономический состав культур протеобактерий на листьях овса, определенных молекулярно-биологическими методами

Вид
Pantoea vagans
Pseudomonas putida
Pseudomonas argentinensis
*Agrobacterium tumefaciens**

*В настоящее время вид *Agrobacterium tumefaciens* ликвидирован и ему дано название *Rhizobium radiobacter* (Young et al., 2001).

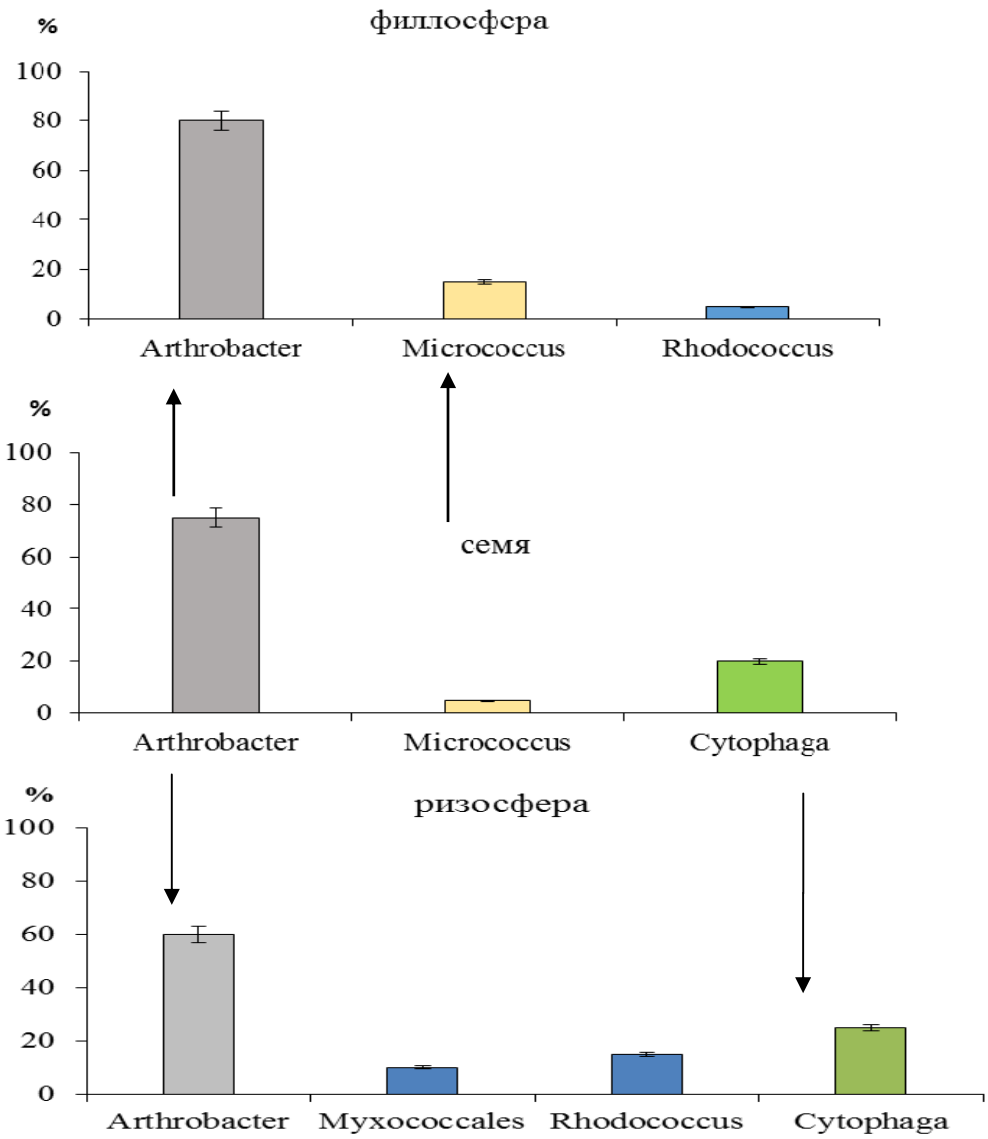

Рисунок 3. Таксономическая структура бактериальных сообществ филлосферы и ризосферы овса на стадии всходов

На листьях овса в период формирования метёлок доминировали бактерии рода *Cytophaga* (60%), в качестве второго доминанта были выявлены миксобактерии (30%), минорного - родококки. В колосьях овса, находящихся как на стадии формирования метёлок, так и восковой спелости, монодоминантами становятся бактерии порядка Myxococcales (70%), появились и другие целлюлозоразрушающие бактерии рода *Cellulomonas* (рис 4).

При рассмотрении изменения таксономической структуры бактериальных сообществ в процессе развития бобовых растений нами установлено, что на листьях бобовых растений на стадии всходов доминировали актинобактерии, которые на стадии цветения и формирования бобов сменились целлюлозоразрушающими бактериями, представленными миксобактериями и цитофагами (табл.2).

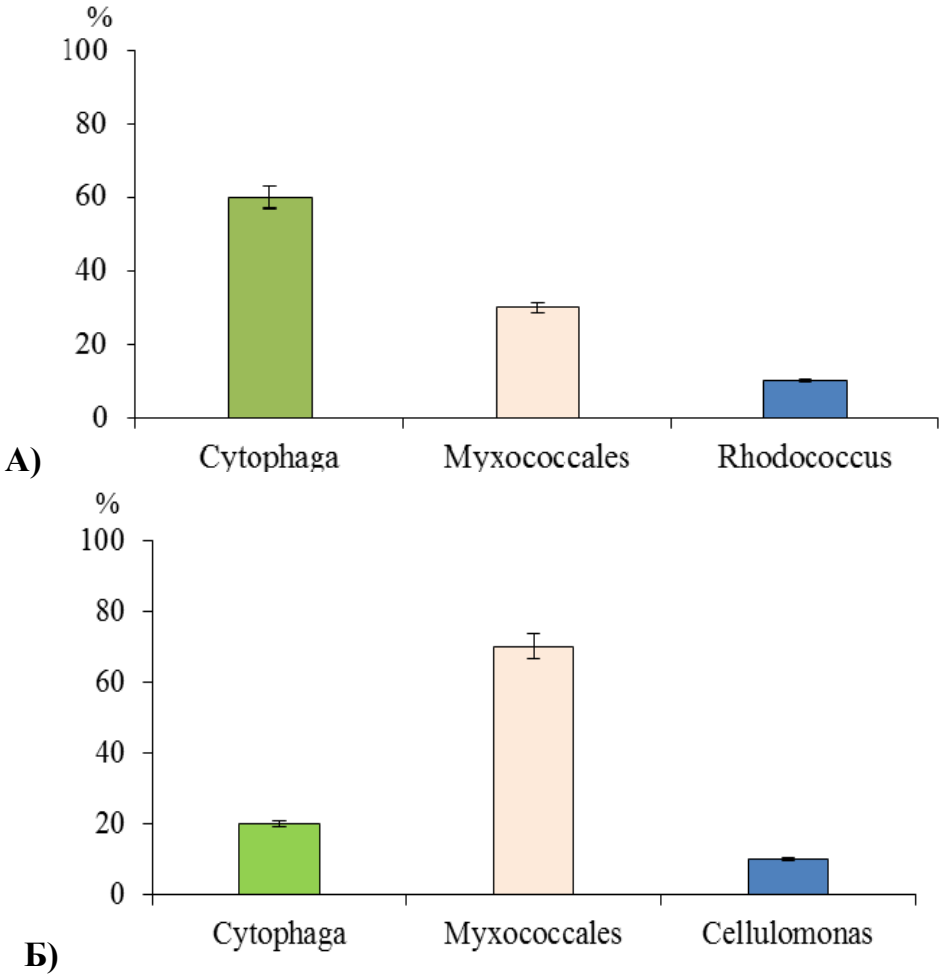

Рисунок 4. Таксономическая структура бактериальных сообществ овса (в ряду листья-метелки восковой спелости)
А-листья; Б-метелки

Таблица 2. Доминирующие таксоны бактериальных сообществ, выявленные в разные фазы вегетации на листьях бобовых культур

Название растения	**Таксономический состав доминантов**		
	Всходы	**Стадия цветения**	**Стадия созревания бобов**
Вика посевная *(Vicia sativa)*	*Arthrobacter* (50%) *Cellulomonas* (30%)	*Cytophaga* (55%) Myxococcales (30%)	*Cytophaga* (40%)
Горох посевной *(Pisum sativu)*	*Arthrobacter* (70%)	*Cytophaga* (35%)	*Cytophaga* (60%) *Cellulomonas* (30%)

При сравнении бактериальных комплексов цветков и бобов вики и гороха (табл.2.1.) наблюдали иную картину – уже на цветках доминировали цитофаги и бактерии рода *Arthrobacter*. На бобах появились другие представители бактерий-

гидролитиков – целлюломонады и бациллы. На бобах гороха кроме бацилл в качестве второго доминанта были выявлены актинобактерии рода *Rhodococcus.*

Таблица 2.1. Доминирующие таксоны бактериальных сообществ бобовых культур на цветках и бобах

Название растения	**Таксономический состав доминантов**	
	Цветки	**Бобы**
Вика посевная *(Vicia sativa)*	*Arthrobacter* (55%) *Cytophaga* (35%)	*Cytophaga* (60%) *Cellulomonas* (30%)
Горох посевной *(Pisum sativu)*	*Cytophaga* (90%)	*Bacillus* (60%) *Rhodococcus* (30%)

При анализе таксономической структуры эпифитно - сапротротрофного комплекса бактерий в ризосфере бобовых культур в процессе роста этих растений нами установлено, что на корнях исследованных растений не происходит существенных изменений в структуре бактериальных сообществ - постоянно доминирует типично почвенный представитель актинобактерий – артробактер, а так же цитофаги и миксобактерии (табл.3). Из клубеньков на корнях, как вики, так и гороха, выделены на безазотистой среде Эшби характерные для бобовых растений эндофиты-симбионты. Это бактерии рода *Rhizobium*. Их численность составляла $5^* 10^3$ КОЕ/г.

Таблица 3. Доминирующие таксоны бактериальных сообществ, выявленные в разные фазы вегетации на корнях бобовых культур

Название растения	**Таксономический состав доминантов**		
	Всходы	**Стадия цветения**	**Стадия созревания бобов**
Вика посевная *(Vicia sativa)*	Myxococcales (90%)	Myxococcales (90%)	*Cytophaga* (60%)
Горох посевной *(Pisum sativu)*	*Cytophaga* (40%) Myxococcales (40%)	*Arthrobacter* (50%) *Cytophaga* (40%)	*Cytophaga* (60%) *Pseudomonas* (35%)

Влияние гуминовых удобрений на бактериальные сообщества культурных растений

При подкормке гуминовыми удобрениями урожайность картофеля увеличилась по сравнению с контролем на 37% и составила около 50 т/га. При использовании жидкого органического удобрения БИОУД-1 урожайность возросла на 14% и составила около 40 т /га. Оценку воздействия гуминовых препаратов на численность бактерий в агроценозе проводили в период цветения картофеля. При опрыскивании

препаратом гумистим количество бактерий на листьях и стеблях картофеля не изменилось и составило 10^6-10^7 КОЕ/г, в то время как на цветках и корнях оно уменьшилось на 2 порядка. Воздействие удобрения БИОУД-1 проявилось в уменьшении концентрации бактерий на всех органах картофеля – количество бактерий сократилось на 1-2 порядка. Возможно, что уменьшение количества бактерий под воздействием гуминовых препаратов связано с тем, что при их распылении перекрываются отверстия, через которые бактерии питаются экссудатами растений. На численность бактерий в почве внекорневая подкормка удобрениями не повлияла – количество бактерий в контроле и опытных вариантах составляло 7-12*10^6 КОЕ/г.

В результате опрыскивания филлосферы картофеля гуминовыми препаратами произошли чёткие изменения в таксономической структуре бактериальных сообществ листьев и стеблей. Доминировавший на листьях картофеля артробактер сменился после внесения БИОУД-1 на таких представителей целлюлозоразрушающих бактерий как *Cytophaga*, *Arthrobacter* остался в качестве минорного компонентаа. При внесении гумистима обнаружили два доминанта – *Cellulomonas* и *Cytophaga,* минорные компоненты были представлены актинобактериями (*Rhodococcus*) и энтеробактериями (*Pantoea*) (рис.5).

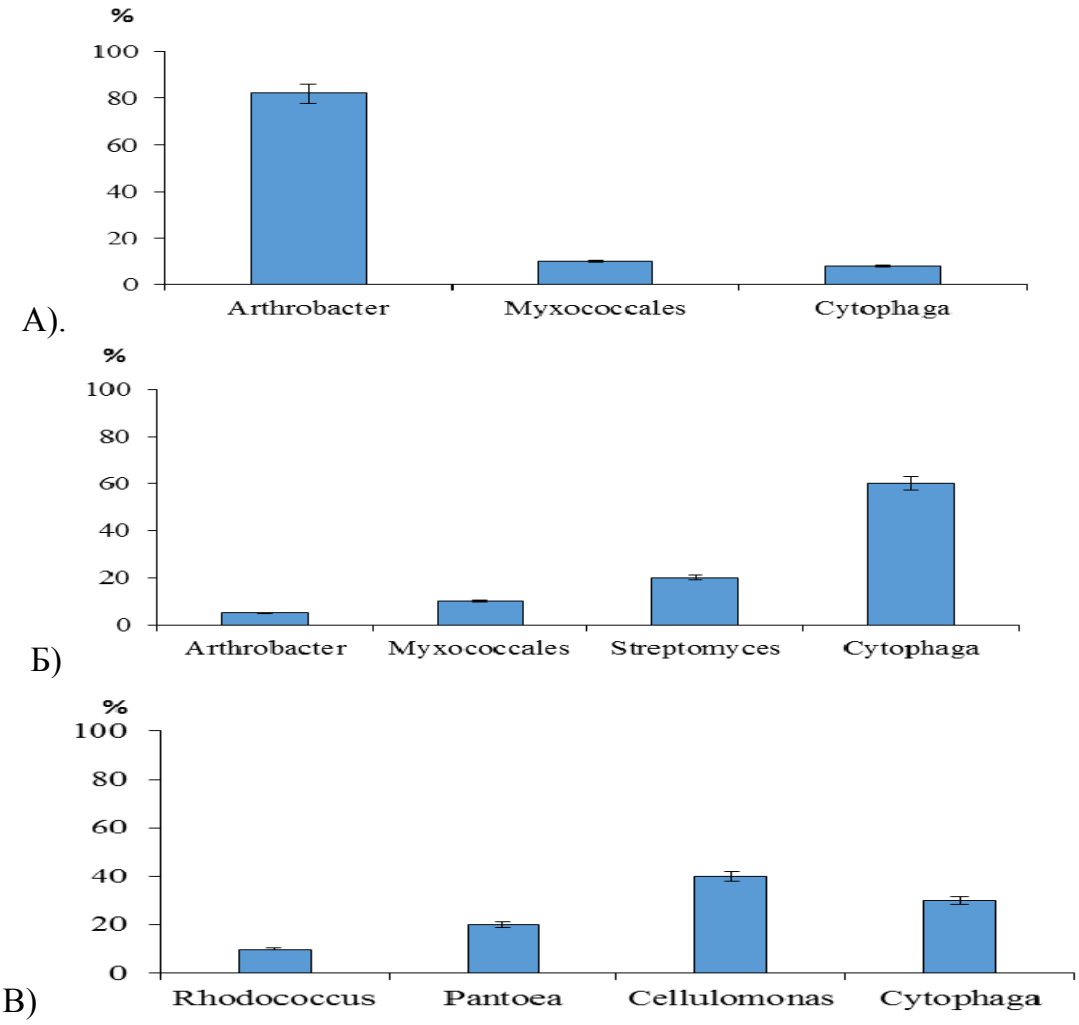

Рисунок 5. Влияние удобрений на таксономический состав бактериальных сообществ листьев картофеля в период цветения
А – Контроль; Б - БИОУД-1; В - Гумистим

В ризосфере картофеля перестройка структуры сообщества проходила с увеличением доли целлюлозоразрушающих бактерий, представленных порядком Myxococcales, которые становились монодоминантами при воздействии препаратами как гумистим, так и БИОУД-1. На цветках картофеля наблюдали противоположную картину: при опрыскивании гуминовыми удобрениями – исчезновение цитофаг и выход в доминанты тех протеобактерий, которые характерны для цветков – *Pantoea* и *Pseudomonas*

В почве происходило уменьшение целлюлозоразрушающих бактерий и выход в доминанты типично почвенных бактерий – артробактера и стрептомицетов (рис. 6).

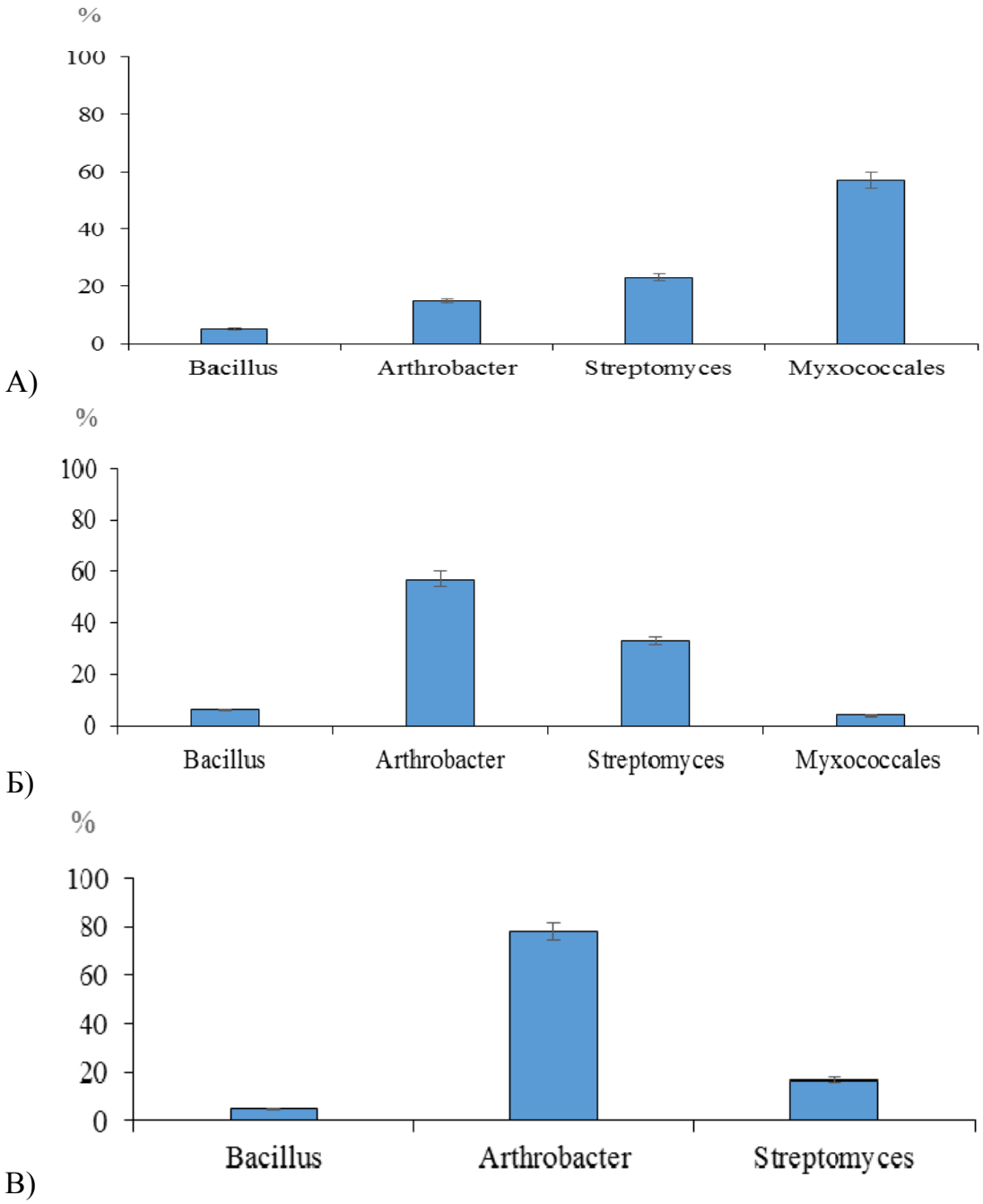

Рисунок 6. Влияние удобрений на таксономический состав бактериальных сообществ почвы под картофелем в период цветения
А – Контроль; Б - БИОУД-1; В - Гумистим

Таким образом, использование внекорневой подкормки картофеля гуминовыми удобрениями привело к доминированию целлюлозоразрушающих бактерий на листьях и корнях картофеля. Это связано с появлением бактерий, способных расщеплять сложные гуминовые соединения на более простые, которые будут использоваться растениями в качестве питательных веществ. С другой стороны, преобладание протеобактерий разных родов на цветках картофеля, являющихся эккрисотрофами, так же позволяет сделать выводы о положительном действии гуминовых удобрений, так как на цветках происходит усвоение экссудатов растений псевдомонадами и эрвиниями.

Бактериальные сообщества сорных растений

Численность бактерий эпифитного комплекса на листьях и корнях сорных растений была такая же, как на культурных растениях, и колебалась в пределах 10^6 – 10^9 КОЕ/г. При этом наблюдалась тенденция к увеличению численности бактерий на 2-3 порядка на стадиях цветения и созревания семян, особенно на листьях. На цветках плотность бактериальных популяций была почти такой же, как на листьях, 10^6 - 10^8 КОЕ/г. В почве количество бактерий постоянно было ниже и составляло 10^5 - 10^7 КОЕ/г.

Одни и те же виды сорняков были взяты с различных экологических ниш: с края и середины опытного поля, а так же из смешанного леса, расположенного по краю поля. Рассмотрим, как изменялась численность бактерий сорных растений, отобранных из разных экологических ниш в период их цветения. В смешанном лесу плотность бактериальных сообществ была выше на 1-2 порядка по сравнению с краем и серединой поля. На листьях пастушьей сумке, взятых с края и середины поля, численность бактерий составила 10^7 КОЕ/г, а на листьях, взятых из смешанного леса, была на 2 порядка выше и составила 10^9 КОЕ/г. В почве количество бактерий было выше на 2 порядка в смешанном лесу и составило 10^9 КОЕ/г.

В результате анализа динамики таксономической структуры бактериальных сообществ в филлосфере исследованных сорняков, можно сделать выводы о резкой смене доминантов в процессе вегетации этих растений (табл.4).На всех 6 видах сорных растений на стадии всходов доминируют типично почвенные бактерии рода *Arthrobacter,* что вполне логично, учитывая его поступление из почвы на семена, а затем и листья. Относительная доля бактерий рода *Arthrobacter* в эпифитных бактериальных сообществах проростков колеблется от 40 до 80%. На стадиях цветения и созревания семян происходит резкая смена доминантов – начинают преобладать бактерии гидролитического комплекса, представленные родами *Sphingobacterium, Cytophaga, Cellulomonas*, порядком Myxococcales (табл.4).

Особое место среди исследованных сорных растений занимает расторопша. Для неё характерно доминирование на всех органах представителей протеобактерий, представленных как пигментными, так и апигментными формами. Кроме того, в качестве второго доминанта на листьях, отобранных в период цветения и созревания семян, обнаружены родококки. Это связано, по-видимому, с более высоким содержанием фенольных веществ, в том числе флавоноидов, в растительных тканях расторопши, которые, как известно, используются родококками, обитающими на всех органах этого растения. Общее количество фенольных соединений в расторопше

составляет 1.8-3.2%. Обилие разнообразных протеобактерий в филлосфере связано со сложным химическим составом расторопши - белки, разнообразные макро- и микроэлементы, жиры, витамины. Поэтому расторопша является уникальным лекарственным растением, используемым при лечении очень многих заболеваний.

Таблица 4. Изменение доминирующих таксонов бактериальных сообществ на листьях сорных растений в разные фазы их развития

№	Название растения	Таксономический состав доминантов		
		Всходы	**Цветение**	**Созревание семян**
1	**Пастушья сумка обыкновенная** (*Capsella bursa-pastoris*)	*Arthrobacter* (50%) *Rhodococcus* (40%)	*Sphingobacterium* (40%) *Cytophaga* (40%)	*Sphingobacterium* (80%)
2	**Лебеда раскидистая** (*Atriplex patula*)	*Arthrobacter* (80%)	Myxococcales (40%) *Pseudomonas* (50%)	Myxococcales (40%)
3	**Осот полевой** (*Sonchus arvensis*)	*Arthrobacter* (40%) *Cytophaga* (30%)	*Sphingobacterium* (60%)	*Sphingobacterium* (30%) Myxococcales (50%)
4	**Пикульник обыкновенный** (*Galeopsis tetrahit*)	*Arthrobacter* (50%)	*Cytophaga* (70%)	*Sphingobacterium* (50%)
5	**Подмаренник настоящий** *(Galium verum)*	*Arthrobacter* (60%),	*Sphingobacterium* (90%)	*Cellulomonas* (50%) *Cytophaga* (40%)
6	**Расторопша пятнистая** *(Silybum marianum)*	*Arthrobacter* (50%) *Sphingobacterium* (40%)	*Sphingobacterium* (40%)	*Rhodococcus* (35%)

На цветках и семенах исследуемых сорных растений доминируют представители тех же таксонов, что на листьях, отобранных в период цветения и уборки урожая. Это, прежде всего, бактерии рода ,*Sphingobacterium*. На семенах в качестве других доминантов выделялись бактерии-гидролитики – бациллы и цитофаги (табл. 5). На цветках сурепки доминировали (80%) факультативно-анаэробные бактерии (*Pantoea*). Следует отметить, что идентификация бактерий этих родов была проведена на основании молекулярно-биологических методов.

При изучении динамики таксономической структуры бактериальных сообществ на корнях всех исследованных сорняков в процессе их онтогенеза, можно сделать следующие выводы – в ризосфере сорных растений, в отличие от филлосферы, не происходит существенной перестройки в составе бактериальных комплексов. Список

доминантов представлен как типично почвенным представителем олиготрофных бактерий артробактером, так и целлюлозоразрушающими миксобактериями и цитофагами. Изменяется лишь их соотношение. На корнях сорных растений, в отличие, от листьев, постоянно преобладали миксобактерии и бациллы. Бактерии рода *Sphingobacterium* чаще доминировали на листьях (более 40%), чем на корнях (менее 20%). Особое место среди всех исследованных сорняков занимает расторопша – для бактериальных сообществ этого растения характерно доминирование родококков – как на корнях, так и на листьях.

Таблица 5. Доминирующие таксоны бактериальных сообществ сорных растений на цветках и семенах

№	Название растения	Таксономический состав доминантов	
		Цветки	**Семена**
1	**Пастушья сумка обыкновенная** (*Capsella bursa-pastoris*)	*Sphingobacterium* (90%)	*Sphingobacterium* (30%) *Rhodococcus* (50%)
2	**Лебеда раскидистая** (*Atriplex patula*)	*Micrococcus* (30%) *Sphingobacterium* (40%)	Sphingobacterium (90%)
3	**Сурепка обыкновенная *(Barbarea vulgaris)***	*Pantoea* (80%)	*Bacillus* (70%) *Sphingobacterium* (30%)
4	**Расторопша пятнистая** *(Silybum marianum)*	*Sphingobacterium* (60%) Myxococcales (30%)	*Sphingobacterium* (50%) *Cytophaga* (40%)

Следует обратить внимание на таксономический состав протеобактерий, которые периодически выделялись из филлосферы и ризосферы исследованных сорняков (табл.6). Это бактерии родов *Advenella,* и *Stenotrophomonas*. Первые 2 рода входят в семейство Alcaligenaceae, порядок Burkholderiales. Бактерии рода *Tetrathiobacter,* впоследствии переведённые в род *Advenella,* были описаны как факультативно-хемолитотрофные бактерии, способные к окислению тетратионатов и тиосульфата. Из сорных растений выделены так же представители Gammaproteobacteria - род *Stenotrophomonas,* близкий к *Pseudomonas maltophila.*

Одной из задач наших исследований было изучить влияние экологических микрониш, в которых произрастали и отбирались для анализа сорные растения, на численность и таксономическую структуру эпифитных бактериальных комплексов. Растения отбирали с окраины леса, края поля и середины пахотного поля. Данные, отражающие изменения таксономического состава бактериальных сообществ в пространстве и во времени были обработаны с помощью 4-х факторного дисперсионного анализа (табл.6). Итоги анализа позволили заключить, что главным

фактором, определяющим таксономический состав эпифитных бактериальных сообществ сорных растений является стадия развития сорного растения и далее в порядке убывания значимости, следуют орган растения и затем экониша. Влияние вида растения оказалось не достоверным – иными словами на исследованных нами растениях, относящихся к разным семействам и видам, состав бактерий был примерно одинаков.

Таблица 6. Таксономический состав протеобактерий на сорных растениях, определённых на основании молекулярно-биологического метода

Вид растения	Орган растения	Время отбора образцов	Подкласс бактерий	Названия родов бактерий
Лебеда раскидистая (*Atriplex patula*)	листья	осень	Betaproteobacteria	*Advenella kashmirensis* *
Пастушья сумка обыкновенная (*Capsella bursa-pastoris*)	листья	осень	Betaproteobacteria	*Advenella kashmirensis*
Пастушья сумка обыкновенная (*Capsella bursa-pastoris*)	корни	Лето цветение	Betaproteobacteria	*Advenella kashmirensis*
Пикульник обыкновенный (*Galeopsistetrahit*)	листья	Весна всходы	**Gammaproteobacteria**	*Stenotrophomonas sp.*
Сурепка обыкновенная *(Barbarea vulgaris)*	цветки	Лето цветение	**Gammaproteobacteria**	*Pantoea sp.*

* *Advenella kashmirensis* ранее *Tetrathiobacter kashmirensis* (Thompson et al, 1994).

Сравнение структуры бактериальных сообществ культурных и сорных растений

При сравнительном анализе таксономической структуры эпифитного комплекса культурных и сорных растений следует сразу отметить, что большинство доминантов на всех видах исследованных растений являются общими (рис.7 и 8). Они представлены артробактером, миксобактериями, цитофагами, бациллами. Но есть и чёткие различия. Если у сельскохозяйственных культур первое место по частоте доминирования составляют актинобактерии рода *Arthrobacter* (40%), то у сорных растений - бактерии рода *Sphingobacterium* (50%). Энтеробактерии (роды *Pantoea* и *Erwinia*) доминировали только на овощных культурах. У сорных растений энтеробактерии рода *Pantoea* были выделены только из цветков сурепки. С другой стороны, из разных органов сорных растений были выделены в качестве доминантов

представители таких родов бактерий как *Micrococcus* и *Paracoccus*, которые не были обнаружены на культурных растениях. Только из сорных растений были выделены хемолитотрофные бактерии рода *Advenella* и представители близкого к псевдомонадам рода *Stenotrophomonas.*

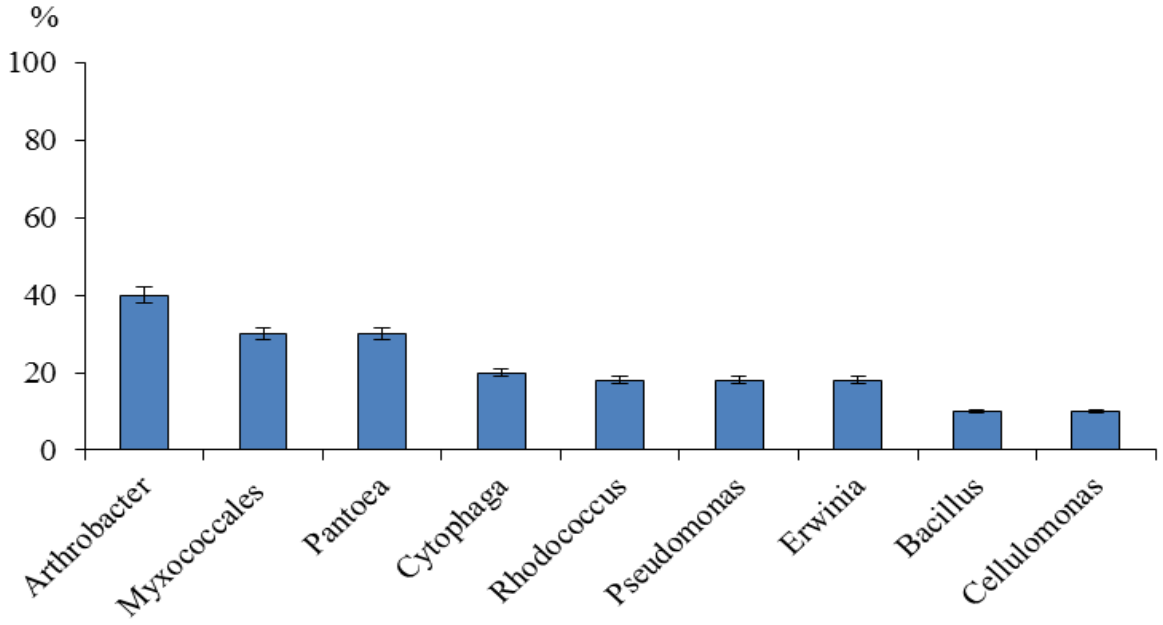

Рисунок 7. Частота доминирования бактерий разных таксонов в филлосфере и ризосфере культурных растений

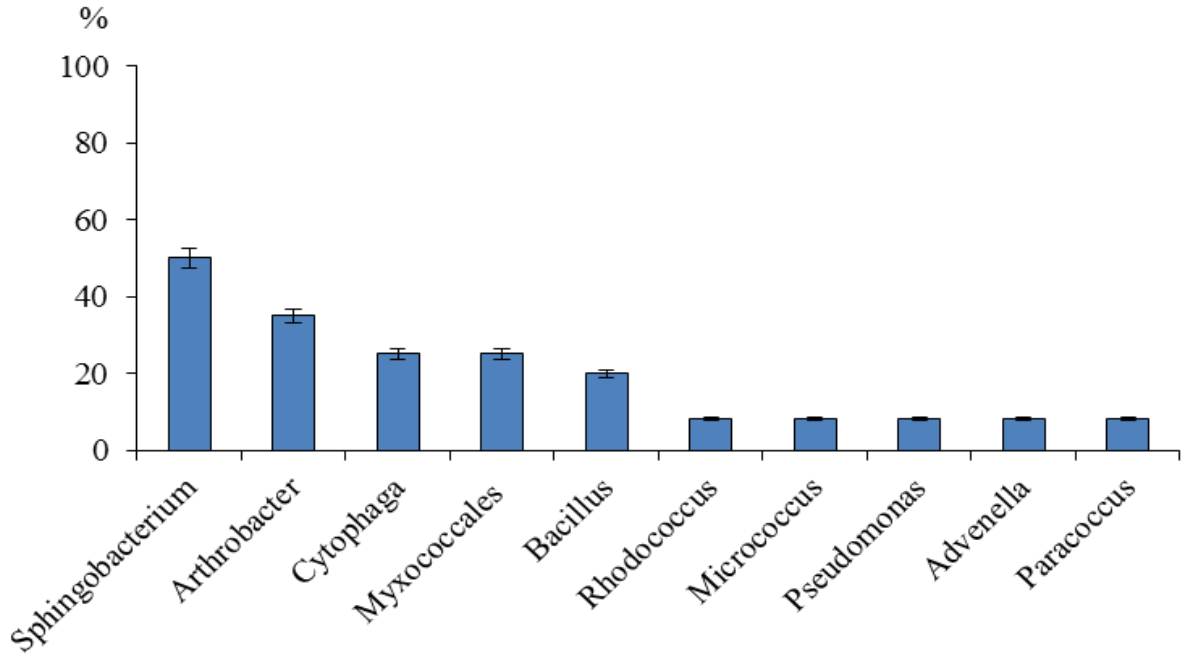

Рисунок 8. Частота доминирования бактерий разных таксонов в филлосфере и ризосфере сорных растений

Методом главных компонент удалось подтвердить чёткие различия в таксономической структуре культурных и сорных растений (рис. 9).

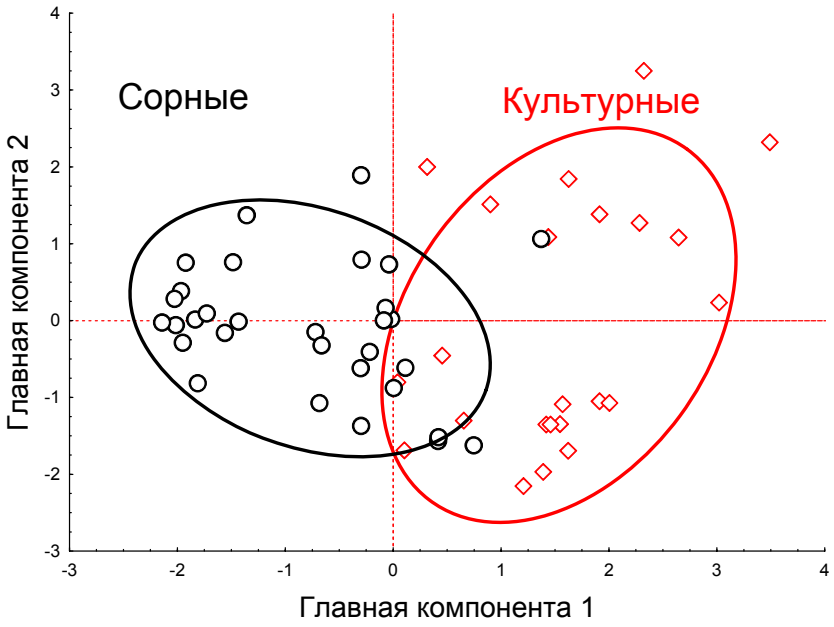

Рисунок 9. Разделение главными компонентами бактериальных комплексов культурных и сорных растений по таксономическому составу

Весь спектр бактериальных таксонов, выделенных нами из разных органов культурных и сорных растений и идентифицированных на основании как фенотипических, так и молекулярно-биологических методов, представлен в табл. 7. Из них 13 таксонов относятся к грамотрицательным бактериям и 8 – к грамположительным.

Таблица 7. Таксономический состав бактерий на культурных и сорных растениях, определённых на основании как фенотипических, так и молекулярно-биологических методов.

№	Названия таксонов бактерий				
	G -			G +	
1	*Advenella*	9	*Paracoccus*	1	*Arthrobacter*
2	*Agrobacterium*	10	*Pseudomonas*	2	*Bacillus*
3	*Azospirillum*	11	*Rhizobium*	3	*Cellulomonas*
4	*Cytophaga*	12	*Stenotrophomonas*	4	*Curtobacterium*
5	*Erwinia*	13	*Sphingobacterium*	5	*Micrococcus*
6	*Flavobacterium*			6	*Nocardia*
7	Myxococcales			7	*Rhodococcus*
8	*Pantoea*			8	*Streptomyces*

Следует обратить внимание на функции бактерий-доминантов, обнаруженных на разных органах исследованных растений. Бактерии родов *Sphingobacterium* и *Cytophaga* являются представителями одного и того же филума Bacteroidetes, но относятся к разным классам. Если представители рода *Cytophaga* являются типичными целлюлолитиками, то бактерии рода *Sphingobacterium* способны к деструкции крахмала и только некоторые виды могут использовать целлобиозу. Отметим, что род *Sphingobacterium*, который был описан в 1983 году (Yabuuchi et al, 1983), отличается от рода *Flavobacterium* наличием особого состава липидов, названных сфингофосфолипидами. Миксобактерии, доминирующие на корнях, являются типичными представителями целлюлозоразрушающих бактерий, относящимися к порядку Myxococcales. Таким образом, в деструкции корневых остатков участвуют, в основном, миксобактерии, а разложении надземных растительных тканей – цитофаги.

Большинство эпифитных G-бактерий, выделенных из растений, (роды *Agrobacterium, Azospirillum, Erwinia, Pantoea, Paracoccus, Pseudomonas, Stenotrophomonas*) являются типичными эккрисотрофами, питающимися продуктами экзоосмоса растений. Представители рода *Arthrobacter* – типично почвенные актинобактерии. В надземный ярус растений бактерии этого рода попадают с почвенными частицами не только по корням, но и с ветром, пылью, осадками. Об их приживаемости в филлосфере ранее не сообщалось. Однако в работе (Sheublin, Leveau, 2012) доказано активное размножение на листьях яблони бактерий 4-х видов *Arthrobacter*, которые способны использовать фенолы, хлорфенолы, фенантрены, попадающие в филлосферу в качестве антропогенных загрязнителей, в том числе и при использовании пестицидов. В связи с этим авторы ставят вопрос о значимости артробактерий для очистки не только почв, но и растений от загрязнений окружающей среды. Как было продемонстрировано нами, артробактер постоянно обнаруживался в качестве доминанта как на корнях, так и листьях сорных растений. О бактериях рода *Rhodococcus,* особенно доминирующих на различных органах расторопши, мы уже писали ранее как о бактериях, способных использовать различные фенольные соединения.

В процессе развития как культурных, так и сорных растений наблюдали постепенную замену аэробных и факультативно-анаэробных протеобактерий и актинобактерий в периоды всходов и цветения бактериями гидролитического блока – целлюлозоразрушающими бактериями в период созревания семян. Следовательно, при старении растительных тканей развиваются те бактерии, которые способны проводить их деструкцию.

Антибиотические свойства бактериальных культур, выделенных из культурных и сорных растений

Среди проверенных на антагонизм 70 штаммов бактерий, выделенных из культурных растений, 44% проявили антагонистические свойства по отношению к одному или двум видам фитопатогенных бактерий, используемых в этом опыте (табл.8). Зоны ингибирования роста составляли 1–10 мм (максимальная зона была обнаружена у бацилл). Среди этих бактерий-антагонистов преобладали представители тех форм бактерий, которые доминируют в филлосфере, ризосфере и почве.

Таблица 8. Антибиотические свойства бактерий разных таксонов, выделенных из культурных растений

Бактерии из растений и почв	Фитопатогенные бактерии		
	Clavibacter michiganensis	*Rathayibacter tritici*	*Pseudomonas syringae*
Arthrobacter	3	0	2
Bacillus	10	10	0
Cellulomonas	0	0	1
Curtobacterium	0	0	0
Cytophaga	3	3	0
Erwinia	0	1	0
Micrococcus	0	0	0
Myxococcales	0	0	8
Nocardia	0	0	1
Pseudomonas	0	0	0
Rhodococcus	0	0	0

У сорных растений процент штаммов, обладающих антибиотической активностью, оказался намного выше, чем у культурных растений. Из 70 культур антибиотическую активность по отношению ко всем взятым в опыт фитопатогенным бактериям проявили 72% штаммов бактерий эпифитного комплекса. Зоны ингибирования составили 1-4 мм (табл.9).

Таким образом, антибиотическую активность проявили многие представители как грамотрицательных, так и грамположительных бактерий, выделенных из культурных и сорных растений. Если это сопоставить с общим числом идентифицированных нами таксонов бактерий (21), то можно сказать, что практически 50% представителей всех определённых нами родов бактерий обладают антагонистической активностью. При этом следует отметить, что наибольшую долю бактерий-антагонистов составили культуры, выделенные из сорных растений, что подтверждает положительную роль сорных растений в агроценозах и целесообразность замены парадигмы уничтожения сорняков их контролируемостью в агроценозах.

Таблица 9. Антибиотические свойства бактерий разных таксонов, выделенных из сорных растений

Бактерии из растений и почв	Фитопатогенные бактерии		
	Pseudomonas syringae	*Clavibacter michiganensis*	*Erwinia carotovora*
Azospirillum	0	0	1
Paracoccus	0	0	0
Pseudomonas	0	0	0
Cellulomonas	2	0	0
Arthrobacter	0	4	4
Bacillus	0	3	1
Myxococcales	2	1	1
Micrococcus	1	0	0
Sphingobacterium	0	3	0
Cytophaga	0	0	0
Flavobacterium	0	0	2
Rhodococcus	0	1	2

При сравнении состава бактерий-антагонистов в настоящей работе с проведёнными ранее нами исследованиями (Добровольская и др., 2012, 2015) по изучению антибиотической деятельности эпифитных бактерий культурных растений (картофель, ячмень, овёс, вика) и сорных (одуванчик, пырей, осот), установлено, что доминирующее положение среди бактерий - антагонистов фитопатогенных бактерий всех исследованных растений занимали представители большинства таксонов, перечисленных в выше приведённых таблицах (8,9). Однако встречались и бактерии других родов: *Erwinia, Pseudomonas, Burkholderia, Cytophaga*, *Nocardia*. Таким образом, существует естественная защита культурных растений от фитопатогенов в виде бактериальных популяций, которые формируются как на культурных, так и сорных растениях в разных ярусах агроценоза.

ВЫВОДЫ

1. Определена численность бактерий эпифитного комплекса на разных органах культурных и сорных растений. Установлено, что плотность бактериальных популяций колеблется в диапазоне 10^6 - 10^{11} КОЕ/г и зависит от фазы развития растений и влажности.
2. Выявлены изменения в таксономической структуре исследуемых бактериальных сообществ на разных органах растений в процессе их развития - наблюдается

четкая смена эккрисотрофных бактерий на бактерии гидролитического комплекса при старении растений.

3. Проведение дисперсионного анализа позволило установить, что на таксономическую структуру бактериальных сообществ как культурных, так и сорных растений, наибольшее влияние оказывают фаза развития и орган растения.
4. Установлены чёткие различия между таксономическим составом бактериальных сообществ культурных и сорных растений. Они заключаются как в наличии разных доминантов, так и обнаружении на сорняках большего разнообразия протеобактерий, в том числе и специфических видов хемолитотрофных бактерий.
5. В почве под исследуемыми растениями во все сроки отбора образцов не наблюдали изменений в таксономической структуре бактериальных комплексов – доминировали артробактер и бациллы.
6. Использование гуминовых удобрений привело к повышению урожая сельскохозяйственных культур и увеличению концентрации тех бактерий, которые способны использовать те субстраты, которые входят в состав удобрений.
7. Из 140 штаммов бактерий, выделенных из культурных, сорных растений и почвы, более 50% проявили антагонистическую активность по отношению к фитопатогенным бактериям, что свидетельствует о защитной роли бактерий эпифитно-сапротрофного комплекса в агроценозе.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Добровольская Т.Г., Леонтьевская Е.А., **Хуснетдинова К.А.,** Балабко П.Н. Таксономический состав и антибиотические свойства бактерий в надземном и подземном ярусах агроценоза //**Проблемы агрохимии и экологии.** 2012. №4. - 42-45с.
2. Леоньевская Е.А., *Хуснетдинова К.А.* Влияние органических удобрений на численность и структуру бактериальных сообществ картофеля // ЛОМОНОСОВ-2012: XIX Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых: Секция «Почвоведение»; 9-13 апреля 2012г., Москва, МГУ имени М.В. Ломоносова, факультет почвоведения: Тезисы докладов /Сост. К.А. Цветнова. — М.: МАКС Пресс, 2012. — С. 17-18.
3. Добровольская Т.Г., Леонтьевская Е.А., **Хуснетдинова К.А.** Состав бактериальных сообществ в пойменном агроценозе: культурные и сорные растения, почва// Материалы международной научной конференции «Дни Науки». 2012. Т. 28. -С. 35-37.
4. Добровольская Т.Г., Леоньевская Е.А., **Хуснетдинова К.А.** Численность и структура бактериальных сообществ картофеля под влиянием органических удобрений // Современные проблемы окружающей среды и пути их решения: монография/ под ред. А.В. Соловьева, Т.И. Хуснетдиновой. – М.: ФГБОУ ВПО РГАЗУ. – 2012. - 186с. (С.16- 19) ISBN 978-5-901240-60-1
5. Добровольская Т.Г., Леонтьевская Е.А., **Хуснетдинова К.А**. Бактериальные сообщества растений и почвы картофельного поля //Материалы докладов V1

Съезда общества почвоведов им. В.В. Докучаева. Книга 2 ПОЧВЫ РОССИИ: современное состояние, перспективы изучения и использования, (Петрозаводск - Москва. 13-18 августа 2012 г), место издания Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2012, том 2,- С. 373-374.

6. Добровольская Т.Г., Леонтьевская Е.А**., Хуснетдинова К.А.,** Балабко П.Н. Влияние гуминовых удобрений на численность и структуру бактериальных комплексов картофельного поля //**Вестник Московского университета. Серия 17: Почвоведение**, 2013. № 3. - 47-50 с.
7. **Хуснетдинова К.А** Микробные комплексы агроценозов // Материалы конференции «Фундаментальные и прикладные науки, проблемы и перспективы»: монография/ под ред. В.А.Дубовика, Е.В. Надежкиной, Т.И. Хуснетдиновой. – М.: ФГБОУ ВПО РГАЗУ., 2014. – С.97- 100. ISBN 978-5-901240-69-4
8. Добровольская Т.Г., Леонтьевская Е.А., **Хуснетдинова К.А.** Влияние жидких нетрадиционных удобрений на эпифитные бактериальные сообщества картофеля // «Защита картофеля», М.: МГУ, 2014, №1, 2014 г. - 69-70 с.
9. Добровольская Т.Г., Леонтьевская Е.А., **Хуснетдинова К.А.,** Балабко П.Н. Роль эпифитных и почвенных бактериальных сообществ в защите растений от болезней в агроценозах //Роль почв в биосфере и жизни человека, Международная научная конференция: К 100-летию со дня рождения академика Г.В. Добровольского, к Международному году почв (Москва, МГУ имени М.В. Ломоносова, 05-07 октября 2015 г. М. ООО "МАКС Пресс", 2015, С. 169-170.
10. Добровольская Т.Г., **Хуснетдинова К.А.,** Манучарова Н.А., Балабко П.Н. Структура и функции бактериальных сообществ в агроценозе// **Почвоведение.** 2016. №1. - С.71-87
11. Dobrovol'skaya T.G., **Khusnetdinova K.A.,** Manucharova N.A., Balabko P.N. The Structure and Functions of Bacterial Communities in an Agrocenosis //Eurasian Soil Science, издательство Maik Nauka/Interperiodica Publishing (Russian Federation), 2016, том 49, № 1, -С. 70-78
12. Добровольская Т.Г., **Хуснетдинова К.А.,** Савицкая П.М. Бактериальные сообщества лекарственных растений – календулы лекарственной и расторопши пятнистой//Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования: Материалы XII международной конференции, 6-10 июня 2016 года, Ялта, место издания РУДН Москва, -С. 208-210.
13. **Хуснетдинова К.А.,** Добровольская Т.Г. Структура сообществ эпифитных бактерий культурных и сорных растений// Материалы VII съезда Общества почвоведов им. В.В. Докучаева: Почвоведение - продовольственной и экологической безопасности страны. 15-22 августа 2016 г. Издательский дом "Белгород" (Белгород). 2016, Том. Часть 1. - С 243-244
14. Добровольская Т.Г., **Хуснетдинова К.А.,** Манучарова Н.А., Головченко А.В. Структура эпифитных бактериальных сообществ сорных растений **//Микробиология, 2017, Том. 86, №. 2, с. 247–254.**
15. Добровольская Т.Г., Хуснетдинова Т.И., Савицкая П.М., **Хуснетдинова К.А.** Структура бактериальных сообществ календулы лекарственной и расторопши пятнистой в агроценозе//**Агрохимический вестник,** издательство Ред. "Химия в сельском хозяйстве" 2017, (М.), № 1. - С.48-50