

УДК 631.46+576.54:[582.281.21+579.84.11]. 017.7

## РАЗВИТИЕ И ВЗАИМООТНОШЕНИЯ *Fusarium culmorum* И *Pseudomonas fluorescens* В ПОЧВЕ

© 2007 г. О. К. Струнникова<sup>1</sup>, В. Ю. Шахназарова, Н. А. Вишневская,  
В. К. Чеботарь, И. А. Тихонович

ГНУ ВНИИ сельскохозяйственной микробиологии Россельхозакадемии, Санкт-Петербург

Поступила в редакцию 05.07.2006 г.

Развитие *Fusarium culmorum* и *Pseudomonas fluorescens* в почве и взаимоотношения между ними были изучены с использованием мембранных фильтров, на которых грибок, бактерию или оба микроорганизма, нанесенных на один фильтр, инкубировали в почве. *F. culmorum* идентифицировали непрямой методом иммунофлуоресценции, для визуализации *P. fluorescens* использовали GUS-меченный штамм. Было установлено, что *F. culmorum*, внесенный в почву, способен развиваться в ней как сапротроф, формируя мицелий, макроконидии и незначительное количество хламидоспор. Внесение глюкозы и целлюлозы привело к увеличению плотности мицелия и макроконидий *F. culmorum*. *P. fluorescens* подавлял развитие мицелия *F. culmorum* в почве, но стимулировал формирование грибом хламидоспор. Снижение плотности мицелия в присутствии *P. fluorescens* было больше в почве без добавок и меньше при внесении глюкозы или целлюлозы. *F. culmorum* не влиял существенно на рост *P. fluorescens* в почве.

**Ключевые слова:** взаимодействие популяций микроорганизмов в почве, *Fusarium culmorum*, *Pseudomonas fluorescens*.

*F. culmorum* встречается в гумидных и полугумидных, а также полуаридных зонах выращивания зерновых культур всего мира. Грибок вызывает заболевания зерновых культур, что приводит не только к снижению урожая и низкому качеству зерна, но и его загрязнению микотоксинами.

Бактерии рода *Pseudomonas* – хорошо известные агенты биоконтроля многих фитопатогенных грибов, в том числе и рода *Fusarium*. Однако эффект, достигаемый флуоресцирующими псевдомонадами, не постоянен [1] и зависит от различных факторов. Известно, что тип почвы влияет на выживание интродуцированных в почву псевдомонад [2], тогда как от соотношения плотностей антагонистической бактерии и фитопатогенного гриба зависит уровень подавления болезни растений [3, 4]. В то же время показано, что на способность бактерии подавлять патоген и улучшать рост растений больше влияют условия среды, нежели соотношение между *P. fluorescens* и *F. culmorum* [5].

Антагонистические бактерии, внесенные в почву, способны снижать численность фитопатогенных грибов в ней, однако и фитопатогенные грибы также оказывают влияние на бактерию-антагониста. Так, *F. graminearum* подавлял развитие *Pseudomonas sp.* в условиях смоделированной ризосферы кукурузы [6]. Установлена способность фу-

зариевой кислоты, продуцируемой штаммами *F. oxysporum*, ингибировать синтез антибиотика у нескольких штаммов *P. fluorescens* [7]. Таким образом, для получения максимального защитного эффекта при использовании антагонистических бактерий важно знать и учитывать поведение каждого микроорганизма и взаимоотношения между ними в естественных условиях (почве, ризосфере и ризоплане).

Целью данной работы было проследить развитие фитопатогенного гриба *F. culmorum*, антагонистической бактерии *P. fluorescens*, а также взаимоотношения между ними в почве.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Ранее для изучения развития *F. culmorum* нами были использованы мембранные фильтры, на которых макроконидии гриба вносили в почву или ризосферу. Для идентификации грибных структур на фильтрах, извлеченных из почвы, использовали непрямой метод флуоресцирующих антител. Установлено, что развитие гриба в почве и на мембранном фильтре, внесенном в эту почву, протекает сходным образом [8]. Тот же методический подход был использован и в этой работе.

Учитывая, что одним из механизмов подавления грибов рода *Fusarium* в почве является конкуренция за питание со стороны почвенных микроорганизмов [9, 10], развитие *F. culmorum* и *P. fluorescens*, а

<sup>1</sup> Адресат для корреспонденции (e-mail: strunnikova@arriam.spb.ru).

также взаимоотношения между ними проследили в почве с внесенными источниками углерода разной степени доступности для гриба и бактерии (глюкозы и целлюлозы). *Fusarium culmorum* 30 был выделен из больного растения ячменя в Ленинградской области. В тепличных экспериментах при заражении штамм вызывал корневую и стеблевую гнили ячменя. *F. culmorum* был выращен в течение 7 дней при 25°C на агаризованной среде Чапека, макроконидии отмыли и отделили от среды фильтрованием через нейлоновую ткань.

*Pseudomonas fluorescens* штамм 2137 был любезно предоставлен Л.В. Кравченко и Н.М. Макаровой (ГНУ ВНИИСХМ). При проверке антагонистической активности на питательной среде штамм ингибировал рост некоторых фитопатогенных грибов, включая *F. culmorum* 30. Репортерный GUS-ген был введен в геном *P. fluorescens* Tn 5 транспозоновым мутагенезом. GUS-меченый штамм сохранял антифунгальную активность родительского штамма. Штамм 2137 gus выращивали в течение суток на агаризованной картофельной среде (рН 7.0).

Развитие *F. culmorum* и *P. fluorescens* и взаимоотношения между ними были изучены с помощью метода мембранных фильтров в нестерильной дерново-подзолистой суглинистой почве. Для оценки влияния органического вещества на микроорганизмы в почву вносили глюкозу в количестве 0.1% и кристаллическую целлюлозу – 1% от веса сухой почвы. Почву тщательно перемешивали и помещали в соуды емкостью 1.5 л по 1800 г в каждый. Почву увлажняли за две недели до начала опыта. Влажность почвы в течение всего эксперимента поддерживали на уровне 60% от полной влагоемкости. Дыхательную активность почвы определяли по выделению CO<sub>2</sub> на газовом хроматографе ЦВЕТ-100.

Для оценки развития *F. culmorum* 20 мкл суспензии макроконидий гриба ( $6 \times 10^4$ /мл) наносили на поверхность нитроцеллюлозного мембранного фильтра ("Супрог", диаметр пор 0.23 мкм) на участок, ограниченный окружностью (Д 0.45 см). Для оценки развития *P. fluorescens* на поверхность другого фильтра на такой же участок наносили 20 мкл клеток бактерии ( $2 \times 10^7$ /мл). Для изучения взаимоотношений между *F. culmorum* и *P. fluorescens* указанные выше количества гриба и бактерии наносили на поверхность одного мембранного фильтра, каждый микроорганизм на два участка, расстояние между участками нанесения гриба и бактерии – 0.7 см. Сразу же после нанесения микроорганизмов фильтры высушивали феном при комнатной температуре и вставляли в стерильные мешочки из нейлоновой ткани (диаметр пор – 200 мкм). Фильтры помещали в почву на глубину 5–6 см и извлекали через 12 ч (только фильтры с *P. fluorescens*) 1, 3, 5, 8, 13, 22 и 55 сут от начала опыта. В каждый срок в каждом варианте вынимали по 4 фильтра. После извлечения из почвы фильтры высушивали при комнатной

температуре. *F. culmorum* на фильтрах идентифицировали, используя непрямой метод флуоресцирующих антител. Способы выделения водорастворимых белков *F. culmorum*, получения поликлональных антител, выделения иммуноглобулинов, проверки их специфичности, окрашивания гриба на мембранных фильтрах описаны ранее [8].

Окрашенные фильтры, на которых находился *F. culmorum*, просматривали под люминесцентным микроскопом Axiolab ("Carl Zeiss", Германия) при увеличении  $\times 200$  и  $\times 400$ . На каждом фильтре просматривали не менее 30 полей зрения, взятых выборочно в разных частях фильтра. При микроскопировании учитывали наличие на фильтре бактерий, в том числе литических. Отдельно количественно учитывали конидии и хламидоспоры *F. culmorum*, плотность мицелия оценивали по 5-балльной шкале, что соответствует следующему количеству мицелия на фильтрах: 1 балл – менее 1 м/см<sup>2</sup>; 2 – от 1 до 2.3 м/см<sup>2</sup>; 3 – 2.3–3.6 м/см<sup>2</sup>; 4 – 3.6–5.5; 5 баллов – более 5.5 м мицелия на см<sup>2</sup> фильтра.

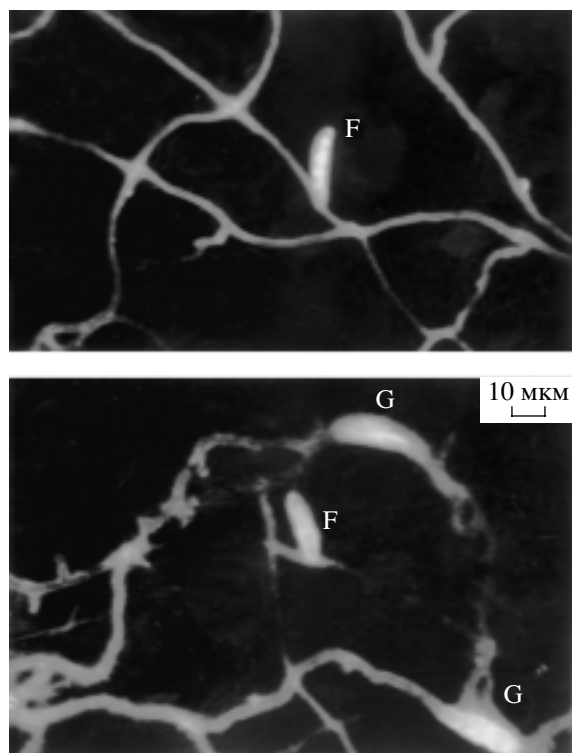
Фильтры с *P. fluorescens* обрабатывали раствором следующего состава: 5 мл 0.1 М фосфатного буфера (рН 7.0), 50 мкл 10% раствора SDS и 25 мкл 2% X-Gluc, раствор готовили непосредственно перед употреблением. Фильтры с бактериями клали на фильтровальную бумагу, насыщенную раствором, и инкубировали 24 ч при 30°C. После окрашивания места колонизации визуализировались в виде голубых пятен разной интенсивности окраски, в зависимости от количества бактерий. Плотность *P. fluorescens* оценивали по 8-балльной шкале, просматривая под световым микроскопом ( $\times 70$ ) весь фильтр. Плотность оценивали в 1 балл, когда голубое пятно занимало до 25% от поля зрения микроскопа; 2 балла, если пятно занимало 25–50%; 3 – 50–75 % и 4 балла – более 75%. Если пятна были яркосиними, что свидетельствовало о большем количестве бактерии в данном месте, а занимаемая ими площадь соответствовала вышеуказанной, то количество баллов удваивалось, т.е. 2, 4, 6 и 8 соответственно.

Для оценки взаимоотношений между грибом и бактерией половину фильтра (два пятна нанесения) окрашивали иммунофлуоресцентно для оценки развития гриба, вторую половину обрабатывали буфером с X-Gluc, оценивая развитие бактерии.

Статистическая обработка полученных данных была выполнена с использованием программы Stat Soft Statistica v6.0, 1995.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

**Развитие *F. culmorum* в контрольной почве и в почве с глюкозой и целлюлозой.** Макроконидии *F. culmorum*, внесенные на мембранных фильтрах в почву, прорастали, формировался разветвленный мицелий, новые макроконидии и хламидоспоры.

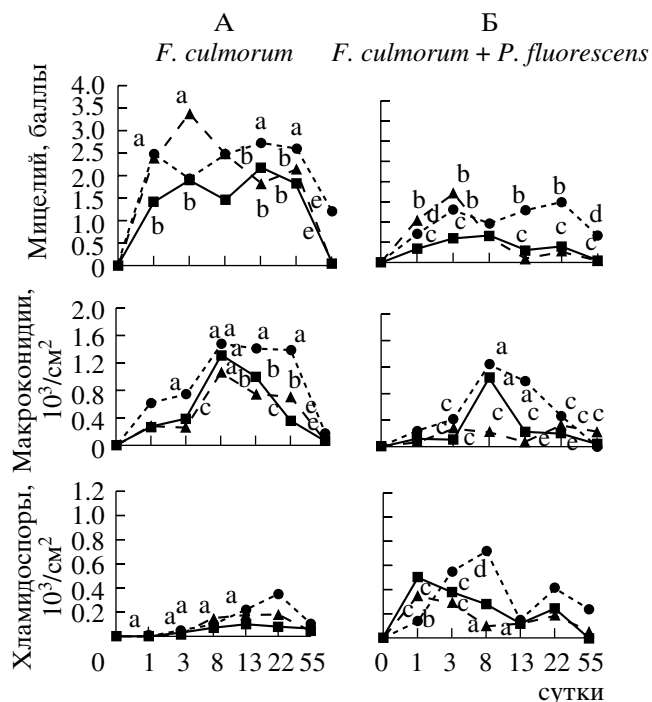


**Рис. 1.** Развитие *F. culmorum* на мембранном фильтре в почве: проросшая макроконидия (G), разветвленный мицелий, вновь сформированная макроконидия (F). Для идентификации *F. culmorum* использован метод иммунофлуоресценции.

Внесенные в почву на фильтрах макроконидии к первым суткам наблюдения проросли практически полностью во всех вариантах, в некоторых проросших макроконидиях сформировались хламидоспоры. Внесенные макроконидии обычно прорастали двумя ростовыми трубками, формируя гифы разной длины и разветвленности в зависимости от условий (рис. 1). Таким образом на мембранном фильтре формировалась сеть мицелия, сохраняющаяся в течение по крайней мере 22 дней.

На мицелии уже на первые сутки во всех вариантах можно было видеть формирование новых макроконидий (рис. 1). Макроконидии, сформированные в почве, обычно прорастали одной ростовой трубкой, проросшие макроконидии можно было наблюдать в течение всего эксперимента и даже на 55 сут в почве с целлюлозой. Хламидоспоры формировались как конидиального, так и мицелиального типов.

В почве без добавок плотность мицелия *F. culmorum* сохранялась примерно на одном уровне в течение 22 сут (рис. 2, А). Количество формируемых на мицелии макроконидий с 3-х сут увеличивалось интенсивно, но уже к 13 сут начало снижаться, хотя плотность мицелия в это время еще стабильна. Хла-



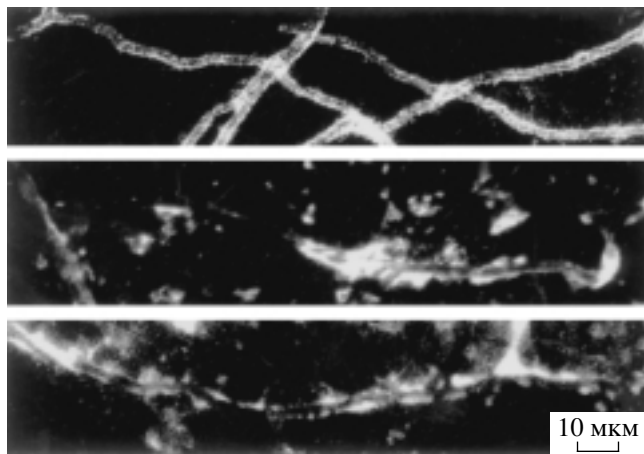
**Рис. 2.** Динамика развития мицелия, формирования макроконидий и хламидоспор *F. culmorum* (А) на фильтре в почве без внесения добавок (■), с внесением глюкозы (▲) и с внесением целлюлозы (●). То же в присутствии *P. fluorescens* (Б). Рост мицелия *F. culmorum* оценивали по шкале (1–5) в баллах. Точки, обозначенные разными буквами, различаются существенно ( $p < 0.05$ ).

мидоспор формировалось мало, и их количество оставалось постоянным до конца эксперимента.

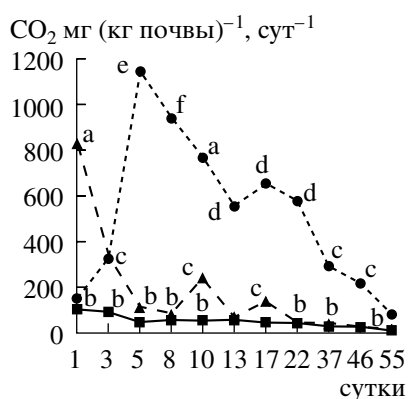
Внесение в почву глюкозы и целлюлозы привело к увеличению плотности *F. culmorum* на фильтрах, по сравнению с таковой в почве без добавок (*F. culmorum* в равной степени использует оба этих углевода в качестве источника углерода при росте на питательной среде). Глюкоза вызвала очень интенсивное, но кратковременное увеличение плотности мицелия, однако количество макроконидий по сравнению с контролем увеличилось лишь в один срок. В почве с целлюлозой повышенный уровень мицелия и макроконидий сохранялся длительное время, отмечена также тенденция и в увеличении числа хламидоспор *F. culmorum*.

К концу эксперимента, на 55 сут, количество грибных структур на фильтрах было незначительным во всех вариантах, и только в почве с целлюлозой все еще сохранялась достаточно высокая плотность мицелия *F. culmorum*.

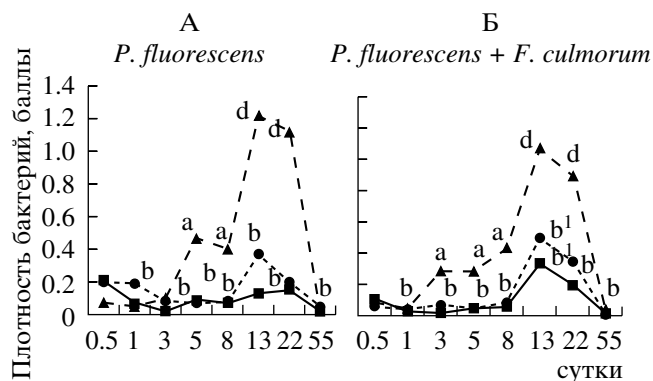
Мембранные фильтры с *F. culmorum* в течение инкубации в почве колонизировались другими грибами и бактериями. После окрашивания фильтров мицелий грибов-колонизаторов приобретал черную или коричневую окраску и был легко отличим



**Рис. 3.** Лизис мицелия *F. culmorum* почвенными бактериями. Для идентификации *F. culmorum* использован метод иммунофлуоресценции.



**Рис. 4.** Динамика образования  $\text{CO}_2$  в почве без внесения добавок (■), с внесением глюкозы (▲) и с внесением целлюлозы (●).



**Рис. 5.** Динамика роста *P. fluorescens* (А) на мембранных фильтрах в почве без внесения добавок (■), с внесением глюкозы (▲) и с внесением целлюлозы (●). То же в присутствии *F. culmorum* (Б). Рост *P. fluorescens* оценивали по шкале (1–8) в баллах. Точки, обозначенные разными буквами, различаются существенно ( $p < 0.05$ ).

от флуоресцирующих структур *F. culmorum*. Какого-либо влияния почвенных грибов, колонизирующих фильтр, на рост *F. culmorum* мы не наблюдали, однако постоянно отмечали влияние почвенных бактерий на его развитие. Уже на первые сутки, независимо от условий, можно было наблюдать колонии бактерий в виде светлых пятен на темно-красном фоне мембранного фильтра. Часто отмечали скопления бактерий вокруг лизирующихся структур *F. culmorum* (рис. 3), при этом бактериальные микроколонии после иммунофлуоресцентного окрашивания светились подобно структурам *F. culmorum*. Это, очевидно, объясняется присутствием остатков грибных клеток между бактериальными. Постепенно количество бактерий, колонизирующих фильтр, увеличивалось. Плотность бактерий и интенсивность лизиса структур гриба были примерно одинаковы во всех вариантах.

Добавление в почву глюкозы и целлюлозы привело и к увеличению выделения  $\text{CO}_2$  из почвы (рис. 4). Значительное, но кратковременное увеличение интенсивности дыхания отмечено в почве с глюкозой, в почве с целлюлозой уровень дыхания сохранялся высоким до конца эксперимента.

**Развитие *P. fluorescens* в контрольной почве, в почве с добавлением глюкозы и целлюлозы и в присутствии *F. culmorum*.** Уже после 12 ч инкубации в почве *P. fluorescens* почти не обнаруживался в месте нанесения, а заселял прилегающие участки фильтра. В почве без добавок количество бактерии было незначительным и изменялось мало в течение 22 сут (рис. 5, А). Внесение целлюлозы не оказало влияния на плотность *P. fluorescens*. В почве с глюкозой количество бактерии начало увеличиваться только на 5-е сут; высокая плотность сохранялась до 22 сут.

При совместном нанесении на фильтр *P. fluorescens* и *F. culmorum* была отмечена примерно та же динамика изменения плотности бактерии (рис. 5, Б), как и при развитии *P. fluorescens* без гриба. В почве с глюкозой в присутствии *F. culmorum* увеличение плотности бактерии наблюдалось уже на 3-и сут, а не на 5, как в случае, когда бактерия развивалась без гриба. В почве без добавок и в почве с целлюлозой в присутствии *F. culmorum* количество бактерии на 13-е сут увеличилось более значительно, чем в условиях роста бактерии на фильтрах без гриба. Существенного влияния фитопатогенного гриба на рост *P. fluorescens* в почве не отмечено.

В почве с глюкозой в развитии *P. fluorescens* отметили длительную лаг-фазу: плотность бактерии начинала возрастать только с 3-х даже 5-х сут. На 55-е сутки плотность *P. fluorescens* во всех вариантах была незначительной, судя по очень редкой встречаемости “голубых пятен” на фильтрах.

Явного таксиса бактерии к грибу отмечено не было – “голубые пятна”, свидетельствующие о наличии *P. fluorescens*, на фильтре располагались

хаотично, хотя изредка наблюдались участки распределения бактерий вдоль гифы гриба.

**Влияние *P. fluorescens* на развитие *F. culmorum*.** Влияния *P. fluorescens* на прорастание *F. culmorum* отмечено не было – к первым суткам внесенные макроконидии проросли практически полностью во всех вариантах. Однако *P. fluorescens* ингибировал дальнейший рост мицелия, причем особенно сильно в почве без добавок (рис. 2, Б). При микроскопировании фильтров с грибом, инкубировавшихся в почве без добавок, даже на 3-и сутки все еще можно было видеть лишь короткие ростовые трубки проросших макроконидий. Динамика роста мицелия *F. culmorum* в присутствии *P. fluorescens* и без бактерии была сходной во всех вариантах.

Внесение глюкозы и целлюлозы привело к снижению, но не к полному устранению ингибирующего эффекта *P. fluorescens* на рост мицелия *F. culmorum*. Плотность мицелия в почве с углеводами в присутствии бактерии первые трое суток наблюдения была такой же, как и в случае, когда *F. culmorum* развивался в почве без добавок и без бактерии в те же сроки (рис. 2, А). В присутствии бактерии в почве с глюкозой плотность мицелия снизилась очень быстро, тогда как в почве с целлюлозой она оставалась довольно высокой до конца эксперимента. Сохранение плотности мицелия в варианте с целлюлозой, очевидно, обусловлено ее наличием в почве, так как целлюлоза была внесена в большем, чем глюкоза, количестве. Длительному сохранению целлюлозы может способствовать и ее недоступность для некоторых почвенных микроорганизмов.

*P. fluorescens* не оказал сильного ингибирующего влияния на формирование макроконидий *F. culmorum* в почве без добавок и в почве с целлюлозой: количество конидий было в обоих случаях снижено только в один срок по сравнению с развитием гриба в соответствующих условиях, но без бактерии. Наиболее существенно *P. fluorescens* ингибировал формирование макроконидий *F. culmorum* в почве с глюкозой.

*P. fluorescens* во всех случаях стимулировал формирование хламидоспор, особенно активно в почве с целлюлозой и меньше – в почве с глюкозой. При микроскопировании можно было видеть, что многие из нанесенных на фильтр макроконидий превратились в хламидоспоры. Стимулирующее влияние *P. fluorescens* на формирование хламидоспор *F. culmorum* на 13-е сут закончилось во всех вариантах.

При микроскопировании фильтров с *F. culmorum* и *P. fluorescens* очень редко и только в почве с глюкозой и целлюлозой первые трое суток наблюдались характерные картины бактериального лизиса мицелия, как это было отмечено при просмотре фильтров с одним грибом (рис. 3), *P. fluorescens* ингибировал развитие мицелия, но не лизировал его.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Итак, с помощью мембранных фильтров, используемых для инкубации гриба в почве, и иммунофлуоресцентной идентификации было показано, что *F. culmorum*, внесенный в почву, способен развиваться в ней как сапротроф, формируя мицелий, макроконидии и незначительное количество хламидоспор. При наличии в почве растительных остатков (в нашем эксперименте это была целлюлоза), *F. culmorum* способен поддерживать высокий уровень мицелия и макроконидий длительное время.

Де Боеер и соавт. [11], сравнивая рост *F. culmorum* в стерильном песке и в донных почвах, показали способность последних подавлять рост мицелия. В связи с этим авторы ставят под сомнение возможность потенциального патогена *F. culmorum* расти в ризосферной почве и достигать корней. Наши данные свидетельствуют о том, что *F. culmorum* способен формировать в почве разветвленную сеть мицелия и сохранять высокую плотность длительное время, хотя все естественные почвы в той или иной мере супрессивны к грибу, и в стерильной почве *F. culmorum* развивается активнее, чем в естественной [8]. В данном эксперименте даже в почве без добавок органических веществ в течение 22 сут *F. culmorum* был представлен значительным количеством мицелия и макроконидий, и, несмотря на то, что уже начиная с первых суток, на мицелии появляются литические бактерии, и их количество возрастает со временем, процессы лизиса и нарастания биомассы уравновешены. Ранее нами было показано, что на помещенном в ризосферу ячменя мембранном фильтре *F. culmorum* способен поддерживать высокую плотность мицелия и макроконидий в течение 4 месяцев [12].

Глюкоза и целлюлоза привели к увеличению плотности мицелия и макроконидий, но не хламидоспор. Хламидоспоры не являются доминирующей структурой *F. culmorum* в почве, что было показано результатами и этого, и предыдущих исследований.

Ранее влияние углеводов было изучено, прежде всего, на прорастание хламидоспор разных видов рода *Fusarium*, было показано, что глюкоза стимулирует прорастание хламидоспор [13, 14], тогда как целлюлоза – снижает [15, 16]. В эксперименте через сутки наблюдалась стимуляция развития гриба как глюкозой, так и целлюлозой. Известно, что макроконидии *F. culmorum*, хотя и подвержены почвенному фунгистазису, но быстро его преодолевают [8]. Поэтому представляло интерес оценить не прорастание внесенных пропагул, а плотность мицелия, макроконидий и хламидоспор, сформированных непосредственно в почве и влияние углеводов на эти процессы.

*P. fluorescens* выживал на мембранных фильтрах в почве в течение 55 дней, однако плотность бактерии к этому времени существенно снижалась во всех вариантах. Способность интродуцированных

штаммов псевдомонад длительно выживать в почве, сохраняя свою активность, известна [17].

Глюкоза, внесенная в почву, привела к существенному увеличению плотности *P. fluorescens* на мембранных фильтрах, причем высокая плотность бактерии сохранялась и на 22-е сут, когда микробиологическая активность почвы и плотность *F. culmorum* уже были значительно снижены. Повышенное количество *P. fluorescens*, возможно, и привело к тому, что в почве с глюкозой произошло не только снижение плотности мицелия *F. culmorum*, но и более значительное, чем в почве с целлюлозой и в почве без добавок, снижение количества макроконидий и хламидоспор.

Явного влияния *P. fluorescens* на прорастание макроконидий *F. culmorum* обнаружено не было: к первым суткам практически все макроконидии проросли во всех вариантах. Элад и Бейкер [18] показали, что добавление в почву бактерий рода *Pseudomonas* существенно снижало прорастание хламидоспор *F. oxysporum*, *F. solani* и *F. graminearum*. Возможно, прорастание макроконидий *F. culmorum* не столь сильно зависит от окружающих условий.

Влияние *P. fluorescens* во всех случаях проявилось в ингибировании развития вегетирующих структур *F. culmorum* (мицелий, конидии) и в стимуляции формирования покоящихся (хламидоспоры). Ингибирующее влияние бактерии в почве с целлюлозой отмечено даже на 55-е сут, когда плотность *P. fluorescens* на фильтрах была незначительна: плотность мицелия *F. culmorum* была достоверно ниже, чем в варианте, когда гриб развивался в тех же условиях, но без бактерии. Стимуляция *P. fluorescens* формирования хламидоспор закончилась довольно быстро во всех случаях. Формирование хламидоспороподобных структур у *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* в присутствии штамма *P. chlororaphis* PCL 1391 отмечено и другими исследователями [19].

Известно несколько механизмов действия бактерий рода *Pseudomonas* на фитопатогенные грибы рода *Fusarium*. К прямым эффектам относят антагонизм, включающий конкуренцию за углерод и железо [20, 21], и продукцию антигрибных веществ [22, 19]. При совместном развитии *F. culmorum* и *P. fluorescens* на фильтрах в почве лизис грибных структур наблюдался очень редко. Видимо, в условиях эксперимента механизм антагонистического действия бактерии – это конкуренция за углерод, тем более, что внесение углеводов частично устранило ингибирующее действие *P. fluorescens*. Однако конкуренция за углерод – не единственный механизм подавления бактерией развития гриба в эксперименте, так как не отмечено полного устранения ингибирующего действия бактерии при внесении углеводов (даже целлюлозы, которую *P. fluorescens* не использовал). Внесение углеводов не устранило

также фактор (сигнал), стимулирующий продукцию хламидоспор.

Таким образом, показано, что *F. culmorum* способен конкурировать не только за целлюлозу, но и за глюкозу, внесенные в почву. Интродуцированный *P. fluorescens* и почвенные бактерии ограничивают рост гриба, однако, если в почве имеется доступный источник питания, фитопатоген способен поддерживать высокую плотность мицелия и макроконидий, т.е. структур, обеспечивающих его экспансию. В случае неблагоприятных условий (в нашем эксперименте – совместное внесение с *P. fluorescens*), гриб отвечает продукцией значительного количества хламидоспор, структур, обеспечивающих его выживание в таких условиях. Гибкая стратегия выживания фитопатогенного гриба, очевидно, и позволяет объяснить возможные неудачи при использовании биоконтрольных штаммов, особенно в полевых экспериментах, где многие факторы способны повлиять на каждый микроорганизм и их взаимоотношения.

Работа поддержана грантами РФФИ № 06-04-48788, Президента Российской Федерации НШ-9744.2006.4 и госконтрактом № 02.445.11.7492 с Роснаукой

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lemanceau P., Alabouvette C. Suppression of Fusarium-wilt by fluorescent pseudomonads: Mechanisms and applications // Biocontr. Sci. Technol. 1993. № 3. P. 219–234.
2. Latour X.P.L., Laurent P., Corberand T., Lemanceau P. The establishment of an introduced community of fluorescent pseudomonads in the soil and in the rhizosphere is affected by the soil type // FEMS Microbiol. Ecol. 1999. V. 30. P. 163–170.
3. Raaijmakers J.M., Leeman M., van Oorschot M.M.P., van der Sluis I., Schippers B., Bakker P.A.H.M. Dose-response relationships in biological control of Fusarium wilt of radish by *Pseudomonas* spp. // Phytopathol. 1995. V. 85. P. 1075–1081.
4. Landa B.B., Navas-Cortes J.A., Hervas A., Jimenez-Diaz R. M. Influence of temperature and inoculum density of *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* on suppression of fusarium wilt of chickpea by rhizosphere bacteria // Phytopathol. 2001. V. 91. P. 807–816.
5. Kurek E., Jaroszuk-Scisel J. Rye (*Secale cereale*) growth promotion by *Pseudomonas fluorescens* strains and their interactions with *Fusarium culmorum* under various soil conditions // Biol. control. 2003. V. 26. P. 48–56.
6. Benizri E., Courtade A., Guckert A. Fate of two microorganisms in maize simulated rhizosphere under hydroponic and sterile conditions // Soil Biol. Biochem. 1995. V. 27. P. 71–77.
7. Notz R., Maurhofer M., Dubach H., Haas D., Defago G. Fusaric acid-producing strains of *Fusarium oxysporum* alter 2,4-diacetylphloroglucinol biosynthetic gene expression in *Pseudomonas fluorescens* CHA0 *in vitro* and in the rhizosphere of wheat // Appl. Environ. Microbiol. 2002. V. 68. P. 2229–2235.

8. Струнникова О.К., Шахназарова В.Ю., Вишневецкая Н.А., Муромцев Г.С. Применение мембранных фильтров и иммунофлуоресцентного окрашивания для наблюдения за развитием почвообитающих микромицетов // Микология и фитопатология 1998. Т. 32. № 2. С. 65–72.
9. Scher F.M., Baker R. Effect of *Pseudomonas putida* and a synthetic iron chelator on induction of soil suppressiveness to fusarium wilt pathogens // Phytopathol. 1982. V. 70. P. 412–417.
10. Alabouvette C., Couteaudier J., Louvet J. Recherches sur la resistance des sols aux maladies. XI. Activite respiratoire dans un sol resistant et un sol sensible aux fusarioses vasculaires enrichis en glucose // Agronomie. 1985. № 5. P. 63–68.
11. De Boer W., Klein Gunnewiek P.J.A., Woldendorp J.W. Suppression of hyphal growth of soil-borne fungi by dune soils from vigorous and declining stands of *Ammophila arenaria* // New Phytol. 1998. V. 138. P. 107–116.
12. Шахназарова В.Ю., Струнникова О.К., Вишневецкая Н. А. Влияние влажности на развитие *Fusarium culmorum* в почве // Микология и фитопатология 1999. Т. 33. № 1. С. 53–59.
13. Sivan A., Chet I. The possible role of competition between *Trichoderma harzianum* and *Fusarium oxysporum* on rhizosphere colonization // Phytopathol. 1989. V. 79. P. 198–203.
14. Larkin R.P., Fravel D. R. Mechanisms of action and dose-response relationships governing biological control of fusarium wilt of tomato by nonpathogenic *Fusarium* spp. // Phytopathol. 1999. V. 89. P. 1152–1161.
15. Adams P.B., Papavizas G.S., Lewis J.A. Survival of root-infecting fungi in soil. III. The effect of cellulose amendment on chlamydospore germination of *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* in soil // Phytopathol. 1968. V. 58. P. 373–377.
16. Adams P.B., Lewis J.A., Papavizas G.S. Survival of root-infecting fungi in soil. IV. The nature of fingistasis in natural and cellulose-amended soil on chlamydospores of *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* // Phytopathol. 1968. V. 58. P. 378–383.
17. Glandorf D.C.M., Verheggen P., Jansen T., Jorritsma J.W., Smit E., Leeftang P., Wernars K., Thomashow L.S., Laureijs E., Thomas-Oates J.E., Bakker P.A.H.M., Loon L.C. van. Effect of genetically modified *Pseudomonas putida* WCS358r on the fungal rhizosphere microflora of field-grown wheat // Appl. Environ. Microbiol. 2001. V. 67. P. 3371–3378.
18. Elad Y., Baker R. The role of competition for iron and carbon in suppression of chlamydospore germination of *Fusarium* spp. by *Pseudomonas* spp. // Phytopathol. 1985. V. 75. P. 1053–1059.
19. Bolwerk A., Lagopodi A.L., Wijffes A.H.M., Lamers G.E.M., Chin-A-Woeng T.F.C., Lugtenberg B.J., Bloemberg G.V. Interaction in the tomato rhizosphere of two *Pseudomonas* biocontrol strains with the phytopathogenic fungus *Fusarium oxysporum* F. sp. *radicis-lycopersici* // Mol. Plant-Microb. Interact. 2003. V. 16. P. 983–993.
20. Lemanceau P., Bakker P.A.H.M., de Kogel W.J., Alabouvette C., Schippers B. Antagonistic effect of non-pathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47 and *Pseudobac-tin* 358 upon pathogenic *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* // Appl. Environ. Microbiol. 1993. V. 59. P. 74–82.
21. Duijff B.J., Bakker P.A.H.M., Schippers B. Suppression of *Fusarium* wilt of carnation by *Pseudomonas putida* WCS 358 at different levels of disease incidence and iron availability // Biocontr. Sci. Technol. 1994. V. 4. P. 279–288.
22. Chin-A-Woeng T.F.C., Bloemberg G.V. van Bij A.J., van der Drift K.M.G.M. Schripsema J., Kroon B. Biocontrol by phenazine-1-carboxamide-producing *Pseudomonas chlororaphis* PCL1391 of tomato root rot caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* // Mol. Plant-Microb. Interact. 1998. V. 11. P. 1069–1077.

## РАЗВИТИЕ