

## **Взаимоотношения эндомикоризных грибов с микроорганизмами ризосферы.**

**Н.М. Лабутова**

Доцент каф. агрохимии биолого-почвенного факультета Санкт-Петербургского государственного университета.

### ***Interactions between endomycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms. Labutova N.M.***

Ризосфера является активно изменяющейся средой, где взаимодействуют микроорганизмы, корни растений и абиотические компоненты почвы – минеральные и органические вещества, почвенный раствор и почвенные газы. (Azcon-Aguilar, Barea, 1992; Lindermann, 1992; Barea, 1997; Kennedy, 1998, Bowen, Rovira, 1999; Barea, 2000; Gryndler, Hrselova, 1998). Основой для формирования и функционирования ризосферы является, с одной стороны, поставка растением фотосинтатов и разлагающейся органики к прикорневой микробиоте, а с другой – количественные и качественные изменения корневых выделений и снабжение растений доступными питательными элементами за счет деятельности микроорганизмов (Werner, 1998).

Кеннеди (Kennedy, 1998) предложил разделить ризосферу на 3 отдельных, но взаимосвязанных компонента, а именно: ризосфера, ризоплана и непосредственно корень. Ризосфера – зона почвы, в которой корневые выделения влияют на микробиологическую активность. Ризоплана – поверхность корня с адгезированными почвенными частицами. Корень также является частью ризосферы, т.к. корневые ткани могут заселять микроорганизмы-эндофиты, которые выполняют функции поддержки роста и защиты растений от инфекций (Kloepper, 1994; Chanway, 1996; Duijff et al., 1997; Duijff et al., 1998; Van Loon et al., 1998; Sturz, Nowak, 2000).

Различают две основные группы микроорганизмов, обитающих в ризосфере: сапротрофы и симбионты. Среди этих микроорганизмов присутствуют грибы и бактерии, которые могут оказывать на растения положительное и отрицательное действие. Так, почвообитающие фитопатогены отрицательно влияют на развитие и продуктивность растений (Weller, Tomashow, 1994; Neal et al., 1996). В то же время, в ризосфере обитают грибы и бактерии, которые осуществляют разложение органического вещества и трансформируют элементы питания в доступную для растений форму. Такие микроорганизмы, как известно, играют фундаментальную роль в функционировании агроценоза и устойчивости естественной экосистемы (Alabouvette, Lemanceau, 1997; Barea, 1997; Cordier et al., 1999).

К полезным бактериям относятся и, так называемые, «Plant growth promoting rhizobacteria» (PGPR), которые колонизируют поверхность корня. PGPR включают бактерии с различными жизненными циклами, активно участвующие во многих ключевых процессах, таких как биологический контроль фитопатогенов, циклы питания растений и выживаемость проростков (Kloepper et al., 1991; Lugtenberg et al., 1991; Haas et al., 1991; Lemanceau, Alabouvette, 1993; Weller and Thomashow, 1994; Glick, 1995; Broek, Vanderleyden, 1995; Bashan, Holguin, 1998; Barea, 2000).

Арбускулярные микоризные грибы (АМГ) и азотфиксирующие бактерии – наиболее значимые мутуалистические симбионты растений (Barea, 1997). Образование микоризы – важная особенность биологии и экологии большинства наземных растений, т.к. формирование микоризного симбиоза влияет на их рост, абсорбцию воды и питательных веществ, а также защищает растения от корневых патогенов (Smith, Read, 1997).

Особенностью АМГ является их одновременное присутствие во всех компонентах ризосферы. Эти грибы обитают в ризосфере в виде гиф, спор и других формах пропагул; колонизируют ризоплану в процессе своего взаимодействия с корнем (Bianciotto, Bonfante, 1999); образуют интраадикальный мицелий в тканях корня, а арбускулы – в клетках корня.

Преобладающей биоморфологической структурой АМГ в ризосфере является мицелий. На пресимбиотической стадии в почве происходит прорастание спор АМГ, в результате которого формируются гифы. Дальнейший рост и ветвление этих гиф приводят к образованию в почве сети ценоцитного мицелия. Длина такого мицелия обычно достигает 200 мм (Giovannetti et al., 1999). Значительно больше в ризосфере экстрарадикального мицелия, который формируется после выхода гиф интраадикального мицелия из корня в почву ризосферы. Экстрарадикальный мицелий образует густую сеть за счет ветвления гиф и формирования многочисленных анастомозов (Giovannetti et al., 2001). Длина экстрарадикального мицелия колеблется от 1,1 до 54 м/г почвы (Giovannetti et al., 2002).

Взаимодействие эндомикоризных грибов с почвообитающей микробиотой имеет несколько аспектов. Формирование микоризы, как известно, изменяет минеральное питание, гормональный баланс, углеродный обмен и другие стороны физиологии растений (Smith et al., 1994; Azcon-Aguilar, Vago, 1994). Помимо этого, распространяющийся в почве экстрарадикальный мицелий АМГ увеличивает объем ризосферы растения (Bethlenfalvay, Schuerr, 1994). Таким образом, арбускулярно-микоризный симбиоз изменяет химический состав корневых выделений, в то время как развитие микоризного мицелия в почве вносит физические изменения в природную среду, окружающую корни.

Действие АМГ на микрофлору может быть связано и с изменением динамики углерода в ризосфере микоризованных растений. Прежде всего, мицелий эндомикоризных грибов является источником углерода для почвообитающих микроорганизмов (Fitter et al., 2000).

Однако предполагается, что основная функция АМГ состоит в изменении распределения фотосинтатов и их потребления ризосферными организмами. Выделение компонентов, богатых углеродом, в ризосферу весьма значительно и может достигать десятков или даже сотен миллиграмм на грамм корня в сутки (Toal et al., 2000). Вполне вероятно, что присутствие мицелия АМГ в ризосфере, которая является зоной обмена питательными веществами и энергией, может изменить ризосферные потоки углерода. Это, в свою очередь, предполагает, что АМГ могут воздействовать и на круговорот углерода в экосистемах (Fitter et al., 2000). Якобсен и Розендаль (Jakobsen, Rosendhal, 1990) высказали гипотезу об участии эндомикоризных грибов в потоках углерода и в неризосферной почве. По их мнению, значительная часть фотосинтатов, поступающих в корень, может транспортироваться гифами АМГ в неризосферную почву и поступать в окружающую среду. В неризосферной почве углерод будет использоваться другими способами и другими почвенными организмами по сравнению с почвой вблизи корней, где накапливается в большом количестве специфическая микрофлора в результате влияния ризосферы.

Иммобилизация органического углерода в корнях и мицелии является другим путем воздействия АМГ на динамику этого элемента. В микоризованном растении значительная часть фотосинтатов транспортируется в мицелий гриба. Так как оборот органического углерода, иммобилизованного в мицелии АМГ, вероятно, будет быстрее, чем в тканях корня, размещение С в гифах вместо корневых тканей приводит к более быстрому среднему обороту органического углерода в почве и увеличению его минерализации (Fitter et al., 2000). Изложенные выше рассуждения пока что являются гипотезами, для подтверждения которых необходимо проведение исчерпывающего исследования поведения различных пулов биологически иммобилизованного углерода (Norby, Jakson, 2000).

Таким образом, функционирование эндомикоризного симбиоза приводит к сдвигам в потоках веществ и энергии в микоризосфере. Вызванные микоризой изменения количественно и качественно воздействуют на микробные популяции либо в ризосфере, либо в ризоплане (Barea, 1997).

Но существует и обратная связь: будучи компонентом ризосферы, АМГ испытывают воздействие ризосферной микрофлоры. Исследования взаимоотношений между эндомикоризными грибами и остальными компонентами микробных сообществ ризосферы показали, что популяции микроорганизмов, живущих в ризосфере, могут влиять на развитие АМГ и формирование микоризы (Linderman, 1992; Azcon-Aguilar, Barea, 1992; Germida, Walley, 1996). При этом многочисленные бактерии (включая актиномицетов) и грибы взаимосвязаны со структурами эндомикоризных грибов, которые присутствуют в ризосфере (Filippi et al., 1998). Так, известно, что бактерии р. *Rhizobium*, р. *Pseudomonas* и р. *Paenibacillus* могут адгезироваться к гифам АМГ (Bianciotto et al., 1996; Budi et al., 1999). Прямой контакт создает максимально благоприятные условия для взаимодействия эндомикоризных грибов и микрофлоры ризосферы.

### **Влияние ризосферной микробиоты на АМГ.**

Установлено, что микроорганизмы ризосферы могут влиять на скорость распространения арбускулярных и эктомикоризных грибов на корневых системах растения-хозяина (Azcon-Aguilar, Barea, 1992). Например, было показано положительное, нейтральное или отрицательное действие ризосферных бактерий на развитие эктомикоризного симбиоза различных видов грибов с *Pinus radiata* (Bowen, Theodorou, 1979). Виды бактерий р. *Paenibacillus*, изолированные из ризосферы *Sorghum bicolor* и проявляющие антагонистическую активность к почвенным фитопатогенным грибам, стимулировали образование арбускулярной микоризы (Budi et al., 1999). Установлено, что результат взаимодействия зависит от вида микроорганизмов, в том числе и микоризного гриба (Chanway et al., 1991; Garbaye, Bowen, 1997).

Многочисленные работы свидетельствуют о том, что PGPR способны стимулировать рост эндомикоризных грибов (Mayo et al., 1986; Azcon, 1987; Linderman, Pauliz, 1990; Requena et al., 1991) и образование микоризного симбиоза (Azcon-Aguilar, Barea, 1992; Barea, 1997). На основании этого эффекта была предложена новая категория бактерий: «mycorrhization helper bacteria» (МНВ), т.е., бактерии, помогающие микоризации (Garbaye, 1994). По мнению ряда исследователей, МНВ играют важную роль в экологии ризосферы и могут быть использованы для стимуляции мицелиального роста АМГ, или ускорения образования микоризы (Garbaye, 1994; Azcon-Aguilar, Barea, 1995; Frey- Klett et al., 1997; Barea, 1997).

Однако ризосферные микроорганизмы не всегда оказывают положительное влияние на АМГ. В других экспериментах присутствие трех видов *P. fluorescens* с защитными свойствами не влияло на активность и развитие в корне *G. mosseae*. В то же время, присутствие эндомикоризного гриба увеличило общую численность популяции *P. fluorescens* (Edwards et al., 1998).

Обнаружено, что ризосферные бактерии, которые отрицательно влияют на растения, могут мешать образованию микоризы и ее функционированию (Neal et al., 1996). Также описаны микопаразитические взаимоотношения, в которых участвуют АМГ (Jeffries, 1997).

Механизмы, ответственные за стимулирующее влияние почвенных микроорганизмов на АМГ, изучены мало; неизвестно как осуществляется передача сигнала между бактериями и грибами при стимуляции мицелиального развития. Для объяснения эффекта стимуляции были предложены различные механизмы, включающие продуцирование витаминов, аминокислот, фитогормонов и/или гидролитических энзимов клеточной стенки. Некоторые из этих веществ могут непосредственно влиять на развитие и рост грибных структур, тогда как другие

оказывают влияние на развитие корня и его восприимчивость к инфекции (Barea et al., 2002). Согласно другой гипотезе, действие ризосферной микробиоты может реализоваться через влияние на растение. По современным представлениям, образование и развитие микоризного симбиоза связано с изменениями в составе корневых выделений и гормональным балансом растения-хозяина. С другой стороны, известно, что в метаболитах почвенных микроорганизмов присутствуют компоненты, которые увеличивают проницаемость клеток корня, таким образом усиливая корневые выделения. Увеличение поступления экссудатов может стимулировать рост мицелия АМГ в ризосфере и облегчать проникновение гриба в корень. Также известно, что гормоны растений и микроорганизмов могут влиять на приживаемость АМГ на коре корня (Azcon-Aguilar, Barea, 1992; 1995).

Проведено исследование изменений в экспрессии генов *G. mosseae*, которые происходили в присутствии PGPR *Bacillus subtilis*, оказывающей стимулирующее влияние на рост мицелия гриба. Было обнаружено, что этот вид бактерий индуцирует у эндомикоризного гриба экспрессию *GmFOX2*, который является высококонсервативным геном и кодирует многофункциональный белок, участвующий в бета-окислении перекиси водорода (Requena et al., 1999).

### **Взаимодействия АМГ и ризосферной микробиоты, влияющие на продуктивность растений.**

По современным представлениям, продуктивность и здоровье растений зависят от разнообразия и эффективности почвенной микробиоты, которая является одним из основных факторов плодородия почвы (Bethlenfalvay, Lindermann, 1992; Barea, Jeffries, 1995; Kennedy, Smith, 1995). С этой точки зрения, формирование арбускулярной микоризы оказывает опосредованное действие на растения за счет влияния на микробные популяции в ризосфере (Germida, Walley, 1996). Так, многими исследователями показано, что при развитии эндомикоризных грибов в ризосфере изменяется выживаемость аборигенных или интродуцированных микроорганизмов (Christensen, Jakobsen, 1993; Puppi et al., 1994; Barea, 1997; Andrade et al., 1998; Ravnskov et al., 1999).

Наибольший интерес вызывают взаимоотношения АМГ и PGPR, так как эти микроорганизмы оказывают положительное действие на рост и здоровье растений. При совместном действии эндомикоризных грибов и PGPR часто наблюдается синергистический эффект, который оказывает ярко выраженное благоприятное действие на растения (Azcon-Aguilar, Barea, 1992; Hodge, 2000). Например, совместная инокуляция гвоздики PGPR *Pseudomonas putida* и АМГ вызвала дополнительное увеличение роста растений по сравнению с вариантами, где гвоздика была инокулирована каждым организмом в отдельности (Meyer, Lindermann, 1986). Аналогичные данные были получены с растениями томата при совместной их инокуляции АМГ *Glomus mosseae* и разными видами бактерий р. *Pseudomonas*, которые продуцировали вещества, подавляющие рост грибов (Barea et al., 1998).

С практической точки зрения большую значимость имеют исследования взаимоотношений АМГ с микроорганизмами, повышающими доступность минеральных элементов питания для растений. Формирование синергистических взаимодействий таких микроорганизмов с АМГ приводит к улучшению питания и, соответственно, к увеличению роста растения (Azcon, 1989). В перспективе, эти вопросы представляют интерес для внедрения технологий с использованием низких доз удобрений, восстановления круговорота питательных веществ после любого процесса почвенной деградации (Bethlenfalvay, Linderman, 1992; Gianinazzi, Schuepp, 1994; Jeffries, Barea, 2000) и восстановления естественной растительности на деградированных землях (Miller, Jastrow 1994; Barea, Jeffries, 1995).

Наибольшее количество работ посвящено изучению взаимоотношений эндомикоризных грибов и азотфиксирующих бактерий, поскольку они имеют колоссальное значение для поступления азота в систему «почва-растение» (Barea et al.,

1997). Роль АМГ в улучшении образования клубеньков и усилении фиксации азота при тройном симбиозе признана сейчас повсеместно. В результате исследований с использованием изотопа  $N^{15}$  был установлен факт увеличения азотфиксации при тройном симбиозе и определено дополнительное количество фиксированного азота. Такого рода исследования позволили количественно оценить вклад эндомикоризы в процесс фиксации азота (Tobar et al., 1996; Barea et al., 1996; Toro et al., 1998).

Причиной увеличения продуктивности растений при формировании тройного симбиоза часто является повышение их устойчивости к водному и солевому стрессу. Установлено, что результат взаимодействия клубеньковых бактерий и АМГ влияет на продукцию растительных гормонов, полиаминов, пролина и активности фотосинтеза, т.е., факторы, которые вовлечены в механизмы защиты от стрессов (Goicoechea et al., 1995; 1997; 1998). Также было показано, что смягчение водного стресса может происходить за счет старения клубеньков, вызванного инокуляцией растений АМГ (Ruiz-Lozano et al., 2001). Аналогичным образом эндомикоризный симбиоз поддерживает функционирование ризобияльного симбиоза в условиях солевого стресса (Azcon, El-Atrash, 1997).

До сих пор остается открытым вопрос о физиологических и биохимических основах взаимоотношений АМГ и бактерий р. *Rhizobium*, в результате которых увеличивается продуктивность бобовых растений. Общепринятой является точка зрения, согласно которой основное влияние эндомикоризного симбиоза на активность клубеньковых бактерий объясняется улучшением питания растения-хозяина. (Barea et al., 1992). Однако более локальные взаимодействия между АМГ и клубеньковыми бактериями могут иметь место при колонизации корня или формировании клубенька. Взаимодействие между бактериями р. *Rhizobium* и эндомикоризным грибом также может происходить до колонизации корня этими микроорганизмами, когда они выступают как обитатели ризосферы (Azcon-Aguilar, Barea, 1992; Barea et al., 1997). Так, известно явление взаимной стимуляции клубеньковых бактерий, относящихся к родам *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Rhizobium*, *Sinorhizobium*, и АМГ. В результате экспериментов, проведенных в ризосфере, показано, что в присутствии ризобий увеличивалось число точек проникновения АМГ в корни растения. Кроме того, установлено, что в аксеничной культуре клубеньковые бактерии стимулировали развитие мицелия при прорастании спор эндомикоризных грибов. Предполагается, что оба вида стимуляции обусловлены возрастанием экссудации корня, вызванной полисахаридами бактерий р. *Rhizobium* и увеличением продукции фитогормонов под действием ризобий или других бактерий, присутствующих в почве (Azcon-Aguilar, Barea, 1992).

На развитие взаимоотношений обоих симбионтов при формировании тройного симбиоза влияет генотип растения-хозяина (Monzon, Azcon, 1996). При этом для достижения высокой эффективности такого симбиоза, прежде всего, должны быть подобраны эффективные пары: бактерии р. *Rhizobium*-АМГ (Azcon et al., 1991, Ruiz-Lozano, Azcon, 1993).

Многие ризосферные бактерии могут положительно влиять на формирование и эффективность тройного симбиоза, в результате чего улучшается развитие растений и, прежде всего, корневой системы, увеличивается поглощение питательных веществ и фиксация азота. При этом наблюдаются специфические взаимоотношения между микробными компонентами комбинаций, а результат этих взаимодействий сказывается на реакции растения. Так, некоторые PGPR улучшают образование клубеньков *Rhizobium* sp. (Halverson, Handelsman, 1991; Staley et al., 1992; Azcon, 1993). По мнению некоторых исследователей, в ряде случаев взаимодействие между PGPR и бактериями р. *Rhizobium* происходит в микоризосфере (Schloter et al., 1997).

Помимо азотфиксирующих клубеньковых бактерий, эндомикоризные грибы взаимодействуют и с другими ризосферными бактериями, которые влияют на доступность элементов питания для растений. Эксперименты *in vitro* показали, что

многие почвенные микроорганизмы способны к высвобождению фосфатных ионов из труднорастворимых неорганических и органических фосфорных соединений (Whitelaw, 2000). Эндомикоризные грибы могут взаимодействовать с фосфатмобилизующей микробиотой, вызывая синергистический эффект (Barea et al., 1997). Так, в опытах с  $P^{32}$  было показано, что поступление в растения фосфора при внесении в почву его труднорастворимых соединений (горные породы) является результатом взаимодействия фосфатмобилизующих PGPR и АМГ. При этом, PGPR вели себя как МНВ, улучшая выживаемость интродуцированных или аборигенных эндомикоризных грибов. Поскольку бактерии не изменяли вес и длину корня, предполагается, что они стимулировали развитие АМГ в почве до колонизации корня. Двойная инокуляция значительно увеличила биомассу растений, а также накопление азота и фосфора в растительных тканях. Использование изотопа  $P^{32}$  показало, что при совместной инокуляции фосфатмобилизующими PGPR и АМГ растения потребляли фосфор из недоступных без микоризы источников. Этот эффект не зависел от рода PGPR и от присутствия труднодоступных фосфатов. По-видимому, ризосферные/микоризосферные взаимодействия способствовали биохимическому круговороту фосфора и поддерживали постоянную поставку питательных элементов в растения (Toro et al., 1997).

Известно, что в благоприятных условиях PGPR р. *Azospirillum* улучшают развитие растений и повышают урожай (Bashan, 1999). Было установлено, что эти бактерии, влияя на морфологию, архитектуру и физиологию корневых систем, ускоряют образование микоризы. С другой стороны, показано, что АМГ могут увеличивать выживаемость интродуцированных бактерий р. *Azospirillum* в ризосфере растения. (Volpin, Kapulnik, 1994).

Эти и другие примеры (Kim et al., 1998; Gryndler, Hrselova, 1998; Belimov et al., 1999; Vosatka, Gryndler, 1999; 2000) показали, что совместная инокуляция растений АМГ и селекционными штаммами бактерий часто вызывает улучшение роста растения и увеличение поглощения питательных веществ. Однако во многих случаях трудно связать положительное действие микоризы исключительно с изменением физиологии минерального питания или поглощения воды растением.

#### **Взаимодействия при биологическом контроле корневых патогенов.**

Хорошо известно, что при формировании арбускулярно-микоризной ассоциации растения меньше страдают от почвообитающих фитопатогенов. Однако увеличение сопротивляемости/устойчивости растения происходит не во всех случаях при формировании симбиоза и демонстрируется не всеми АМГ. Кроме того, эффект биоконтроля эндомикоризные грибы проявляют не ко всем фитопатогенам. Субстраты или условия окружающей среды могут быть определяющими факторами в проявлении защитного действия (Barea et al., 1996; Barea, 1997; Azcon-Aguilar, Barea, 1996).

Анализ литературы показывает, что АМГ, по-видимому, обладают несколькими механизмами для подавления фитопатогенов.

Одна из гипотез предполагает, что защитное действие АМГ опосредовано через растение. При образовании симбиоза происходят сдвиги в физиологии организма-хозяина, которые сопровождаются изменением состава корневых выделений (Azcon-Aguilar, Vago, 1994; Smith et al., 1994). Это, в свою очередь, приводит к качественным и количественным изменениям в микробных популяциях ризосферы, в том числе, и микоризосферы. Рядом авторов было показано, что такие изменения могут влиять на развитие болезней растений (Azcon-Aguilar, Barea, 1992; 1996; Linderman, 1994).

Согласно другому предположению, защитное действие АМГ опосредовано через микробиоту и связано с увеличением антагонистической активности в ризосфере микоризованных растений. Установлено, что при образовании эндомикоризного симбиоза может происходить стимуляция определенных компонентов автохтонной микробиоты, которые являются антагонистами корневых патогенов. Так, было

обнаружено, что количество спорангиев и зооспор, образуемых культурами *Phytophthora cinnamomi*, уменьшалось при обработке экстрактами ризосферной почвы микоризованных растений (Meyer, Linderman, 1986). В других экспериментах наиболее эффективные актиномицеты-антагонисты были выделены из ризосферы микоризованных растений. Более поздние исследования подтвердили эти результаты и показали, что увеличение антагонистической активности зависит от присутствия АМГ, субстрата и организма-хозяина (Linderman, 1994; Azcon-Aguilar, Barea, 1996). Аргументом в пользу последней гипотезы являются результаты исследований защитного действия АМГ в ассоциациях с ризосферными бактериями-антагонистами, которые используются как средства для биологического контроля корневых патогенов (Linderman, 1994; Немес, 1997; Barea et al., 1998). В случае, когда эффективность защиты такой ассоциации была выше, чем каждого организма в отдельности, микроорганизмы были совместимы друг с другом и проявляли синергистическое действие (Alabouvette, Lemanceau, 1997). Это было показано в экспериментах с АМГ, специфичными штаммами флуоресцентных псевдомонад и грибом *Fusarium oxysporum* (Lemanceau, Alabouvette, 1991; Lemanceau et al., 1995). Аналогичные результаты были получены со штаммами *Paenibacillus sp.*, которые действовали синергистически с эндомикоризным грибом и увеличивали устойчивость растений томата к почвообитающим патогенным грибам, в особенности, к *Phytophthora parasitica* (Budi et al., 1999).

Пока что мало известно о молекулярных основах микробного антагонизма и участия селектированных штаммов PGPR в индуцированной системной устойчивости растений. Очевидно только, что АМГ и PGPR могут иметь несколько молекулярных механизмов биоконтроля, которые могут быть изучены с использованием общих методических подходов (Kloepper, 1994; Cook et al., 1995; Chen et al., 1996; Van Loon et al., 1998).

Для создания биопрепаратов защитного действия на основе ассоциаций бактерий-антагонистов и АМГ большое значение имеет совместимость микроорганизмов и влияние бактериальной компоненты на эндомикоризный гриб. На основании ряда исследований, можно заключить, что грибы-антагонисты и/или PGPR-антагонисты грибных фитопатогенов в большинстве случаев не подавляют развитие эндомикоризных грибов (Calvet et al., 1993; Barea et al., 1998; Edwards et al., 1998). Так, было показано, что определенные виды АМГ и флуоресцентных псевдомонад, стимулирующих рост растения, могут существовать вместе в пределах одной клетки корня. Такие результаты были получены на растениях томата, инокулированных АМГ и бактериями *Paenibacillus sp.*, которые положительно влияли на продуктивность растений и проявляли защитный эффект (Barea et al., 2002). В некоторых случаях микробные антагонисты грибных патогенов могут даже улучшать развитие микосимбионта и способствовать образованию эндомикоризного симбиоза (Linderman, 1994; Barea et al., 1998; Edwards, 1998; Budi, 1999).

### **Микоризосфера.**

В результате ряда исследований были обнаружены специфичные изменения в среде, окружающей микоризный мицелий. Линдерман назвал почвенное пространство, на которое воздействуют экстрарадикальные гифы АМГ, «микоризосферой» (Linderman, 1992). Основным фактором, обуславливающим «эффект микоризосферы» (Barea, 1997), является поступление высокоэнергетических органических соединений, которые выделяет мицелий эндомикоризных грибов. Однако обогащение этой специфической среды органическими соединениями, вероятно, намного меньше, чем ризосферы (Andrade et al., 1997). Поэтому численность бактерий в микоризосфере гораздо ниже, чем в ризосфере. Обнаружены различия и в качественном составе бактерий микоризосферы и окружающей почвы. Прокариоты, выделенные с поверхности гиф АМГ, являются, главным образом, грамотрицательными. В то же время, в ризосфере и неризосферной почве присутствуют как грамотрицательные, так и

грамположительные бактерии (Vosatka, 1996).

Наиболее тесные взаимоотношения в микоризосфере складываются между АМГ и бактериями, которые заселяют поверхность гиф гриба. Были описаны бактериальные биопленки, которые образовывались вокруг гиф эктомикоризных (Sen et al., 1992) и эндомикоризных грибов (Bianciotto et al., 1996; Filippi et al., 1998). С помощью электронного и лазерного конфокального микроскопирования было установлено, что многие PGPR и клубеньковые бактерии могут образовывать толстую оболочку на гифах АМГ (Bianciotto et al., 1996).

Поскольку PGPR являются колонизаторами корня, было выдвинуто предположение, что адгезию бактерий к корням и к гифам грибов обеспечивают сходные механизмы. Сравнительно давно установлено, что на первой стадии прикрепления бактерий к поверхности корня участвуют пили, фимбрии и жгутики. Их роль была продемонстрирована для множества фитопатогенных бактерий и PGPR в растительно-микробных взаимодействиях (Vandevroek, Vanderleyden, 1995). На второй стадии действуют внеклеточные углеводные полимеры, которые отвечают за закрепление бактерий на поверхности растения (Smit et al., 1992). Кроме того, внеклеточные полисахариды (ВПС) формируют матрикс, который объединяет бактериальные колонии в биопленках (Costerton et al., 1995).

Исследования, проведенные с мутантами *Azospirillum brasilense*, *R. leguminosarum* и *P. fluorescens* с различной способностью к продуцированию внеклеточных полисахаридов, показали, что ВПС играют решающую роль в процессе адгезии и формировании биопленок, как на корне, так и на структурах АМГ. Так, у штаммов *Azospirillum brasilense* и *R. leguminosarum* со сниженной продукцией ВПС происходило уменьшение количества клеток, адгезированных на обеих поверхностях (Bianciotto et al., 2001a). Аналогичные данные были получены в результате исследования штаммов *P. fluorescens*, продуцирующих разное количество кислых внеклеточных полисахаридов. Было показано, что дикий штамм *P. fluorescens* с относительно низким содержанием полисахаридов в метаболитах плохо адгезировался к гифам *Gigaspora margarita*. В то же время, мутанты *P. fluorescens* (штаммы CHA211 и CHA213H) с повышенной способностью к продукции ВПС, образовывали плотный бактериальный слой на грибных структурах (Bianciotto et al., 2001b). Полученные результаты свидетельствуют о том, что, по крайней мере, *in vitro*, ВПС участвуют в прикреплении бактерий к корням и поверхности АМГ. Можно с большой долей вероятности предполагать, что и в естественных условиях ВПС играют важную роль в создании микоризосферного сообщества.

Пока что имеется немного информации о влиянии микробиоты микоризосферы на эндомикоризные грибы. Изучение бактерий, выделенных с мицелия АМГ, показало, что они не обладали выраженным стимулирующим действием на развитие *Glomus claroideum*. При этом бактерии микоризосферы демонстрировали сходный характер действия на развитие *G. claroideum*, в отличие от прокариот, изолированных из ризосферной почвы. Наибольшее количество изолятов бактерий микоризосферы, которые стимулировали развитие *G. claroideum*, было получено из образцов почв агроценоза, но бактерии, стимулирующие рост гиф в наибольшей степени, были выделены из образцов почв естественного фитоценоза (Gryndler et al., 2000).

Функцию микоризосферы многие исследователи определяют как своеобразный «мост» для связанных со структурами АМГ бактерий и грибов в процессе колонизации ризосферы (Bianciotto et al., 1996; Filippi et al., 1998; Budi et al., 1999).

Исследование основ взаимоотношений на клеточном уровне между АМГ и PGPR микоризосферы имеет и практическое значение, например, для создания эффективного смешанного биопрепарата. Использование штаммов PGPR с хорошими адгезивными свойствами позволит увеличить плотность бактериальной компоненты инокулюма, уменьшить стресс, вызванный высушиванием и помочь транспорту бактерий к поверхности корня. Адгезивные свойства бактерий могут быть усилены путем селекции



видов с относительно высокой выработкой внеклеточных полисахаридов. Просматривается и другая сторона практического использования штаммов, продуцирующих большое количество ВПС. Исследования *in vitro* показали, что у PGPR с высокой противогрибной активностью в ВПС накапливались в высокой концентрации вещества, которые ингибировали рост грибов. (Schnider et al., 1997). Если антигрибная активность PGPR будет иметь прямую корреляцию с толщиной образуемой ими биопленки на мицелии, то количество продуцируемых ВПС можно использовать как критерий для отбора штаммов при создании биопрепаратов защитного действия.

### **Эндосимбионты эндомикоризных грибов.**

Наиболее тесное взаимодействие АМГ и почвообитающих прокариот имеет место при формировании эндосимбиоза. В 1970 г. были впервые описаны «подобные бактериям организмы», изолированные из структур АМГ, которые развивались в клетках растения-хозяина (Mosse, 1970; Scanerrini, Bonfante, 1991). На основании морфологических признаков и результатов молекулярных исследований бактериоподобные организмы, выделенные из клеток *G. margarita* ВЕГ 34, были идентифицированы как истинные бактерии, принадлежащие к роду *Burkholderia* (Bianciotto et al., 1996; Bianciotto et al., 2000). Позднее внутриклеточные бактериальные симбионты были отнесены к новому таксону, который получил название *Condidatus Glomeribacter gigasporum* (Bianciotto et al., 2003).

Поскольку бактерии р. *Burkholderia* были впервые обнаружены в спорах и гифах гриба *G. margarita* ВЕГ34, выделенного из почвы Новой Зеландии, сразу возник вопрос: будут ли те же самые бактерии присутствовать у других представителей *Glomales*, обитающих в разных географических зонах. Для решения этого вопроса, 11 культур эндомикоризных грибов, изолированных в разных географических областях и принадлежащих к 6 видам р. *Gigaspora* и р. *Scutellospora*, были исследованы с помощью конфокальной микроскопии и ПЦР амплификации. За исключением четырех изолятов

*G. rosea*, бактерии были отчетливо различимыми в цитоплазме всех тестируемых грибов. После амплификации ДНК этих бактерий и секвенирования стало ясно, что 3 вида грибов, относящихся к родам *Gigaspora* и *Scutellospora*, содержат в своей цитоплазме эндосимбиотические бактерии, которые принадлежат к р. *Burkholderia* (Bianciotto et al., 2000).

Пока что внутриклеточные симбионты изучены недостаточно, в частности, неизвестны механизмы их передачи, нет сведений об эволюции адаптации эндосимбионта к партнеру. Так, мало известно о молекулярных механизмах, которые позволяют эндобактериям проникнуть в АМГ, и о контроле колонизации цитоплазмы со стороны эндомикоризного гриба. Перотто и Бонфанте (Perotto, Bonfante, 1997) предположили, что один из видов ризосферных бактерий когда-то приобрел способность активного вторжения в грибную цитоплазму и со временем сформировал с грибом эндосимбиоз. Аргументом в пользу этой гипотезы можно считать обнаружение общих для патогенных и симбиотических бактерий механизмов колонизации растительных клеток (Galan, Collmer, 1999).

Другой предполагаемый механизм формирования эндосимбиоза связан с наличием гена *vacB* в геноме бактерий р. *Burkholderia* (van Buuren et al., 1999). Первоначально этот ген был описан у *Shigella flexnei* и *Escherichia coli* (EIEC) как хромосомный ген, необходимый для экспрессии генов вирулентности и являющийся сильным вирулентным фактором (Tobe et al., 1992). В настоящее время известно, что *VacB* - это экзорибонуклеаза RNase R, участвующая в посттранскрипционном созревании мРНК. При этом RNase R регулирует способность бактерий к прикреплению и проникновению внутрь клеток, а позднее способствует распространению бактерий и полному проявлению вирулентности (Cheng et al., 1998). Использование специфических праймеров, подобранных на основе последовательности гена *vacB* показало, что эндосимбиотические виды бактерий р. *Burkholderia* обладают молекулярными

механизмами, необходимыми для колонизации эукариотических клеток. Предполагается, что *vacB* ген был частью генетической области когда-то приобретенной ризосферными видами р. *Burkholderia* и обеспечившей возможность этим видам формировать симбиотические взаимоотношения с АМГ (Ruiz-Lozano, Bonfante, 2000).

Возникает вопрос о роли эндосимбиотических видов р. *Burkholderia* в метаболизме эндомикоризных грибов. Несмотря на огромное количество эндобактерий, обнаруженных в цитоплазме АМГ (около 250 000 клеток в одной споре *G. margarita*), их функциональное значение не ясно. Особый интерес вызывает возможность влияния этих бактерий на метаболизм фосфора и азота в ассоциации эндобактерии-эндомикоризный гриб. Известно, что АМГ, главным образом, обеспечивают растение-хозяина фосфатами (Harrison, 1999). Чтобы исследовать, могут ли бактерии р. *Burkholderia* как-либо влиять на метаболизм фосфора у АМГ, были разработаны дегенеративные по олигонуклеидам праймеры на основе консервативных участков генов, которые кодируют переносчики фосфатов у бактерий. Из геномной библиотеки АМГ был взят штамм *G. margarita*, который содержал эндобактерии в цитоплазме, и с помощью полученных праймеров был амплифицирован фрагмент его ДНК. Амплифицированный фрагмент использовали для выделения и характеристики полного бактериального оперона с высоким сродством к переносчику фосфатов (Ruiz-Lozano, Bonfante, 1999). Было установлено, что организация этого оперона у бактерий р. *Burkholderia* (размещение гена, направление транскрипции) аналогична таковому у *E. coli*, и схожа со многими другими оперонами бактерий. Это подтверждает предположение, что такой тип переносчика высоко консервативен. Затем были получены специфичные праймеры, которые использовали для ПЦР ДНК, выделенной из поверхностно простерилизованных спор. Праймеры успешно амплифицировали фрагменты предполагаемого размера в спорах *G. margarita* и *G. persica*, которые содержали эндобактерии, но не амплифицировали ДНК родственного вида *G. rosea*, который не имел внутриклеточных бактерий (Bianciotto et al., 2000). Таким образом, было установлено, что бактерии р. *Burkholderia* имеют систему транспорта фосфатов.

Так как известно, что некоторые свободноживущие бактерии р. *Burkholderia* способны фиксировать азот (Gillis et al., 1995), была проведена работа с целью установить, присутствуют ли *nif* гены в геноме эндосимбионтов. Предварительные исследования с использованием *nifDK* *Azospirillum brasilense* позволили идентифицировать несколько положительных клонов при скрининге геномной библиотеки *G. margarita*. Предполагаемый белок показал очень высокую степень сходства (> 90 %) с белком *nifD* различных азотфиксирующих микроорганизмов. Кроме того, РТ-ПЦР, выполненная с использованием специфических праймеров и мРНК, выделенной из прорастающих спор *G. margarita*, показала, что специфический транскрипт образуется именно на этой стадии развития гриба (Minerdi et al., 2001).

Открытие в геноме эндосимбиотической бактерии р. *Burkholderia* генов, вовлеченных в важные метаболические функции, ставит множество интересных вопросов. Например, наличие у бактерий системы транспорта фосфатов указывает, что эндобактерии могут влиять на поток фосфора, который имеет место между АМГ и организмом растения-хозяина. Если эндомикоризные грибы обладают белками с высоким сродством к фосфатам, которые активно работают в экстраклеточном мицелии (Harrison, van Vuuren, 1995), то эндобактерии могут иметь прямой доступ к источнику фосфора и использовать его для собственного метаболизма. В этом случае, под действием бактерий будет уменьшаться поток фосфора к корню. Таким же образом, наличие *nif*-генов в геноме бактерии открывает возможность для фиксации азота в ассоциации бактерии р. *Burkholderia*-АМГ и/или бактерии р. *Burkholderia*-АМГ-растение-хозяин (Bianciotto et al., 2002)

Исследование эндосимбиоза, помимо теоретического, может иметь и практическое значение. Об этом свидетельствуют результаты инокуляции растений таксономически родственными видами АМГ с эндобактериями (*G. margarita*) и без

эндобактерий (*G. rosea*). Растения салата, зараженные *G. margarita*, лучше развивались и имели более высокое содержание азота и фосфора в тканях, по сравнению с растениями, колонизированными *G. rosea*. (Bianciotto et al., 2002). Даже если экспериментальный подход не абсолютно корректен из-за использования двух различных, хотя и родственных видов АМГ, очевидно, что эндобактерии не оказывали отрицательного влияния на поток фосфора к корню. Напротив, в условиях эксперимента, эндосимбионты косвенно оказывали положительное влияние на рост и питание растений.

Анализ приведенной в данном обзоре литературы показывает, что эндомикоризные грибы являются активной компонентой микробных сообществ ризосферы. Формирование микоризы приводит к изменению количества и разнообразия микроорганизмов в ризосфере и микоризосфере. Взаимодействие эндомикоризных грибов с представителями почвенной микробиоты может улучшить рост и снабжение растений элементами питания. Через взаимоотношения с антагонистической компонентой микробиоты, АМГ участвуют в биоконтроле почвообитающих фитопатогенов. В свою очередь, микроорганизмы ризосферы влияют на формирование микоризы.

Хотя сделаны только первые шаги в изучении механизмов микробных взаимоотношений в ризосфере, уже сейчас понятно, что эндомикоризный симбиоз может служить инструментом для регуляции деятельности определенных групп микроорганизмов и, наоборот, воздействие на микроорганизмы, связанные с АМГ приведет к повышению эффективности симбиоза.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Alabouvette C., Lemanceau P. Joint action of microbials for disease control. Biopesticides: use and delivery. The Humana Press inc, Totowa, NJ, US, 1997. P. 117-135.
2. Andrade G, Mihara K.L, Linderman R.G, Bethlenfalvai G.J. Bacteria from rhizosphere and hyphosphere soils of different arbuscular mycorrhizal fungi// Plant Soil. 1997. Vol. 192. P. 71-79
3. Andrade G., Mihara K.L., Linderman R.G., Bethlenfalvai G.J. Soil aggregation status and rhizobacteria in the mycorrhizosphere// Plant Soil. 1998. Vol. 202. P. 89-96
4. Azcon-Aguilar C., Barea J. M. Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens. An overview of the mechanisms involved// Mycorrhiza. 1996. Vol. 6. P. 457-464.
5. Azcon-Aguilar C., Barea J.M. Saprotrophic growth of arbuscular-mycorrhizal fungi//Mycorrhiza structure function, molecular biology and biotechnology. Heidelberg, 1995. P. 391-407.
6. Azcon-Aguilar C, Bago B. Physiological characteristics of the host plant promoting an undisturbed functioning of the mycorrhizal symbiosis//Impact of arbuscular mycorrhizas on sustainable agriculture and natural ecosystems. ALS, Birkhauser Verlag, Basel, Switzerland. 1994. P. 47-60.
7. Azcon-Aguilar C., Barea J.M. Interaction between mycorrhizal fungi and other rhizosphere microorganisms//An integrative plant-fungal process. New York, 1992. P 163-198.
8. Azcon R, El-Atrash F. Influence of arbuscular mycorrhiza and phosphorus fertilization on growth, nodulation and N<sub>2</sub> fixation (<sup>15</sup>N) in *Medicago sativa* at four salinity levels// Biol Fert Soil. 1997. Vol. 24. P. 81-86.
9. Azcon R. Growth and nutrition of nodulated mycorrhizal and non-mycorrhizal *Hedysarum coronarium* as a result of treatments with fractions from plant growth-promoting rhizobacteria// Soil Biol Biochem. 1993. Vol. 25. P. 1037-1042.
10. Azcon R., Rubio R., Barea J.M. Selective interactions between species of mycorrhizal fungi and *Rhizobium meliloti* strains, and their effects on growth, N<sub>2</sub>-fixation (<sup>15</sup>N) and nutrition of *Medicago sativa* L.// New Phytol. 1991. Vol. 117. P. 499-404

11. Azcon R. Selective interaction between free-living rhizosphere bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi//Soil Biol Biochem. 1989. Vol. 21. P. 639-644.
12. Azcon R. Germination and hyphal growth of *Glomus mosseae* in vitro: effect of rhizosphere bacteria and cell-free cultura media//Soil Biol. Biochem. 1987. Vol. 19. P. 417-419.
13. Barea J.M., Gryndler M., Lemanceau P., Schupp H., Azcon R. Arbuscular mycorrhizal fungal mycelium: from germlings to hyphal networks//Mycorrhizal Technology in agriculture. Basel-Boston-Berlin. 2002. P. 1-18.
14. Barea J.M., Azcon-Agular C. Vesicular-arbuscular fungi in nitrogen-fixing systems//Methods in microbiology. London. 1992. P. 391-416
15. Barea J.M. Rhizosphere and mycorrhiza of field crops// Biological resource management: connecting science and policy (OECD). INRA. 2000. P. 110-125.
16. Barea J.M., Andrade G., Bianciotto V., Dowling D., N., Lohrke S., Bonfante P., O'Gara F., Azcon-Agular C. Impact of arbuscular mycorrhiza formation of *Pseudomonas* strains used as inoculants for the biocontrol of soil borne plant fungal pathogens//Appl Environ Microbiol. 1998. Vol. 64. P. 2304-2307.
17. Barea J.M., Azcon R., Azcon-Aguilar C. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in nitrogen-fixing systems//Methods in microbiology. Academic Press. London. 1992. P. 391-416.
18. Barea J.M., Mycorrhiza/bacteria interactions on plant growth promotion rhizobacteria, present status and future prospects. OECD. Paris, 1997. P. 150-158.
19. Barea J.M., Azcon-Aguilar C., Azcon R. Interaction between mycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms withing the context of sustainable soil-plant systems//Multitrophic interactions in terrestrial systems. 1997. P. 65-77.
20. Barea J.M., Tobar R.M., Azcon-Aguilar C. Effect of a genetically-modified *Rhizobium meliloti* inoculant on the development of arbuscular mycorrhizas, root morphology, nutrient uptake and biomass accumulation in *Medicago sativa*. L.//New Phytol. 1996. Vol. 134. P. 361-369.
21. Barea J M, Jeffries P. Arbuscular mycorrhizas in sustainable soil plant systems// Mycorrhiza structure function, molecular biology and biotechnology. Springer-Verlag, Heidelberg. 1995. P. 521-559.
22. Bashan Y., 1999 Interactions of *Azospirillum* spp. in soils: a review// Biol Fertil Soils. Vol. 29. P. 246-256.
23. Bashan Y., Holguin G. Proposal for the division of plant growth-promoting rhizobacteria into two classifications: biocontrol-PGPB (plant growth-promoting bacteria) and PGPB//Soil Biol. Biochem. 1998. Vol. 30. P. 1225-1228.
24. Belimov A. A, Serebrennikova N. V, Stepanok V.V.//Interaction of associative bacteria and endomycorrhizal fungus with barley upon dual inoculation//Microbiology 1999. Vol. 68. P. 104-108.
25. Bethlenfalvay J. Schuepp H. Arbuscular mycorrhizas and agrosystem stability//Impact of arbuscular mycorrhizas on sustainable agriculture and natural ecosystems. Birkhauser, Basel, 1994. P. 117-131.
26. Bethlenfalvay G.J, Linderman R.G.//Mycorrhizae in Sustainable Agriculture. ASA Special publication No. 54, Madison, Wisconsin. 1992.
27. Bianciotto V., Lumini E., Bonfante P., Vandamme P. «*Candidatus Glomeribacter Gigasporum*», an endosymbiont of arbuscular mycorrhizal fungi// Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 2003. Vol. 53. P. 121-126.
28. Bianciotto V., Perotto S., Ruiz-Lozano J.M., Bonfante P. Arbuscular mycorrhizal fungi and soil bacteria: from cellular investigation to biotchnological perspectives// Mycorrhizal Technology in agriculture. Basel-Boston-Berlin. 2002. P. 1-18.
29. Bianciotto V., Andreotti S., Balestrini R., Bonfante P., Perotto S. Extracellular polysaccharides are involved in the attachment of *Azospirillum brasilense* and *Rhizobium leguminosarum* to arbuscular mycorrhizal structures// Europea Journal of Histochemistry. 2001a.. Vol. 45. P. 21-30.
30. Bianciotto V., Andreotti S., Balestrini R., Bonfante P., Perotto S. Mucoïd mutants of biocontral strain *Pseudomonas fluorescens* CHAO show increased ability in biofilm formation on mycorrhizal and nonmycorrhizal carrot roots//Molecular Plant Microbe interactions. 20016. Vol.14. P. 255-260.
31. Bianciotto V., Bandi C., Norby R. J., Jakson R.B. Root dynamics and global change: seeking an ecosystem perspective// New Phytol. 2000. Vol.147. P. 3-12.

32. Bianciotto V., Bonfante P. Presymbiotic versus symbiotic phase in arbuscular endomycorrhizal fungi// Mycorrhiza. Berlin. 1999. P. 229-251.
33. Bianciotto V., Bandi C., Minerdi D., Sirini M., Tichy H.V., Bonfante P. An obligately endosymbiotic fungus itself harbors obligately intracellular bacteria//Appl. Environ. Microbiol. 1996. Vol. 62. P. 3005-3010.
34. Bowen G.D., Rovira A.D. The rhizosphere and its management to improve plant growth//Adv Agron. 1999. Vol. 66. P.1 -102
35. Bowen G. D., Theodorou C. Interactions between bacteria and ectomycorrhizal fungi// Soil Biol Biochem. 1979. Vol. 11. P. 119-126.
36. Broek A. V., Vanderleyden J. Genetics of the *Azospirillum*-plant root association//Crit Reviews Plant Sci. 1995. vol. 14. P. 445-466.
37. Budi S.W., Van Tuinen D., Martinotti G., Gianinazzi S. Isolation from *Sorghum bicolor* mycorrhiza - rhizosphere of a bacterium compatible with arbuscular mycorrhiza development and antagonistic towards soilborne fungal pathogens// Appl. Environ, Microbiol. 1999. Vol. 65. P. 5148-5150.
38. Calvet C., Pera J., Barea J.M. Growth response of marigold (*Tagetes erecta* L.) to inoculation with *Glomus mosseae*, *Trichoderma aureoviride* and *Pythium ultimum* in a peat-perlite mixture//Plant soil. 1993. Vol. 148. P. 1-6.
39. Chanway C. P. Endophytes: they're not just fungi!// Can J Bot. 1996. Vol. 74. P. 321-322.
40. Chanway C. P., Radley R. A., Holl F. B. Inoculation of conifer seed with plant growth promoting *Bacillus* strains causes increased seedling emergence and biomass// Soil Biol Biochem. 1991. Vol. 23. P. 575-580.
41. Chen J., Jacobson L.M., Handelsman J., Goodman R. M. Compatibility of systemic acquired resistance and microbial biocontrol for suppression of plant disease in laboratory assay// Mol Ecol. 1996. Vol. 5. P. 73-80.
42. Cheng Z. F., Zuo Y., Li Z., Rudd K. E., Deutscher M. The *vacB* gene required for virulence in *Shigella flexneri* and *Escherichia coli* encodes the exoribonuclease RNase R.//J Biol Chem. 1998. Vol. 273. P. 14077-14080.
43. Christensen H., Jacobsen I. Reduction of bacterial growth by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus in the rhizosphere of cucumber (*Cucumis sativus* L.)// Biol Fertil Soils. 1993. Vol. 15. P. 253-255.
44. Cook R.J., Thomashov I.S., Weller D.M., Fudjimoto D., Massola M., Bangera G., Kim D. Molecular mechanisms of defense by rhizobacteria against root disease// Proc Nalt Acad Sci USA. 1995. Vol. 92. P. 4197-4201.
45. Cordier C., Iemoine M. C., Lemanceau P., Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S. The beneficial rhizosphere: a necessary strategy for microplant production//Acta Horticulturae. 1999. Vol. 530. P. 259-265.
46. Costerton J.W., Lewandowski Z., Coldwell D.E., Korber D.R., Lappin-Scott H.M. Microbial biofilms//Annu Rev Microbiol. 1995. Vol. 49. P. 711-745.
47. Duijff B. J., air D., Olivain C, Alabouvette C. Lemanceau P. Implication of systemic induced resistance in the suppression of fusarium wilt tomato by *Pseudomonas fluorescens* WCS417r and nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47//Eur J Plant Pathol. 1998. Vol. 104. P. 903-910.
48. Duijff B. J., Gianinazzi-Pearson V., Lemanceau P. Involvement of the outer membrane lipopolysaccharides in the endophytic root colonization of tomato roots by biocontrol *Pseudomonas fluorescens* strain WCS417r//New Phytol. 1997. Vol. 135. P. 325-334.
49. Edwards S.G., Young J.P., Fitter A.H. Interactions between *Pseudomonas fluorescens* biocontrol agents and *Glomus mosseae*, an arbuscular mycorrhizal fungus, within the rhizosphere// FEMS Microbiology Letters. 1998. Vol. 166(2). P. 297-303.
50. Filippi C., Bagnoli G., Citernes A. S., Giovannetti M. Ultrastructural spatial distribution of bacteria associated with sporocarps of *Glomus mosseae*// Symbiosis. 1998. Vol. 24. P. 1-12.
51. Fitter A. H., Heinemeyer A., Staddon P.L. The impact of elevated CO<sub>2</sub> and global climate change on arbuscular mycorrhizas: a myco-centric approach// New Phytol. 2000. Vol. 147. P. 179-187.

52. Frey-Klett P., Garbaye J., Berge O., Heulm T. Metabolic and genotypic fingerprinting of fluorescent pseudomonads associated with the Douglas Fir-*Laccaria bicolor* mycorrhizosphere//Appl Environ Microbiol. 1997. Vol. 63. P. 1852-1860.
53. Galan J. E., Collmer A. Type III secretion machines: bacterial devices for protein delivery into host cells//Science. 1999. Vol. 284. P. 1322-1328.
54. Garbaye J., Bowen G. D. Effect of different microflora on the success of ectomycorrhizal inoculation of *Pinus radiata*//Can J Fores Res. 1997. Vol. 17. P. 941-943.
55. Garbaye J. Helper bacteria: a new dimension to the mycorrhizal symbiosis//New Phytol. 1994. Vol. 128. P. 197-210.
56. Germida J.J, Walley F.L. Plant growth-promoting rhizobacteria alter rooting and arbuscular mycorrhizal fungi colonization of field-growing spring wheat//Biol Fertil Soils. 1996. Vol. 23. P. 113-120.
57. Gianinazzi S. Schuepp H.// Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems. ALS, Birkhauser Verlag, Basel. 1994. P. 134-141.
58. Gillis M., Tran Van T., Bardin R., Goor M.P., Hebbar A., Willems P., Segers K., Kerster T., Heulin-Fernandez M.P. Polyphasic taxonomy in the genus *Burkholderia* leading to an amended description of the genus and proposition of *Burkholderia vietnamiensis* sp. nov. for N<sub>2</sub>-fixing isolates from rice in Vietnam//Int J Syst Bacteriol. 1995. Vol. 45. P. 247-289.
59. Giovannetti M., Sbrana C., Avio L. Arbuscular mycorrhizal fungal mycelium: from germings to hyphal networks//Mycorrhizal Technology in agriculture. Basel-Boston-Berlin. 2002. P.49-58.
60. Giovannetti M., Fortuna P., Citemesi A.S., Morini S., Nuti M.P. The occurrence of anastomosis formation and nuclear exchange in intact arbuscular mycorrhizal net works// New Phytol. 2001. Vol. 151. P. 717- 724.
61. Giovannetti M., Azzolini D., Citemesi A.S. Anastomosis formation and nuclear and protoplasmic exchange in arbuscular mycorrhizal fungi// Appl. Environ. Micribiol. 1999. Vol. 65. P. 5571-5575.
62. Glick B. R. The enhancement of plant growth by free-living bacteria// Can J Microbiol. 1995. Vol. 41. P. 109-117.
63. Goicoechea N., Szalai G., Antolin M. C., Sanches-Diaz M., Paldi E. Influence of arbuscular mycorrhizae and *Rhizobium* on polyamines and proline in water-stressed alfalfa// Plant Physiol. 1998. Vol. 153. P. 706-711.
64. Goicoechea N., Antolin M. C., Sanches-Diaz M. Influence of arbuscular mycorrhizae and *Rhizobium* on nutrient content and water relations in drought stressed alfalfa//Plant Soil. 1997. Vol. 192. P. 261-268.
65. Goicoechea N., Doleza K., Antolin M. C., Strnad M., Sanches-Diaz M. Influence of mycorrhizae and *Rhizobium* on cytokinin content in drought-stressed alfalfa//J Experiment Bot. 1995. Vol. 46. P. 1543-1549.
66. Gryndler M., Hrselova H., Striteska D. Effect of soil bacteria on growth of hyphae of the arbuscular mycorrhizal (AM) fungus *Glomus claroideum*//Folia Microbiologia. 2000. Vol. 45. P. 452-461.
67. Gryndler M., Hrselova H. Effect of diazotrophic bacteria isolated from a mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi on colonization of maize roots by *Glomus fistulosum*//Biol Plant. 1998. Vol. 41. P. 617-621
68. Haas D., Keel C., Laville J., Maurhofer M., Oberliansli T., Schnider U., Voisard C., Wuthrich B., Defago G. Secondary metabolites of *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO involved in the suppression of root diseases//Advances in molecular genetics of plant-microbe interactions. Kluwer Academic publisher, Dordrecht. 1991. P.450-456.
69. Halverson L. J., Handelsman J. Enhancement of soybean nodulation by *Bacillus cereus* UW95 in the field and in a growth chambers// Appl Environ Microbiol. 1991. Vol. 57. P. 2767-2770.
70. Harrison M. J. Molecular and cellular aspects of the arbuscular mucorrhizal symbiosis//Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol. 1999. Vol. 50. P. 361-389.
71. Harrison V. J., Van Buuren M.L. A Phosphate transporter from the mycorrhizal fungus *Glomus versiforme*// Nature. 1995. Vol. 378. P. 626-629.
72. Hodge A. Microbial ecology of arbuscular mycorrhiza//FEMS Microbiology Ecology. 2000. Vol. 32. P. 91-96.

73. Jakobsen I., Rosendahl L. Carbon flow into soil and external hyphae from roots of mycorrhizal cucumber plants//New Phytol. 1990. Vol. 115. P. 77-83.
74. Jeffries P. Mycoparasitism//The mycota IV environmental and microbial relationships. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg. 1997. P. 149-164.
75. Jeffries P., Barea J.M., Dodd J.C. Restoration of environmental diversity by effective ecosymbiont monitoring ('REDEEM')//Mediterranean desertification research results and policy implication. European Communities. Luxemburg. 2000. P. 487-495.
76. Kennedy A.C. The rhizosphere and spermosphere// Principles and applications of soil microbiology. New Jersey. 1998. P. 389-407.
77. Kennedy A.C., Smith K.L. Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils//Plant Soil. 1995. Vol. 170. P. 75-86.
78. Kim K.Y., Jordan D., McDonald G. A. Effect of phosphate-solubilizing bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizae on tomato growth and soil microbial activity// Biol Fertil Soils. 1998. Vol. 26. P. 79-87.
79. Kloepper J. W. Plant growth-promoting rhizobacteria (other systems)//Azospirillum plant associations. CRC Press, Boca Raton. 1994. P. 77-111.
80. Kloepper J.W., Zablotowick R.M., Tipping E.M., Lifshits R. Plant growth promoting mediated by bacterial rhizosphere colonizers//The rhizosphere and plant growth. Dordrecht. 1991. P. 315-326.
81. Lemanceau P., Corberand T., Cardan L., Latour X., Laguerre G., Boeufgras J. M., Atabouvette C. Effect of two plant species flax (*Linum usitatissimum* L.) and tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) on the diversity of soilborne populations of fluorescent pseudomonads//Appl. Environ. Microbiol. 1995. Vol. 61. P. 1004-1012.
82. Lemanceau P., Alabouvette C. Suppression of fusarium-wilts by fluorescent pseudomonads: mechanisms and applications// Biocontrol Science and Technology. 1993. Vol. 3. P. 219-234.
83. Lemanceau P., Alabouvette C. Biological control of fusarium diseases by fluorescent *Pseudomonas* and non-pathogenic *Fusarium*//Crop Protect. 1991. Vol. 10. P. 279-286.
84. Linderman R.G. Role of VAM fungi in biocontrol//Mycorrhiza and plant health. St. Paul. 1994. P. 1-26.
85. Linderman R. G. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and soil, microbial interactions//Mycorrhizae in sustainable agriculture, ASA Spec, Publ., Madison, Wisconsin. 1992. P. 45-70
86. Linderman R.G., Pauliz N.C. Mycorrhiza-rhizobacterial interactions. Biological control of soil-borne plant pathogens. Wallingford, UK. 1990. P. 261-283.
87. Lugtenberg B. J., Weger de L.A., Bennett J.W. Microbial stimulation of plant growth and protection from disease//Current Opinion Microbiol. 1991. Vol. 2. P. 457-464.
88. Mayo K., Devis R.E., Motta J. Stimulation of germination of spores of *Glomus versiforme* by spore-associated bacteria//Mycologia. 1986. Vol. 78. P. 426-431.
89. Meyer J.R., Lindermann R.G. Selective influence on population of rhizosphere or rhizoplane bacteria and actinomycetes by mycorrhiza formed by *Glomus fasciculatum*//Soil Biol and Biochem. 1986. Vol. 18. P. 91-96.
90. Miller R.M., Jastrow J.D. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and biogeochemical cycling//Mycorrhizae and plant health. St. Paul, MN. 1994. P. 189-212.
91. Minerdi D., Fani R., Gallo R., Boarino A., Bonfante P. Nitrogen fixation genes in an endosymbiotic *Burkholderia* strain//Appl Environ Microbiol. 2001. Vol. 82. P. 4998-5011.
92. Monzon A., Azcon R. Relevance of mycorrhizal fungal origin and host plant genotype to inducing growth and nutrient uptake in *Medicago* species//Agric Ecosyst Environ. 1996. Vol. 60. P. 9-15.
93. Mosse B. Honey coloured sessile *Endogone* spores. Changes in fine structure during spore development//Arch Microbiol. 1970. Vol. 74. P. 146-159.
94. Neal D. B., Allen S.J., Brown J.F. Deleterious photosphere bacteria: an integrating perspective//Appl Soil Ecol. 1996. Vol. 5. P. 1-20.
95. Nemeč S. Longevity of microbial biocontrol agents in planting mix amended with *Glomus intraradices*//Biocontrol Sci Technol. 1997. Vol. 7. P. 183-192.
96. Norby R.J., Jackson R.B. Root dynamics and global change: seeking an

- ecosystem perspective//New Phytol. 2000. Vol. 147. P. 3-12.
97. Perotto S., Bonfante P. Bacterial associations with mycorrhizal fungi: close and distant friends in the rhizosphere//Trends Microbiol. 1997. Vol. 5. P. 496-501.
  98. Puppi G., Azcon R., Hoftich G. Management of positive interactions of arbuscular mycorrhizal fungi with essential groups or soil micro organisms//Impact of arbuscular mycorrhizas on sustainable agriculture and natural ecosystems- ALS, Birkhauser Verlag, Basel Switzerland. 1994. P. 201-215.
  99. Ravnskov S., Nybroe O., Jakobsen I. Influence of an arbuscular mycorrhizal fungus on *Pseudomonas fluorescens* DF57 in rhizosphere and hyphosphere soil// New Phytol. 1999. Vol. 142. P. 113-122.
  100. Requena N., Fuller P., Franken P. Molecular characterization of GmFOX2, an evolutionary highly conserved gene from mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*, down-regulated during interaction with rhizobacteria//Molecular Plant-Microbe interactions. 1999. Vol. 12. P. 934-942.
  101. Requena N., Jimenez I. Toro M., Barea J. M. Interactions between plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR), arbuscular mycorrhizal fungi and *Rhizobium* spp. in the rhizosphere of *Anthyllis cytisoides*, a model legume for revegetation in mediterranean semi-arid ecosystems//New Phytol. 1991. Vol. 136. P. 667-677.
  102. Ruiz-Lozano J M., Collados C., Barea J. M., Azcon R. Arbuscular mycorrhizal symbiosis can alleviate drought-induced nodule senescence in soybean plants// New Phytol. 2001. Vol. 15. P. 493-502.
  103. Ruiz-Lozano J., M., Bonfante M. A *Burkholderia* strain living inside the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita* possesses the vacB gene, which is involved in host cell colonization by bacteria// Microbial Ecol. 2000. Vol. 39. P. 137-144.
  104. Ruiz-Lozano J. M., Bonfante P. Identification of a putative P-transporter operon in the genome of *Burkholderia* strain living inside the arbuscular fungus *Gigaspora margarita*//J Bacteriol. 1999. Vol. 181. P. 4106-4109.
  105. Ruiz-Lozano J.M., Azcon R. Specificity and functional compatibility of VA mycorrhizal endophytes in association with *Bradyrhizobium* strains in *Cicer arietinum*//Symbiosis. 1993. Vol. 15. P. 217-226.
  106. Scanerrini S., Bonfante P. Bacteria and bacteria like objects in endomycorrhizal fungi (*Glomaceae*)//Symbiosis in a source of evolutionary innovation: speciation and morphogenesis. Cambridge, USA. 1991. P. 273-287.
  107. Schnider U., Keel C., Michaus P., Defago., Haas D. Regulation of micoidity in the biological control agent *Pseudomonas fluorescens* CHAO and construction of an exopolysaccharide-overproducing variant//Plant growth-promoting rhizobacteria: present status and future prospects. OECD, Paris. 1997. P. 349-352
  108. Sen R, Nurmiaho-Lssila E.L., Haathela K.,Korhonen T. Attachment of *Pseudomonas fluorescens* strains to the cell walls of ectomycorrhizal fungi//Mycorrhizas in integrated systems. From genes to plant development. COST action 821, U.E. 1992. P. 661-664.
  109. Schloter M., Wiehe W., Assmus B., Steindl H., Becke H., Hoftich G., Hartmann A. Root colonization of different plants by plant-growth-promoting *Rhizobium leguminosarum* bv. trifolii R39 studied with monospecific polyclonal antisera//Appl Environ Microbiol. 1997. Vol. 63. P. 2038-2046.
  110. Smit G., Swart S., Lugtenberg B.J., Kijne J. W. Molecular mechanisms of attachment of *Rhizobium* bacteria to plant roots//Mol Microbiol. 1992. Vol. 6. P. 2897-903.
  111. Smith S. E., Gianinazzi-Pearson V., Koide R., Cairney J.W. Nutrient transport in mycorrhizas: structure, physiology and consequences of the symbiosis// Management of mycorrhizas in agriculture, horticulture and forestry. Dordrecht, 1994. P. 103-113.
  112. Smith S.E, Read D.J., Mycorrhizal symbiosis// London, Academic Press, San Diego. 1997.
  113. Staley T.W., Lawrence E. G. Nance E.L. Influence of a plant growth-promoting pseudomonad and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus on alfalfa and birdsfoot trefoil growth and nodulation// Biol Fertl Soils. 1992. Vol. 14 P. 175-180.
  114. Sturz A. V., Nowak J. Endophytic communities of rhizobacteria and the strategies required to create yield enhancing associations with crops//Appl Soil Ecol. 2000. Vol. 15. P. 183-190.
  115. Tobar R. M., Azcon-Agular C. Effect of genetically-modified *Rhizobium meliloti*



inoculant on the development of arbuscular mycorrhizas, root morphology, nutrient uptake and biomass accumulation in *Medicago sativa* L.// *New Phytol.* 1996 Vol. 134. P. 361-369.

116. Tobe T., Sasakawa C., Okada N., Honma Y., Yoshikawa M. *vacB*, a novel chromosomal gene required for expression of virulence genes on the large plasmid of *Shigella flexneri*//*J Bacteriol.* 1992. Vol. 174. P. 6359-6367.

117. Toro M., Azcon R., Barecs J. M. The use of isotopic dilution techniques to evaluate the interactive effects of *Rhizobium* genotype, mycorrhizal fungi, phosphate-solubilizing rhizobacteria and rock phosphate on nitrogen and phosphorus acquisition by *Medicago sativa*//*New Phytol.* 1998. Vol. 138. P. 265-273.

118. Toal M.E., Yeomans C.K., Killham K., Meharg A.A. A review of rhizosphere carbon flow modelling//*Plant Soil.* 2000. Vol. 222. P. 263-281.

119. Toro M., Azcon R., Barea J. M. Improvement of arbuscular mycorrhizal development by inoculation with phosphate-solubilizing rhizobacteria to improve rock phosphate bioavailability (<sup>32</sup>P) and nutrient cycling//*Appl Environ Microbiol.* 1997. Vol. 63. P. 4408-4412.

120. van Buuren M., Lanfrano L., Minerdi D., Harrison M.J., Bonfante P. Construction and characterization of genomic libraries of two endomycorrhizal fungi: *Glomus versiforme* and *Gigaspora margarita*//*Mycol Research.* 1999. Vol. 103. P. 955-960.

121. Van Loon L C., Bakker P. A., Pieterse C. M. J. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria// *Annu Rev Phytopathol.* 1998. Vol. 36. P. 453-483.

122. Vandebroek A., Vanderleyden J. The role of bacteria motility, chemotaxis and attachment in bacteria-plant interactions// *Mycol Plant Microb Interact.* 1995. Vol. 8. P. 800-810.

123. Volpin H., Kapulnik Y. Interactions of *Azospirillum* with beneficial soil microorganisms//*Azospirillum/plant associations.* CRC Press, Boca Raton. 1994. P. 11-118.

124. Vosatka M., Gryndler V. Response of micropropagated potatoes transplanted to peat media to post-vitro inoculation with arbuscular mycorrhizal fungi and soil bacteria//*Appl Soil Ecol.* 2000. Vol. 15. P. 145-152.

125. Vosatka M., Gryndler M. Treatment with culture fraction from *Pseudomonas putida* modifies the development of *Glomus fistulosum* mycorrhiza and the response of potato and maize plants to inoculation//*Appl Soil Ecol.* 1999. Vol. 11. P. 245-251.

126. Vosatka M. Soil bacteria – a component of plant, soil and arbuscular mycorrhizal fungal interactions//*Mycorrhizas in integrated systems. From genes to plant development.* Brussels, Luxembourg. 1996. P. 613-618.

127. Weller D. M., Tomashow L.S. Current challenges in introducing beneficial microorganisms into the rhizosphere//*Molecular ecology of rhizosphere microorganisms biotechnology and the release of GMOs.* Germany. 1994. P. 1-18.

128. Werner D. Organic signals between plants and microorganisms//*The rhizosphere: biochemistry and organic substances at the soil-plant interfaces.* New York. 1998. P. 136-151.

129. Whitelaw M.A. Growth promotion of plants inoculated with phosphate-solubilizing fungi//*Adv Agron.* 2000. Vol. 69. P. 99-151.

The reviewed information on current developments concerning the microbial interactions between endomycorrhizal fungi and other members of rhizosphere microbiota demonstrated that: (1) mycorrhiza establishment changes size and diversity of microbial population in the rhizosphere and mycorrhizosphere; (2) many interactions benefit nutrient cycling and plant growth; (3) certain interactions co-operate for the biological control of soilborne plant pathogens; (4) soil microorganisms affect mycorrhiza formation. In summary, microbial interactions in the rhizosphere of mycorrhizal plants improve plant fitness and soil quality, critical issues for sustainable agricultural and ecosystem functioning.

Лабутова Наталья Марковна.

Доцент каф. агрохимии биолого-почвенного факультета Санкт-Петербургского государственного университета.

119178, Санкт-Петербург, Васильевский остров, 16-я линия, д.29, каф. агрохимии СПбГУ.

Тел. 89516545721

[Labutovanm@gmail.com](mailto:Labutovanm@gmail.com)