

УДК 579.222:579.64:579.262:577.171.4:58.071

ВЗАИМОСВЯЗЬ СОСТАВА КОРНЕВЫХ ЭКССУДАТОВ И ЭФФЕКТИВНОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ С МИКРООРГАНИЗМАМИ

© 2023 г. А. И. Шапошников¹, А. А. Белимов¹ *, Т. С. Азарова¹, О. К. Струнникова¹,
Н. А. Вишневецкая¹, Н. И. Воробьев¹, О. С. Юзихин¹, Л. А. Беспалова², И. А. Тихонович¹

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

²Национальный центр зерна им. П.П. Лукьяненко, Центральная Усадьба КНИИСХ,
Краснодар, Краснодарский край, 350012 Россия

*e-mail: belimov@rambler.ru

Поступила в редакцию 15.12.2022 г.

После доработки 09.01.2023 г.

Принята к публикации 10.01.2023 г.

Корни растений выделяют в ризосферу различные органические вещества, которые являются источником питания для микроорганизмов и во многом определяют характер растительно-микробных взаимодействий. У десяти современных сортов пшеницы был определен состав основных фракций корневых экссудатов: аминокислоты, органические кислоты и сахара. Выявлены достоверные качественные и количественные различия между сортами по отдельным компонентам экссудатов, которые обуславливали особенности кластеризации сортов по данному признаку. Обнаружены взаимосвязи между экссудацией и эффективностью взаимодействия растений с ростостимулирующей ризобактерией *Pseudomonas fluorescens* SPB2137 и фитопатогенным грибом *Fusarium culmorum* 30 в лабораторных системах, а также с устойчивостью сортов к заболеваниям в полевых условиях. Численность *P. fluorescens* SPB2137 в корневой зоне положительно коррелировала с количеством многих, выделяемых корнями аминокислот, а также мальтозы. Стимулирующий эффект ризобактерий на рост корней положительно коррелировал с количеством выделяемой глюкозы и мелибиозы. Взаимосвязи между характером корневой экссудации и колонизацией корней или поражаемостью сортов *F. culmorum* 30 не обнаружено. Проведён анализ корреляций между заболеваемостью сортов пшеницы в полевых условиях и интенсивностью экссудации определённых веществ, а также с индексом биокомпозиции экссудации аминокислот. Обсуждается роль компонентов корневых экссудатов в формировании эффективных растительно-микробных систем.

Ключевые слова: *Fusarium*, корневые экссудаты, микробно-растительные взаимодействия, *Pseudomonas*, пшеница, ризосфера, симбиоз, *Triticum*, экзометаболиты

DOI: 10.31857/S0555109923030170, **EDN:** BIFUXA

Пшеница является самой распространенной злаковой культурой в мире [1, 2]. В результате зеленой революции 1940–1970 гг. были созданы высокоурожайные сорта, способствующие решению проблемы нехватки продовольственных ресурсов [3, 4]. В России в настоящее время созданы и возделываются сотни сортов пшеницы, включая интенсивные техногенные сорта с высоким потенциалом продуктивности [5]. Высокая вариабельность почвенно-климатических условий Российских регионов выращивания пшеницы обуславливает необходимость селекции сортов с широким спектром биологического разнообразия и адаптационным потенциалом [5].

На протяжении десятилетий технологии возделывания пшеницы были ориентированы на ин-

тенсивное применение химических удобрений, пестицидов и средств защиты растений, что создало угрозу для экологического состояния почв и окружающей среды [6]. Современная стратегия устойчивого земледелия направлена на создание биологических средств повышения урожайности и здоровья растений, в том числе основанных на биопрепаратах ростостимулирующих ризобактерий [7–10]. Ризобактерии способны повышать доступность элементов минерального питания, фиксировать атмосферный азот, подавлять развитие фитопатогенов, продуцировать фитогормоны и повышать устойчивость растений к абиотическим стрессам [11–14]. Однако в естественных условиях использование биологических препаратов не всегда дает ожидаемый эффект. Для получения ста-

бильного результата необходимо знать механизмы взаимоотношений между интродуцируемыми ризобактериями и растениями в зависимости от генотипов партнеров и условий окружающей среды [10, 15, 16]. Показано, что колонизация корней ростостимулирующими ризобактериями является одним из ключевых факторов их эффективности [17, 18], а интенсивность колонизации и метаболическая активность ризобактерий зависят от состава экзометаболитов, выделяемых корнями растений в ризосферу [19–23].

Корневые экзометаболиты (экссудаты) содержат аминокислоты, сахара, органические кислоты и другие метаболиты и являются основным легкодоступным источником органического вещества в ризосфере, необходимого для развития микроорганизмов [24, 25]. Корневые экссудаты действуют как хемоаттрактанты, привлекающие к корням почвенные бактерии и грибы [18, 25–28], в том числе фитопатогенные [29]. Корневая экссудация является определяющим фактором в формировании структуры микробных сообществ ризосферы различных видов растений [24, 30–35], в том числе пшеницы [36, 37]. Выделяемые корнями пшеницы аминокислоты легко усваивались почвенными микроорганизмами и способствовали колонизации ризосферы [38]. Экссудация органических кислот корнями пшеницы привлекала в ризосферу ростостимулирующие бактерии [39]. Вторичные экзометаболиты корней бензоксаиноиды, обладающие защитными функциями, модифицировали грибное и бактериальное сообщество в ризосфере пшеницы [40]. С другой стороны, микроорганизмы влияют на интенсивность экссудации корнями органических соединений [23, 24, 41]. Так, для пшеницы описано повышение экссудации аминокислот [42] и органических кислот [43] под действием ризобактерий. Интродукция консорциума ризобактерий в ризосферу стимулировала экссудацию у трех современных сортов пшеницы, которые различались по интенсивности выделения аминокислот, органических кислот и сахаров [44]. Такая реакция растений может способствовать размножению полезных микроорганизмов и вытеснению фитопатогенов из корневой зоны.

Таким образом, накопленная информация свидетельствует о важной роли корневой экссудации в формировании микробных сообществ в ризосфере [45–47]. Однако обусловленные корневыми экссудатами механизмы функционирования и реализации ростостимулирующих функций полезных микроорганизмов, а также роль экссудатов в устойчивости растений к фитопатогенам, остаются мало изученными.

Цель работы – оценка взаимосвязей между особенностями корневой экссудации пшеницы разных сортов и эффективностью взаимодействия

растений с микроорганизмами, а также идентифицировать компоненты корневых экссудатов, которые играют важную роль в формировании эффективных и устойчивых растительно-микробных систем. Для этого в работе были использованы десять современных сортов пшеницы и контрастные по воздействию на растения микроорганизмы, а именно ростостимулирующая ризобактерия и фитопатогенный гриб.

МЕТОДИКА

Объекты исследования. Растительный материал представлен следующими современными высокопродуктивными сортами мягкой (*Triticum aestivum* L.) и твердой (*Triticum durum* Desf.) пшеницы селекции Национального центра зерна им. П.П. Лукьяненко: Безостая-1, Веда, ГРОМ, Курьер, Ласка, Лебедь, Лига-1, Лилек, Таня и Фортуна. Краткая характеристика сортов представлена в табл. 1. В работе использованы штамм ростостимулирующих бактерий *Pseudomonas fluorescens* SPB2137, обладающий антифунгальной активностью, продуцирующий ауксины и активно колонизирующий корни пшеницы [48] и штамм фитопатогенного гриба *Fusarium culmorum* (W.G. Smith) Sacc. № 30, вызывающий корневые гнили и фузариоз колоса зерновых культур [49]. Микроорганизмы получены из Сетевой биоресурсной коллекции в области генетических технологий для сельского хозяйства (ВКСМ) (Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии, ВНИИСХМ, Санкт-Петербург, Россия).

Получение корневых экссудатов. Семена поверхностно стерилизовали 6 мин в 0.1%-ном HgCl_2 , многократно промывали стерильной водой и проращивали 2 сут в чашках Петри в темноте при 24°C. Равномерно проросшие семена высаживали по 10 штук в стерильные стеклянные сосуды с 100 мл деионизированной воды на сетки из нержавеющей стали так, чтобы воды касались только корни проростков. Проростки культивировали в климатической камере ADAPTIS-A1000 (“Convigon”, Великобритания) при освещении 200 мкл $\text{м}^{-2} \text{с}^{-1}$, 16-часовом фотопериоде с минимальной/максимальной температурами 18/22°C. Для контроля стерильности на 3 сут из каждого сосуда отбирали по 0.1 мл раствора и высевали на чашки Петри с агаризованной средой Bacto *Pseudomonas* F (BPF, “Difco”, Нидерланды). Через 5 сут растения вынимали из сосудов, высушивали и определяли сухую массу побегов и корней. Растворы, содержащие корневые экссудаты, фильтровали под вакуумом через нейлоновые фильтры с порами 0.45 мкм (“Corning”, США) и упаривали под вакуумом до объема 5 мл на ротационном испарителе BUCHI R-200 (“BUCHI Labortechnik AG”, Швейцария). Из полученных концентратов кор-

Таблица 1. Характеристика использованных в работе сортов пшеницы

Характеристика	Сорт									
	Безостая-1	Веда	ГРОМ	Курьер	Ласка	Лебедь	Лига 1	Лилек	Таня	Фортуна
Вид	<i>T.a.</i>	<i>T.a.</i>	<i>T.a.</i>	<i>T.a.</i>	<i>T.d.</i>	<i>T.a.</i>	<i>T.a.</i>	<i>T.d.</i>	<i>T.a.</i>	<i>T.a.</i>
Год допуска к использованию	1959	2005	2010	2012	2011	2009	2009	2009	2005	2006
Тип развития	ОЗ	ОЗ	ОЗ	ЯР	ОЗ	ОЗ	ОЗ	ЯР	ОЗ	ОЗ
Группа качества	СИ	СИ	ЦЕ	ЦЕ	1	ЦЕ	СИ	1	ФИ	ФИ
Группа спелости	СР	СР	СР	СР	СР	СР	СР	РА	РА	ПО
Высота, см	115	90	85	100	87	105	88	105	85	90
Потенциальная урожайность, т/га	7	10	12	6	8	9,5	10	5	12,5	12
Поражаемость грибными болезнями в полевых условиях, %										
Бурая ржавчина	65	12	70	12	27	12	4	5	27	15
Желтая ржавчина	38	17	13	17	4	4	17	7	2	3
Стеблевая ржавчина	58	0	65	7	57	8	5	0	28	23
Мучнистая роса	40	10	17	7	5	17	3	7	5	23
Септориоз	47	20	77	3	5	37	43	0	30	43
Фузариоз	7	6	7	4	8	5	7	3	4	6
Твёрдая головня	68	66	77	61	2	60	59	13	37	45
Средние значения	46	19	47	16	15	20	20	5	19	23

Примечание: *T.a.* – *Triticum aestivum* L., *T.d.* – *Triticum durum* Desf., ОЗ – озимый, ЯР – яровой, СИ – сильный, ЦЕ – ценный, ФИ – филлер, СР – среднеспелый, РА – ранний, ПО – поздний.

невых экссудатов отбирали аликвоты 100 мкл для анализа аминокислот. Остальной раствор пропускали через колонку с ионообменной смолой Dowex® 50WX8 hydrogen form 100–200 mesh (“Sigma-Aldrich”, США) для получения образцов органических кислот и сахаров путем выпаривания досуха под вакуумом с последующим растворением остатка в 1 мл деионизированной воды.

Хроматографический анализ корневых экссудатов. Перед хроматографическим анализом образцы фильтровали центрифугированием в микропробирках с мембранными нейлоновыми фильтрами с порами 0.2 мкм Costar® Spin-X® (“Corning”, Германия). Для определения состава корневых экссудатов использовали систему ультра-производительной жидкостной хроматографии (UPLC) Waters Acquity UPLC H-class (“Waters”, США). Органические кислоты разделяли на колонке Supelcogel™ C-610H (5 мкМ, 30 см, 7.8 мм, “Sigma-Aldrich”) с обнаружением на УФ-детекторе при длине волны 220 нм. В качестве подвижной фазы использовали 0.1%-ную H_3PO_4 при скорости потока 0.7 мл/мин при температуре колонки 24°C. Определение сахаров проводили методом рефрактометрии с использованием детектора Waters 2414 и аминокислотной колонки Supelcosil™ LC-NH₂, (5 мкМ, 25 см, 4.6 мм, “Sigma-Aldrich”). В качестве по-

движной фазы использовали 75%-ный ацетонитрил, скорость потока 1 мл/мин при температуре колонки 31°C. Для определения состава аминокислот (за исключением L-триптофана) использовали высокочувствительный метод AccQ-Tag (“Waters”, США) согласно стандартному протоколу производителя. Анализ L-триптофана проводили с использованием колонки Waters UPLC RP-18 Shield (1.7 мкМ, 5 см, 2.1 мм, “Waters”) с обнаружением на флуоресцентном детекторе ($E_{ex} = 280$ нм, $E_{em} = 350$ нм). В качестве подвижной фазы использовали смесь деионизированной воды (качества Milli-Q) и ацетонитрила (LiChrosolv, марка HPLC). Для создания оптимальных условий хроматографического анализа в воду и ацетонитрил добавляли муравьиную кислоту до концентрации 0.1%. Хроматографическое разделение осуществляли в линейном градиенте от 99 до 80% воды в течение 5 мин с последующей промывкой колонки 80%-ным ацетонитрилом в течение 3 мин и уравниванием колонки при содержании воды 99% в течение 3.5 мин. Скорость потока составляла 0.3 мл/мин при температуре колонки 30°C.

Взаимодействие растений с *Pseudomonas fluorescens*. Для оценки колонизации корней ризобактериями *P. fluorescens* SPB2137 семена поверхностно стерилизовали, проростки выращивали в

стерильных стеклянных сосудах как описано выше. При посадке семян в раствор вносили ризобактерии в количестве 10^5 кл./мл. По окончании эксперимента измеряли массу корней и надземной части растений, а также готовили 10-кратные разведения питательного раствора в стерильной водопроводной воде. Корни гомогенизировали в стерильной ступке, суспендировали в стерильной водопроводной воде и таким же образом готовили 10-кратные разведения. Аликвоты разведений высевали на агаризованную среду состава (г/л): пептон — 10; гидролизат казеина — 10; K_2HPO_4 — 1; $MgSO_4$ — 1; pH 7.0. После инкубирования в течение 5 сут при 28°C подсчитывали колониеобразующие единицы (КОЕ).

Взаимодействие растений с *Fusarium culmorum*.

Для приготовления инокулюма штамм *F. culmorum* № 30 выращивали на агаризованной среде Чапека в течение 14 сут при 24°C. Макроконидии смывали стерильной водой, осаждали центрифугированием (1000 g, 10 мин) и суспендировали в стерильной воде. Семена пшеницы поверхностно стерилизовали в течение 30 с в 96%-ном этаноле и 30 мин в 0.1%-ном растворе $AgNO_3$. Затем семена многократно промывали стерильной водой и проращивали в течение 2 сут на влажной фильтровальной бумаге в стерильных чашках Петри. Проклюнувшиеся семена пшеницы высаживали в пластиковые сосуды (10 семян в сосуд), содержащие 200 г стерильного вермикулита, увлажненного 500 мл питательного раствора (г/л): $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$ — 1.2; KNO_3 — 0.5; KH_2PO_4 — 0.14; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0.5. В опытных сосудах в питательный раствор добавляли суспензию макроконидий гриба *F. culmorum* 30 в количестве 2×10^5 макроконидий/мл. Для каждого варианта опыта подготавливали по 6 сосудов.

Растения выращивали 14 сут в фитотроне ADAPTIS-A1000 (“Convigon”, Великобритания) с относительной влажностью 60% при 2-уровневом режиме освещенности и температуры: ночь — темнота, 18°C, 8 ч, день — 400 мклк $m^{-2} s^{-1}$, 23°C, 16 ч. Влажность вермикулита поддерживали на уровне 60% полной влагоёмкости регулярным поливом и взвешиванием сосудов. На 14 сут культивирования растения вынимали из вермикулита и интенсивность колонизации корней грибом *F. culmorum* оценивали методом иммунофлуоресценции как описано ранее [49]. Для этого сухие корни мацерировали в воде, окрашивали нейтральным красным для гашения неспецифического свечения тканей корня и проводили иммунофлуоресцентное окрашивание. Обработанные образцы корней просматривали под люминесцентным микроскопом Axiolab (“Carl Zeiss”, Германия). Количество *F. culmorum* на корнях учитывали по частоте встречаемости колоний гриба в поле зрения микроскопа. Интенсивность фузариозной корневой

гнили оценивали в баллах. Максимальный балл поражения — 4 (погибшие растения). Баллы 1–3 — разная степень побурения корней.

Математическая обработка данных. Статистический анализ данных проводили с использованием программного обеспечения Statistica версии 10 (TIBCO Software Inc., США). Для оценки различий между средними значениями использовали однофакторный дисперсионный анализ и критерий НСР Фишера.

Для построения тепловой карты (HeatMap) использованы данные о количестве корневых экссудатов пшеницы с помощью среды разработки программного обеспечения RStudio (<https://www.rstudio.com/>). Для этого данные были нормализованы с использованием функции scale (<https://www.rdocumentation.org/packages/base/versions/3.6.2/topics/scale>) входящей в стандартный пакет RStudio. Для изображения тепловой карты использовали библиотеку pheatmap v1.0.12.2 (<https://cran.r-project.org/web/packages/pheatmap/index.html>).

В работе использованы материалы работ по оценке поражаемости изучаемых сортов пшеницы грибными болезнями на искусственном инфекционном фоне в полевых условиях Краснодарского края в среднем за 2017–2021 годы (не опубликованные данные Национального центра зерна им. П.П. Лукьяненко). Оценка поражаемости растений болезнями проводилась по стандартным методикам [50].

Для изучения связи профилей экссудации аминокислот с поражаемостью растений фитопатогенами были вычислены индексы биоразнообразия Шеннона (*IndShen*) и индексы доминирования Симпсона (*IndSimp*) [51], а также индексы биокomпозиции (индексы фрактальности, *IndBcom*) [52]. Значения *IndBcom* вычислялись с помощью фрактальной нейронной сети (ФНС), специально созданной под решаемую задачу [53]. Было проведено глубокое обучение ФНС [54] и определены *IndSimp*, *IndShen*, *IndBcom* по эмпирическим данным экссудации аминокислот растениями пшеницы.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сортовые особенности корневой экссудации.

Сорта существенно различались по общему количеству выделяемых корнями аминокислот и имели выраженные различия в количестве многих индивидуальных компонентов этой фракции экссудатов (табл. 2). Максимальное количество выделяемых корнями аминокислот обнаружено у сортов Безостая-1, Ласка и Лилёк, а минимальное количество у сортов Веда, Курьер и Лига-1. Как правило, экссудация всех аминокислот у этих сортов была повышена или понижена соответ-

Таблица 2. Количество выделенных корнями аминокислот различными сортами пшеницы

Сорт	Компоненты экссудатов, мкМоль/г сухих корней						
	Ala	Arg	Asp	Glu	Gly	His	Ile
Безостая-1	141 ± 12cd	178 ± 69abc	391 ± 105bc	246 ± 43bcd	169 ± 6ef	75 ± 30bc	325 ± 53de
Веда	103 ± 9bc	70 ± 27ab	130 ± 35a	115 ± 20ab	54 ± 2b	31 ± 12abc	100 ± 16ab
Гром	66 ± 25abc	100 ± 39abc	344 ± 92abc	277 ± 49cd	153 ± 6e	40 ± 16abc	310 ± 50cde
Курьер	16 ± 1a	19 ± 7a	95 ± 25a	380 ± 67de	25 ± 1a	10 ± 4a	33 ± 5a
Ласка	201 ± 77de	249 ± 97c	441 ± 118c	439 ± 78e	165 ± 6ef	79 ± 31c	284 ± 46cde
Лебедь	45 ± 4ab	115 ± 45abc	210 ± 56ab	123 ± 22ab	119 ± 5d	44 ± 17abc	191 ± 31bc
Лига-1	11 ± 5a	48 ± 19ab	161 ± 43ab	99 ± 17a	81 ± 3c	14 ± 5a	64 ± 10a
Лилёк	275 ± 24e	200 ± 78bc	487 ± 130c	427 ± 75e	126 ± 5d	23 ± 9ab	387 ± 63e
Таня	46 ± 18ab	97 ± 38abc	192 ± 51ab	173 ± 31abc	17 ± 1a	24 ± 10ab	111 ± 18ab
Фортуна	37 ± 14ab	82 ± 32ab	223 ± 60abc	297 ± 52cde	75 ± 3c	31 ± 12abc	262 ± 43cd

Сорт	Компоненты экссудатов, мкМоль/г сухих корней						
	Leu	Phe	Ser	Trp	Tyr	Val	Сумма
Безостая-1	498 ± 98ef	526 ± 194bc	362 ± 234ab	320 ± 86bc	283 ± 143ab	475 ± 104cd	3988 ± 484e
Веда	146 ± 29abc	119 ± 44a	490 ± 329ab	50 ± 17a	54 ± 27ab	150 ± 33ab	1611 ± 163abc
Гром	449 ± 89def	297 ± 110abc	732 ± 492ab	101 ± 36a	192 ± 97ab	435 ± 96cd	3495 ± 70e
Курьер	47 ± 9a	34 ± 12a	180 ± 121a	72 ± 25a	40 ± 20a	57 ± 12a	1006 ± 21a
Ласка	478 ± 94def	639 ± 236c	1084 ± 729ab	374 ± 125c	351 ± 177b	517 ± 113cd	5299 ± 11f
Лебедь	270 ± 53bcd	367 ± 136abc	232 ± 156a	213 ± 67abc	162 ± 82ab	292 ± 64abc	2383 ± 312cd
Лига-1	95 ± 19ab	124 ± 46a	215 ± 145a	137 ± 46ab	26 ± 13a	97 ± 21ab	1172 ± 16ab
Лилёк	538 ± 106f	377 ± 140abc	2240 ± 1505b	321 ± 107bc	250 ± 126ab	573 ± 126d	6224 ± 783f
Таня	157 ± 31abc	176 ± 65ab	645 ± 433ab	106 ± 38ab	114 ± 57ab	163 ± 36ab	2022 ± 196bcd
Фортуна	319 ± 63cde	188 ± 69ab	818 ± 550ab	271 ± 89abc	96 ± 48ab	318 ± 70bc	3017 ± 126de

Примечание: Указаны средние значения ± стандартные ошибки. Латинскими буквами обозначены достоверные различия между сортами для каждого компонента (критерий НСР Фишера, $P < 0.05$, $n = 2$).

ственно. Исключение составил Курьер, который имел высокую экссудацию глутаминовой кислоты на фоне низких значений для других аминокислот. Сорта с высокой экссудацией аминокислот (Безостая-1, Ласка и Лилёк) образовывали обособленный кластер по данному параметру, в то время как сорта с низкой экссудацией группировались вместе с сортами, имеющими средний уровень экссудации аминокислот (рис. 1а). Данные кластеры различались по стандартизированным величинам количества многих аминокислот, за исключением треанина (рис. 1б). Средние абсолютные значения количества аминокислот для данных кластеров, по которым достоверно различались кластеры, указаны в табл. 3. Сумма выделяемых корнями аминокислот сортов кластера № 1 была в 2,5 раза меньше, чем у кластера № 2 (табл. 3).

По суммарному количеству выделяемых корнями органических кислот достоверных различий между сортами не обнаружено (табл. 4), но сорта различались количественно и по составу от-

дельных компонентов. Например, пироват выделялся корнями сортов Безостая-1 и Веда в следовых количествах, а максимальные величины были у сортов Лебедь, Лилёк и Фортуна. Пироглутамат обнаружен только в экссудатах сортов Безостая-1, Лилёк, Таня и Фортуна (табл. 4). Малат являлся доминирующим компонентом, и влияние сорта на его экссудацию не было существенным, за исключением различий между сортами Безостая-1 и Лилёк. При кластеризации сортов по характеру экссудации органических кислот образовывались два кластера (рис. 2а). Кластер №1 характеризовался низкими стандартизированными величинами количества всех органических кислот, а кластер № 2 объединил сорта Фортуна, Таня и Лилёк с высокой экссудацией пировата, сукцината и пироглутамата (рис. 2б). Достоверные различия средних абсолютных значений количества органических кислот для данных кластеров выявлены только для сукцината и пироглутамата (табл. 3).

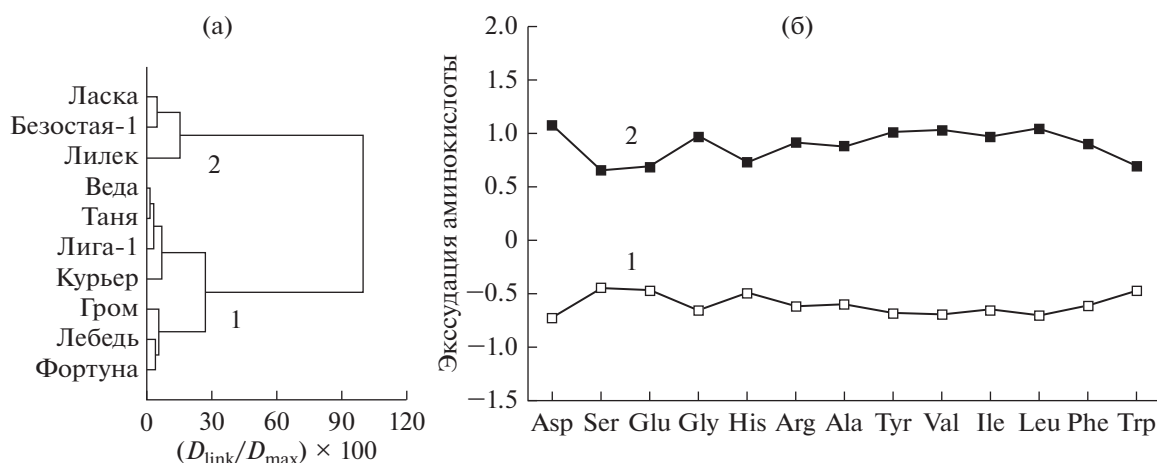


Рис. 1. Кластеризация (кластеры 1 и 2) сортов пшеницы по количеству аминокислот в экссудатах (а) и средние значения по двум основным кластерам по каждой аминокислоте (б). Для кластеризации использованы стандартизированные безразмерные величины компонентов экссудатов, метод Варда и квадраты Евклидовых расстояний. $(D_{link}/D_{max}) \times 100$ – расстояния на шкале выражены в диапазоне от 0 до 100%.

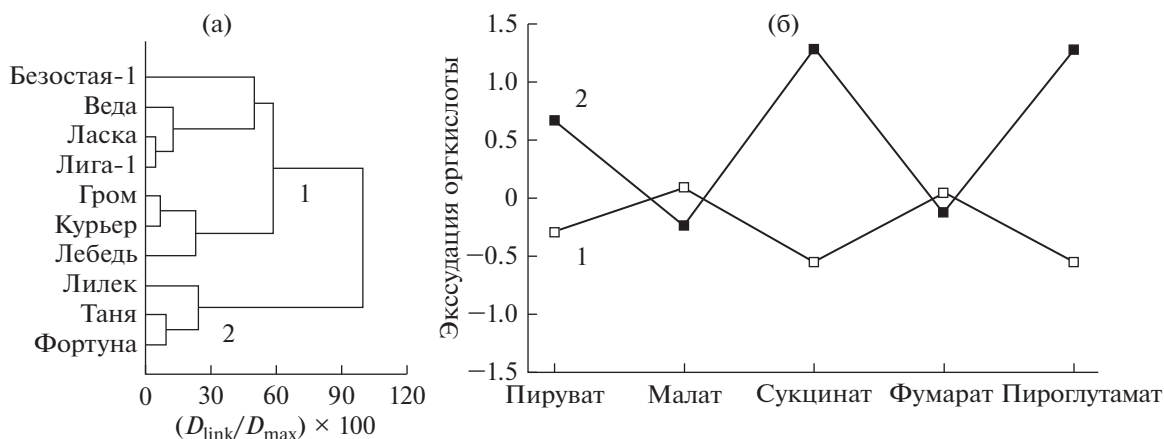


Рис. 2. Кластеризация (кластеры 1 и 2) сортов пшеницы по количеству органических кислот (оргкислот) в экссудатах (а) и средние значения двух основных кластеров по каждой оргкислоте (б): I – пируват, II – малат, III – сукцинат и т.д. Для кластеризации использованы безразмерные стандартизированные величины компонентов экссудатов, метод Варда и квадраты Евклидовых расстояний. $(D_{link}/D_{max}) \times 100$ – расстояния на шкале выражены в диапазоне от 0 до 100%.

Высокой экссудацией всех обнаруженных сахаров обладали сорта Курьер, Ласка, Лебедь и Фортуна, которые достоверно отличались от остальных сортов по суммарному количеству компонентов этой фракции (табл. 5). Это обусловило группировку сортов в два гомогенных кластера (рис. 3а) с низкими (кластер № 1) и высокими (кластер № 2) стандартизованными величинами количества всех сахаров (рис. 3б). Полученные кластеры достоверно различались по средним абсолютным значениям количества сахаров (табл. 3).

Характеристика сортов суммарно по всем изученным фракциям экссудатов наглядно представлена на рис. 4. Сорта Безостая-1, Гром, Ласка и Лилёк образовали кластер А, характеризующийся вы-

сокой экссудацией многих аминокислот, входящих в кластер В. Однако эта группа сортов была гетерогенна по экссудации органических кислот и сахаров, распределяясь в кластеры Д и Е. Основной причиной такой гетерогенности были сорта Лилёк, корни которого выделяли много глутаминовой кислоты, аланина, серина, пирувата, сукцината и пироглутамата (кластер Е), и Ласка с относительно высокой экссудацией сахаров (кластер Д). Сорта Веда, Курьер, Лебедь, Лига-1, Таня и Фортуна образовали кластер Б, который объединил их в основном благодаря низкой экссудации аминокислот, включая глутаминовую кислоту, аланин и серин (рис. 4). По экссудации аминокислот наиболее контрастными сортами

Таблица 3. Абсолютные средние значения по отдельным компонентам корневых экссудатов для групп генотипов пшеницы, входящих в разные кластеры

Аминокислоты (мкМоль/г сухих корней)	Кластер 1 (Веда, Гром, Курьер, Лебедь, Лига-1, Таня, Фортуна)	Кластер 2 (Безостая-1, Ласка, Лилёк)
Аспарагиновая к-та	194 ± 26	440 ± 56***
Серин	473 ± 121	1229 ± 557
Глутаминовая к-та	209 ± 30	371 ± 50*
Глицин	75 ± 13	153 ± 9***
Гистидин	27 ± 5	59 ± 16*
Аргинин	76 ± 12	209 ± 39***
Аланин	46 ± 11	205 ± 47***
Тирозин	98 ± 23	295 ± 70**
Валин	216 ± 38	522 ± 54***
Изолейцин	153 ± 28	332 ± 31**
Лейцин	212 ± 39	505 ± 46***
Фенилаланин	117 ± 27	514 ± 99**
Триптофан	136 ± 31	338 ± 84*
Сумма	2179 ± 250	5268 ± 450***
Органические кислоты (мкМоль/г сухих корней)	Кластер 1 (Безостая-1, Веда, Гром, Курьер, Ласка, Лебедь, Лига-1)	Кластер 2 (Лилёк, Таня, Фортуна)
Пируват	80 ± 24	155 ± 34
Малат	1688 ± 367	1465 ± 520
Сукцинат	100 ± 45	656 ± 99***
Фумарат	52 ± 7	51 ± 3
Пироглутамат	2 ± 2	33 ± 10***
Сумма	1922 ± 373	2360 ± 544
Сахара (ммоль/г сухих корней)	Кластер 1 (Курьер, Ласка, Лебедь, Фортуна)	Кластер 2 (Безостая-1, Веда, Гром, Лига-1, Лилёк, Таня)
Ксилоза	0.03 ± 0.02	0.39 ± 0.06***
Фруктоза	8 ± 1	16 ± 1***
Глюкоза	16 ± 2	69 ± 10***
Мальтоза	4.5 ± 0.6	9,4 ± 1.2***
Мелибиоза	2.7 ± 0.3	7,0 ± 1.1***
Сумма	32 ± 2	102 ± 11***

Примечание: кластеры указаны на рис. 1, 2 и 3. Названия входящих в кластеры сортов указаны для каждой фракции экссудатов. Указаны средние значения ± стандартные ошибки. Звёздочками указаны достоверные различия между кластерами по каждому компоненту экссудатов (* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$; *** $P < 0.001$; критерий t -Стьюдента).

были Лилёк и Ласка (высокая экссудация), Курьер и Лига-1 (низкая экссудация), что соответствовало данным табл. 2. Сорта с высокой экссудацией сахаров (Курьер, Лебедь и Фортуна), выделявшие много сахаров, группировались в зоне кластеров Б и Д, но сорт Ласка не попадал в эту группу из-за высокой экссудации аминокислот.

Корневая экссудация и взаимодействие растений с микроорганизмами. Штамм *P. fluorescens* SPB2137 наиболее активно колонизировал корни пшеницы сортов Ласка и Лилёк, а его максимальная численность в питательном растворе была при культивировании сортов Безостая-1, Ласка и Фортуна (табл. 6). Корневые экссудаты сорта

Таблица 4. Состав и количество органических кислот, выделяемых корнями пшеницы

Сорт	Компоненты экссудатов (мкМоль/г сухих корней)					
	малат	пироглутамат	пируват	сукцинат	фумарат	сумма
Безостая-1	3215 ± 1246b	17 ± 10a	2 ± 1a	Н.о.	43 ± 1b	3277 ± 1237a
Веда	1370 ± 472ab	Н.о.	2 ± 1a	Н.о.	95 ± 4f	1467 ± 477a
Гром	1161 ± 439ab	Н.о.	69 ± 28b	Н.о.	38 ± 1b	1268 ± 468a
Курьер	1268 ± 407ab	Н.о.	60 ± 25b	388 ± 65ab	20 ± 1a	1736 ± 497a
Ласка	1482 ± 543ab	Н.о.	114 ± 47bc	Н.о.	69 ± 2e	1665 ± 592a
Лебедь	1496 ± 552ab	Н.о.	236 ± 97c	Н.о.	27 ± 1a	1758 ± 650a
Лига-1	1824 ± 661ab	Н.о.	76 ± 31b	314 ± 52a	72 ± 2e	2285 ± 747a
Лилёк	780 ± 296a	41 ± 25b	207 ± 85c	924 ± 154c	59 ± 2d	2010 ± 512a
Таня	1402 ± 512ab	19 ± 11a	120 ± 49bc	519 ± 87b	43 ± 1b	2073 ± 638a
Фортуна	2214 ± 1109ab	38 ± 23b	138 ± 57bc	526 ± 88b	52 ± 2c	2967 ± 1231a

Примечание. Н.о. — не обнаружено. Указаны средние значения ± стандартные ошибки. Латинскими буквами обозначены достоверные различия между сортами для каждого компонента (критерий НСР Фишера, $P < 0.05$, $n = 2$).

Таблица 5. Состав и количество сахаров, выделяемых корнями пшеницы

Сорт	Компоненты экссудатов (мМоль/г сухих корней)					
	глюкоза	ксилоза	мальтоза	мелибиоза	фруктоза	сумма
Безостая-1	12.9 ± 0.4ab	Н.о.	7.4 ± 0.7c	2.4 ± 0.7ab	9.3 ± 1.7a	32.0 ± 2.1ab
Веда	11.5 ± 0.4a	Н.о.	1.9 ± 0.2a	1.3 ± 0.4a	9.5 ± 1.7a	24.1 ± 1.9a
Гром	17.8 ± 0.6b	Н.о.	4.3 ± 0.4b	2.6 ± 0.7ab	7.1 ± 1.3a	31.8 ± 1.6a
Курьер	42.2 ± 1.4d	0.47 ± 0.18b	7.2 ± 0.7c	5.5 ± 1.7ab	17.8 ± 3.3b	72.7 ± 3.7d
Ласка	67.3 ± 2.3f	0.29 ± 0.11ab	12.7 ± 1.2d	5.1 ± 1.4ab	17.9 ± 3.3b	103.1 ± 5.4f
Лебедь	109.9 ± 3.7g	0.39 ± 0.15b	12.0 ± 1.1d	10.2 ± 3.1c	14.2 ± 2.6ab	146.4 ± 4.3g
Лига-1	25.7 ± 0.9c	Н.о.	6.9 ± 0.7c	3.5 ± 0.9a	8.5 ± 1.6a	44.5 ± 2.2c
Лилёк	10.6 ± 0.4a	Н.о.	3.6 ± 0.3ab	3.2 ± 1.0ab	7.5 ± 1.4a	24.9 ± 1.1a
Таня	20.4 ± 0.7b	0.17 ± 0.07a	2.7 ± 0.3ab	3.4 ± 0.9ab	8.9 ± 1.6a	35.3 ± 1.7bc
Фортуна	55.6 ± 1.9e	0.42 ± 0.16b	5.6 ± 0.5c	7.1 ± 1.9bc	16.1 ± 3.0b	84.4 ± 3.5e

Примечание. Н.о. — не обнаружено. Указаны средние значения ± стандартные ошибки. Латинскими буквами обозначены достоверные различия между сортами для каждого компонента (критерий НСР Фишера, $P < 0.05$, $n = 2$).

Ласка были наиболее благоприятны для размножения *P. fluorescens* SPB2137, а Лига-1 в наименьшей степени поддерживал популяцию этого штамма на корнях и в растворе. Количество ризобактерий на корнях положительно коррелировало с количеством выделяемых корнями аланина, аргинина, аспарагиновой кислоты, валина, гистидина, глутаминовой кислоты, серина, тирозина, триптофана, фенилаланина и общего количества аминокислот (г варьировал от +0.66 до +0.84; P варьировала от 0.039 до 0.002; $n = 10$). Группа сортов, входящих в кластер № 2 с высокой экссудацией аминокислот (рис. 1а), достоверно превосходила сорта кластера № 1 по количеству *P. fluorescens* SPB2137 на корнях и в питательном растворе (рис. 5). Положительная корреляция была также между численностью бактерий в растворе и экс-

судацией мальтозы ($r = +0.65$; $P = 0.043$; $n = 10$). Однако количество ризобактерий не коррелировало с интенсивностью экссудации органических кислот. Достоверное положительное влияние ризобактерий на рост корней наблюдалось только у сорта Лебедь (табл. 6), но корреляции между численностью ризобактерий и воздействием на рост корней изучаемых сортов не обнаружено. Особенностью сорта Лебедь была максимальная экссудация глюкозы и мелибиозы (табл. 5, рис. 4). Стимулирующий эффект ризобактерий на рост корней положительно коррелировал с количеством выделяемой глюкозы ($r = +0.68$; $P = 0.031$; $n = 10$) и мелибиозы ($r = +0.64$; $P = 0.047$; $n = 10$).

В лабораторных экспериментах наиболее активная колонизация корней штаммом *F. culmorum* 30 была у сорта Фортуна, а минимальные значения

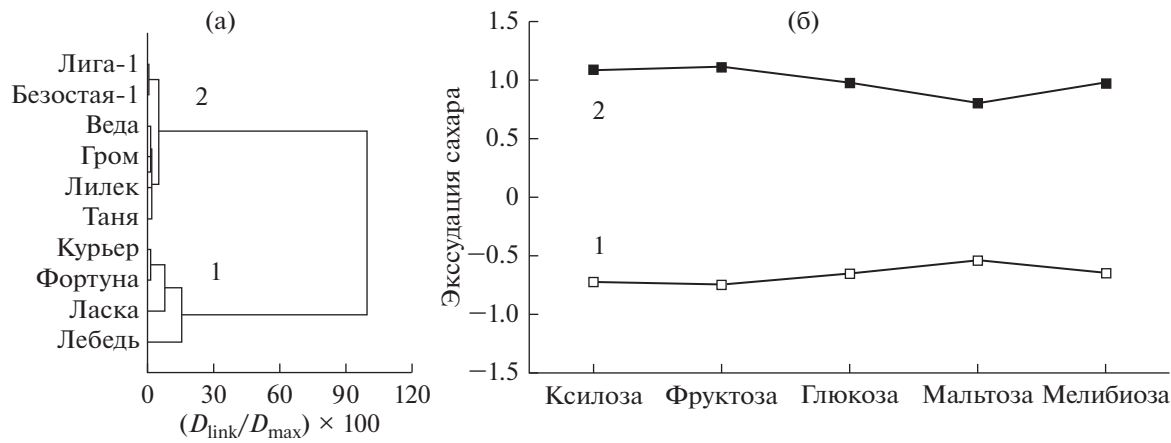


Рис. 3. Кластеризация (кластеры 1 и 2) сортов пшеницы по количеству сахаров в экссудатах (а) и средние значения двух основных кластеров по каждому сахару (б). Кластеры указаны цифрами 1 и 2. Для кластеризации использованы безразмерные стандартизированные величины компонентов экссудатов, метод Варда и квадраты Евклидовых расстояний. $(D_{link}/D_{max}) \times 100$ – расстояния на шкале выражены в диапазоне от 0 до 100%.

количества микроколоний гриба обнаружены у сортов Курьер, Лебедь и Лилёк (табл. 6). Интенсивность колонизации грибом корней не коррелировала с показателями корневой экссудации. Сорта Ласка и Лига-1 имели максимальные баллы по заболеваемости корней (табл. 6), но существенно различались по активности экссудации. Наиболее устойчивыми к данному штамму гриба были сорта Безостая-1, Веда и Лилёк, а чувствительными были Ласка и Лига-1 (табл. 6). Взаимосвязи между вызываемой штаммом *F. culmorum* 30 заболеваемостью сортов и характером корневой экссудации не

обнаружено. Например, Ласка относилась к сортам с высокой экссудацией, а Лига-1 – к сортам с низкой экссудацией (рис. 4). Обнаружена негативная корреляция между численностью бактерий *P. fluorescens* SPB2137 на корнях в модельных экспериментах и заболеваемостью септориозом ($r = -0.80$; $P = 0.006$; $n = 10$) и твердой головней ($r = -0.76$; $P = 0.011$; $n = 10$) в полевых условиях Краснодарского края.

Корреляционный анализ между заболеваемостью изучаемых сортов пшеницы в полевых условиях Краснодарского края и параметрами интен-

Таблица 6. Параметры взаимодействия сортов пшеницы с *P. fluorescens* 2137 в гидропонной культуре и *F. culmorum* 30 в вермикулитной культуре

Сорт	<i>P. fluorescens</i> 2184				<i>F. culmorum</i> Л30	
	количество бактерий, 10 ⁶ КОЕ /сосуд			эффект на биомассу корней, %	количество микроколоний на 1 см корня	заболеваемость корней, баллы
	на корнях	в растворе	сумма			
Безостая-1	48 ± 5a	218 ± 9e	266 ± 14d	+11 ± 1bc	4.6 ± 0.8bc	0.8 ± 0.1a
Веда	49 ± 2a	68 ± 6abc	117 ± 4ab	+1 ± 1a	5.1 ± 0.6bc	0.6 ± 0.2a
Гром	36 ± 4a	40 ± 3ab	76 ± 7a	+13 ± 3c	4.6 ± 0.4bc	1.8 ± 0.2bc
Курьер	40 ± 5a	48 ± 5abc	88 ± 2a	+1 ± 1a	1.9 ± 0.2a	1.8 ± 0.2bc
Ласка	134 ± 2b	454 ± 59f	588 ± 57e	+6 ± 1abc	4.3 ± 0.9bc	2.8 ± 0.2d
Лебедь	51 ± 1a	105 ± 5cd	155 ± 4b	+41 ± 7d*	1.5 ± 0.3a	1.6 ± 0.3b
Лига-1	29 ± 1a	29 ± 5a	58 ± 5a	+13 ± 3c	4.6 ± 0.6bc	2.3 ± 0.1cd
Лилёк	141 ± 21b	94 ± 9bcd	235 ± 12cd	+4 ± 2ab	3.2 ± 0.6a	0.6 ± 0.2a
Таня	38 ± 4a	46 ± 5ab	84 ± 9a	+4 ± 1ab	6.5 ± 0.7c	2.0 ± 0.2bc
Фортуна	36 ± 3a	138 ± 11d	174 ± 14bc	+2 ± 2a	10.1 ± 1.6d	1.7 ± 0.1b

Примечание. Указаны средние значения ± стандартные ошибки. Латинскими буквами обозначены достоверные различия между сортами для каждого компонента. Звездочка указывает на достоверный эффект микроорганизма на биомассу или длину корней растений относительно соответствующего контроля без инокуляции (критерий НСР Фишера, $P < 0.05$, n варьирует от 5 до 12 в зависимости от параметра и сорта).

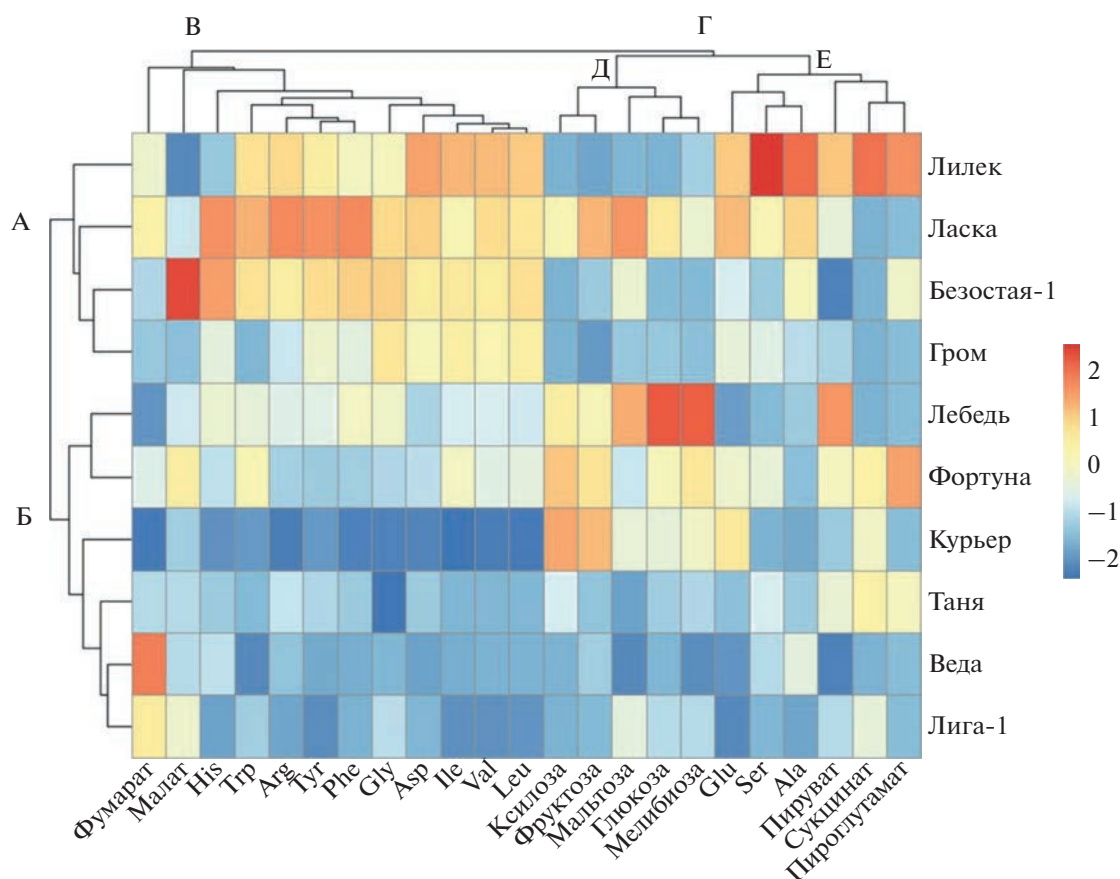


Рис. 4. Тепловая карта интенсивности корневой экссудации компонентов изучаемых фракций сортами пшеницы. Использованы стандартизированные значения параметров экссудации: красным цветом показаны высокие значения, а синим цветом — низкие (указано на цветной шкале справа). Слева и сверху представлены кластерные диаграммы, группирующие сорта и параметры экссудации, соответственно. Кластеры указаны буквами А, Б, В, Г, Д и Е.

сивности экссудации органических кислот обнаружил ряд взаимосвязей, которые выражались в следующем: негативная корреляция пирувата с желтой ржавчиной ($r = -0.74$; $P = 0.015$; $n = 10$) и сукцината с фузариозом ($r = -0.77$; $P = 0.009$; $n = 10$), но позитивная корреляция малата с желтой ржавчиной ($r = +0.64$; $P = 0.046$; $n = 10$) и мучнистой росой ($r = +0.82$; $P = 0.004$; $n = 10$), а также позитивная корреляция суммарной экссудации органических кислот с мучнистой росой ($r = +0.68$; $P = 0.029$; $n = 10$). Заболеваемость твердой головнёй отрицательно коррелировала с экссудацией аминокислот аланина, аргинина, серина и триптофана (r варьировал от -0.64 до -0.72 ; $P < 0.05$; $n = 10$). Заболеваемость стеблевой ржавчиной положительно коррелировала с экссудацией гистидина, тирозина и треанина (r варьировал от $+0.63$ до $+0.74$; $P < 0.05$; $n = 10$). Заболеваемость фузариозом также положительно коррелировала с экссудацией гистидина ($r = +0.65$; $P < 0.042$; $n = 10$).

Индексы Симпсона, Шеннона и биоконпозиции экссудации аминокислот корнями растений, рассчитанные с помощью фрактальной нейронной

сети, представлены в табл. 7. Индексы Симпсона ($r = -0.77$; $P = 0.009$; $n = 10$), Шеннона ($r = +0.73$; $P = 0.021$; $n = 10$) и биоконпозиции ($r = -0.87$; $P = 0.003$; $n = 10$) достоверно коррелировали с уровнем поражаемости растений пшеницы фузариозом. Дополнительно индекс биоконпозиции достоверно коррелировал ($r = -0.63$; $P = 0.049$; $n = 10$) с уровнем поражаемости растений стеблевой ржавчиной.

Сравнение состава выделяемых корнями аминокислот выявило достоверные различия в количественном отношении, но качественный состав этих экссудатов был одинаковым для всех сортов (табл. 2). Вероятно, это было обусловлено принадлежностью изучаемых растений к одному виду. Достоверные сортовые различия обнаружены также по количеству многих органических кислот и сахаров в экссудатах, при этом сорта различались и по спектру компонентов этих фракций (табл. 4, 5). Известно, что общее количество корневых экссудатов и их компонентов существенно варьирует в зависимости от сорта (генотипа) растения. Внутривидовые различия по данному при-

знаку описаны для пшеницы [44], риса [55], гороха [56], картофеля [41, 57], сои [58]. Выявлены различия у генотипов пшеницы, представляющих разные этапы эволюции этого вида, а именно корни современного сорта Karahan выделяли больше аминокислот и сахаров по сравнению с диким злаком *Aegilops squarrosa* и местным турецким сортом Albostan [59]. Авторы предположили, что высокая активность корневой экссудации органических веществ может стимулировать развитие ризосферной микрофлоры. Другие авторы связывают особенности экссудации тетраплоидной пшеницей органических веществ с domestikацией и селекционными манипуляциями, но наблюдаемые феномены в отношении биологии ризосферы не обсуждают [60, 61]. Полученные результаты согласуются с опубликованными ранее данными и свидетельствуют о высоком внутривидовом полиморфизме растений, включая мягкую пшеницу, и способности формировать специфический паттерн корневых экссудатов.

Известно, что микроорганизмы способны модулировать состав и интенсивность экссудации корнями растений различных фракций органических соединений, таких как аминокислоты [38, 41, 42, 58], органические кислоты [24, 39, 43, 44, 58] и сахара [44, 58]. При этом описываемые эффекты проявлялись в стимуляции процесса экссудации. Однако открытыми остаются вопросы о том, в какой степени и почему определённый спектр компонентов экссудатов формируется растением под действием микроорганизмов, а также какую роль играют определённые компоненты в симбиотических взаимодействиях.

Таблица 7. Индексы биоразнообразия Шеннона (*IndShen*), доминирования Симпсона (*IndSimp*) и биокомпозиции (*IndBcom*) экссудации аминокислот и их корреляции с уровнем заболеваемости фузариозом растений пшеницы в полевых условиях

Сорт	<i>IndSimp</i>	<i>IndShen</i>	<i>IndBcom</i>
Безостая-1	0.02	0.95	0.59
Веда	0.09	0.86	0.74
Гром	0.05	0.88	0.61
Курьер	0.11	0.81	0.69
Ласка	0.04	0.91	0.58
Лебедь	0.02	0.95	0.68
Лига-1	0.05	0.89	0.62
Лилек	0.15	0.78	0.91
Таня	0.12	0.82	0.78
Фортуна	0.08	0.85	0.71
Стандартная ошибка среднего	±0.007	±0.03	±0.03
Коэффициенты корреляции			
Фузариоз	−0.77*	0.73*	−0.87*
Стеблевая ржавчина	−0.48	0.48	−0.63*

* Достоверные значения коэффициентов корреляции ($P < 0.05$, $n = 10$).

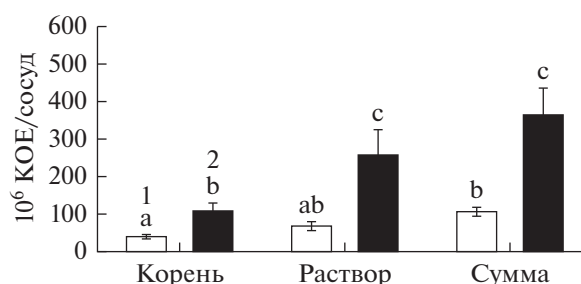


Рис. 5. Колонизация корней и количество *P. fluorescens* 2137 в питательном растворе у сортов пшеницы, входящих в различающиеся по интенсивности экссудации аминокислот кластеры. Кластер 1 объединяет сорта Веда, Гром, Курьер, Лебедь, Лига-1, Таня и Фортуна; кластер 2 — сорта Безостая-1, Ласка и Лилек (рис. 1а). Кластеры указаны цифрами 1 и 2. Указаны средние значения ± стандартные ошибки. Различные латинские буквы указывают на достоверные различия между вариантами (критерий НСР Фишера, $P < 0.05$, n варьирует от 6 до 14 в зависимости от кластера).

В работе выявлена положительная корреляция между численностью популяции ростостимулирующей бактерии *P. fluorescens* SPB2137 в корневой зоне и интенсивностью экссудации корнями пшеницы аминокислот. При этом удалось идентифицировать конкретные аминокислоты, высокая экссудация которых сопровождалась увеличением численности *P. fluorescens* SPB2137. Однако такой взаимосвязи между растениями и показателями развития фитопатогенного гриба *F. culmorum* 30 не обнаружено. Это указывало на важную роль ами-

нокислот в развитии полезной микрофлоры в ризосфере. В то же время, количество выделяемого корнями глицина, который не поддерживал размножение ризобактерий, коррелировало с поражаемостью растений различными фитопатогенами в полевых условиях. Органические кислоты имели меньшее значение для развития популяции *P. fluorescens* SPB2137 на корнях и в питательном растворе, поскольку корреляции численности ризобактерий с этими экссудатами не обнаружено. Но сорта с интенсивной экссудацией малата оказались более чувствительны к мучнистой росе в полевых условиях. Сахара, а именно глюкоза и мелибиоза, являлись важными компонентами экссудации для проявления стимулирующего действия ризобактерий на рост корней пшеницы. Это, вероятно, было связано с их высокой ценностью для ризобактерий в качестве легкодоступного источника углерода и энергии. Полученные результаты показали, что формирование популяций микроорганизмов и реакция растений на инокуляцию обусловлены сложным паттерном комплекса корневых экссудатов. Более того, для реализации взаимодействий растений и микроорганизмов важен баланс компонентов экссудатов. Это продемонстрировано в работе путем расчета количественных соотношений между фракциями экссудатов. Соотношение количества аминокислот к органическим кислотам положительно коррелировало с численностью *P. fluorescens* SPB2137 на корнях пшеницы ($r = +0.64$; $P = 0.045$; $n = 10$), а отношение органических кислот к сахарам отрицательно коррелировало с заболеваемостью растений *F. culmorum* 30 ($r = -0.67$; $P = 0.033$; $n = 10$).

Интерес представляли обнаруженные негативные корреляции между численностью бактерий *P. fluorescens* SPB2137 на корнях в модельных экспериментах и заболеваемостью растений септориозом и твердой головней в полевых условиях Краснодарского края. Эти эксперименты подтвердили, что сорта с низкой способностью поддерживать высокую популяцию биоконтрольных бактерий в ризосфере более чувствительны к этим болезням. В какой степени эта зависимость обусловлена корневой экссудацией, остается открытым. Корреляционный анализ показал, что сорта с высокой экссудацией аминокислот обеспечивали более активное размножение биоконтрольных бактерий и более устойчивы к твердой головне. Однако поражаемость сортов стеблевой ржавчиной положительно коррелировала с экссудацией некоторых аминокислот. Наличие противоположных корреляций и связанные с этим противоречивые результаты свидетельствовали о сложных процессах взаимодействия компонентов растительно-микробных систем, обусловленных корневой экссудацией. Вектор этих процессов зависит от состава и количества отдельных компонентов экссудатов, вида и питательных особенностей микроорганиз-

мов, а также от ряда неопределяемых в данных экспериментах свойств обоих партнеров.

Информация о роли отдельных компонентов экссудатов в наблюдаемых эффектах весьма ограничена. Показано, что аланин и некоторые вторичные метаболиты пшеницы могут привлекать потенциально полезную микрофлору, относящуюся к семействам *Rhizobiaceae* и *Burkholderiaceae* [62]. Предположение о более высокой привлекательности органических кислот по сравнению с аминокислотами для ассоциативного азотфиксатора *Azospirillum brasilense* не подтвердилось, поскольку численность его популяции на корнях пшеницы и люцерны (растений с низкой и высокой экссудацией этих веществ) была одинаковой [63]. Эти данные поддерживают гипотезу о важной роли аминокислот в растительно-микробных взаимодействиях. Следует подчеркнуть, что аминокислота триптофан является ключевым микробным субстратом для биосинтеза фитогормона 3-индолилуксусной кислоты и стимуляции роста растений ризобактериями [64–66]. Другой аминокислотой, играющей определяющую роль в повышении устойчивости растений к стрессам благодаря микроорганизмам, является 1-аминоциклопропан-1-карбоксилат [67, 66]. Перспективным представляется более глубокое изучение взаимодействия растений с микроорганизмами, обусловленное другими аминокислотами.

Фрактальный принцип формообразования живых организмов является фундаментальным принципом [68, 69]. Этот принцип регламентирует степенное соотношение числа молекул различных аминокислот в профилях экссудации [51]. Фрактальный принцип реализован во фрактальной нейронной сети (ФНС), которая использовалась для обработки данных экссудации аминокислот различных сортов растений и вычисления индексов Симпсона, Шеннона, фрактальной биокомпозиции [53, 70]. ФНС рассчитывает индексы, анализируя отклонение реальных профилей аминокислотной экссудации от идеальной фрактальной модели [71] и используя рекурсивную методику обучения ФНС на фактических эмпирических данных [54].

Обнаружено, что *IndBcon* принимает значения в промежутке 0.59–0.91 (табл. 7). При этом максимальное значение *IndBcom* = 0.91 растений пшеницы сорта Лилек соответствует самой низкой их заболеваемости фузариозом (3 балла, рис. 1). Возможно, снижение предрасположенности к заболеванию фузариозом этих растений является следствием повышения защитных барьеров в растениях за счет повышения уровня согласованности и биокомпозиции внутренних биохимических процессов.

Следует подчеркнуть, что проблема расшифровки молекулярных механизмов взаимодействия рас-

тений, в том числе пшеницы, с фитопатогенами чрезвычайно важна и сложна [72, 73]. Имеются доказательства о взаимной координации поведения партнеров (хозяина и патогена), направленной на обеспечение сосуществования и ко-эволюцию [74]. Аналогичные закономерности описаны и для мутуалистических симбиозов растений с микроорганизмами [75]. Возможно, изучение особенностей корневой экссудации как фактора регуляции растительно-микробных взаимодействий внесет вклад в решение этой проблемы.

Полученные результаты поддерживают мнение исследователей о том, что путём регуляции корневой экссудации можно повысить конкурентоспособность и активность ростостимулирующих ризобактерий, уменьшить привлекательность данной экологической ниши для фитопатогенов и повысить устойчивость растений к различным абиотическим стрессам [43, 76, 77]. Выявленные ключевые компоненты экссудатов (некоторые аминокислоты, глюкоза и мелибиоза) могут быть использованы в качестве биохимических маркеров для селекции самодостаточных растительно-микробных систем, отвечающих требованиям современного устойчивого земледелия. Сорта Лилёк и Курьер, наиболее контрастные по экссудации аминокислот, и различающиеся также по экссудации органических кислот и сахаров (рис. 4) могут послужить моделью для изучения роли этих веществ в растительно-микробных взаимодействиях.

Авторы благодарны П.С. Ульяничу (ВНИИС-ХМ) за помощь в построении рис. 4.

Работа по культивированию растений и анализу корневых экссудатов выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проект № 15-04-09023). Математическая и биоинформатическая работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 22-26-00341).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Byerlee D., Moya P. Impacts of International Wheat Breeding Research in the Developing World, 1966–1990. / Eds. P.W. Heisey, M.A. Lantican, and H.J. Dubin. International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT), D.F., Mexico, 1993. 87 p.
2. Pingali P. // PNAS. 2012. V. 109. № 31. P. 12302–12308.
3. Raeboline A., Nelson L.E., Ravichandran K., Antony U. // J. Ethnic Foods. 2019. V. 6. Article 8. <https://doi.org/10.1186/s42779-019-0011-9>
4. Pearce S. // J. Exp. Bot. 2021. V. 72. № 2. P. 157–160.
5. Sharma R.C., Morgounov A., Akin B., Bespalova L., Lang L., Litvinenko M., et al. // Crop Sci. 2014. V. 54. № 6. P. 2469–2480.
6. Li S., Zhang C., Li J., Yan L., Wang N., Xia L. // Plant Commun. 2021. V. 2. № 4. P. 100211.
7. Elkoca E., Turan M., Donmez M.F. // J. Plant Nutr. 2010. V. 33. P. 2104–2119.
8. Vessey J.K. // Plant Soil. 2003. V. 255. P. 571–586.
9. Ryan P.R., Dessaux Y., Thomashow L.S., Weller D.M. // Plant Soil. 2009. V. 321. P. 363–383.
10. Кожемяков А.П., Белоброва С.Н., Орлова А.Г. // Сельскохозяйственная биология. 2011. № 3. С. 112–115.
11. Chandran H., Meena M., Swapnil P. // Sustainability. 2021. V. 13. Article 10986. <https://doi.org/10.3390/su131910986>
12. Beneduzi A., Ambrosini A., Passaglia L.M.P. // Genet. Mol. Biol. 2012. V. 35. P. 1044–1051.
13. Chaluvadi S., Bennetzen J.L. // Front. Plant Sci. 2018. V. 9. Article 1183. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01183>
14. Kudoyarova G., Arkhipova T., Korshunova T., Bakaeva M., Loginov O., Dodd I.C. // Front. Plant Sci. 2019. V. 10. Article 1368. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01368>
15. Mohanram S., Kumar P. // Ann. Microbiol. 2019. V. 69. P. 307–320.
16. Weller D.M., Thomashow L.S. // Molecular Ecology of Rhizosphere Microorganisms. / Eds. O’Gara F., Dowling D.N., Boesten B. Weinheim, New York: VCH Publisher Inc., 1994. P. 1–18.
17. Whipps J.M. // J. Exp. Bot. 2001. V. 52. P. 487–511.
18. Belimov A., Kojemiakov, A., Chuvarliyeva C. // Plant Soil. 1995. V. 173. P. 29–37.
19. Lugtenberg B., Kamilova F. // Annu. Rev. Microbiol. 2009. V. 63. P. 541–556.
20. Bürgmann H., Meier S., Bunge M., Widmer F., Zeyer J. // Environ. Microbiol. 2005. V. 7. P. 1711–1724.
21. Lugtenberg B.J.J., Dekkers L., Bloemberg G.V. // Annu. Rev. Phytopathol. 2001. V. 39. P. 461–490.
22. Кравченко Л.В., Азарова Т.С., Леонова–Ермо Е.И., Шапошников А.И., Макарова Н.М., Тихонович И.А. // Микробиология. 2003. Т. 72. № 1. С. 48–53.
23. de Werra P., Huser A., Tabacchi R., Keel C., Maurhofer M. // Appl. Environ. Microbiol. 2011. V. 77 № 8. P. 2807–2812.
24. Lynch J.M., Whipps J.M. // Plant Soil. 1990. V. 129. P. 1–10.
25. Bais H.P., Weir T.L., Perry L.G., Gilroy S., Vivanco J.M. // Ann. Rev. Plant Biol. 2006. V. 57. P. 233–266.
26. de Weert S., Vermeiren H., Mulders I.H.M., Kuiper I., Hendrickx N., Bloemberg G.V., Vanderleyden J., De Mot R., Lugtenberg B.J.J. // Mol. Plant-Microbe Interact. 2002. V. 15. P. 1173–1180.
27. Rudrappa T., Czymmek K.J., Pare P.W., Bais H.P. // Plant Physiol. 2008. V. 148. P. 1547–1556.
28. Ling N., Raza W., Ma J., Huang Q., Shen Q. // Eur. J. Soil Biol. 2011. V. 47. P. 374–379.
29. Tan S., Yang C., Mei X., Shen S., Raza W., Shen Q., Xu Y. // Appl. Soil Ecol. 2013. V. 64. P. 15–22.
30. Ren L., Huo H., Zhang F., Hao W., Xiao L., Dong C., Xu G. // Plant Signal. Behav. 2016. V. 11. № 6. Article e1187357. <https://doi.org/10.1080/15592324.2016.1187357>
31. Perry L.G., Alford E.R., Horiuchi J., Paschke M., Vivanco J.M. // The Rhizosphere (Second Edition). / Eds. Pinton, R.,

- Varanini, Z., Nannipieri P. Boca Raton, FL: CRC Press, 2007. P. 297–330.
32. Broeckling C.D., Broz A.K., Bergelson J., Manter D.K., Vivanco J.M. // *Appl. Environ. Microbiol.* 2008. V. 74. № 3. P. 738–744.
 33. Кравченко Л.В., Шапошников А.И., Макарова Н.М., Азарова Т.С., Львова К.А., Костюк И.И., Ляпунова О.А., Тихонович И.А. // *Физиология растений.* 2011. Т. 58. № 5. С 1–6.
 34. Stringlis I.A., Yu K., Feussner K., de Jonge R., Van Bentum S., Van Verk M.C., Berendsen R.L., Bakker P.A.H.M., Feussner I., Pieterse C.M.J. // *PNAS.* 2018. V. 115. № 22. P. E5213–E5222.
 35. Cotton T.E.A., Pe'triacq P., Cameron D.D., Meselmani M.A., Schwarzenbacher R., Rolfe S.A., Ton J. // *ISME J.* 2019. V. 13. P. 1647–1658.
 36. Huang A.C., Jiang T., Liu Y.X., Bai Y.C., Reed J., Qu B., Goossens A., Nützmann H.W., Bai Y., Osbourn A. // *Science.* 2019. V. 364. № 6440. eaau6389. <https://doi.org/10.1126/science.aau6389>
 37. Prudence S.M., Newitt J.T., Worsley S.F., Macey M.C., Murrell J.C., Lehtovirta–Morley L.E., Hutchings M.I. // *Environ. Microbiome.* 2021. V. 16. Article 12. <https://doi.org/10.1186/s40793-021-00381-2>
 38. Shi J.B., Gong X.Y., Khashi u Rahman M., Tian Q., Zhou X.G., Wu F.Z. // *Plant Soil Environ.* 2021. V. 67. P. 721–728.
 39. Owens A.G., Jones D.L. // *Soil Biol. Biochem.* 2001. V. 33. P. 651–657.
 40. Chen S., Waghmode T.R., Sun R., Kuramae E.E., Hu C., Liu B. // *Microbiome.* 2019. V. 7. Article 136. <https://doi.org/10.1186/s40168-019-0750-2>
 41. Hu L., Robert C.A.M., Cadot S., Zhang X., Ye M., Li B., Manzo D., Chervet N., Steinger T., van der Heijden M.G.A., Schlaeppi K., Erb M. // *Nat. Commun.* 2018. V. 9. Article 2738. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-05122-7>
 42. Belimov A.A., Dodd I.C., Safronova V.I., Shaposhnikov A.I., Azarova T.S., Makarova N.M., Davies W.J., Tikhonovich I.A. // *Ann. Appl. Biol.* 2015. V. 167. P. 11–25.
 43. Phillips D.A., Fox T.C., King M.D., Bhuvaneswari T.V., Teuber L.R. // *Plant Physiol.* 2004. V. 136. P. 2887–2894.
 44. Kawasaki A., Dennis P.G., Forstner C., Raghavendra A.K.H., Mathesius U., Richardson A., Delhaize E., Gilliam M., Watt M., Ryan P.R. // *Plant Physiol.* 2021. V. 187. P. 2279–2295.
 45. Yahya M., Islam E.U., Rasul M., Farooq I., Mahreen N., Tawab A., Irfan M., Rajput L., Amin I., Yasmin S. // *Front. Microbiol.* 2021. V. 12. Article 744094. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.744094>
 46. Sasse J., Martinoia E., Northen T. // *Trends Plant Sci.* 2018. V. 25. № 1. P. 25–41.
 47. Tsunoda T., van Dam N.M. // *Pedobiologia.* 2017. V. 65. P. 58–67.
 48. Pang Z., Chen J., Wang T., Gao C., Li Z., Guo L., Xu J., Cheng Y. // *Front. Plant Sci.* 2021. V. 12. Article 621276. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.621276>
 49. Кравченко Л.В., Макарова Н.М., Азарова Т.С., Про-
воров Н.А., Тихонович И.А. // *Микробиология.* 2002. Т. 71. № 4. С. 521–525.
 50. Струнникова О.К., Шахназарова В.Ю., Вишневская Н.А., Ручий А.С., Чижевская Е.П. // *Микология и фито-
патология.* 2013. Т. 47. № 3. С. 196–203.
 51. Мэгарран Э. Экологическое разнообразие и его из-
мерение. М.: Мир, 1992. 184 с.
 52. Городничев Р.М., Пестрякова Л.А., Ушницкая Л.А.,
Левина С.Н., Давыдова П.В. Методы экологических
исследований. Основы статистической обработки
данных: учебно-методическое пособие. Якутск:
Издательский дом СВФУ, 2019. 94 с.
 53. Мандельброт Б. Фрактальная геометрия природы.
М.: Институт компьютерных исследований, 2002.
656 с.
 54. Сергеев А.П., Тарасов Д.А. Введение в нейросетевое
моделирование: учебное пособие Екатеринбург:
Изд-во Уральского университета, 2017. 128 с.
 55. Гудфеллоу Я., Бенджио И., Курвилль А. Глубокое
обучение. М.: ДМК Пресс, 2018. 652 с.
 56. Naher U.A., Radziah O., Halimi M.S., Shamsuddin Z.H.,
Mohd Razi I. // *Res. J. Microbiol.* 2008. V. 3. P. 580–
587.
 57. Кузмичева Ю.В., Шапошников А.И., Азарова Т.С.,
Петрова С.Н., Наумкина Т.С., Борисов А.Ю., Бели-
мов А.А. и др. // *Физиология растений.* 2014. Т. 61.
№ 1. С. 121–128.
 58. Inceoglu Ö., Salles J.F., van Elsas J.D. // *Microb. Ecol.*
2012. V. 63. P. 460–470.
 59. Kuzmicheva Y.V., Shaposhnikov A.I., Petrova S.N., Ma-
karova N.M., Tychinskaya I.L., Puhalsky J.V. et al. // *Plant Soil.* 2017. V. 419. P. 83–96.
 60. Шапошников А.И., Моргунов А., Акин Б., Макарова Н.М.,
Белимов А.А., Тихонович И.А. // *Сельскохозяй-
ственная биология.* 2016. Т. 51. № 1. С. 58–78.
 61. Beleggia R., Rau D., Laidò G., Platani C., Nigro F., Fra-
gasso M., De Vita P., Scossa F., Fernie A.R., Nikoloski Z.,
Papa R. // *Mol. Biol. Evol.* 2016. V. 33. P. 1740–1753.
 62. Iannucci A., Fragasso M., Beleggia R., Nigro F., Papa R. // *Front. Plant Sci.* 2017. V. 8. Article 2124. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.02124>
 63. Qu Q., Li Y., Zhang Z., Cui H., Zhao Q., Liu W., Lu T.,
Qian H. // *J. Hazard Mater.* 2021. V. 411. Article
125137. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.125137>
 64. O'Neal L., Vo L., Alexandre G. // *Appl. Environ. Mi-
crobiol.* 2020. V. 86. № 15. Article e01026-20. <https://doi.org/10.1128/AEM.01026-20>
 65. Цавкелова Е.А., Климова С.Ю., Чердынцева Т.А.,
Нетрусов Л.И. // *Прикл. биохимия и микробиоло-
гия.* 2006. Т. 42. № 2. С. 133–143.
 66. Patten C.L., Blakney A.J., Coulson T.J. // *Crit. Rev. Mi-
crobiol.* 2013. V. 39. № 4. P. 395–415.
 67. Сырова Д.С., Шапошников А.И., Юзихин О.С., Бели-
мов А.А. // *Прикл. биохимия и микробиология.*
2022. Т. 58. № 1. С. 3–22.
 68. Glick B.R., Biljana T., Czarny J., Cheng Z., Duan J.,
McConkey B. // *Crit. Rev. Plant Sci.* 2007. V. 26.
P. 227–242.
 69. Богатых Б.А. Фрактальная природа живого: си-
стемное исследование биологической эволюции и
природы сознания. М.: Книжный дом “ЛИБЕ-
КОМ”, 2012. 256 с.

70. Мандельброт Б. Фрактальная геометрия природы. М.: Институт компьютерных исследований, 2002. 656 с.
71. Гафаров Ф.М., Галимянов А.Ф. Искусственные нейронные сети и приложения: учебное пособие. Казань: Изд-во Казанского университета, 2018. 121 с.
72. Воробьев Н.И., Селина М.В. // Пермский аграрный вестник. 2021. № 4(36). С. 92–99.
73. Keller B., Wicker T., Krattinger S.G. // Annu. Rev. Phytopathol. 2018. V. 56. P. 67–87.
74. Wulff B.B., Krattinger S.G. // Curr. Opin. Biotechnol. 2022. V. 73. P. 270–275.
75. Dracatos P.M., Haghdoust R., Singh D., Park R.F. // New Phytol. 2018 V. 218. № 2. P. 453–462.
76. Проворов Н.А., Тихонович И.А., Воробьев Н.И. // Генетика. 2016. Т. 52. № 2. С. 137–145.
77. Rengel Z. // Plant Soil. 2002. V. 245. P. 59–70.
78. Wang J., Li R., Zhang H., Wei G., Li Z. // BMC Microbiol. 2020. V. 20. Article 38.
<https://doi.org/10.1186/s12866-020-1708-z>

Relationship between the Composition of Root Exsudates and the Efficiency of Interaction of Wheat Plants with Microorganisms

A. I. Shaposhnikov^a, A. A. Belimov^{a, *}, T. S. Azarova^a, O. K. Strunnikova^a, N. A. Vishnevskaya^a,
N. I. Vorobyov^a, O. S. Yuzikhin^a, L. A. Besspalova^b, and I. A. Tikhonovich^a

^a All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology, St. Petersburg, 196608 Russia

^b National Grain Center named after P.P. Lukyanenko,
Central Estate of KNIISH, Krasnodar, Krasnodar Territory, 350012 Russia

*e-mail: belimov@rambler.ru

Plant roots secrete various organic substances into the rhizosphere, which are a source of nutrition for microorganisms and largely determine the nature of plant-microbe interactions. The composition of the main fractions of root exudates in ten modern varieties of wheat was determined: amino acids, organic acids and sugars. Reliable qualitative and quantitative differences between varieties for individual components of exudates were revealed, which determined the peculiarities of cultivar clustering on this trait. Relationships between exudation and the effectiveness of plant interaction with the growth-promoting rhizobacterium *Pseudomonas fluorescens* SPB2137 and the phytopathogenic fungus *Fusarium culmorum* 30 in laboratory systems, as well as with the resistance of varieties to diseases in the field, were found. The number of *P. fluorescens* SPB2137 in the root zone positively correlated with the amount of many amino acids, as well as maltose, secreted by the roots. The stimulating effect of rhizobacteria on root growth positively correlated with the amount of released glucose and melibiose. The relationship between the nature of root exudation and root colonization or the susceptibility of varieties to *F. culmorum* 30 was not found. The analysis of correlations between the incidence of wheat varieties in the field and the intensity of exudation of certain substances, as well as with the biocomposition index of amino acid exudation, was carried out. The role of root exudate components in the formation of effective plant-microbial systems is discussed.

Keywords: *Fusarium*, root exudates, plant-microbe interactions, *Pseudomonas*, wheat, rhizosphere, symbiosis, *Triticum*, exometabolites