

УДК 577.27:579.64:632.4:632.93

МЕХАНИЗМЫ КОНТРОЛЯ *Pseudomonas fluorescens* КОРНЕВОЙ ГНИЛИ ЯЧМЕНЯ, ВЫЗЫВАЕМОЙ *Fusarium culmorum*

© 2023 г. В. Ю. Шахназарова^{1, 2}, Д. С. Сырова¹, М. И. Лебединский^{1, 2}, Н. А. Вишневская¹, А. И. Шапошников¹, Е. В. Бородина¹, О. К. Струнникова^{1, *}

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, Санкт-Петербург, 196608 Россия

² Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, 199034 Россия

*e-mail: olgastrunnikova@rambler.ru

Поступила в редакцию 08.03.2023 г.

После доработки 21.04.2023 г.

Принята к публикации 28.04.2023 г.

В работе установлена причина снижения интенсивности фузариозной корневой гнили ячменя, вызываемой *Fusarium culmorum* 30 в присутствии ризобактерии *Pseudomonas fluorescens* 2137, которое не сопровождалось снижением количества ДНК патогена в корнях. В стерильном вермикулите в течение 11 сут изучали ответные реакции ячменя на колонизацию его корней грибом и бактерией *P. fluorescens* 2137 по интенсивности экспрессии генов *LOX*, *PAL*, *PR4* и *PR1*. Продукцию *F. culmorum* 30 трихотеценовых токсинов оценивали по уровню экспрессии гена *TRI13*. Показано, что *P. fluorescens* 2137 индуцировал экспрессию всех изученных защитных генов уже в суточных корнях ячменя, но только в присутствии *F. culmorum* 30. При этом уровень экспрессии гена *TRI13* не снижался, однако снижение количества больных растений позволило предположить, что *P. fluorescens* 2137 способен к детоксикации трихотеценовых токсинов, продуцируемых грибом, или к индукции этой способности в ячмене.

Ключевые слова: взаимоотношения растение-фитопатоген-антагонист, экспрессия защитных генов, трихотеценовые микотоксины

DOI: 10.31857/S0555109923050161, **EDN:** NSKTKD

Fusarium culmorum (W.G. Smith) Saccardo – факультативный гемибиотрофный патоген, вызывающий корневые и стеблевые гнили, а также фузариоз колоса зерновых культур [1–3]. При инфицировании растений *F. culmorum* продуцирует опасные для здоровья человека и животных трихотеценовые микотоксины, которые накапливаются в зерне [1, 2, 4].

Известно, что естественными антагонистами обитающих в почве фитопатогенных грибов являются ризосферные бактерии, так называемые, **PGPR** (plant growth promotion rhizobacteria), обладающие биоконтрольными свойствами [5–7]. В проведенных ранее экспериментах штамм *Pseudomonas fluorescens* (W. Migula) 2137 существенно подавлял рост *F. culmorum* 30 в почве без растений [8], а также и в ризосфере ячменя [9, 10]. Однако оценка колонизационной способности *F. culmorum* 30 и *P. fluorescens* 2137 и их взаимоотношений на корнях ячменя показала, что бактерия не препятствовала колонизации корней грибом [11]. Более того, количество микроколоний гриба на корнях ячменя в присутствии бактерии даже увеличивалось в

отдельные дни анализа, тогда как количество **КОЕ** *P. fluorescens* 2137 в присутствии гриба снижалось [10–12]. Однако, несмотря на существенные колебания численности бактерии в присутствии гриба, колонизация корней этим бактериальным штаммом всегда приводила к существенному снижению корневой гнили ячменя [9–11, 13].

Было сделано предположение, что биоконтрольный механизм *P. fluorescens* 2137 может быть связан со способностью данного штамма ризобактерии стимулировать защитные реакции в ячмене. Для проверки этого предположения мы оценили в эксперименте экспрессию четырех защитных генов *PAL*, *LOX*, *PR1* и *PR4* (*Wheatwin* 1–2) в ответ на колонизацию ячменя *F. culmorum* 30, *P. fluorescens* 2137 и совместно грибом и бактерией. Было установлено, что экспрессия этих генов возрастала при колонизации *F. culmorum* корней и оснований стеблей проростков мягкой пшеницы [14].

Ген *PAL* кодирует фенилаланин-аммоний-лиазу, ключевой фермент фенилпропаноидного пути, ведущего к синтезу фитоалексинов, фитоантис-

пинов и образованию лигнина [15]. Этот фермент участвует также и в биосинтезе салициловой кислоты (СК), увеличение количества которой в растениях, пораженных патогеном, приводит к индукции генов (PR), связанных с патогенезом [16]. Ген *LOX* кодирует липоксигеназу, участвующую в синтезе предшественника жасмоновой кислоты (ЖК). Установлено, что устойчивость злаковых растений к болезням, вызываемых грибами рода *Fusarium*, обусловлена участием как СК, так и ЖК [17]. Считается, что СК в основном участвует в индукции устойчивости к биотрофным патогенам, тогда как ЖК – к некротрофным [18]. Известно, что сигнальные пути, опосредованные СК и ЖК, являются антагонистическими по отношению друг к другу [19].

При микроскопировании корней ячменя, колонизированных *F. culmorum* 30 и *P. fluorescens* 2137, было отмечено, что в присутствии бактерии зоны некроза в месте локализации колоний гриба наблюдались гораздо реже, чем в корнях без бактерии [11, 12]. Это позволило предположить, что биоконтрольный механизм *P. fluorescens* 2137 также может быть связан и со способностью данного штамма снижать продукцию *F. culmorum* 30 трихотеценовых токсинов. Известно, что основной трихотеценовый микотоксин дезоксиниваленол (ДОН) обеспечивает эффективную колонизацию *F. culmorum* зерновых культур [14, 20, 21]. Трихотецены участвуют в возникновении некроза инфицированных тканей при развитии фузариоза колоса зерновых и были идентифицированы как важные факторы агрессивности [22].

Цель работы – изучение ранних этапов взаимодействия *F. culmorum* 30 и *P. fluorescens* 2137 и ответных реакций ячменя на колонизацию его корней грибом и бактерией, а также механизма контроля фузариозной корневой гнили ячменя в присутствии ризобактерии *P. fluorescens* 2137.

МЕТОДИКА

Объекты исследования. *Fusarium culmorum* 30 был выделен из корней больного растения ячменя в Ленинградской области. Для приготовления инокулюма *F. culmorum* 30 выращивали на агаризованной среде Чапека в течение 14 сут. Макроконидии смывали стерильной водой, осаждали центрифугированием (4000 g, 10 мин, 4°C), ресуспендировали и доводили до нужной концентрации.

Штамм *Pseudomonas fluorescens* 2137 был получен из Вedomственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения (ВНИИСХМ, Россия). *P. fluorescens* 2137 выращивали в течение суток на мясо-пептонном агаре (МПА). Клетки суспендировали в стерильной дистиллированной воде, осаждали центри-

фугированием (8000 g, 10 мин) и вновь суспендировали.

Ячмень (*Hordeum vulgare* L.) сорта “Белогорский”, восприимчивый к фузариозной корневой гнили, был получен из коллекции Всероссийского института растениеводства им. Н.И. Вавилова (Россия).

Условия эксперимента. Семена ячменя стерилизовали за 2 сут до начала эксперимента. Для этого их выдерживали 30 с в 96% этаноле, трижды промывали стерильной водой и на 30 мин заливали 0.1%-ным раствором AgNO_3 . Затем семена однократно погружали в 1%-ный раствор NaCl , многократно промывали стерильной водой и для проращивания помещали на влажную фильтровальную бумагу в стерильные чашки Петри.

Эксперимент был проведен в стерильном вермикулите в течение 11 сут в трехкратной повторности. Вермикулит увлажняли питательным раствором, следующего состава (г/л воды): $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 1.18, KNO_3 – 0.5, KH_2PO_4 – 0.136, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0.48. В раствор в одном случае вносили суспензию макроконидий гриба (1.7×10^5 /мл), в другом – суспензию клеток *P. fluorescens* 2137 (3×10^7 /мл), в третьем – суспензию клеток гриба и бактерии в тех же концентрациях. Вермикулит контрольных сосудов не инокулировали. Общее количество воды, включая суспензии клеток гриба и бактерии – 250 мл на каждые 100 г сухого вермикулита. Вермикулит тщательно перемешивали и переносили в пластиковые сосуды емкостью 1 л, в которые затем высевали проросшие стерильные семена ячменя. В течение опыта влажность вермикулита поддерживали на уровне 60% полной влагоемкости.

Растения для анализов отбирали на 1, 2, 3, 4 и 11 сут. КОЕ *P. fluorescens* 2137 определяли посевом суспензии гомогенизированных корней ячменя на МПА. Количество растений с симптомами корневой гнили оценивали на 11 сут.

Выделение ДНК *F. culmorum* 30 из корней ячменя. Корни ячменя, предназначенные для выделения ДНК, высушивали при комнатной температуре. Выделение суммарной ДНК проводили по методике, оптимизированной ранее и описанной в работе [23]. Сухие корни ячменя растирали в ступке до состояния муки. ДНК экстрагировали с использованием буфера на основе цетилтриметиламмоний бромид (СТАВ). Измельченные корни ячменя встряхивали в буферном растворе с керамическими шариками в гомогенизаторе Precellys 24 (“Vertin Technologies”, Франция) в режиме 600 об./мин дважды по 20 с. Пробы инкубировали 10 мин при 42°C и затем 10 мин при 65°C для денатурации белка. Для окончательного освобождения от белков пробу дважды обрабатывали смесью хлороформа и изоамилового спирта (24 : 1), после чего осаждали изопропанолом, промывали

Таблица 1. Последовательность праймеров, используемых для определения количества ДНК *F. culmorum* и экспрессии генов в корнях ячменя, колонизированных *F. culmorum* 30 и *P. fluorescens* 2137 с помощью qRT-PCR

Гены или иные участки ДНК	Последовательность нуклеотидов (5'–3')	Источник
<i>LOX</i>	AACAAGTTCGCCGTCACCTT TTGTCCGAGGGTGATGGTCTT	[14]
<i>PR1</i>	CAATAACCTCGGCCGTCTTCATCAC TTATTTACTCGCTCGGTCCCTCTG	[14]
<i>PAL</i>	GGTTCATGGCAACGAACACCTTGT AGGAGCTTGGAACGGAGTACTTGA	[14]
<i>PR4 (Wheatwin 1-2)</i>	CGAGGATCGTGGACCAGTG GTCGACGAACTGGTAGTTGACG	[14]
<i>GAPDH</i>	CCTTCCGTGTTCCCACTGTTG ATGCCCTTGAGGTTTCCCTC	[14]
<i>TRI13</i>	CATCATGAGACTTGTKCRGTTTGGG GCTAGATCGATTGTTGCATTGAG	[24]
β - <i>tubulin</i>	GCATTGGTACACTGGTGAGG CAGCTCCTCCTCGTACTCC	[14]
Специфичный для <i>F. culmorum</i> участок ДНК, ограниченный праймерами <i>OPT18-F2</i> <i>OPT18-R</i>	GCTGGAACCTGGCACCCGAAC GATGCCAGACGCACTAAGAT	[25–27]

70%-ным этанолом, растворяли в воде и хранили при температуре -20°C . Выделение ДНК из корней проводили в трех повторностях.

Определение количества ДНК *F. culmorum* 30 в суммарной ДНК проводили методом ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ). Использовалась готовая смесь реагентов qPCRmix-HS SYBR (“Евроген”, Россия) и видоспецифичные праймеры *OPT18-F2* и *OPT18-R* (табл. 1). Каждый вариант был проанализирован в пятикратной повторности. ПЦР-РВ проводили на приборе BIO-RAD CFX96™ Real-Time System C1000™ Thermal Cycler (“BioRad, Laboratories”, США).

Продукцию *F. culmorum* 30 трихотеценовых токсинов оценивали по экспрессии гена *TRI13*, кодирующего один из ферментов пути синтеза ниваленола и дезоксиниваленола [24].

Выделение РНК, получение комплементарной ДНК (кДНК) и количественная оценка экспрессии генов. Корни ячменя, предназначенные для выделения РНК, замораживали в жидком азоте и хранили при -80°C . Выделение РНК проводили с помощью реактива PureZol по протоколу, предложенному производителем. На основе выделенной из корней РНК с помощью обратной транскриптазы M-MuLV (“СибЭнзим”, Россия) получали кДНК. В этой кДНК методом ПЦР-РВ определяли относительное количество копий генов *PR1*, *PR4*, *PAL*, *LOX*, *TRI13*. В качестве референсного гена для защитных генов ячменя использовали *GAPDH*, для гена *TRI13* – ген β -тубулина грибов. Последовательности используемых праймеров приведены в табл. 1. Для пригото-

вления ПЦР-смеси применяли готовую смесь реагентов qPCRmix-HS SYBR (“Евроген”, Россия). ПЦР-РВ проводили на приборе BIO-RAD CFX96™ Real-Time System C1000™ Thermal Cycler (“BioRad, Laboratories”, США). Режим работы амплификатора: 25 с при 94°C , 25 с при 62°C , 25 с при 72°C , 45 циклов.

Статистический анализ полученных результатов. Результаты представляли как среднее значение \pm стандартная ошибка. Стандартные ошибки средних представлены на диаграммах вертикальной линией. Парные t-тесты использовались для сравнения каждого из показателей для каждого момента времени. Разные буквы указывают на существенные различия ($p \leq 0.05$). Все статистические анализы были выполнены с использованием программы Statistica v. 10.0 (StatSoft Inc. 1984–2011).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Взаимоотношения *F. culmorum* 30 и *P. fluorescens* 2137 в корнях ячменя. Как гриб, так и бактерия, внесенные в вермикулит при постановке опыта, были обнаружены уже в суточных корнях ячменя (рис. 1, 2). Количество гриба и бактерии в корнях при их раздельном внесении достигало максимальных значений к третьим суткам, затем количество ДНК гриба сохранялось примерно на том же уровне, тогда как количество КОЕ бактерий снижалось.

F. culmorum 30 и *P. fluorescens* 2137, совместно колонизирующие корни ячменя, оказывали вли-

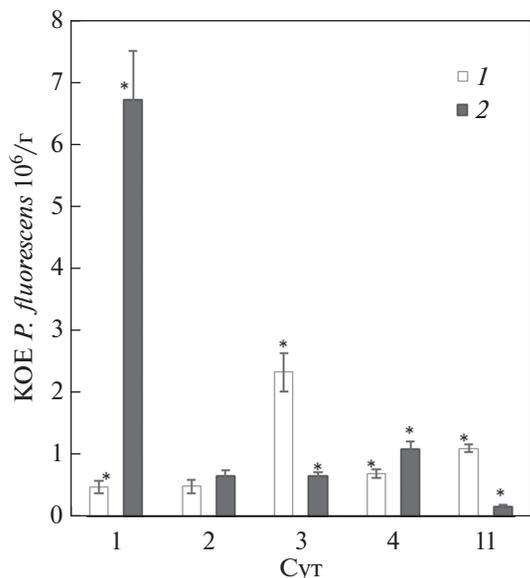


Рис. 1. Количество КОЕ *P. fluorescens* 2137 в корнях ячменя в динамике: 1 – в ячмене, колонизированном только *P. fluorescens* 2137, 2 – колонизированном *F. culmorum* 30 и *P. fluorescens* 2137. Достоверные различия обозначены звездочкой.

яние друг на друга (рис. 1, 2). В суточных корнях было отмечено увеличение количества ДНК гриба в присутствии бактерии и КОЕ бактерии в присутствии гриба. Увеличение количества *F. culmorum* 30 в корнях в присутствии *P. fluorescens* 2137 в начальные сроки колонизации наблюдалось и в ранее выполненных экспериментах [9–13]. Проведенная проверка показала, что корневые экссудаты ячменя, колонизированного *P. fluorescens* 2137, стимулировали рост *F. culmorum* 30 по сравнению с экссудатами контрольных растений [13]. Вероятно, и в этом эксперименте увеличение количества ДНК гриба в суточных корнях, колонизированных бактерией, наблюдалось из-за стимулирующего действия корневых экссудатов. Увеличение количества *P. fluorescens* 2137 в корнях в присутствии *F. culmorum* 30 в начальный период заселения микробами корней наблюдалось впервые. Возможно, этот эффект также мог быть связан с влиянием корневых экссудатов ячменя, колонизированного грибом.

Позднее, на 2 и 3 сут, было отмечено снижение количества ДНК гриба в присутствии бактерии, а на 3 и 11 сут, КОЕ бактерии в присутствии гриба (рис. 1, 2), что могло свидетельствовать о конкурентном характере взаимоотношений между грибом и бактерией. Конкурентные взаимоотношения между *F. culmorum* 30 и *P. fluorescens* 2137 на корнях ячменя были выявлены ранее неоднократно [9–12]. Было установлено также, что *F. culmorum* 30 и *P. fluorescens* 2137 имели сходные по-

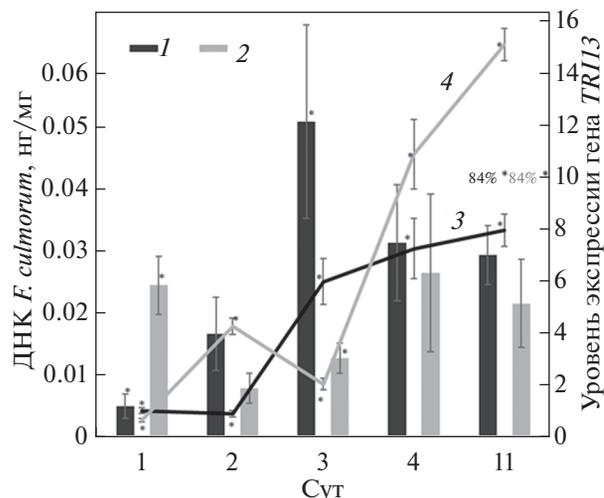


Рис. 2. Количество ДНК *F. culmorum* 30 (нг/мг) в корнях ячменя (1, 2) и относительный уровень экспрессии гена *TR113* (3, 4) в динамике: 1, 3 – в ячмене, колонизированном только *F. culmorum* 30; 2, 4 – в ячмене, колонизированном *F. culmorum* 30 и *P. fluorescens* 2137. Над 11 сут указан процент растений ячменя с симптомами корневой гнили. Достоверные различия обозначены звездочкой.

требности, что указывало на возможность конкуренции между ними за питание [28].

К концу эксперимента колонизация корней только *F. culmorum* 30 приводила к появлению симптомов корневой гнили у 85% растений ячменя. В присутствии *P. fluorescens* 2137 количество больных растений снижалось до 15% (рис. 2).

Ответные реакции ячменя на колонизацию его корней *F. culmorum* 30 и *P. fluorescens* 2137. Ответные реакции ячменя на колонизацию его корневой фитопатогенным грибом и антагонистической бактерией различались. В ячмене, колонизированном *P. fluorescens* 2137, на более высоком уровне по сравнению с контролем экспрессировался только ген *LOX* на 4 сут (рис. 3а). В остальные дни присутствие *P. fluorescens* 2137 в корнях не приводило к увеличению экспрессии анализируемых защитных генов, в некоторых случаях уровень их экспрессии был даже ниже контрольных значений. Способность некоторых бактерий рода *Pseudomonas*, относящихся к PGPR, подавлять локальные иммунные реакции в корнях была установлена на модельном растении *Arabidopsis thaliana* в работах [29, 30]. Позднее было установлено, что полезные псевдомонады могут подавлять защитные реакции растений за счет снижения рН окружающей среды, что облегчало им колонизацию корней [31]. Возможно, в настоящем эксперименте мы наблюдали подобный феномен.

В ответ на колонизацию *F. culmorum* 30 в ячмене индуцировались на более высоком уровне только гены *LOX* и *PAL* (рис. 3а, 3б). Экспрессия

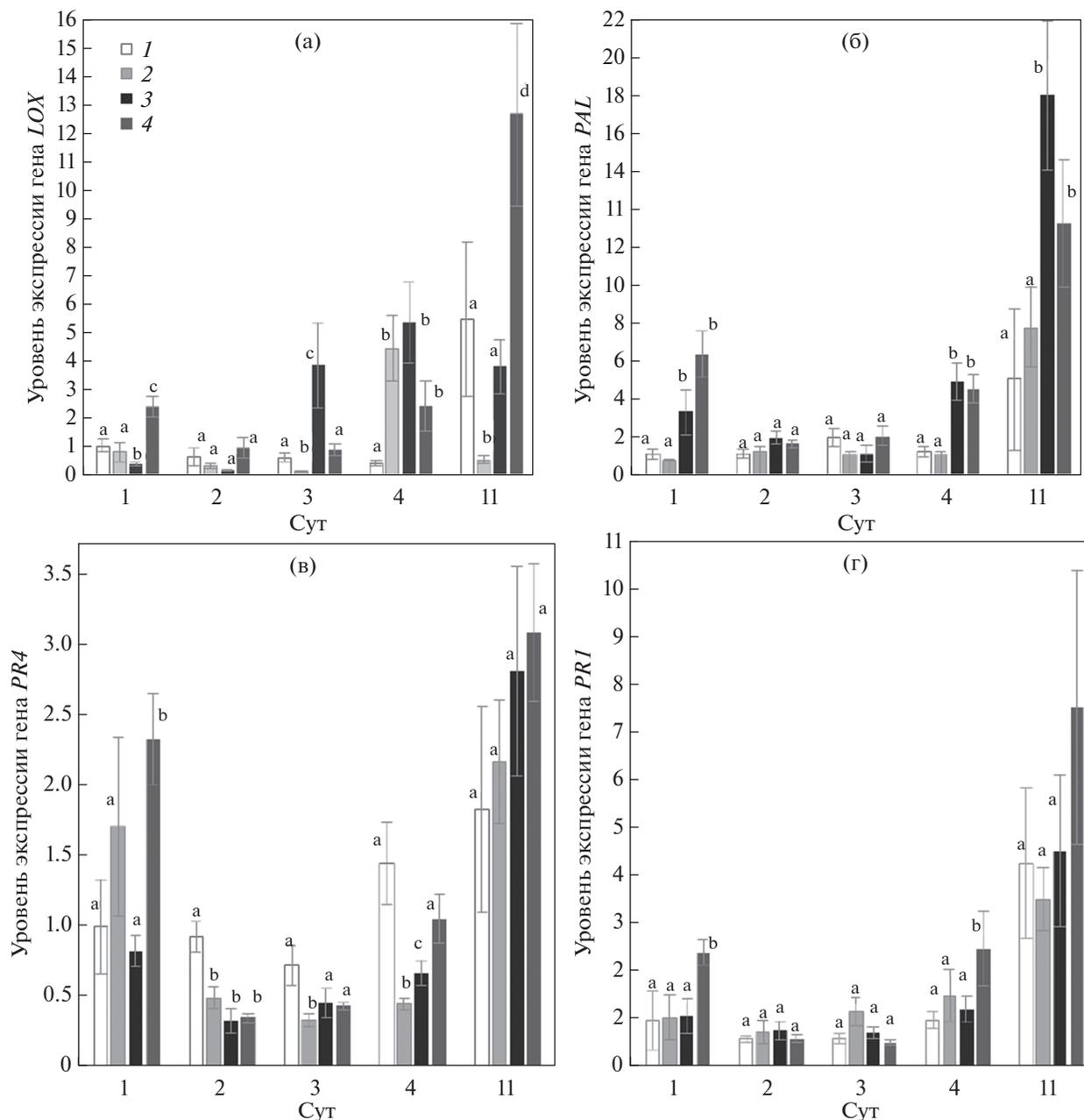


Рис. 3. Относительный уровень экспрессии генов *LOX* (а), *PAL* (б), *PR4* (в), *PRI* (г) в динамике: 1 – контрольный ячмень, 2 – колонизированный *P. fluorescens* 2137, 3 – колонизированный *F. culmorum* 30, 4 – *F. culmorum* 30 и *P. fluorescens* 2137 совместно. Достоверные, по сравнению с контролем, различия обозначены разными буквами.

гена *PAL* увеличивалась, по сравнению с контролем, на 1, 4 и 11 сут. Экспрессия гена *LOX* в корнях, колонизированных патогеном, на 1 сут была подавлена и на более высоком уровне индуцировалась только на 3 и 4 сут.

Наблюдаемое увеличение экспрессии гена *PAL*, как гена первичной защиты [32], на 1 сут не удивительно, так как в этот период гриб уже присутствовал в корнях и постепенно увеличивал свою биомассу (рис. 2). При этом на 1 сут уровень

экспрессии гена *TRI13* был низким (рис. 2). Видимо, в этот период *F. culmorum* 30 проявлял себя как биотрофный патоген. Здесь полученные результаты не совпадали с результатами других исследователей, которые показали, что при инфицировании *F. culmorum* колоса пшеницы уже через 6 ч после инокуляции происходило переключение между салицилатным и жасмонатным путями развития иммунитета, что соответствовало началу некротрофной стадии инфекции [33, 34]. В на-

стоящем эксперименте ген *LOX* индуцировался на более высоком уровне только на 3 сут. Тот факт, что к 4 сут на более высоком уровне индуцировались гены *LOX* и *PAL* свидетельствовало о том, что оба пути вовлечены в защитные реакции ячменя против *F. culmorum* 30.

Совместное присутствие *F. culmorum* 30 и *P. fluorescens* 2137 в корнях приводило к увеличению экспрессии всех исследуемых защитных генов уже на 1 сут, по сравнению с контрольными растениями (рис. 3а–3г). Одновременное увеличение экспрессии генов *PAL* и *LOX* подтверждало участие как салицилатного, так и жасмонатного путей в индукции устойчивости ячменя к фузариозной корневой гнили, вызываемой гембиотрофным патогеном *F. culmorum*. Полученные результаты совпадали с данными других исследователей, которые считают, что как салицилатный, так и жасмонатный пути необходимы для полной устойчивости растений против некротрофных и гембиотрофных патогенов [17, 18, 35]. Уровни экспрессии защитных генов в присутствии обоих микробов снижались на 2 и 3 сут. На 4 и 11 сут в корнях, колонизированных грибом и бактерией, экспрессия защитных генов *LOX*, *PAL*, а также *PR1* вновь возросла по сравнению с контролем (рис. 3а, 3б, 3г). Таким образом, усиление экспрессии защитных генов в корнях ячменя в присутствии *F. culmorum* 30 и *P. fluorescens* 2137 носило волнообразный характер.

Продукция трихотеценовых токсинов *F. culmorum* 30 и влияние *P. fluorescens* 2137 на этот процесс. В течение всего эксперимента гриб продуцировал трихотеценовые токсины, о чем свидетельствовала экспрессия гена *TRI13* (рис. 2). В корнях, колонизированных только грибом, увеличение количества его ДНК на 3 сут сопровождалось и постепенным увеличением интенсивности экспрессии гена *TRI13*. Присутствие бактерии оказывало значительное влияние не только на количество ДНК гриба в корнях, но и на уровень продуцируемых им трихотеценов. В присутствии бактерии зависимость между количеством ДНК гриба в корнях и уровнем продуцируемых им токсинов была скорее обратная, чем прямая (рис. 2). Подобная тенденция обратной зависимости отмечена между КОЕ бактерии в корнях в присутствии гриба (рис. 1) и уровнем экспрессии гена *TRI13* (рис. 2).

Рабочая гипотеза о способности *P. fluorescens* 2137 оказывать влияние на снижение продукции грибом трихотеценов не нашла подтверждения в этом эксперименте. Экспрессия гена *TRI13* в присутствии бактерии на 4 и 11 сут была выше, чем в контроле. Однако при этом количество больных растений снижалось. Этот факт позволил предположить, что *P. fluorescens* 2137 способен к детоксикации трихотеценовых токсинов, известных факторов агрессивности *F. culmorum*. Было

установлено, что обработка колосьев пшеницы и ячменя суспензией клеток двух штаммов *P. fluorescens* перед инфицированием *F. culmorum* приводила не только к снижению интенсивности фузариоза колоса, но и к снижению количества дезоксиниваленола в зерне [36]. Эти же исследователи позднее при оценке транскриптов, инициированных *P. fluorescens* МКВ158 в ответ на атаку ячменя *F. culmorum* во время развития фузариоза колоса, установили, что инициированные бактерией транскрипты связаны с различными функциями, включая детоксикацию и усиление защитных реакций хозяйского растения [37].

Отмеченный в эксперименте факт увеличения уровня продуцируемых *F. culmorum* 30 трихотеценовых токсинов в присутствии *P. fluorescens* 2137, может свидетельствовать: (1) об ответной реакции фитопатогенного гриба, направленной на подавление защитных реакций ячменя, которые были интенсивнее именно в присутствии бактерии; (2) не исключено также, что продуцируемые грибом трихотецены направлены на подавление самой бактерии либо на снижение ее антагонистического потенциала.

Очевидно, что для полного прояснения роли *P. fluorescens* 2137 в накоплении продуцируемых *F. culmorum* 30 трихотеценовых токсинов необходимы дальнейшие исследования с учетом количества этих вторичных метаболитов, продуцируемых грибом.

Таким образом, установлено, что биоконтрольный эффект *P. fluorescens* 2137 обусловлен способностью этого штамма активировать защитные реакции уже в суточных корнях ячменя, но только в присутствии *F. culmorum* 30.

В присутствии бактерии уровень экспрессии гена *TRI13* не снижался, однако уменьшение количества больных растений позволило предположить, что *P. fluorescens* 2137 способен к детоксикации трихотеценовых токсинов, продуцируемых грибом, или к индукции этой способности у растения.

Способность штамма *P. fluorescens* 2137 существенно снижать количество больных растений ячменя даже при увеличении агрессивности *F. culmorum* 30, о чем свидетельствовало увеличение количества продуцируемых грибом трихотеценовых токсинов, позволяет рассматривать данный штамм в качестве перспективного агента биоконтроля фузариозов зерновых культур.

Исследования проводились с использованием оборудования ЦКП “Геномные технологии, протеомика и клеточная биология” ФГБНУ ВНИИСХМ.

Работа по оценке экспрессии защитных генов ячменя в ответ на инфицирование *F. culmorum* 30 выполнена при финансовой поддержке Россий-

ского научного фонда в рамках проекта № 22-26-00341.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Wagacha J.M. and Muthomi J.W.* // Crop Prot. 2007. V. 26. P. 877–885.
2. *Covarelli L., Beccari G., Steed A., Nicholson P.* // Plant Pathol. 2012. V. 61. № 6. P. 121–1129. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2012.02600.x>
3. *Scherm B., Balmas V., Spanu F., Pani G., Delogu G., Pasquali M., Migheli Q.* // Mol. Plant Pathol. 2013. V. 14. № 3. P. 323–341. <https://doi.org/10.1111/mpp.12011>
4. *Kammoun L.G., Gargouri S., Barreau C., Richard-Forget F., Hajlaoui M.R.* // Int. J. Food Microbiol. 2010. V. 140. № 1. P. 84–89.
5. *Raaijmakers J.M., de Bruijn I., de Kock M.J.D.* // Mol. Plant Microb. Interact. 2006. V. 19. № 7. P. 699–710.
6. *Weller D.M., Landa B.B., Mavrodi O.V., Schroeder L.K., De la Fuente L., Blouin Bankhead S. et al.* // Plant Biol. 2007. V. 9. № 1. P. 4–20.
7. *Lahlali R., Ezrari S., Radouane N., Kenfaoui J., Estmael Q., El Hamss H., Belabess Z., Barka E.A.* // Microorganisms. 2022. 10. № 3. 596–628. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10030596>
8. *Струнникова О.К., Шахназарова В.Ю., Вишневецкая Н.А., Чеботарь В.К., Тихонович И.А.* // Микробиология. 2007. Т. 76. № 5. С. 675–681.
9. *Струнникова О.К., Шахназарова В.Ю., Вишневецкая Н.А., Чеботарь В.К., Тихонович И.А.* // Микология и фитопатология. 2008. Т. 42. № 1. С. 68–75.
10. *Strunnikova O.K., Vishnevskaya N.A., Ruchiy A.S., Shakhnazarova V.Y., Vorobyov N.I., Chebotar V.K.* // Plant Soil. 2015. V. 389. № 2. P. 131–144. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2351-y>
11. *Strunnikova O.K., Vishnevskaya N.A., Tikhonovich I.A.* // Microbiology. 2010. V. 79. № 8. P. 865–870.
12. *Струнникова О.К., Феоктистова А.С., Вишневецкая Н.А., Чеботарь В.К.* // Микология и фитопатология. 2011. Т. 45. № 4. С. 362–369.
13. *Vishnevskaya N., Shakhnazarova V., Shaposhnikov A., Strunnikova O.* // Plants. 2020. V. 9. № 3. P. 366–381. <https://doi.org/10.3390/plants9030366>
14. *G. Beccari, L. Covarelli, P. Nicholson.* // Plant Pathol. 2011. V. 60. № 6. P. 671–684. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2011.02425.x>
15. *Dixon R.A., Achnine L., Kota P., Liu C.-J., Reddy M.S.S., Wang L.* // Mol. Plant Pathol. 2002. V. 3. № 5. P. 371–390. <https://doi.org/10.1046/j.1364-3703.2002.00131.x>
16. *Bari R., Jones J.D.G.* // Plant Mol. Biol. 2009. V. 69. № 4. P. 473–488.
17. *Ding L., Xu H., Yi H., Yang L., Kong Z., Zhang L., Xue S., Jia H., Ma Z.* // PLoS ONE. 2011. V. 6. № 4. e19008. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019008>
18. *Glazebrook J.* // Annu. Rev. Phytopathol. 2005. V. 43. № 2. P. 205–227.
19. *Li N., Han X., Feng D., Yuan D., Huang L.-J.* // Int. J. Mol. Sci. 2019. V. 20. № 3. P. 671–685.
20. *Hestbjerg H., Felding G., Elmholt S.* // Phytopathology. 2002. V. 150. № 6. P. 308–312.
21. *Scherm B., Orrù M., Balmas V., Spanu F., Azara E., Delogu G. et al.* // Mol. Plant Pathol. 2011. V. 12. № 7. P. 759–771.
22. *Maier F.J., Miedaner T., Hadelers B., Felk A., Salomon S., Lemmens M. et al.* // Mol. Plant Pathol. 2006. V. 7. № 6. P. 449–461.
23. *Шахназарова В.Ю., Феоктистова А.С., Чижевская Е.П., Вишневецкая Н.А., Струнникова О.К.* // Микология и фитопатология. 2012. Т.46. № 3. С. 287–292.
24. *Villafana R.T., Ramdass A.C., Rampersad S.N.* // Toxins. 2019. V. 11. № 1. P. 36–60. <https://doi.org/10.3390/toxins11010036>
25. *Schilling A.G., Moller E.M., Geiger H.H.* // Phytopathology. 1996. V. 86. № 5. P. 515–522.
26. *Brandfass C., Karlovsky P.* // Int. J. Mol. Sci. 2008. V. 9. № 11. P. 2306–2321. <https://doi.org/10.3390/ijms9112306>
27. *Леплянен И.В., Шахназарова В.Ю., Вишневецкая Н.А., Долгих Е.А., Струнникова О.К.* // Микология и фитопатология. 2017. Т. 51. № 4. С. 241–248.
28. *Шапошников А.И., Вишневецкая Н.А., Шахназарова В.Ю., Белимов А.А., Струнникова О.К.* // Микология и фитопатология. 2019. Т. 53. № 5. С. 301–308.
29. *Meziane H., Van der Sluis I., Van Loon L.C., Hofte M., Bakker P.A.H.M.* // Mol. Plant Pathol. 2005. V. 6. № 2. P. 177–185. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2005.00276.x>
30. *Berendsen R.L., Van Verk M.C., Stringlis I.A., Zamioudis C., Tommassen J., Pieterse C.M.J., Bakker P.A.H.M.* // BMC Genomics. 2015. V. 16. P. 539–561.
31. *Yu K., Liu Y., Tichelaar R., Savant N., Lagendijk E., Van Kuijk S.J.L. et al.* // Curr. Biol. 2019. V. 29. № 22. P. 3913–3920. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.09.015>
32. *Yadav V., Wang Z., Wei C., Amo A., Ahmed B., Yang X., Zhang X.* // Pathogens. 2020. V. 9. № 4. P. 312–336. <https://doi.org/10.3390/pathogens9040312>
33. *Petti C., Reiber K., Ali S.S., Berney M., Doohan F.M.* // BMC Plant Biol. 2012. V. 12. P. 224–232. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-12-224>
34. *Motallebi P., Tonti S., Niknam V., Ebrahimzadeh H., Pisi A., Nipoti P., Hashemi M., Prodi A.* // Cereal Res. Commun. 2017. V. 45. № 2. P. 248–259. <https://doi.org/10.1556/0806.45.2017.008>
35. *Desmond O.J., Edgar C.I., Manners J.M., Maclean D.J., Schenk P.M., Kazan K.* Physiol. and Mol. Plant Pathol. 2006. V. 67. № 3–5. P. 171–179. <https://doi.org/10.1016/j.pmp.2005.12.007>
36. *Khan M.R., Doohan F.M.* // Biol. Control. 2009. V. 48. № 1. P. 42–47.
37. *Petti C., Khan M., Doohan F.* // Funct. Integr. Genomics. 2010. V. 10. № 4. P. 619–627. <https://doi.org/10.1007/s10142-010-0177-0>

Mechanisms of Control by *Pseudomonas fluorescens* of Barley Root Rot Caused by *Fusarium culmorum*

V. Yu. Shakhnazarova^{a, b}, D. S. Syrova^a, M. I. Lebedinskii^{a, b}, N. A. Vishnevskaya^a, A. I. Shaposhnikov^a,
E. V. Borodina^a, and O. K. Strunnikova^{a, *}

^a All-Russian Research Institute for Agricultural Microbiology, Saint Petersburg, 196608 Russia

^b Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, 199034 Russia

*e-mail: olgastrunnikova@rambler.ru

In this paper, we found out why in the presence of the rhizobacterium *Pseudomonas fluorescens* 2137, the intensity of barley fusarium root rot caused by *Fusarium culmorum* 30 decreases, if there is no obvious decrease in the amount of fungus in the roots in the presence of the bacterium. It has been suggested that (1) the presence of rhizobacteria stimulates the defence reactions in barley, (2) rhizobacteria reduces the production of trichothecene toxins by *F. culmorum* 30, a known factor of aggressiveness of the fungus. The responses of barley to the colonization of its roots by fungus and bacteria were studied in sterile vermiculite for 11 days by the intensity of expression of the *LOX*, *PAL*, *PR4* and *PR1* genes. The production of *F. culmorum* 30 trichothecene toxins was evaluated by the expression level of the *TRI13* gene. As a result, it was found that *P. fluorescens* 2137 induced the expression of all studied defence genes already in diurnal barley roots, but only in the presence of *F. culmorum* 30. In the presence of the bacterium, the expression level of the *TRI13* gene did not decrease, however, a decrease in the number of diseased plants suggests that *P. fluorescens* 2137 is capable of detoxifying trichothecene toxins produced by the fungus or inducing this ability in barley.

Keywords: plant-phytopathogen-antagonist interactions, expression of defence genes, trichothecene mycotoxins