

**Московский Государственный Университет  
им. М.В. Ломоносова**

**Кафедра микологии и альгологии**

**Звенигородская биологическая станция  
им. С.Н. Скадовского**

**Материалы VII всероссийской микологической школы-  
конференции с международным участием**

**«БИОТИЧЕСКИЕ СВЯЗИ ГРИБОВ:  
МОСТЫ МЕЖДУ ЦАРСТВАМИ»**

ЗБС МГУ

2015

УДК 582.28

**Материалы VII всероссийской микологической школы-конференции с международным участием «Биотические связи грибов: мосты между царствами». Сборник докладов и тезисов, 2015.  
232 с.**

**В сборник сошли доклады и тезисы конференции. Доклады опубликованы в виде научных обзоров, посвященных взаимоотношению грибов с другими организмами. Сборник рекомендуется студентам, аспирантам и научным сотрудникам биологических институтов и ВУЗов.**

Школа проведена при финансовой поддержке Российского Фонда  
Фундаментальных Исследований — грант РФФИ 15-04-20313 г,

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ

## СОДЕРЖАНИЕ

Благовещенская Е.Ю. Методы выявления грибов филлопланы.....	5
Благовещенская Е.Ю. Разнообразие системных эндофитов.....	10
Дьяков Ю.Т. Грибные элиситоры.....	18
Дьяков Ю.Т. Инвазии фитопатогенных грибов.....	39
Камзолкина О.В., Штаер О.В., Кудрявцева О.А., Мажейка И.С. Эндоцитоз у грибов.....	50
Кураков А.В., Харин С.А. Взаимодействие грибов и дождевых червей.....	67
Максимов И.В., Яруллина Л.Г. Трофические группы фитопатогенов: механизмы взаимодействия и коэволюция с хозяевами.....	106
Мучник Е.Э. Жизненные формы лишайников: взгляды, системы, эволюция.....	173
Пашенова Н.В., Баранчиков Ю.Н. Связь офиостомовых грибов с насекомыми-ксилофагами в хвойных лесах.....	187
Тезисы постерных докладов.....	207



# МЕТОДЫ ВЫЯВЛЕНИЯ ГРИБОВ ФИЛЛОПЛАНЫ

Благовещенская Е.Ю.

*Московский Государственный университет имени М.В. Ломоносова*  
kathryn@yandex.ru

Поверхность растений, которая определяет границу между собственно растением и внешней средой, — это очень важная с экологической точки зрения ниша, где могут временно находиться или же обитать постоянно самые разные организмы – от бактерий до высших растений (Leben, 1965). Достаточно большие неудобства создает имеющаяся на настоящий момент путаница в терминах, описывающих данное местообитание и тех, кто в этом местообитании находится. Точкой официального отсчета можно считать середину 20 века, когда двумя авторами независимо был предложен термин «филлосфера» для обозначения поверхности листьев как среды обитания непаразитических грибов аналогично термину «ризосфера» (Last, 1955; Ruinen, 1956). Далее термин «филлосфера» стали иногда распространять и на поверхность всей надземной части растения (Lindow and Brandl, 2003) с подразделениями на карпосферу (поверхность плодов), каумосферу и т.п. С другой стороны, в качестве филлосферы некоторыми авторами рассматривается не только поверхность листа, но и пространство подустычных камер, а также ближайшая к поверхности зона апопласта (Kharwar et al., 2010), а иногда и весь лист целиком (Cargol et al., 1977; Osono, 2008). Для уточнения зоны поверхности листьев вводится более строгий термин «филлоплана» (Dickinson, 1973; Godfrey, 1974; Langwad, 1980), с которым происходит ровно та же история. Можно встретить работы, где филлоплана и филлосфера рассматриваются как синонимы (Norse, 1972), работы, где под филлопланой авторы понимают поверхность не только листьев, но и стеблей, а также не только поверхность, но и прилегающие к поверхности слои клеток, либо даже вообще называют грибами филлопланы все, что было выделено с листовых пластинок (Alhubaishi and Abdel-Kader, 1991; El-Said, 2001). Другие сложности возникают с непатогенностью обитателей, которая указывалась в первых определениях (Last, 1955). Действительно, такая важная группа как мучнисторосяные грибы, насколько мы можем наблюдать, заселяют, за исключением нескольких видов, именно поверхность листьев. Несмотря на то, что питаются они с помощью гаусторий, проникающих в клетки эпидермиса, их местообитание логично рассматривать именно как филлоплану, поскольку именно здесь располагается и их мицелий, и спороносные структуры, и грибы эти подвергаются всему комплексу воздействий, характерных для такого открытого места

(Wheeler, 1981). Далее мы будем придерживаться строго значения слова «филлоплана» (поверхность листьев), непатогенные грибы, которые, как правило, проходят весь свой жизненный цикл на поверхности растения, будут рассматриваться как грибы-эпифиты, прочие грибы мы рассматриваем или как фитопатогены, развивающиеся в филлоплане, или же, как грибы, имеющие краткую эпифитную стадию.

Методы выявления грибов филлопланы можно разделить на прямые и косвенные. Прямые — это цитологические методы, напрямую выявляющие присутствие грибных структур на поверхности растения при наблюдении в световом (СМ) или электронном микроскопе. Данные методы позволяют изучать распределение мицелия непосредственно на листьях, оценивать его обилие и сезонную динамику развития эпифитов (Lee and Hyde, 2002). Для изучения поверхности листа можно использовать срывы эпидермиса, а также можно получить отпечаток листа с помощью поливиниловой пленки или аналогичных по действию веществ. В последнем случае мы будем изучать слепок листовой поверхности, где в том числе, отпечатаются и присутствующие на листе грибные структуры. С помощью сканирующего электронного микроскопа (СЭМ) можно изучать непосредственно филлоплану (Hallet et al., 2010). У этих методов имеется ряд недостатков. Во-первых, общим для всех перечисленных методов будет являться то, что, как правило, мы не знаем, какие именно виды мы наблюдаем, из-за того, что мы часто видим только вегетативные структуры. Во-вторых, в СМ грибы в большинстве случаев плохо заметны и требуют дополнительного окрашивания. Существует много красителей, служащих для этих целей, в том числе довольно простые (например, анилиновый синий), но здесь мы встретим две сложности. В случае срывов эпидермиса будет сложно различить грибы, находящиеся на поверхности, и грибы, развивающиеся непосредственно в эпидермисе или под ним (например, клавиципитальные эндофиты злаков). А работая с отпечатками, будут возникать проблемы именно с окрашиванием, так как мы имеем дело не непосредственно с гифой, а только с ее слепком. Третий недостаток относится к работе с СЭМ — данный метод требует значительных временных затрат и позволяет обработать небольшое количество материала за единицу времени. Тем самым, если в нескольких подготовленных образцах эпифитные грибы отсутствовали, окажется что время и реактивы потрачены впустую.

Косвенные методы позволяют выявлять непосредственно грибы, путем либо выделения грибов на питательные среды, либо диагностируя их молекулярно-генетическими методами.

Выделение грибов на питательные среды обычно проводится методом смывов и методом отпечатков. В качестве питательных сред используются полусинтетические среды, такие как картофельно-глюкозный агар и

среды на основе суслы (сусло-агар, мальт-экстракт агар и т.п.), в которые для предотвращения развития бактерий либо добавляются антибиотики, либо проводится подкисление среды лимонной или молочной кислотами. Метод смывов предполагает высев суспензии, полученной при взбалтывании фрагментов листьев в стерильной воде с каким-либо детергентом. Недостатком данного метода является то, что наряду с эпифитными грибами будут выделяться случайные контаминанты, споры которых присутствовали в филлоплане (Lee and Hyde, 2002). Скорее всего, многочисленные колонии *Aspergillus* spp. и *Penicillium* spp., встречающиеся во многих работах, выполненных методом смывов (Alhubaishi and Abdel-Kader, 1991; El-Said, 2001), — это просто результат случайного заноса спор вместе с пылью. Метод отпечатков предполагает предварительное промывание листьев стерильной водой именно для удаления случайных организмов с поверхности листа. Промытые фрагменты на какое-то время прикладывают к поверхности питательной среды, после чего удаляют (Dickinson et al., 1974; Santamaría and Bayman, 2005; Kharwar et al., 2010). Один и тот же фрагмент можно отпечатать несколько раз, что позволяет работать с меньшим количеством материала (Благовещенская, 2014). Общим недостатком для этих двух методов является то, что они игнорируют плотно прикрепленные в кутикуле листа объекты и / или виды, не культивируемые на используемых средах.

Также был предложен своеобразный метод улавливания грибных спор (spore-fall method), заключающийся в том, что лист закрепляли внутри чашки Петри над поверхностью питательной среды (Dickinson, 1973; Langvad, 1980). Этот метод весьма результативен, но позволяет выявить только те из эпифитных грибов, которые на момент исследования находятся в стадии спороношения.

Диагностика эпифитных грибов методами молекулярной биологии позволяет выявить пул некультивируемых видов. Но пока данный метод используется или для выявления вообще всей грибной ДНК, присутствующей в листе (Chiang et al., 2001), или же для выявления на поверхности листьев конкретных патогенных видов (O'Callaghan et al., 2006). Если использовать данный метод, обрабатывая не весь лист, а только смыв с поверхности, то мы, как и в случае с изоляцией на питательную среду, столкнемся с проблемой случайных заносных видов.

В целом, при изучении эпифитных грибов, с высокой частотой выделяются неспорулирующие виды, идентификация которых возможна только молекулярными методами (Lee and Hyde, 2002; Santamaría and Bayman, 2005). Среди спорулирующих изолятов обычные виды родов *Alternaria*, *Aureobasidium*, *Epicoccum*, *Cladosporium*, *Fusarium*, *Phoma* (Godfrey, 1974; Legault, 1989; Falconi and Mendgen, 1994; Lee and Hyde, 2002; Osono, 2008; Благовещенская, 2014), хотя в ряде исследований

отмечен более специфический круг грибов (Santamaría and Bayman, 2005). Эпифиты характеризуются выраженной сезонной динамикой, различающейся в зависимости от региона исследования и растения-форофита (Lee and Hyde, 2002; Osono, 2008; Li et al., 2012). Обычно считается, что эти грибы не оказывают отрицательного воздействия на растения, а наоборот выступают в качестве «нормальной микрофлоры», которая может препятствовать появлению на этих листьях грибов-патогенов, что отчасти подтверждается тем, что для некоторых эпифитов экспериментально показан антагонизм по отношению к фитопатогенным грибам (Falconi and Mendgen, 1994; Kharwar et al., 2010).

Подводя итоги можно сказать, что грибы филлопланы — это своеобразная экологическая группа, играющая важную роль, как в жизни растения, так и в жизни прочих организмов, жизненный цикл которых связан с растением. Несмотря на методические сложности, связанные с изучением биологии этой группы, наши знания о них, несомненно, будут расширяться и на этом пути можно ожидать много интересных открытий.

### Литература

- Благовещенская Е.Ю. (2014) Метод последовательных отпечатков для выявления грибов филлопланы. Современные проблемы физиологии, экологии и биотехнологии микроорганизмов: Всероссийский симпозиум с международным участием (ред. Нетрусов А.И., Колотилова Н.Н.), МАКС-Пресс, Москва, 35.
- Alhubaishi A.A.A., Abdel-Kader M.I.A. (1991) Phyllosphere and phylloplane fungi of qat in Sana'a, Yemen Arab Republic. J. Basic Microbiol. 31: 83 – 89.
- Carroll G.C., Muller E.M., Sutton B.C. (1977). Preliminary studies on the incidence of needle endophytes in some European conifers. Sydowia. 29: 87 – 103.
- Dickinson C.H. (1973) Effects of ethirimol and zineb on phylloplane microflora of barley. Trans. Br. Mycol. Soc. 60: 423 – 431.
- Dickinson C.H., Watson J., Wallace B. (1974) An impression method for examining epiphytic micro-organisms and its application to phylloplane studies. Trans. Br. Mycol. Soc. 63: 616 – 619.
- El-Said A.H.M. (2001) Phyllosphere and phylloplane fungi of banana cultivated in Upper Egypt and their cellulolytic ability. Mycobiology. 29: 210 – 217.
- Falconi C.J., Mendgen K. (1994) Epiphytic fungi on apple leaves and their value for control of the postharvest pathogens *Botrytis cinerea*, *Monilinia fructigena* and *Penicillium expansum*. Epiphytische Pilze auf Apfelblättern und ihre Eignung für die Bekämpfung der Apfelfauleerreger *Botrytis cinerea*, *Monilinia fructigena* und *Penicillium expansum*. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz. 101: 38 – 47.
- Godfrey B.E.S. (1974) Phylloplane mycoflora of bracken, *Pteridium aquilinum*. Trans. Br. Mycol. Soc. 62: 305 – 311.
- Hallett I.C., Boyd-Wilson K.S.H., Everett K.R. (2010) Microscope methods for observation of the phylloplane flora. New Zealand Plant Protection. 63: 15 – 23.
- Kharwar R.N., Gond S.K., Kumar A., Mishra A. (2010) A comparative study of endophytic and epiphytic fungal association with leaf of *Eucalyptus citriodora*

- Hook., and their antimicrobial activity. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 26: 1941 – 1948.
- Langvad F. (1980) A simple and rapid method for qualitative and quantitative study of the fungal flora of leaves. *Can. J. Bot.* 26: 666 – 670.
- Last F.T. (1955) Seasonal incidence of *Sporobolomyces* on cereal leaves. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 38: 221 – 239.
- Leben C. (1965) Epiphytic microorganisms in relation to plant disease. *Annu. Rev. Phytopathol.* 3: 209 – 230.
- Lee O.H.K., Hyde K.D. (2002) Phylloplane fungi in Hong Kong mangroves: evaluation of study methods. *Mycologia.* 94: 596 – 606.
- Legault D., Dessureault M., Laflamme G. (1989). Mycoflora of *Pinus banksiana* and *Pinus resinosa* needles. II. Epiphytic fungi. *Can. J. Bot.* 67: 2061 – 2065.
- Li S., Peng Y., Zhu T., Zhu H., Mao C., Qiao T. (2012) Diversity of epiphytic fungi on the diseased and healthy leaves of *Bambusa*. *African J. Microbiol. Research.* 6: 7556 – 7563.
- Lindow S.E., Brandl M.T. (2003) Microbiology of the phyllosphere. *Appl. Environ. Microbiol.* 69: 1875 – 1883.
- Norse D. (1972) Fungal populations of tobacco leaves and their effect on the growth of *Alternaria longipes*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 59: 261 – 271.
- O'Callaghan M., Lorenz N., Gerard E.M. (2006) Characterization of phylloplane and rhizosphere microbial populations using PCR and denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE). *Molecular approaches to soil, rhizosphere and plant microorganism analysis* (ed. Cooper J.E., Rao J.R.), CABI, 99 – 115.
- Osono T. (2008) Endophytic and epiphytic phyllosphere fungi of *Camellia japonica*: seasonal and leaf age-dependent variations. *Mycologia.* 100: 387 – 391.
- Ruinen J. (1956) Occurrence of *Beijerinikia* species in the 'phyllosphere'. *Nature.* 177: 220 – 221.
- Santamaría J., Bayman P. (2005) Fungal epiphytes and endophytes of coffee leaves (*Coffea arabica*). *Microb. Ecol.* 50: 1 – 8.
- Chiang Y.-C., Chou C.-H., Lee P.-R., Chiang T.-Y. (2001) Detection of leaf-associated fungi based on PCR and nucleotide sequence of the ribosomal internal transcribed spacer (ITS) in *Miscanthus*. *Bot. Bull. Acad. Sin.* 42: 39 – 44.
- Wheeler B.E.J. (1981) Biology of powdery mildews on leaf surfaces. *Microbial ecology of the phylloplane* (ed. Blakeman J.P.), Academic Press, London. 69 – 84.

# РАЗНООБРАЗИЕ СИСТЕМНЫХ ЭНДОФИТОВ

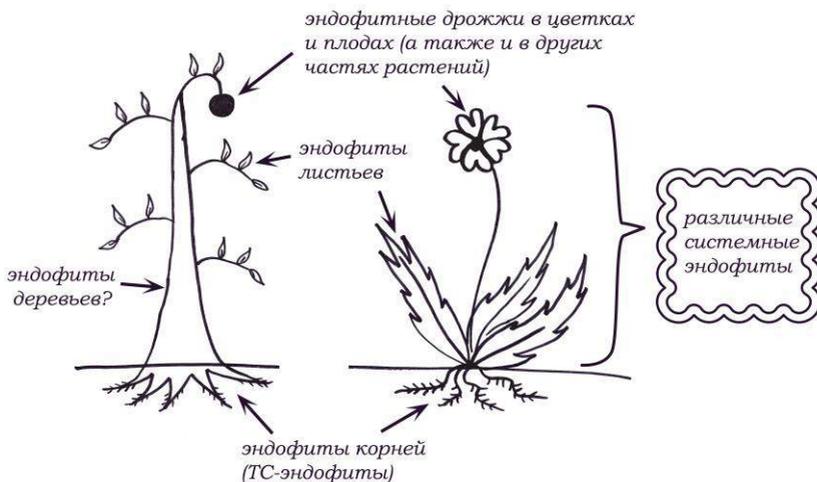
Благовещенская Е.Ю.

*Московский Государственный университет имени М.В. Ломоносова*  
kathryn@yandex.ru

Эндофитные грибы — это грибы, заселяющие ткани растений и не вызывающие видимых симптомов заболеваний. Как показывают исследования, эндофиты чрезвычайно широко распространены в природе, заселяя практически любые органы и ткани растений (рис. 1). В запасующих органах часто можно обнаружить почкующиеся дрожжевые клетки, также иногда дрожжи обнаруживают и в вегетативных тканях растений (Abranches et al., 2001; Исаева и др., 2010). Непатогенные грибы нередко обнаруживаются в зеленых листьях растений, что особенно характерно для деревьев тропических стран, где обилие микроколоний эндофитов в каждом листе столь велико, что может достигать величины 1 колония на 2 кв. мм (Arnold, 2007; Vega et al., 2010). Данные грибы несомненно играют важную роль в биологии растения, хотя ввиду микроскопических размеров колоний эндофитов листьев исследовать их влияние на хозяина затруднительно. Во всяком случае экспериментально показано, что муравьи-листорезы предпочитают собирать листья тех растений, где содержание эндофитов меньше (Bittlestone et al., 2011).

Оба описанных варианта предполагают локальное развитие грибов в дрожжевой или мицелиальной формах, но существует множество случаев, когда развитие гриба происходит системным образом, и мицелий пронизывает значительную часть надземных и / или подземных органов растения хозяина, образуя длительные стабильные ассоциации, рассматриваемые иногда как аналог лишайника.

Некоторым особняком в этом ряду стоят эндофиты деревьев, поскольку значительная часть ствола дерева представлена отмершими клетками, а термин «эндофит» обычно предполагает взаимодействие гриба именно с живой тканью растения. Тем не менее, еще в конце XIX века было постулировано присутствие грибов в древесине здоровых деревьев, что позднее подтверждалось отдельными исследователями (Chapela, 1989; Oses et al., 2006; de Errasti et al., 2010).



**Рис. 1.** Схема возможного присутствия грибов в различных органах растений.

Эндифиты, заселяющие подземные части растений, часто рассматривают при изучении микориз (Смит и Рид, 2012). Это преимущественно темноокрашенные грибы с меланизированной септой, благодаря чему их называют «темными септированными эндифитами» или «ТС-эндифитами». Сами эти грибы были обнаружены еще в начале прошлого века, но название за этой группой закрепилось после выхода обзора Ари Джампонена и Джеймса Траппе, где были сведены в единое целое имеющиеся разрозненные данные и обозначения и предложен термин «DSE» — «Dark Septate Endophytes» (Jumpponen and Trappe, 1998). Малое внимание, которое уделяли этой группе, связано во многом с тем, что большинство изолятов ТС-эндифитов являются стерильными и нет никакой возможности судить об их таксономической принадлежности. Немногие спорулирующие изоляты преимущественно принадлежат порядку Helotiales (Leotiomycetes, Pezizomycotina, Ascomycota), это такие анаморфные роды как *Phialocephala* и *Cadophora* (Jumpponen and Trappe, 1998). Но среди первых спорулирующих видов также известен вид *Chloridium paucisporum* C.J.K. Wang & H.E. Wilcox, относящийся к классу Sordariomycetes (Jumpponen and Trappe, 1998), так что уже на ранних стадиях изучения была видна гетерогенность этой группы. С развитием молекулярных методов к вопросу таксономического статуса неспорулирующих ТС-эндифитов вернулись и обнаружили, что все эти внешне одинаковые грибы расходятся чуть ли не по всем известным

группам дикариомицетов — от кордицепсов до копринусов (Piercy et al., 2004; Porrás-Alfaro et al., 2008; Knapp et al., 2012). То есть эта группа не таксономическая, а экологическая и виды из разных таксономических групп имеют сходное строение и образ жизни. Встречаются ТС-эндофиты повсеместно, отмечены они для очень многих видов растений, в том числе для споровых (Jumpponen and Trappe, 1998; Newsham et al., 2009). В растениях они развиваются внутриклеточно, пронизывая клетки корня, но не повреждая их. Из клетки в клетку гифа гриба переходит формируя т.н. «проникающую трубочку», диаметр которой в несколько раз меньше диаметра гифы, что, по-видимому, и позволяет мицелию развиваться, не повреждая клетки хозяина. Иногда ТС-эндофиты образуют плотные тела (микросклероции), заполняющие клетку хозяина целиком и служащие, вероятно, для перенесения неблагоприятных условий (Jumpponen and Trappe, 1998). Одновременно растение может формировать нормальную микоризу, более того, есть данные, что ТС-эндофиты стимулируют прорастание спор гломусовых грибов (Likar and Regvar, 2009; Scervino et al., 2009). Что касается влияния этих грибов на растение-хозяина, то этот вопрос находится в стадии активного изучения. Показано, что, по крайней мере, для проростков или молодых растений наличие ТС-эндофита может быть весьма благоприятно (Achatz et al., 2010; Alberton et al., 2010; Andrade-Linares et al., 2011).

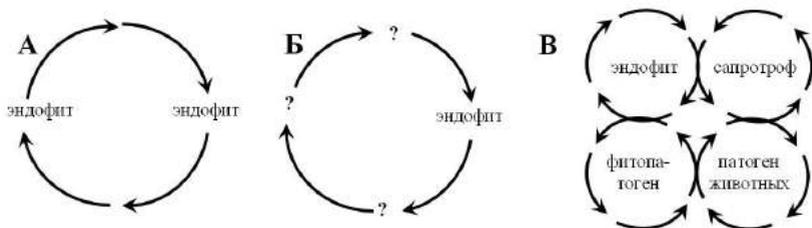
Достаточно интересна ситуация с водно-воздушными гифомицетами или т.н. «ингольдовыми грибами». При изучении этой группы довольно давно встал вопрос, как в природе предотвращается снесение популяции вниз по течению (Bärlocher, 1992). Для объяснения этого были предложены различные гипотезы: (1) колонизация древесных субстратов, которые могут существовать на одном месте в течение нескольких лет; (2) присутствие телеоморфной стадии, формирующей споры, распространяемые по воздуху; (3) распространение спор и колонизированных листьев животными; (4) присутствие грибов в наземных местообитаниях (как патогены растений или *эндофиты*). В пользу последнего варианта работает то, что данная группа грибов иногда выделяется из живых корней водных растений и растений приводных местообитаний, преимущественно деревьев (Bärlocher, 2006). И несколько лет назад эта гипотеза блестяще подтвердилась группой ученых, выделивших водно-воздушные грибы из широкого круга растений-хозяев неводных местообитаний (Sati et al., 2008, 2009). Здесь мы, возможно, имеем дело не с важным этапом в развитии грибов, выпадающим ранее из поля зрения исследователей.

Переходя к системным эндофитам, заселяющим надземные части растений, необходимо отметить, что, несмотря на то, что по отдельным ассоциациям «гриб-растение» накоплены значительные массивы инфор-

магии, само это явление, в целом, явно недооценено. Наиболее известны т.н. клавиципитальные эндофиты или эндофиты злаков. Это узкая таксономическая группа (гриба *Balansiae* семейства *Clavicipitaceae*), насчитывающая немногим более 20 видов, преимущественно анаморфных, бессимптомно присутствующих во многих злаках, особенно трибы Мятликовых (Glenn et al., 1996; Clay and Schardl, 2002; Schardl and Moon, 2003). Открыт этот симбиоз был в конце XIX века и в 1904 г. вышла подробная работа Эдварда Фримана, посвященная эндофитному грибу, присутствующему в плевеле опьяняющем и обуславливающему ядовитые свойства этого растения (Freeman, 1904). Именно способность этих грибов обеспечивать токсичность растения-хозяина для травоядных и привела к их переоткрытию в 70-х годах XX века, в связи с массовым падежом скота в США (Wacon et al., 1977). Этой группе посвящено множество исследований и написано достаточно много обзоров (Saikkonen et al., 1998; Faeth, 2002; Благовещенская и Дьяков, 2005; Schardl, 2010), поэтому подробно эту группу мы здесь освящать не будем.

Но оказывается, что эндофитизм как явление распространен в царстве Грибов намного шире, чем это можно было бы предположить (Schulz and Boyle, 2005; Rodriguez et al., 2009; Newton et al., 2010). Причем в качестве эндофитов иногда выступают очень известные представители, такие как *Fusarium* (Paparou et al., 2008; Rodriguez et al., 2008), *Aspergillus* (Khan et al., 2011), *Alternaria* (Newcombe et al., 2009). Выделяемые грибы преимущественно относятся к представителям отдела *Ascomycota*, но встречаются и базидиальные грибы, как, например, эндофит подорожника *Hygrocye virginea* (Tello et al., 2014). Любопытно, что это не новые виды известных родов, а достаточно известные сапротрофы и паразиты, по крайней мере, по своей морфологии. Можно было бы предположить виды-двойники, но, вероятно, это все же не так. Возможность альтернативных жизненных циклов была показана на примере энтомопатогенов. Так, из бананового дерева (*Musa* sp.) была выделена культура *Beauveria bassiana*, и данный штамм с одной стороны вполне успешно в лабораторных условиях заражал насекомых, проходя полностью биологический цикл энтомопатогенного гриба «от споры до споры», а с другой — столь же успешно колонизировал растения, развиваясь в них абсолютно бессимптомно (Vega et al., 2008).

Так или иначе, эндофитизм можно считать особой стратегией развития грибов, при которой грибок не разрушает организм-хозяина и остается невидимым для защитной системы растения. Для кого-то эндофитный образ жизни является облигатным, для других — стадией жизненного цикла, а для третьих — лишь одним из возможных способов существования (рис. 2).



**Рис. 2.** Эндофиты в различных вариантах жизненных циклов.

Наличие гриба внутри растения часто проходит совершенно бессимптомно и не несет никаких явных изменений. В некоторых случаях присутствие грибного симбионта оказывается достаточно выгодно для хозяина, позволяя ему выдерживать сравнительно неблагоприятные условия среды. Подобные примеры можно обнаружить в большом количестве, даже не касаясь классического случая клавиципитальных эндофитов, повышающих устойчивость злаков к засухе и к выеданию животными. Эндофит может повышать устойчивость к вредителям (Paragu et al., 2007), к засолению (Rodriguez et al., 2008; Khan et al., 2011), к тяжелым металлам (Li et al., 2011), к высоким температурам (Redman et al., 2002; Márquez et al., 2007), давать возможность использовать неподходящие для растения источники азота (Usuki and Narisawa, 2007) и т.п. Мицелий грибов обнаруживается в тканях ископаемых растений (Klings et al., 2007) и предполагают, что самые первые появившиеся на суше растения уже несли в себе грибных симбионтов (Каратыгин, 1993.).

Эндофитные грибы описаны даже у водорослей (Kohlmeyer and Kohlmeyer, 1979). Самый известный и изученный случай — это симбиоз литоральной бурой водоросли *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jolis и гриба *Stigmatidium ascophylli* (Cotton) Aptroot (= *Mycophycias ascophylli* (Cotton) Kohlm. & Volkm.-Kohlm.). Впервые эта ассоциация описана еще в начале прошлого века и сейчас показано, что во всех экземплярах *A. nodosum* всегда присутствует грибной мицелий, по сути, мы имеем дело с т.н. «микобикобиозом» (Kohlmeyer and Kohlmeyer, 1979; Garbary and Deckert, 2004). Размножение гриба и водоросли синхронизировано, микобиионт повышает способность зигот водоросли выдерживать осушение в периоды отлива, для взрослых экземпляров аскофилла показано, что развитие защитных реакций на паразитические водоросли происходит в тесной связи с мицелием эндофитного гриба (Garbary and Deckert, 2004; Garbary et al., 2005).

Таким образом, эндофитизм можно рассматривать как очень древний способ существования грибов, возникший, вероятно, еще на заре возни-

кновения растительности, сопровождающий растения на всем пути их эволюции и встречающийся там, где его начинают искать.

### Литература

- Благовещенская Е.Ю., Дьяков Ю.Т. (2005) Эндوفитные грибы злаков. Микол. и фитопатол. 39 (3): 1 – 15.
- Исаева О.В., Глушакова А.М., Гарбуз С.А., Качалкин А.В., Чернов И.Ю. (2010) Эндوفитные дрожжевые грибы в запасующих тканях растений. Известия РАН. Серия биологическая. 1: 34 – 43.
- Каратыгин И.В. (1993) Козволюция грибов и растений. Гидрометеиздат, СПб.
- Смит С.Э., Рид Д.Дж. (2012) Микоризный симбиоз, (пер. с 3-го англ. издания Ворониной Е.Ю.), Товарищество научных изданий КМК, Москва.
- Abranches J., Starmer W.T., Hagler A.N. (2001) Yeast–Yeast Interactions in guava and tomato fruits. Microb. Ecol. 42: 186 – 192.
- Achatz B., Rüdén S., Andrade D., Neumann E., Pons-Kühnemann J., Kogel K.-H., Franken P., Waller F. (2010) Root colonization by *Piriformospora indica* enhances grain yield in barley under diverse nutrient regimes by accelerating plant development. Plant and Soil. 333: 59 – 70.
- Alberton O., Kuyper T.W., Summerbell R.C. (2010) Dark septate root endophytic fungi increase growth of Scots pine seedlings under elevated CO<sub>2</sub> through enhanced nitrogen use efficiency. Plant Soil. 328: 459 – 470.
- Andrade-Linares D.R., Grosch R., Restrepo S., Krumbein A., Franken P. (2011) Effects of dark septate endophytes on tomato plant performance. Mycorrhiza. 21: 413 – 422.
- Arnold A.E. (2007) Understanding the diversity of foliar endophytic fungi: progress, challenges, and frontiers. Fung. Biol. Rev. 21: 51 – 66.
- Bacon C.W., Porter J.K., Robbins J.D., Luttrell E.S. (1977) *Epichloë typhina* from toxic tall fescue grasses. Appl. Environ. Microbiol. 34: 576 – 581.
- Bärlocher F. (1992) Research on aquatic hyphomycetes: historical background and overview, The ecology of aquatic hyphomycetes (ed. Bärlocher F.), Berlin, Springer Verlag, 1 – 15.
- Bärlocher F. (2006) Fungal endophytes in submerged roots, Soil Biology. V. 9. Microbial Root Endophytes (ed. Schulz B., Boyle C., Sieber T.N.), Berlin, Heidelberg, Springer Verlag, 179 – 190.
- Bittleston L.S., Brockmann F., Wcislo W., Van Bael S.A. (2011) Endophytic fungi reduce leaf-cutting ant damage to seedlings. Biol. Lett. 7: 30 – 32.
- Chapela I.H. (1989) Fungi in healthy stems and branches of American beech and aspen: a comparative study. New Phytol. 113: 65 – 75.
- Clay K., Schardl C.L. (2002) Evolutionary origin and ecological consequences of endophyte symbioses with grasses. Am. Nat. 160: S99 – S127.
- de Errasti A., Carmarán C.C., Novas M.V. (2010) Diversity and significance of fungal endophytes from living stems of naturalized trees from Argentina. Fungal Divers. 41: 29 – 40.
- Faeth S.H. (2002) Are endophytic fungi defensive plant mutualists? Oikos. 98: 25 – 36.
- Freeman E.M. (1904) The seed-fungus of *Lolium temulentum*, L., the darnel. Phil. Trans. R. Soc. Lond. B. 196: 1 – 27.
- Garbary D.J., Deckert R.J. (2004) Three part harmony – *Ascophyllum* and its symbionts. Cellular Origin and Life in Extreme Habitats. V. 4. Symbiosis: Mechanisms and

- Model Systems (ed. Seckbach J.). New York, Boston, Dordrecht, London, Moscow: Kluwer Academic Publishers, 311 – 321.
- Garbary D.J., Deckert R.J., Hubbard C. (2005) *Ascophyllum* and its symbionts. VII. Three-way interactions among *Ascophyllum nodosum* (Phaeophyceae), *Mycophycias ascophylli* (Ascomycetes) and *Vertebrata lanosa* (Rhodophyta). *Algae*. 20: 353 – 361.
- Glenn A.E., Bacon C.W., Price R., Hanline R.T. (1996) Molecular phylogeny of *Acremonium* and its taxonomic implications. *Mycology*. 88: 369 – 383.
- Jumpponen A., Trappe J.M. (1998) Dark septate endophytes: a review of facultative biotrophic root-colonizing fungi. *New Phytol.* 140: 295 – 310.
- Khan A.L., Hamayun M., Kim Y.-H., Kang S.-M., Lee J.-H., Lee I.-J. (2011) Gibberellins producing endophytic *Aspergillus fumigatus* sp. LH02 influenced endogenous phytohormonal levels, isoflavonoids production and plant growth in salinity stress. *Process Biochem.* 46: 440 – 447.
- Knapp D.G., Pintye A., Kovács G.M. (2012) The dark side is not fastidious – dark septate endophytic fungi of native and invasive plants of semiarid sandy areas. *PLoS ONE*. 7(e32570). doi:10.1371/journal.pone.0032570
- Kohlmeyer J., Kohlmeyer E. (1979) *Marine Mycology, the Higher Fungi*. Academic Press., New York.
- Krings M., Taylor T.N., Hass H., Kerp H., Dotzler N., Hermsen E.J. (2007) Fungal endophytes in a 400-million-yr-old land plant: infection pathways, spatial distribution, and host responses. *New Phytologist*. 174: 648 – 657.
- Li T., Liu M.J., Zhang X.T., Zhang H.B., Sha T., Zhao Z.W. (2011) Improved tolerance of maize (*Zea mays* L.) to heavy metals by colonization of a dark septate endophyte (DSE) *Exophiala pisciphila*. *Sci. Total Environ.* 409: 1069 – 1074.
- Likar M., Regvar M. (2009) Application of temporal temperature gradient gel electrophoresis for characterization of fungal endophyte communities of *Salix caprea* L. in a heavy metal polluted soil. *Science of the Total Environment*. 407: 6179 – 6187.
- Márquez L.M., Redman R.S., Rodriguez R.J., Roossinck M.J. (2007) A virus in a fungus in a plant: three-way symbiosis required for thermal tolerance. *Science*. 315: 513 – 515.
- Newcombe G., Shipunov A., Eigenbrode S.D., Raghavendra A.K.H., Ding H., Anderson C.L., Menjivar R., Crawford M., Schwarzländer M. (2009) Endophytes influence protection and growth of an invasive plant. *Communicative & Integrative Biology*. 2: 29 – 31.
- Newsham K.K., Upson R., Read D.J. (2009) Mycorrhizas and dark septate root endophytes in polar regions. *Fungal Ecol.* 2: 10 – 20.
- Newton A.C., Fitt B.D.L., Atkins S.D., Walters D.R., Daniell T.J. (2010) Pathogenesis, parasitism and mutualism in the trophic space of microbe–plant interactions. *Trends in Microbiol.* 18: 365 – 373.
- Oses R., Valenzuela S., Freer J., Baeza J., Rodríguez J. (2006) Evaluation of fungal endophytes for lignocellulolytic enzyme production and wood biodegradation. *International Biodeterioration & Biodegradation*. 57: 129 – 135.
- Paparu P., Dubois T., Gold C.S., Niere B., Adipala E., Coyne D. (2008) Greenhouse and field persistence of nonpathogenic endophytic *Fusarium oxysporum* in *Musa* tissue culture plants. *Microb. Ecol.* 55: 561 – 568.

- Piercey M.M., Graham S.W., Currah R.S. (2004) Patterns of genetic variation in *Phialocephala fortinii* across a broad latitudinal transect in Canada. *Mycol. Res.* 108: 955 – 964.
- Porrás-Alfaro A., Herrera J., Sinsabaugh R.L., Odenbach K.J., Lowrey T., Natvig D.O. (2008) Novel root fungal consortium associated with a dominant desert grass. *Appl. environ. microbiol.* 74: 2805 – 2813.
- Redman R.S., Sheehan K.B., Stout R.G., Rodriguez R.J., Henson J.M. (2002) Thermotolerance generated by plant/fungal symbiosis. *Science.* 298: 1581.
- Rodriguez R.J., Henson J., Van Volkenburgh E., Hoy M., Wright L., Beckwith F., Kim Y., Redman R.S. (2008) Stress tolerance in plants via habitat-adapted symbiosis. *International Society of Microbial Ecology.* 2: 404 – 416.
- Rodriguez R.J., White J.F., Jr., Arnold A.E., Redman R.S. (2009) Fungal endophytes: diversity and functional roles. *New Phytol.* 2009. 182: 314 – 330.
- Saikkonen K., Faeth S.H., Helander M., Sullivan T.J. (1998) Fungal endophytes: A continuum of interactions with host plants. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 29: 319 – 343.
- Sati S.C., Belwal M., Pargaen N. (2008) Diversity of water borne conidial fungi as root endophytes in temperate forest plants of western Himalaya. *Nature and Science.* 6: 59 – 65.
- Sati S.C., Pargaen N., Belwal M. (2009) Diversity of aquatic hyphomycetes as root endophytes on pteridophytic plants in Kumaun Himalaya. *J. American Sci.* 5: 179 – 182.
- Scervino J.M., Gottlieb A., Silvani V.A., Pérgola M., Fernández L., Godeas A.M. (2009) Exudates of dark septate endophyte (DSE) modulate the development of the arbuscular mycorrhizal fungus (AMF) *Gigaspora rosea*. *Soil Biol. Biochem.* 41: 1753 – 1756.
- Schardl C.L. (2010) The *Epichloae*, symbionts of the grass subfamily Poöideae. *Annals of the Missouri Botanical Garden.* 97: 646 – 665.
- Schardl C.L., Moon C.D. (2003) Processes of species evolution in *Epichloë/Neotyphodium* endophytes of grasses, Clavicipitalean fungi: evolutionary biology, chemistry, biocontrol and cultural impacts (ed. White J.F., Jr., Bacon C.W., Hywel-Jones N.L. and J.W. Spatafora), Marcel Dekker, Inc., New York, 273 – 310.
- Schulz B., Boyle C. (2005) The endophytic continuum. *Mycol. Res.* 109: 661 – 686.
- Tello S.A., Silva-Flores P., Agerer R., Halbwachs H., Beck A., Peršoh D. (2014) *Hygrocybe virginea* is a systemic endophyte of *Plantago lanceolata*. *Mycological Progress.* 13: 471 – 475.
- Usuki F., Narisawa K. (2007) A mutualistic symbiosis between a dark septate endophytic fungus, *Heteroconium chaetospora*, and a nonmycorrhizal plant, Chinese cabbage. *Mycologia.* 99: 175 – 184.
- Vega F.E., Posada F., Aime M.C., Pava-Ripoll M., Infante F., Rehner S.A. (2008) Entomopathogenic fungal endophytes. *Biological Control.* 46: 72 – 82.
- Vega F.E., Simpkins A., Aime M.C., Posada F., Peterson S.W., Rehner S.A., Infante F., Castillo A., Arnold A.E. (2010) Fungal endophyte diversity in coffee plants from Colombia, Hawai'i, Mexico and Puerto Rico. *Fungal Ecol.* 3: 122 – 138.

# ГРИБНЫЕ ЭЛИСИТОРЫ

Дьяков Ю.Т.

Московский Государственный университет имени М.В. Ломоносова  
yuridyakov@yahoo.com

## 1. Вступление

В процессе паразитирования грибы вступают со своими хозяевами (растениями, животными, другими грибами) в молекулярный диалог, цель которого – во-первых, пройти покровы, защищающие ткани и клетки; во-вторых, подавить защитные свойства живых клеток и, в-третьих, осуществить то, ради чего потребовалось все остальное, — питание содержимым клеток хозяина. Химические сигналы, направленные к хозяйским клеткам, можно объединить в несколько групп:

1. Ферменты-деполимеразы, разрушающие клеточные покровы и запасные вещества клетки: пектиназы, глюканазы, целлюбиазы, амилазы, протеазы, липазы и т.п. Они нужны для внедрения в клетку и питания ее содержимым. При этом композиция выделяемых деполимераз отражает адаптацию грибов к разным субстратам. На примере грибов из рода *Verticillium* показано, что у фитопатогенных видов преобладают целлюлазы и ксиланазы, у видов, поражающих насекомых — субтилизиноподобные протеазы, а набор деполимераз у оппортунистических и сапротрофных видов — промежуточный (Bidochka et al., 1999).

2. Цитотоксические вещества, убивающие клетки хозяина и, тем самым, лишаящие их способности к иммунному ответу. У фитопатогенных грибов — это неспецифические вивотоксины и специфичные для хозяина патотоксины (Kimura et al., 2001; Wolpert et al., 2002).

3. Химические соединения, направленные на повышение «комфорта» существования, размножения и распространения патогена. Об этом — несколько подробнее.

Английский этолог и эволюционист Р. Докинз привел ряд примеров манипуляции паразитами поведением своих хозяев, например, чихание способствует распространению вируса гриппа, а поведение заболевших животных — распространению вируса бешенства, и сделал следующее заключение «В *некоторых* случаях симптомы хозяина справедливо можно рассматривать, как приспособление паразита... Если поведение или физиология хозяина — это адаптация паразита, то у паразита должны быть... «гены модификации хозяина», а происходящие с хозяином изменения являются, следовательно, частью фенотипической экспрессии этих генов паразита» (Докинз, 2011, с. 372 – 373).

В отличие от животных, большинство растений ведет прикрепленный образ жизни, поэтому манипулировать их локомоторным поведением в смысле движений в направлении, благоприятном для распространения паразита, невозможно. Однако паразиты научились влиять на морфологию и физиологию растений-хозяев, в частности, адресовать потоки метаболитов в инфицированные места. Для этого паразиты выделяют в зараженное растение фитогормоны, которые нужны им только для одной цели: манипуляции метаболизмом зараженного растения (Yamada, 1993). Фитогормоны, выделяемые паразитом в зараженное растение, могут изменять соотношение вегетативных и генеративных тканей, направлять потоки продуктов фотосинтеза в зараженные паразитом участки растения, формировать опухоли и галлы в этих местах, длительно сохранять ювенильное состояние хлоропластов в клетках, окружающих пустулы с мицелием паразитов, повышать общую стойкость растительных протопластов к повреждающим их агентам (Дьяков, 2012, с. 20 – 22).

Многие метаболиты-манипуляторы влияют на иммунный статус растений; поэтому их можно отнести к иммуномодуляторам. Иммуномодуляторы грибов, подавляющие иммунный потенциал растений и индуцирующие их восприимчивость, названы *супрессорами* (Bushnell, Rowell, 1981), а иммуномодуляторы, индуцирующие устойчивость, вызывающие протекание защитных реакций в ответ на заражение — *элиситорами* (Keen et al., 1972). В свою очередь элиситоры разделяют на неспецифические и специфические. Первые вызывают иммунный ответ у разных сортов и даже видов растений-хозяев, а вторые — только у определенных сортов. Весьма популярные во второй половине XX века, эти термины в XXI веке постепенно были заменены другими. Во-первых, естественный отбор не позволит патогенным грибам секретировать в растения вещества, только для того, чтобы индуцировать защитный ответ. По-видимому, эти вещества функционально необходимы паразиту, а индукция ими защитных реакций обусловлена развившимся в ходе коэволюции узнаванием их некими рецепторами растений. Во-вторых, одно и то же вещество паразитов в разных видах растений может вести себя по-разному. Например, токсин *Fusarium moniliforme* фумонизин — фитотоксин для кукурузы (то есть супрессор, убивающий клетки хозяина и подавляющий защитный потенциал) и, наоборот, элиситор защитных реакций для *Arabidopsis* (Gilchrist et al., 1995); бактериальный токсин коронатин в разных растениях может выступать как токсин, фитогормон и элиситор. Кроме того, у фитопатогенных бактерий и грибов были найдены секретлируемые в зараженные растения белки, функция которых заключалась в подавлении защитных реакций, вызванных неспецифическими элиситорами. Поскольку эти белки в устойчивых растениях узна-

вались продуктами генов устойчивости к данному паразиту (R-белками), как индукторы защитных реакций, они получили название специфических элиситоров, Avg-белков или *эффекторов*. То есть, в устойчивых растениях (обладающих R-генами), эффекторы — это белки, индуцирующие устойчивость, почему они и названы Avg-белками. Но в восприимчивых генотипах эти же белки, наоборот, являются факторами вирулентности. Эта двойственность в действии одних и тех же веществ явилась причиной снижения популярности терминов «элиситор», «супрессор», «Avg-белок» и расширения — термина «эффектор»: под которым стали понимать «все белки и низкомолекулярные соединения патогенов, которые влияют на структуру и функции хозяйских клеток, то есть факторы вирулентности (токсины), индукторы ответа (элиситоры) или оба эти типа» (Hogenhout et al., 2009).

## 2. Неспецифические элиситоры (PAMPs)

Термин «неспецифические элиситоры» в последние годы, по высказанным выше причинам, уступил место более нейтральному термину PAMPs (pathogen-associated molecular patterns — молекулярные структуры, ассоциированные с патогенами) или, поскольку индуцировать защитные реакции могут и сапротрофные микроорганизмы, еще более нейтральному — MAMPs (молекулярные структуры, ассоциированные с микроорганизмами). Молекулы MAMPs имеют структуры или мотивы, отсутствующие у растений-хозяев и узнающиеся растением, как чужие. Это — структурные и экскретируемые компоненты паразитов, контактирующие с растительными клетками — полисахариды клеточной стенки — глюканы и хитин грибов, ЛПС бактерий, белки флагеллин бактериальных жгутиков и элиситины фитофторовых оомицетов (транспортируют стеринны через мембраны). Они всегда есть у паразитов, поэтому являются надежными молекулами для узнавания и создания базовой устойчивости.

Узнавание PAMPs приводит к первичному или базовому иммунному ответу — PTI (PAMP-triggered immunity).

Рассмотрим эти структуры подробнее.

**2.1. Липиды.** Наиболее хорошо исследованы липидсодержащие элиситоры *Phytophthora infestans* — две полиненасыщенные жирные кислоты: 20:4 — 5,8,11,14-эйкозотетраеновая (арахидоновая — АК) кислота и 20:5 — 5,8,11,14,17-эйкозопентаеновая (ЭПК) кислота (Хотимченко и др., 1987). Эти полиеновые жирные кислоты индуцировали защитные реакции у картофеля. Исключительно важным свойством АК и ЭПК была их способность индуцировать в картофеле системную продолжительную болезнестойчивость (Авдюшко и др., 1987). АК и ЭПК отсутствуют у растений, и настоящих грибов, но

синтезируются клетками оомицетов. Они найдены как в составе всех кислых липидов *P. infestans*, так и в неомыляемых липидах (церамидаминоэтилфосфонате и инозитолфосфо-церамиде). Для проявления элиситорной активности необходимо присутствие в липиде свободной карбоксильной группы. Замещение этой группы на спиртовую сильно снижало индуцирующую активность. Оптимальной для элиситорной активности оказалась длина цепи в 20 атомов углерода.

АК и ЭПК участвуют во взаимодействии паразита и хозяина (Bostock et al., 1982). Авторы инфицировали картофель суспензией спор возбудителя фитофтороза, содержащего радиоактивную АК. Последняя быстро освобождалась из спор патогенна, включалась в фракции нейтральных (моно-, ди- и триглицериды) и полярных (глико- и фосфолипиды) липидов, и накапливалась в нескольких рядах клеток, прилегающих к месту инфекции, но не далее, чем 1 см от места заражения.

У животных АК и ЭПК окисляются до оксипинов-эйкозаноидов, которые выполняют критические сигнальные функции в ответах клеток на стресс. Под действием циклооксигеназы из АК образуются простагландины и тромбоксаны, которые ответственны за возникновение боли, воспаления, сыпей, а другой фермент липооксигеназа формирует лейкотриены, вызывающие аллергию и астму.

Механизм индукции защитных реакций растений эйкозаноидами не ясен и нет сведений о путях их рецепции. АК и ЭПК могут вызывать специфические разрывы мембран и / или активизацию метаболизма оксипинов (Robinson, Bostock, 2014).

**2.2. Полисахариды.** Полисахариды — основной строительный материал клеточных стенок грибов и оомицетов. Ранние контакты поверхностных структур грибов и их хозяев вызвал выработку у последних системы узнавания грибных полисахаридов и ответных реакций на их присутствие.

**В-глюканы и родственные полисахариды.** Глюканы — главный компонент клеточных стенок фитофторовых оомицетов (составляют до 80 % сухого веса стенок), но присутствует и в стенках настоящих грибов. У оомицетов они включают  $\beta$ -1  $\rightarrow$  4 глюкан (целлюлозу) и нерастворимые  $\beta$ -1  $\rightarrow$  3,  $\beta$ -1  $\rightarrow$  6 глюканы. В определенных стадиях жизненного цикла образуются и  $\beta$ -1  $\rightarrow$  3 растворимые запасные глюканы (ламинарин).

Элиситор, выделенный из клеточных стенок и культуральной жидкости *Phytophthora glycinea*, представляет собой гептаглюкозид, 5 глюкозных остатков которого связаны в линейную цепь  $\beta$ -1  $\rightarrow$  6 связями, тогда как 2 боковых остатка присоединены  $\beta$ -1  $\rightarrow$  3 связями. При неполном кислотном гидролизе клеточных стенок гриба были получены 300 аналогов

элиситора, из которых только один оказался активным. Он отличался от неактивных лишь положением, в котором 2 боковых остатка глюкозы присоединялись к основе, состоящей из 5 остатков. Гептаглюкозид индуцировал устойчивость только у растений из семейства бобовых. Его активность очень высока: 0,02 мкг уже способны вызвать зарегистрированную защитную реакцию (Ayers et al., 1976).

$\beta$ -1  $\rightarrow$  3 глюкоаны *Phytophthora infestans* также являются иммуномодуляторами: среди них есть элиситоры, индуцирующие устойчивость, и супрессоры, снижающие устойчивость у сортов картофеля, устойчивых к фитофторозу. Последние содержат от 17 до 23 единиц глюкозы с  $\beta$ -1  $\rightarrow$  3 и  $\beta$ -1  $\rightarrow$  6 связями. Кроме того, обнаружено взаимное влияние полисахаридных и липидных элиситоров. Супрессия  $\beta$ -глюканом защитных реакций, индуцированных заражением, может происходить вследствие сходства олигосахаридных мотивов элиситора и супрессора, и конкуренции за сайты связывания в молекуле МАРР-рецептора. Интересно, что глюкоаны, будучи более слабыми элиситорами, чем эйкозаноиды, усиливают элиситорную активность арахидоновой кислоты в 10 – 100 раз по сравнению с ее применением в чистом виде (Robinson, Bostock, 2014).

В культуральных фильтратах и экстрактах различных видов *Colletotrichum* также присутствовали полисахаридные элиситоры — глюкоаны со связями  $\beta$ -1  $\rightarrow$  3 и  $\beta$ -1  $\rightarrow$  4. По всей видимости, по своей структуре эти глюкоаны отличались от глюкоанов *P. glycinea*.

А элиситор паразита томата *Cladosporium fulvum* — галактоглюкоманнан (deWit et al., 2009).

**Аминосакхара.** В состав клеточных стенок настоящих грибов входят линейный полимер ацетилглюкозамина — *хитин* и (у некоторых групп грибов) его деацетилированное производное — *хитозан*. В клеточных стенках грибов хитин связан ковалентными и ионными связями с другими полисахаридами, пигментами и белками, что и придает ему особую устойчивость к литическим ферментам.

У высших растений аминосакхара отсутствуют, однако ферменты, способные расщеплять их цепи, широко представлены, причем их уровень резко повышается под действием биотических и абиотических стрессов.

Хитин и хитозан обладают элиситорными свойствами и вызывают протекание защитных реакций у разных растений, причем молекулярные механизмы действия ацетилированных и деацетилированных хитиновых производных различны.

В случае хитина имеет место высокоспецифичное связывание с мембранными рецепторами лектиновой природы. Исследованные рецепторы хитина у растений — мембранные протеинкиназы AtCERK1 резушки (*Arabidopsis*) и CERK1 риса. Они связывают хитин через лизин-

содержащий мотив (LysM) — белковый эктодомен, связывающий углеводы (Lu et al., 2012). Активизированная в результате заражения растительная хитиназа расщепляет молекулы хитина паразита на олигомеры, связывающие с LysM-рецептором. Наиболее активен октамер хитина, который индуцирует димеризацию рецептора, (более короткие олигомеры — ингибируют ее). Димеризация — критическая фаза для индукции иммунного ответа, так как фосфорилирование молекулы происходит только в состоянии димера.

Фрагменты хитозана активны за счет электростатического взаимодействия положительно заряженных молекул элиситора (полианиона) с отрицательно заряженными компонентами мембран или молекулами ДНК. Он переходит в ядра и непосредственно взаимодействует с ДНК, то есть является регулятором генной активности (Hadwiger et al., 1986).

### 2.3. Белки и гликопротеины

**Элиситины** — семейство гидрофильных белков с молекулярной массой около 10 kD, которые образуются всеми исследованными до сих пор видами родов *Phytophthora* и *Pythium* (Yu, 1995). Все элиситины имеют высокую степень гомологии. Наиболее четко элиситины ведут себя как элиситоры при обработке табака, у которого они вызывают хорошо выраженный иммунный ответ. Изоляты *Phytophthora parasitica*, не поражающие табак, продуцируют кислый элиситин *parazititsеин*. Патогенные для табака изоляты не продуцируют этот пептид, что может свидетельствовать о негативной связи продуцирования паразитицеина со специфической патогенностью возбудителя фитофтороза к табаку. *P. cryptogea* и *P. capsici* продуцируют два близкородственных элиситина — криптогеин и капсицеин. Обработка этими пептидами защищает табак от патогенных штаммов *P. nicotianae*, не продуцирующих элиситины. Криптогеин вызывает образование некрозов на табаке в концентрации 1 мкг на растение, тогда как капсицеин в 50 раз менее активен. Оба пептида имеют идентичную последовательность аминокислот во внутренней области и различаются в карбокси- и amino-окончаниях. Элиситины возбудителя фитофтороза картофеля *P. infestans* синтезируются под контролем *INF*-генов (Kamoun et al., 1998), которые экспрессируются в зараженных растениях и в мицелии, растущем на искусственной среде, но не в спорах. Для понимания функциональной роли элиситинов для их продуцентов важны два их свойства: 1/ прежде чем достигнуть мембраны зараженного растения они связываются с регуляторным белком клеточной стенки; 2/ элиситины обладают способностью соединяться со стеринами и переносить последние между искусственными мембранами, причем биологической активностью обладают только молекулы, нагруженные стеринном. Поскольку оомицеты из родов *Pythium* и *Phytophthora* не

способны синтезировать стерины, необходимые для формирования спороношения (бесполого и полового) и для патогенности, элиситины осуществляют транспорт стеринов из зараженного растения в мицелий. Элиситины кодируются двумя группами генов (Jiang et al., 2006): генами элиситинов (eli) и элиситиноподобных белков (ell). Белки ELI высоко консервативны, содержат 98 аминокислотных остатков с шестью цистеинами, участвующими в формировании дисульфидных связей. Элиситиновый домен ELL более вариабелен по длине и последовательности нуклеотидов. Защитный ответ растений индуцируют ELI белки, например, наиболее активный элиситин *Phytophthora infestans* INF-1 определяет нехозяйскую устойчивость *Nicotiana bethamiana*.

Ортологичные белки **NPP1** из *Phytophthora parasitica* и **PsojNIP** из *P. sojae* индуцируют некрозы у всех тестируемых двудольных растений, включая хозяев этих грибов. Ген, контролирующий синтез PsojNIP-белка, экспрессируется в поздней стадии инфекции сои, продуцируя токсин, который обеспечивает колонизацию ткани хозяина во время некро-трофной фазы роста (Kamoun, 2006; Tiller, 2009). Структурные аналоги этих белков найдены у грибов (*Fusarium oxysporum*) и бактерий (*Bacillus halodurans*, *Streptomyces coelicolor*, *Vibrio* spp), но не у высших растений и животных. Элиситорной активностью по отношению к двудольным растениям обладает также связанный с клеточной стенкой фитотфоровых оомицетов фермент **транслоптаминаза** с мм 42 kDa, точнее — его 13-kDa фрагмент (Per-13). Другой фермент грибного происхождения — **22 kD ксиланаза** (EIX) индуцирует в сортах табака и томата биосинтез этилена, потерю (leakage) электролитов и другие симптомы иммунного ответа. Элиситорная активность культуральных фильтратов различных штаммов *Fusarium solani*, по-видимому, также зависит от присутствия белкового компонента, поскольку она частично терялась под действием протеолитического фермента проназы и полностью блокировалась при добавлении в среду роста ингибитора синтеза белка циклогексимида. Такую же природу имеет высокомолекулярный индуцирующий фактор из культурального фильтрата *Botrytis cinerea*, стимулирующий накопление ФА фазеолина в тканях фасоли. Вместе с тем на индуцирующую активность этих препаратов не оказывали влияния обработки, которые должны были бы денатурировать большую часть белка (нагревание, экстремальные значения pH, органические растворители, детергенты и другие воздействия). Это ставит под сомнение важность нативной конформации белка для экспрессии элиситорной активности.

Многие элиситоры фитопатогенов являются **гликопротеинами** (ГП). Так, из клеточных стенок *P. megasperma* (syn. *P. sojae*) выделен 42 kD ГП, обладающий способностью индуцировать защитный ответ в семядолях сои и в клетках петрушки. Элиситорной активностью обладал С-концевой

пептид (Sacks et al., 1995). Элиситорная активность культурального фильтрата *Phytophthora infestans* связана с 10 kD гликопротеином, не обладающим расоспецифическим действием. Под влияние  $\beta$ -1  $\rightarrow$  3-глюканазы индуцирующая активность элиситора не только не подавлялась, но даже усиливалась, что, возможно, объясняется удалением маскирующих групп, ковалентно связанных с элиситором посредством  $\beta$ -1  $\rightarrow$  3-связей.

### 3. Специфические элиситоры (эффекторы)

Структурные и секретируемые грибные метаболиты (MAMPs) узнаются в растениях трансмембранными молекулами, которые имеют выдвинутый наружу рецепторный сайт и внутриклеточный протеинкиназный домен. Подобные рецепторы, впервые описанные у дрожжей под названием Toll (Levashina et al., 1999), затем — у млекопитающих и растений (Nurnberg et al., 2004), где были названы TLR (Toll-like receptors). У представителей всех трех таксонов сигнал, полученный от MAMPs, через серию фосфорилирований белков протеинкиназами вызывает активизацию фактора регуляции транскрипции и индукцию трансляции генов иммунного ответа. Однако многие инфекционные агенты способны разными способами преодолевать факторы врожденного иммунитета. Фитопатогенные грибы для этих целей образуют факторы вирулентности, эффекторы или супрессоры которые способны:

Изменять структуру лиганда, рецептируемого Tol-подобными рецепторами. Например, *Cladosporium fulvum* секретирует в зараженное растение LysM содержащий эффектор Eсrb, который подобно LysM рецепторам растений, связывает хитин, защищая его от рецепции хитиназами (Kombrink, Thomma, 2013). Помимо *C. fulvum* LysM эффекторы найдены у фитопатогенов *Mycosphaerella graminicola*, *Magnaporthe oryzae*, *Verticillium dahliae*, патогена человека *Trichophyton rubrum*, сапротрофа *Trichoderma arthrovirides*. Некоторые из них не только экранируют молекулы хитина от LysM рецепторов, но и защищают от действия хитиназ, как почвообитающих микроорганизмов-микопаразитов, так и от собственных. Грибы секретируют хитиназы, чтобы локально размягчить клеточную стенку в процессах роста и ветвления гиф, морфогенеза и прорастания спор. LysM белок у *Trichoderma arthroviride* ингибирует прорастание спор *in vitro*. Выше было сказано, что хитин в клеточных стенках грибов индуцирует защитный ответ, в частности, синтез фермента хитиназы, разрушающего клеточные стенки. Поэтому кроме Eсb6 *Cladosporium fulvum* выделяет в апопласт томатов еще один эффектор — белок Avr4, который содержит домен связывания хитина, гомологичный домену беспозвоночных. Он экранирует хитин и защищает его от действия растительных хитиназ.

Образовывать токсины, убивающие зараженную и примыкающие к ней клетки хозяина. Например, паразит злаков *Rhizoctonia secalis* секретирует *in planta* белок *NIP1* (necrosis inducing protein), который вызывает образование некрозов вследствие стимуляции  $H^+$ -зависимой АТФ-азы плазмалеммы. Мутация, приводящая к замене одной аминокислоты в этом белке, снижает патогенность гриба.

Выделять в клетку хозяина супрессоры-импедины, прерывающие на том или ином этапе каскад сигнальной трансдукции. В противоположность токсинам некротрофных патогенов, которые разрушают растительную ткань, молекулы супрессоров лишь предотвращают проявление устойчивости, позволяя патогенам проникать в растение и существовать в нем. Такие вещества по предложению японских исследователей Оуши и Оку (1985) были названы импединами (в медицине этим термином обозначали нетоксические вещества бактериального происхождения, способные подавлять противоиные механизмы защиты). Супрессор из *Mycosphaerella pinodes* — гликопептид, активной частью которого является белок. В листьях гороха, обработанных смесью неспецифического элиситора и супрессора *Mycosphaerella pinodes*, наблюдается задержка экспрессии мРНК фенилаланин аммоний лиаза и халконсинтетаза по сравнению с листьями, обработанными только элиситором (Yamada et al., 1989). Это свидетельствует о действии супрессора в претрансляционной стадии ответной реакции на заражение.

Позвоночные животные в ответ на инвазию микроорганизмов, преодолевших барьер врожденного неспецифического иммунитета, реагируют формированием антител, усиливающих активность защитных реакций и опсонизацию (повышение фагоцитируемости микроорганизмов). Растения в силу организации и структурных особенностей не способны к образованию антител. Но у них возникла система «ген на ген», способная к нейтрализации действия микробных эффекторов, в которой эффекторные молекулы паразита узнаются как продукты автгенов — индукторы иммунного ответа. Рецепторами для эффекторов служат продукты генов устойчивости растений — R-белки. Например, как было сказано выше, возбудитель пятнистости листьев ячменя *Rhizoctonia secalis* секретирует *in planta* семейство мелких белков, названных *NIP* (necrosis inducing proteins), неспецифически токсичных для однодольных и двудольных растений. Один из этих белков — *NIP1* оказался распецифическим элиситором для сортов ячменя, имеющих ген устойчивости *Rrs-1*. Продукт этого гена узнает *NIP1* и индуцирует иммунный ответ. Таким образом, *NIP1*-белок наряду со специфической авирулентностью выполняет роль фактора неспецифической патогенности. Изучение аминокислотных последовательностей мутантов и искусственно синтезированных олигопептидов показало, что детерминанты

токсичности и индукции СВЧ-реакции находятся на разных концах молекулы. Следовательно, в растительной клетке содержатся разные рецепторы этих детерминант. Среди идентифицированных 14 изоформ *NIP1* 3 формы имеют штаммы гриба, вирулентные для устойчивых сортов (рецептор *Rps1* не узнает их) (deWit et al., 2009), — наглядная демонстрация концепции «ген-на-ген».

Специфическая система ответа на секретируемые факторы вирулентности паразита — эффекторы или вторичный иммунный ответ, в отличие от ответа на PAMPS – PTI (PAMPs-triggered immunity) получила название ETI (effector-triggered immunity). Оба ответа PTI и ETI растений, как и животных, качественно сходны, однако, ETI обычно развивается быстрее, протекает острее и часто ассоциируется с гибелью клеток, окружающих инфицированную (реакцией сверхчувствительности — свч). В ответ на возникновение R-белка, узнающего эффектор, в популяции паразита происходит накопление измененного эффектора, структура которого не узнается растением. У последнего, в свою очередь, накапливаются мутанты и рекомбинанты с генетическими изменениями, позволяющими узнавать новый эффектор, и так далее.

Фитопатогенные грибы, развивающиеся эндофитно, первоначально заселяют межклеточное пространство, и некоторые (*Cladosporium fulvum*, эндофитные грибы злаков из рода *Neotiphodium* и другие) остаются там навсегда. Однако большинство биотрофных и гембиотрофных паразитов формируют внутриклеточные структуры гаустории. Поэтому и эффекторы разделяют на внеклеточные (апопластные) и внутриклеточные (симпластные).

### 3.1. Апопластные эффекторы

Апопластные эффекторы обладают некоторыми общими свойствами (Stergiopoulos and deWit, 2009): 1/ они имеют N-терминальные сигнальные пептиды, отщепляющиеся растительными или грибными протеазами, которые необходимы им для транспорта через мембраны; 2/ они содержат много цистеиновых остатков, формирующих дисульфидные мостики, которые стабилизируют молекулы белка в насыщенном протеазами апопласте.

*Cladosporium fulvum* — первый гриб, при паразитировании которого из апопластной жидкости зараженных листьев томата были выделены мелкие, богатые цистеином, эффекторные белки (deWit et al., 1991). К настоящему времени идентифицированы эффекторы Avr2, Avr4, Avr4ME, Avr9, Ech1, Ecp2, Ecp4, Ecp6. Эффектор Avr2 ингибирует важный компонент базального ответа томата на заражение (PTI) – апопластные цистеиновые протеазы Rcr3, Pip1, TDI-65. Гомологи Avr2 найдены и у других фитопатогенных грибов – *Botrytis cinerea*, *Verticillium dahliae*. Avr4

содержит домен связывания хитина, который защищает хитин от расщепления растительными хитиназами. В присутствии гена томата Cf4 Avr4 вызывает иммунный ответ растения, однако найдены изоформы Avr4, которые не узнаются Cf4, но способны связывать хитин (проявление концепции «ген-на-ген»). Avr9 не необходим для проявления вирулентности, так как делеция кодирующего гена не снижает вирулентности. Экспрессия этого гена *in vitro* индуцируется дефицитом азота и протекает только в присутствии гена Nr1 — фактора отклика на азот. То есть Avr9, строго говоря, не является эффектором, а скорее представляет собой компонент PAMPs, который узнается не системой PTI, а ETI.

У возбудителя фузариозного вилта томата *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersity* обнаружено семейство Six-эффекторов, секретируемых в ксилему. Они требуются для проявления вирулентности, но Six1 (Avr3) вызывает ETI в присутствии гена устойчивости I-3, а Six3 (Avr2) — в присутствии гена I-2 (deWit et al., 2009).

Инфекционная гифа возбудителя головни кукурузы *Ustilago maydis* пробивает клеточную стенку растения, но не плазмалемму, которая окружает гифу паразита, проходящую через клетку и выходящую с ее противоположной стороны (Ellis et al., 2009). Следовательно, внутриклеточная гифа остается отделенной от цитоплазмы хозяйской клетки оберткой из плазмалеммы. В это время в окружающее гифу пространство секретируется огромное число белков. Внутрирастительный секретом *U. maydis* насчитывает 386 генов, продукты 150 из них необходимы для питания, внедрения и модификации клеток хозяина (Djamei et al., 2011). Делеционные мутанты по некоторым генам (например, Pep1) пробивают клеточную стенку, но не способны проходить через клетку.

### 3.2. Внутриклеточные эффекторы

Для прохождения в клетку растения эффекторный белок должен преодолеть 4 барьера: плазмалемма и клеточная стенка гриба, плазмалемма и клеточная стенка растения. При развитии грибного гаустория происходит разрушение растительной клеточной стенки, а также химическая и структурная модификация плазмалеммы. Поэтому гаусторий можно считать идеальным органом для секреции метаболитов паразита в зараженные клетки. Насколько мне известно, впервые мысль о том, что гаусторий предназначен не для питания, а для обмена регуляторными метаболитами, высказал В.В. Мазин (личное сообщение). Он исходил из фундаментального свойства грибов — участия в питании всех клеток мицелия и, вследствие этого, ненужности для поглощения пищи специализированных структур. Сейчас эта точка зрения стала общепринятой (Petre and Kamoun, 2014).

### 3.3. Индукция синтеза эффекторов и их транспорт в грибных клетках и в растении

Эффекторные гены не экспрессируются при росте грибов в чистых культурах, но только *in planta*, то есть они относятся к большому семейству PIG (in Planta Induced Genes). В связи с тем, что для включения системы врожденного иммунитета не требуется синтез белка *de novo*, ответная реакция на MAMPs возникает быстро, менее чем через 30 мин. после взаимодействия с лигандом. Поэтому экспрессия и секреция эффекторов должны протекать еще быстрее, чтобы успеть нейтрализовать возникающие в зоне взаимодействия антигрибные продукты. Поскольку ядра в клетке расположены на некотором расстоянии от кончика гифы, необходим дистанционный сигнал индукции экспрессии генов эффекторов. У животных сигнал из синапсов передается в ядра с помощью эндосом, движущимся вдоль микротрубочек. Высокая скорость перемещения ранних эндосом (3 мкм / с) — отличительная черта мицелиальных грибов (Камзолкина и др., 2015). Внутри эндосом находятся сигнальные компоненты, включая специфические протинкиназы. У *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* для экспрессии PIG-генов требуется регулятор транскрипции SGE1. Его ортологи обнаружены у многих грибов, в частности они регулируют переключение жизненных стратегий у диморфных грибов (de Jonge et al., 2011). Подобные эндосомы обнаружены и у других грибов, и показано, в частности для *Ustilago maydis*, что их движение является решающим для транспорта и последующей секреции эффекторов (Bielska et al., 2014).

Большинство изученных симпластных эффекторных белков имеет мотив, обеспечивающий прохождение в клетку хозяина. У оомицетов это RXRL-dEEF: аргинин, любая аминокислота, лейцин, аргинин — аспартат (не часто), глутамат, глутамат, аргинин (Tiller, 2009). По наличию этого мотива были идентифицированы многие avr-гены — Avr1a, Avr1b, Avr1k, Avr3a, Avr3c, Avr4/6 *Phytophthora sojae*. Avr 1,2,3a,3b/10/11, 4, B1b1, Sto1, ipi0, B1B2 *P. infestans*, Avr1, AvrB *Hialoperonospora arabidopsidis*. В то же время число аминокислот у паралогичных Avr-белков вариировало от 111 до 287. У всех исследованных белков обнаружен сильный полиморфизм в С-терминальной области, обусловленный давлением со стороны R-генов растений в ходе коэволюционных конфликтов. Так у представителей рода *Phytophthora* обнаружено 700 эффекторов, несущих этот мотив, а у *Hialoperonospora* — 150 (Goldfry et al., 2010). Но все гены этого суперсемейства произошли от раннего предка пероноспорных оомицетов. А поскольку у малярийного плазмодия (*Plasmodium* spp) гомологичная последовательность PEXEL/VTS (Plasmodium Export Element/Vacuolar Targeting Signal) присутствует также в секреторной области внеклеточного белка (Tiller, 2009),

причем эти области у плазмодиев и оомицетов взаимно заменяемы без потери функций, можно опустить этого предка до самых ранних этапов эволюции эукариот. Предполагается объединить три царства — Stramenopiles, Alveolata и Rhizaria в одну супергруппу SAR, так как они имели общего фотосинтетического предка (Burki et al., 2007). Так что система трансмембранного транспорта белков возникла у предка, общего для оомицетов (царство Stramenopirila) и альвеолят. Эффекторы оомицетов продуцируются в эндоплазматической сети и секретируются в везикулах, формирующихся в комплексе Гольджи (de Jonge et al., 2011). У малярийного плазмодия PEXEL/VTS-мотив имеет протеаза, которая расщепляет сайт эффекторной молекулы в ЭПР клетки паразита перед секрецией и ацетилюет N-терминальный остаток (Ellis et al., 2009). По-видимому, мотив PEXL/VTS узнается плазматической мембраной красных кровяных клеток только после ацетилирования. Мотив RXLR оомицетов связывает эффектор на поверхности клеток хозяина с фосфатидилинозит-3-фосфатом после чего эффектор внедряется с помощью везикулярного эндоцитоза.

У возбудителя мучнистой росы ячменя *Blumeria graminis* в гаусториях образуется две группы эффекторов. Первая группа — ранние белки; из них два (AvrRK1 и AvrA10) клонированы. Кодированные их гены относятся к большому мультигенному семейству (более 30 паралогов) (deWit et al., 2009). Эти белки не имеют сигнальных пептидов, то есть используют альтернативные способы прохождения через мембраны. Например, эффекторы возбудителей ржавчин бобовых *Uromyces fabae* и *U. striatus* переходят через мембраны в гликозилированной форме (Kemen et al., 2005).

В зрелых гаусториях *B. graminis hordei* (Bgh) экспрессируется синтез семейства белков, имеющих N-терминальную сигнальную последовательность из 17 аминокислот с консервативным расположением ароматических аминокислот: первая аминокислота (Y) тирозин, 10-я (F) — фенилаланин или, реже (W) — триптофан. Это семейство высоко полиморфных белков образует 17 кластеров по 2-17 в каждом (Goldfry et al., 2010). Семейство Y/F/WxС – белков экспрессируется также в гаусториях возбудителей злаковых ржавчин *Puccinia graminis tritici* (Pgt) и *P. triticina* (Pt). По-видимому, этот тип эффекторов характерен для гаусториальных паразитов злаков (Goldfry et al., 2010). У Pgt таковы 107 белков (19 % транскриптома гаусторий), у Pgt — 178, а у Pt — 57. Нахождение сходных эффекторных белков у представителей аско- и базидиомицетов свидетельствует о наличии общих мишеней у злаковых растений, а разнообразие этих белков — о множественности мишеней (в соответствии с концепцией «ген-на ген»). В отличие от оомицетов консервативное положение ароматических аминокислот не является свидетельством их

секреторных функций, ибо они экспрессируются в зрелых гаусториях и служат для подавления защитных реакций и/или для питания.

Некротрофные паразиты *Stagonospora nodorum* и *Pyrenophora tritici-repentis* продуцируют некрогенные пептиды — эффекторы, специфичные для хозяина. Их токсины попадают в клетки хозяина благодаря наличию С-терминального мотива RGD (аргинин – глицин – аспарагин) (deWit et al., 2009; Hogenhout et al., 2009; Petre, Kamoun, 2014).

## 4. Функции эффекторов

### 4.1. Подавление иммунного ответа

1). *Выделение антиапоптозных белков, защищающих клетки растения от гибели и способствующих питанию биотрофных патогенов.*

Avr3a *Phytophthora sojae* — супрессор клеточной смерти. Участвует в поддержании жизнеспособности клеток хозяина во время фронта инвазии и развития гаустория (16 – 20 час.). Avr1b защищает клетки дрожжей и растений от проапоптогенного мышинового белка BAX и супрессирует гены программированной гибели клеток (PCD) у дрожжей. Однако, этот же эффектор не супрессирует PCD (свч), вызванную токсином гемибиотрофных видов *Phytophthora* NPP1. Следовательно, противоапоптозные эффекторы подавляют гибель клеток в биотрофной фазе патогенеза, но перестают это делать при переходе к некротрофной фазе. Эффекторы ATR1 и ATR13 *Hyaloperonospora parasitica* обеспечивают высокий титр размножения (в 30 раз больше) псевдомнад, снижают в 100 раз отложение каллезы и продукцию АФК, как базального защитного эффекта (Ellis et al., 2009; Tiller, 2009). *Ustilago maydis* после заражения кукурузы пробивает клетку хозяина, но не мембрану, и проходит в мембранном мешке до противоположной стенки. В это время экспрессируется эффектор Per1, который секретируется в межмембранный интерфейс и ингибирует гибель зараженной клетки, обеспечивая биотрофное питание. Делеционные по Per1 мутанты пробивают клеточную стенку, но не могут проходить клетку, которая реагирует на присутствие паразита апоптотической гибелью (Ellis et al., 2009). Такое же действие показано при заражении ячменя мучнистой росой. Соседние с зараженной клетки эпидермиса и мезофила гибнут вследствие свч-реакции, а клетка с гаусторией остается живой (Goldfry et al., 2010).

Эти факты имеют огромное эпидемиологическое значение, ибо объясняют многие явления, давно наблюдаемые фитопатологами, а также могут быть использованы в защите растений от болезней:

А. Развитие некротрофов на листьях, зараженных биотрофными паразитам. Например, гриб *Colletotrichum dematium* вызывает антракноз шпинатов в штате Арканзас (США). Болезнь распространяется вслед за поражением белой ржавчиной, которую вызывает биотрофный оомицет

*Albugo occidentalis* (Correll et al., 1990). Фузариевые грибы распространяются по листьям льна, зараженным ржавчиной и листьям пшеницы, зараженным мучнистой росой.

Б. Смешанная инфекция клубней картофеля. Клубни, зараженные фитофторозом, обычно гнивают не от первичной инфекции, а вследствие ингибирования иммунного ответа на повторное заражение некротрофными бактериями и грибами.

В. В опытах с двойной инокуляцией показано, что клетки, зараженные вирулентной расой, не гибнут от повторного заражения авирулентной расой.

2). *Выделение ингибиторов гидролаз растения-хозяина.* Гидролазы, разрушающие хитин, глюканы, белки и другие полимеры гриба, являются мощным защитным оружием. Они часто секретируются в межклеточное пространство, первоначальное место оккупации грибными гифами. Поэтому большинство апопластных эффекторов представляют собой ингибиторы растительных гидролаз — протеаз, глюканаз, хитиназ. Выше был приведен пример ингибитора апопластных протеаз томата эффектора Avr2 *Cladosporium fulvum*. Подобными свойствами обладают апопластные эффекторы *Phytophthora infestans*: EPI1 и EPI10 — ингибиторы сериновых протеаз из семейства Kazal; эти эффекторы связывают PR-белок P69B — субтилизин-подобную сериновую протеазу томата (Hogenhout et al., 2009). Также ингибитором сериновых протеаз семейства Kazal оказался эффектор AvrPI23 возбудителя ржавчины льна *Melampsora lini*. А некоторые фитофторовые оомицеты секретируют также ингибиторы глюканаз. Так белок GIP1 *P. sojae*, ингибитор растительных глюканаз, препятствует образованию низкомолекулярных глюкановых MAMPs — фрагментов  $\beta$ -глюкана клеточной стенки (Rose et al., 2002). В геноме *P. sojae* обнаружены 3 GIP-гена.

3). *Выделение ферментов, меняющих метаболизм хозяина.* *Ustilago maydis* секретирует в клетки кукурузы эффектор *smu1*, — фермент хоризмат мутаза, которая катализирует первый шаг в синтезе ароматических аминокислот — конверсию хоризмовой кислоты в префеновую (осуществляется в хлоропластах). В цитоплазме растений *smu1* димеризуется ферментом *ZmCm2* и увеличивает ток хоризмата из хлоропласта в цитозоль, снижая его доступность для синтеза салициловой кислоты (СК) и фенолпропаноидов. Поскольку СК — универсальный мессенджер защитных реакций, ее дефицит снижает защитный потенциал клеток растения (Djamei et al., 2011). Хоризмат мутаза секретируют многие биотрофные и некротрофные грибы, а также галловая нематода.

4). *Некротизация клеток.* В отличие от биотрофов некротрофные грибы решают проблему преодоления иммунного ответа гораздо проще: для оккупации клеток растения они должны предварительно убить их

своими токсинами. Выше были упомянуты некрозоиндуцирующие токсины возбудителя ринхоспориоза ячменя *Rinchosporium secalis*. А паразиты злаков *Stagonospora nodorum* и *Pyrenophora tritici-repentis* продуцируют некрогенные пептиды (SnTox1 и PtrToxA), хозяино-специфичные токсины, которые узнаются рецепторами хозяев. 1-й взаимодействует с продуктом гена восприимчивости пшеницы Snn1, 2-й — с белком Tsn1 (по-видимому, разные названия одного локуса). 132 kD белок PtrToxA взаимодействует с сайтом связывания фосфатидилинозита, который есть в животном белке, участвующем в эндоцитозе.

У многих грибов, оомицетов и бактерий найдены NLP-белки: Nec-like proteins (necrosis and ethylene induced proteins). В геномах грибов обнаружено небольшое число контролирующих генов (1 – 4), а у оомицетов их много: у *Phytophthora sojae* — 29, у *P. ramorum* — более 40, причем только 7 — ортологи (Tiller, 2009). Быстрая амплификация и дивергенция указывает на большую роль этих белков в патогенезе. Дизрупция генов у возбудителя мокрой бактериальной гнили овощей и картофеля *Erwinia carotovora* сопровождается редукцией патогенности. NLP-белки вызывают гибель клеток и иммунный ответ только у двудольных, хотя встречаются и у паразитов злаков из родов *Magnaporthe* и *Fusarium*, а также сапротрофных грибов и бактерий. Считают, что бактерии получили их горизонтальным переносом из грибов. Секреция фитофторовыми оомицетами Avt-белков, подавляющих апоптоз и некротизацию зараженных клеток, а также NLP-белков, вызывающих некротизацию, — интересный феномен, присущий гемибиотрофам. В первой, биотрофной фазе патогенеза (16 – 20 час при фитофторозе сои), эффекторы поддерживают клетки с находящимися в них гаусториями в жизнеспособном состоянии. А затем выделяются некрогенные эффекторные белки, ускоряющие гибель зараженных клеток.

5). *Влияние на морфогенетические процессы.* Эффектор *Phytophthora infestans* ipiO содержит мотив, обеспечивающий адгезию клеток млекопитающих RGD (имеется в медиаторе взаимодействия белке интегрине) (Tiller, 2009). Интегрины — семейство животных белков, которые пронизывают клеточную мембрану и, взаимодействуя с рецепторами интегринов соседних клеток, обеспечивают клеточную адгезию. Поскольку цитоплазматический «хвост» молекул интегрин короткий и не подвержен энзиматическому узнаванию, они через адаптерный белок, связывающий интегрин с цитоскелетом, протеинкиназами и трансмембранными рецепторами факторов роста, осуществляют трансдукцию сигнала. Этот путь трансдукции назван интегриновым кластером. Интегрины обнаружены у грибов и оомицетов. Они необходимы для апикального роста гифы, ориентации. Лектин-рецепторная

киназа мембраны — рецептор RGD связывает интегрины, пронизывающие клеточные мембраны и объединяющие соседние клетки. RGD мотив *ip10* белка насыщает рецепторы и, конкурируя с интергином, вызывает распад ткани. Поскольку клеточная адгезия играет важную роль в защитных реакциях, данный механизм также является антииммунитетным.

#### 4.2. Питание паразита

Паразитические грибы секретируют разнообразные эффекторы, обеспечивающие расщепление полимерных молекул и транспорт их в клетки паразита. Например, *AvrPita* возбудителя ожога листьев риса *Magnaporthe oryzae* представляет собой цинк-зависимую металлопротеазу. Этот эффектор секретируется в позднюю фазу патогенезу и необходим для разрушения белков растительной клетки и поступления их в эндофитный мицелий. Большой набор гидролаз (глюканазы, пектиназы, целлюлазы, протеазы) секретируют фитотфоровые оомицеты.

#### 5. Организация эффекторных генов в грибных геномах

Выше было неоднократно указано, что гены, контролирующие синтез эффекторов и сами эффекторы у разных видов грибов и оомицетов представлены большими семействами, члены которых имеют константные и варибельные мотивы. Несомненно, в формировании таких семейств принимали участие различные генетические процессы: дупликации, транспозоновый мутагенез и проч. Эти процессы оказали влияние на высокую нестабильность и изменчивость, отмеченную для многих грибов, патогенных для растений и животных (Дарага с соавт.1985; Griffiths and Ao, 1980; Hall et al., 1989; Kachroo et al., 1994; Nelson and Cochrane, 1997; Rustchenko-Bulgac et al., 1989). Оказали они влияние и на организацию эффекторных генов в грибных геномах.

Кластеры генов представляют собой разбросанные генные области (*gene-sparse regions*, транспозонные островки, островки патогенности). В островки патогенности входят группы корегуляторных генов, кодирующих секреторные белки. Например, у *Ustilago maydis* на хромосоме 19А находятся группы из 3 – 26 генов, перемежающихся с ретротранспозонами (Djamei et al., 2011). Островки патогенности фитотфоровых оомицетов представляют собой от 10 до 100 участков длиной 10 – 1000 kb. Эффекторный ген *PiAvr4 P.infestans* в области, протяженностью 100 kb, имеет гомологию с геномными областями *P. sojae* и *P. ramorum* (Raffaele and Kamoun, 2012).

Изохорные области (Raffaele, Kamoun, 2012) представляют собой участки, содержащие около 300 генов, обогащенные А + Т или Г + Ц парами. У *Leptosphaeria maculans* — это 10 областей длиной 10 – 350 kb, с

высоким содержанием остатков ретротранспозонов. Они кодируют мелкие секретлируемые белки (вероятные эффекторы).

Субтеломерные области. Эффекторные гены часто расположены вблизи теломер. Например, ген AvrPita возбудителя пирикулярноза риса *Magnaporthe oryzae* (*Pyricularia oryzae*) находится в нестабильной области на расстоянии 48 bp от теломерных повторов на хромосоме 3. Многочисленные транспозиции этих участков обусловлены обогащением субтеломерных областей ретротранспозонами. Чрезвычайно высокая внутриклональная нестабильность пирикулярии была давно отмечена фитопатологами (Дарага с соавт., 1985). По-видимому она обусловлена теломерной локализацией эффекторных генов.

Диспензабельные (необязательные, CDC, b) хромосомы. Эти «мини» хромосомы обнаружены у *Nectria haematococca*, *Alternaria alternata*, *Mycosphaerella graminicola* и других грибов. Размеры большинства b-хромосом варьируют от 0,39 до 0,77 Mb, но встречаются и более крупные. Эти хромосомы не несут генов «домашнего хозяйства», поэтому они могут быть потеряны или приобретены без потери жизнеспособности. Но на них часто находятся гены, продукты которых обеспечивают адаптацию к определенному образу жизни, например, к паразитированию на растениях. У *Fusarium oxysporum* обнаружены 4 CDC, отсутствующие у *F. verticilloides*. Одна из CDC хромосом *F. oxysporum* f. sp. *tomato* размером около 21 Mb, богатая транспозонами, сдержит множество эффекторных генов (SIX). Она так и названа «хромосомой патлогенности» (Rep and Kistler, 2010). У паразита гороха *F. solani* мелкие хромосомы несут гены хозяино-специфичной вирулентности, в частности, — ферменты, деградирующие фитоалексин гороха пизатин (Straney et al., 1991). 3 такие хромосомы размером 0,5 – 1,6 Mb имеют высокий уровень повторов (благодаря наличию транспозонов), большее число дубликаций и уникальных генов, меньший по сравнению с другими хромосомами средний размер гена и более низкое содержание Г + Ц пар. А у *Alternaria alternata* на мини хромосомах находятся гены хозяино-специфичных токсинов.

Все эти хромосомы могут мигрировать между патогенными и непатогенными штаммами, создавая новые патогенные наследственные линии.

## 6. Литература

- Авдюшко С.А., Чалова Л.И., Озерцовская О.Л., Чаленко Г.И., Имбе А.Б., Латышев Н.А., Безуглов В.В., Бергельсон Л.Д. (1987) Продукты липооксигеназного окисления полиеновых кислот индуцируют фитофтороустойчивость картофеля. Докл. АН СССР. 296: 1012 – 1014.
- Дарага А.В., Терехова В.А., Дьяков Ю.Т., Джавахазия В.Г. (1985) Изменчивость фитопатогенного гриба *Pyricularia oryzae* Cav. IV. Сравнительное изучение нестабильности моноконидиальных изолятов. Биол. Науки. N 5: 84 – 89.
- Докинз Р. (2011) Расширенный фенотип. «Астрель». М.

- Дьяков Ю.Т. (редактор) (2012) Фундаментальная фитопатология. URSS. М.
- Камзолкина О.В., Кудрявцева О.А., Шгаер О.В., Мажейка И.С. (2015) Эндодитоз к мицелиальных грибов: общее представление и особенности у ксилотрофного гриба *Stereum hirsutum*. В «Современная микология в России». 4: 30 – 31.
- Оуши С. Оку Х. (1985) Физиологические основы восприимчивости, индуцированной патогенами. В «Инфекционные болезни растений. Физиологические и биохимические основы». Пер. с англ. Агропросиздат: 128 – 149.
- Хотимченко С.В., Чалова Л.И., Авдюшко С.А., Озерецковская О.Л., Ромашина Р.Л. (1987) Состав липидов возбудителя фитофт ороза в связи с их способностью индуцировать образование фитоалексинов картофеля. Биохимия. 52: 1445 – 1453.
- Ayers A.R., Ebel J., Finelli F., Berger N., Albersgeim P. (1976) Host-pathogen interactions. IX. Quantitative assays of elicitor activity and characterization of the elicitor present in the extracellular medium of cultures of *Phytophthora megasperma* var. *soyae*. Plant. Physiol. 57: 751 – 759.
- Bidochka M.J., Burke S., Nga L. (1999) Extracellular hydrolytic enzymes in the fungal genus *Verticillium*: adaptations for pathogenesis. Canad J. Microbiol. 45: 856 – 864.
- Bielska E., Higushi Y., Schuster M., Steinberg N., Kilaru S., Talbot N.J., Steinberg G. (2014) Long distance endosome traffic drives fungal effector production during plant infection. Nature communications. 5. N 5097, DOI: 10.1038/ncomms 669.
- Bostock R.M., Laine R.A., Kuc J.A. (1982) Factors affecting the elicitation of sesquiterpenoid phytoalexin accumulation by eicosapentaenoic and arachidonic acids in potato. Plant Physiol. 70: 1417 – 1424.
- Burki F., Shalchian-Tabrizi K., Minde M., Skjalveland A., Nikolaev S.I., Jakobsen K.S., Pavlovski J. (2007) Phylogenomics reshuffles the eukaryotics supergroups. PLOS One. 268. e790.
- Bushnell W.R., Rowell J.B. (1981) Suppressors of defense reactions: a model for roles in specificity. Phytopathology. 71: 1012 – 1014.
- Correll J.C., Guerber J.C., Abdelshifte M., Morelock T.E. (1990) Vegetative compatibility and virulence of *Colletotrichum dematium* from spinach. Phytopathology. 80: 1014.
- De Jonge R., Bolton M.D., Thomma B.P.H.J. (2011) How filamentous pathogens co-opt plants: the ins and outs of fungal effectors. Curr. Opinion Plant Biol. 14: 1 – 7.
- DeWit P.J.G.M., Kan J.A.L., van Ackerveke A.F.J.M., van den Joostein M.H.A.L. (1991) Specificity of plant-fungus interactions: molecular aspects of avirulence genes. In “Molecular Genetics of Plant-Microbe Interactions”. Kluwer Acad. Pr. Amsterdam: 233 – 241.
- DeWit P.J.G.M., Mehrabi R., van den Burg H.A., Stergiopoulos I. (2009) Fungal elicitor proteins. Molec. Plant Microbe Interact. 10: 735 – 747.
- Djamei A., Schipper K., Rabe F., Ghosh A., Vincon V., Kahut J., Ozorio S., Tonhe T., Fernie A.R., Feussner I., Feussner K., Stierhof Y.-D., Schwarz H., Macek B., Mann M., Kahmann R. (2011) Metabolic priming by a secreted fungal effector. Nature. 478: 395 – 398; doi:102038/nature, 10454.
- Ellis J.G., Rafigi M., Gan P., Chakrabatti A., Dodds P.N. (2009) Recent progress in discovery and functional analysis of effector proteins of fungal and oomycete plant pathogens. Current Opinion in Plant Biol. 12: 399 – 405.

- Gilchrist D.G., Wang H., Bostock R.M. (1995) Sphingosine related mycotoxins in plant and animal diseases. *Canad. J. Bot. Suppl.* 1: 459 – 467.
- Goldfry D., Thlenius H.B., Pedersen C., Zhang Z., Emmersen J., Thordal-Christensen H. (2010) Powdery mildew fungal effector candidates share N-terminal Y/E/WxC-motiv. *DMC Genetics*. 11; 317B. DOI: 120.1186/1471-2164-11-317.
- Griffiths E. and Ao H.C. (1980) Variation in *Septoria nodorum*. *Ann. Appl. Biol.* 94: 294 – 296.
- Hadwiger L.A., Daniels C., Fristensky B.W., Kendra D.F., Wagoner W. (1986). Pea genes associated with the no n-host resistance to *Fusarium solani* are also induced by chitosan and in race specific resistance by *Pseudomonas syringae*. In “Biol. and Molec. Biol. of Plant-Pathogen Interactions”. Ed. by J. Bailey. Springer-Ferlag: 263-269.
- Hall M.T., Roberts I.N., Tlbot N.J., Oliver R.P. (1989) Expression of reverse transcriptase genes in *Fulva fulva*. *Molec. Plant Microbe Interact.* 2: 165 – 168.
- Hogenhout S.A., Van den Hoorn R.A.L., Terauchi R., Kamoun S. (2009). Emerging concept in effector biology of plant-associated organisms. *Molec. Plant-Microbe Interact.* 22: 115 – 122.
- Jiang R.H.V., Tyler B.M., Whisson S.C., Hardham A.R., Govers F. (2006) Ancient origin of elicitor gene clusters in *Phytophthora* genomes. *Molec. Biol. Evolut.* 23: 338 – 351.
- Kamoun S. (2006) A catalogue of the effector secretome of plant pathogenic oomycetes. *Ann. Rev. Phytopathol.* 44: 41 – 60.
- Kamoun S., van West P., Vleeshouwers V., de Groot K., Govers F. (1998) Resistance of *Nicotiana benthamiana* to *Phytophthora infestans* is mediated by the recognition of the elicitor protein INF1. *Plant Cell.* 10: 1413.
- Kachroo P., Leong S.A., Chattoo B.B. (1994) Pot2, an inverted repeat transposon from the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*. *Molec. General Genet.* 245: 339 – 348.
- Keen N.T., Partridge J.E., Zaki A.I., (1972). Pathogen-produced elicitor of chemical defense mechanism in soybean resistant to *Phytophthora megasperma* var *sojae*. *Phytopathology.* 62: 768.
- Kemen E., Kemen A.C., Rafigr M., Hempel U., Mendgen K., Hahn M., Volgele R.T. (2005) Identification of a protein from rust fungi transferred from haustoria into infected plant cell. *Molec. Plant-Microbe Interact.* 18: 1130 – 1139.
- Kimura M., Anzai H., Yamaguchi I. (2001) Microbial toxins in plant-pathogen interactions: biosynthesis, resistance mechanisms, and significance. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 47: 149 – 160.
- Kombrink A., Thomma B.PP.H.J. (2013) LysM effectors; secreted proteins supporting fungal life. *PLOS Pathogens*. DOI10.1371/journal.ppat.1003769.
- Levashina E.A., Langley E., Green C., Gubb D., Ashburner M., Hoffeman J.A., Reichhart J.-M. (1999) Constitutive activation of Toll-mediated antifungal defense in serpin-deficient *Drosophila*. *Science.* 285: 1917 – 1919.
- Lu T., Lu Z., Song C., Hu Y., Huang Z., She J., Fan F., Wang J., Jin C., Chang J., Zhou J.M., Chai J. (2012) Chitin-induced dimerization activates a plant immune receptor. *Science.* 336: 1160 – 1164.
- Nelson R., Cochrane B. (1997) Hypermutability as a source of genomic variation in the homothallic fungus *Basidiobolus*. *Program 19<sup>th</sup> Fungal Genet. Conf.* 78.

- Nurnberg T., Brunner F., Kemmerling D., Plater L. (2004) Innate immunity implants and animals: striking similarities and differences. *Immunological Rev.* 198: 249 – 266.
- Petre B. and Kamoun S. (2014) How do filamentous pathogens deliver effector proteins into plant cell? *PLOS Biology*. DOI: 10.1371/journal.pbio.1001801.
- Raffaele S. and Kamoun S. (2012) Genome evolution in filamentous plant pathogens: why bigger can be better. *Nature Rev. Microbiol.* DOI: 10.1038.1-14.
- Rep M. and Kistker H.C. (2010) The genomic organization of plant pathogenicity in *Fusarium* species. *Curr. Op. Plant Biol.* 13: 420 – 426.
- Robinson S.M. and Bostock R.H. (2014) B-glucans and eicosopolyenoic acids as MAMPs in plant-oomycete interactions: past and present. *Frontier Plant Sci.* R015/doi: 10.3389/fpls.00797.
- Rose J.K.C., Ham K.-S., Darvill A.G., Albersheim P. (2002) Molecular cloning and characterization of glucanase inhibitor proteins. *Plant Cell.* 14: 1329 – 1345.
- Rustchenko-Bulgac E.P., Sherman F., Hick J.B. (1989) Chromosomal rearrangements associated with morphological mutants provide a means for genetic variation of *Candida albicans*. *J. Bacteriol.* 172: 1276 – 1283.
- Sacks W., Nurenberg T., Hahlrock K., Scheel D. (1995) Molecular characterization of nucleotide sequences encoding the extracellular glycoprotein elicitor from *Phytophthora megasperma*. *Molec. General. Genet.* 246: 45 – 55.
- Stergiopoulos I. and deWit P.J.G.M. (2009) Fungal effector proteins. *Ann. Rev. Phytopathol.* 47: 233 – 263.
- Straney D., van Etten H., Ruan Y., Wilhite S. (1991) Molecular regulation of the pisatin demethylase gene in *Nectria haematococca* (MPV1). *Phytopathology.* 81: 702.
- Tiller B.H. (2009) Effectors. In “Oomycete Genetics and Genomics”. Eds. K. Lamour and S. Kamoun. Willey-Blackwell: 361 – 386.
- Wolpert T.J., Dunkle L.D., Giuffetti L.M. (2002) Host-selective toxins and avirulence determinants: what’s in a name? *Ann. Rev. Phytopathol.* 40: 251 – 284.
- Yamada T. 1993. The role of auxin in plant-disease development. *Ann. Rev. Phytopathol.* 31: 253 – 273.
- Yamada T., Hashimoto H., Shiraishi T., Oku H. (1989) Suppression of pisatin, phenylalanin- ammonia lyase, mRNA accumulation by a putative pathogenicity factor from the fungus *Mycosphaerella pinodes*. *Molec. Plant-Microbe Interact.* 2: 256 – 261.

# ИНВАЗИИ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ

Дьяков Ю.Т.

Московский Государственный университет имени М.В. Ломоносова  
yuridyakov@yahoo.com

Фитопатогенных грибы вызывают 70 % известных болезней растений. С грибными болезнями связаны самые страшные эпифитотии, такие как фитофтороз картофеля в Западной Европе, гельминтоспориоз риса в Бенгалии, вилт хлопчатника в советской Средней Азии, южный гельминтоспориоз кукурузы в США и другие.

Все болезни растений можно условно разделить на две группы: эндемичные и инвазивные.

Эндемичные болезни всегда присутствуют в природных популяциях, но слабо вредоносны. Зона эндемичных болезней может расширяться или сужаться, подобно амёбе. В отдельные годы они могут превратиться в эпидемии с серьезными потерями, однако, при этом не происходит гибели растительных популяций, численность которых в последующие годы быстро восстанавливается.

Инвазивные болезни всегда опасны, часто вызывают массовое поражение растений — эпифитотии, которые способны угрожать самому существованию популяций растения-хозяина. Поэтому именно инвазивные болезни служат главным предметом внимания фитопатологов. «История фитопатологии — это история миграций фитопатогенных организмов» (Crandall, Gravatt, 1967).

Причины инвазий фитопатогенных грибов:

1. Попадание растений в новые для них регионы и поражение их возбудителями местных эндемичных болезней.
2. Попадание паразитов растений в новые для них регионы и поражение ими местных растений.
3. Изменения климата, повышающие патогенность (или скорость размножения паразитов) или снижающие устойчивость растений к болезням в новых для них районах.

Инвазивные фитопатогенные грибы в новых регионах могут вызвать эпифитотии при следующих обстоятельствах:

1. Встреча с новым, высоко восприимчивым растением-хозяином. Например, оомицет *Phytophthora cinnamomi* был описан, как возбудитель корневой гнили корицы на островах Индонезии, но серьезного ущерба этой культуре он не приносил. В 50-х годах XX века он попал в Австралию и вызвал там жесточайшую эпифитотию эвкалиптов

(Shepherd, 1975). К началу 70-х в юго-западной Австралии *P. cinnamomi* погубила 80 000 га эвкалиптовых лесов (Newhook, Podger, 1972; Pratt, Heather, 1973). А эпифитотии фитофтороза картофеля в середине XIX века в Западной Европе были вызваны тем, что культурный картофель и *Phytophthora infestans* в диком виде также формировались в разных местностях и встретились лишь в Европе.

2. Следование за своим растением-хозяином. История сельского хозяйства знает немало примеров, когда та или иная культура приобретает свою вторую родину и начинает массово выращиваться не в центрах своего происхождения, а в других районах, часто, на других континентах. Так основные площади под картофелем заняты не в Чили и Перу, а в Китае, Индии, России и Белоруссии каучуконос гевея родом из Южной Америки нашел вторую родину в юго-восточной Азии, а большинство кофейных плантаций находится не на его родине в северо-восточной Африке, а в Южной Америке. Вместе с растениями в новые районы могут попадать и их паразиты, которые, вследствие изменения условий жизни могут вызывать более тяжелые заболевания своих хозяев, чем это было на родине. Например, возбудитель голландской болезни язв *Ophiostoma ulmi* был с зараженными досками перевезен из Европы в Америку. Попадание в Новый Свет небольшой случайной выборки изолятов гриба из европейских популяций (эффект бутылочного горлышка) и существование их на новом наборе растений-хозяев, в новых погодных условиях, в новом генетическом окружении и в отсутствии генетических обменов с материнскими популяциями привело к новым адаптациям и их закреплению в форме половой изоляции от особей из материнских популяций. В Америке возникла агрессивная раса NAN, фактически новый, более агрессивный вид, названный *O. novo-ulmi* (Brasier, 1991). В 1967 г. с грузом канадских досок эта агрессивная раса попала в Европу.

3. Изменение климата вследствие глобальных или региональных процессов. Повышение среднегодовой температуры и увеличение концентрации углекислого газа в воздухе, наблюдаемые в последние годы, вызывают новые угрозы сельскому хозяйству (Левитин, 2012, Coakley et al., 1999, Gautam et al., 2013).

Глобальное потепление вызвало возникновение следующих проблем:

А. Произошло продвижение возбудителей болезней в новые, более северные, районы. Например, фузариозы колоса (*Fusarium* spp.) в России ранее были вредоносными только в южных регионах России; сейчас они распространились вплоть до Ленинградской области. Фитофтороз картофеля никогда не наблюдался в Мурманской области, сейчас там эпифитотии повторяются почти ежегодно; то же самое происходит с желтой ржавчиной пшеницы и другими болезнями.

Б. Усилилась вредоносность ранее встречавшихся в регионах болезней и вредителей вследствие того, что а/ мягкие зимы не способствуют гибели зимующего запаса инфекции; б/ повышенное содержание CO<sub>2</sub> и высокие летние температуры усиливают агрессивность возбудителей мучнистой росы, ржавчины и др. (укорачивают латентный период, усиливают споруляцию); в/ эти же факторы снижают иммунитет растений (экспериментально установлено снижение устойчивости пшеницы к бурой ржавчине, подсолнечника к заразихе, табака к фитофторозу).

4. Генетические изменения паразита, повысившие его патогенность. Например, в 40-х годах XX века горизонтальным переносом был передан из *Staganospora nodorum* в *Pyrenophora triticum-repentis* ген, контролирующий синтез селективного для пшеницы токсина *tox-A* (Sun et al., 2013). После этого Пиренофора, вызывавшая малозначимые заболевания злаков, превратилась в возбудителя одной из самых разрушительных болезней пшеницы.

#### Пути и способы распространения грибов

Основные способы распространения грибов — анемохория, гидрохория, зоохория и антропохория. Для дистанционных инвазий грибов гидрохория и зоохория большого значения не имеют, хотя первая может играть известную роль в распространении грибных зачатков в зонах поливного земледелия. Например, в реках, используемых для орошения полей в ЮАР, были обнаружены зооспоры фитофторовых оомицетов, причем численность зооспор зимой и весной составляла 0 – 20 штук в литре, а летом и осенью (когда вода используется для орошения) оно повышалось до 50 – 350 (von Broemsen, 1989). Но наибольшую опасность представляют первый и четвертый пути.

*Анемохория* — распространение грибных зачатков воздушными токами. Она характерна для грибов, поражающих надземные органы растений и имеющих открытое воздушное спороношение (ржавчинные, головневые, мучнисторосяные и ложномучнисторосяные, возбудители серой гнили и пятнистости листьев), хотя во время пыльных бурь могут распространяться и почвообитающие гриба, находящиеся на поверхности и внутри частиц почвы, переносимых ветром на большие расстояния.

На эффективность анемохории оказывают влияние три фактора: отрыв спор от спороносных гиф, вертикальный подъем и движение в горизонтальном направлении.

По данным К.М. Степанова (1935) минимальная скорость ветра, необходимая для сдувания спор *Botrytis cinerea*, составляет 0,36 – 0,50 м/с, телиоспор *Ustilago tritici*, урединоспор *Puccinia triticina* и конидий *Helminthosporium sativum* (syn. *Bipolaris sorokiniana*) — 0,51 – 0,75 м/с, эциоспор *P. coronata* — 0,76 – 2,0 м/с, зооспорангиев *Phytophthora*

*infestans* и конидий *Fusarium culmorum* — более трех мм/с (следовательно, для отделения последних брызги дождя играют большую роль, чем движение воздуха).

После отделения споры под влиянием турбулентных токов воздуха распределяются на разных высотах над источником их образования. Число спор возбудителей стеблевой и бурой ржавчин пшеницы, пойманных в спороловушки на высоте 6 м над уровнем растений пшеницы, составило 2 % от спор, уловленных внутри поля (Verstmeyer et al., 1973). Следовательно, основная масса спор, даже таких легких, как урединиоспоры, осаждаются вблизи источника их возникновения. Однако, учитывая огромную продуктивность большинства фитопатогенных грибов и высокую инфекционную способность их спор, даже долей процента может быть достаточно для того, чтобы вызвать инвазию растений в местах осадения спор.

Подъем спор осуществляется восходящими токами воздуха, опускание — нисходящими.

*Несущий* или *транспортный слой* — толщина слоя воздуха от поверхности до точки, выше которой температура постоянна (точки инверсии температуры). Толщина несущего слоя меняется в зависимости от времени года и суток. Днем толщина слоя 1 – 2 км, ночью — 300 – 400 м. Следовательно, оседание спор, находящихся в нижней части несущего слоя, происходит ночью, а также во время дождя, в каплях — спороловушках. Оседание урединиоспор ржавчинных грибов происходит одиночно и в кучках. Последние составляют более 50 % оседающих единиц и 80 % всех спор. 30 % спорокучек содержит пять и более спор (Ferradino, Aylor, 1987).

Горизонтальное перемещение спор определяется скоростью и направлением ветра (Davis, 1987). При скорости ветра 20 км/час. ежесуточное перемещение спор составляет 500 км. Расстояние в 7000 км (ширина Атлантического океана между Африкой и Южной Америкой) споры могут преодолеть за 15 суток.

*Антропохория* — самый непредсказуемый способ распространения фитопатогенов. Например, антракноз дыни и дынная муха распространяются вдоль железнодорожных путей вследствие того, что пассажиры выбрасывают в окна поврежденные участки дынь, которые едят в дороге. А споры возбудителя желтой ржавчины пшеницы *P. striiformis* в 1979 г. попали в Австралию на одежде туристов.

Типа дисперсии инфекционного материала

1. *Перенос на большие расстояния; межконтинентальное распространение.* Происходит редко и непредсказуемо, однако вызывает наиболее опасные и запоминающиеся эпифитотии.

Например, инвазия возбудителя ржавчины кофе *Hemelia vastatrix* с общей родины кофе и ржавчины Абиссинии в середине XIX на восток — в Индию и Цейлон привела к гибели этой культуры; инвазия ржавчины из Западной Африки в Бразилию в середине XX века вызвала серьезные изменения в агротехнике выращивания кофе в Новом Свете (Schreiber, 1972; Monaco, 1977; Becker-Raterunk, 1982). И до сих пор, несмотря на ежегодные мероприятия по защите, ржавчина наносит там серьезный урон. Так эпидемия ржавчины 2012 – 2013 гг в Центрально-Американских странах (Гватемале, Никарагуа, Гондурасе, Коста-Рике) вызвала потери 20 % урожая на сумму 550 млн. \$ и к разорению сотен мелких фермеров.

При оценке опасности попадания возбудителей болезней в новые регионы необходимо учитывать особенности эволюционно сложившихся взаимоотношений инвазивного паразита с растениями, живущими на его новой родине. Например, родина культурного картофеля *Solanum tuberosum* — северо-восток Южной Америки (Чили, Перу) (Жуковский, 1971). Предполагаемая родина его паразита — оомицета *Phytophthora infestans* — Центральная Америка (Мексика, Гватемала), где он паразитировал на дикорастущих клубненосных местных видах рода *Solanum*. Попав в Европу, паразит встретился там с тремя культивируемые видами рода *Solanum*: *S. tuberosum* (п/р *Solanum*, сек. *Petota*, родина Южная Америка), *S. lycopersici* (п/р *Solanum*, сек. *Lycopersicon*, родина — Южная Америка) и *S. melongena* (п/р *Lepostemonium*, сек. *Melongena*, родина — Азия). Первое сообщение о поражении картофеля датируется 1843 г., а уже в 1945 г. началась страшнейшая эпифитотия. Первое сообщение о поражении томата датируется 1915 годом, а эпифитотии на томатах начались сто лет спустя после картофельных — в 1940 г. в США и в 1960-х годах в СССР. Сообщения о поражении листьев баклажан появились почти одновременно с поражением томата, но массовых заболеваний этой культуры не наблюдается до сих пор. Различия в поражаемости трех видов пасленовых культур не удивительны. Паразит у себя на родине развивался на представителях той же секции клубненосных пасленовых, что и культурный картофель, поэтому тип обмена этих видов оказался наиболее близким, доступным «природным вкусам» патогена. К тому же, находясь вдали от природного местообитания паразита, культурный картофель не выработал естественных механизмов устойчивости или толерантности, и при встрече поразился очень сильно. Томат принадлежит к другой секции подрода *Solanum* и, вследствие этого имеет более сильные генетические и биохимические отличия от нативных хозяев паразита. Поэтому понадобилось время для адаптации патогена к типу его обмена. Полагаю, что вирулентность к томату обусловлено появлением особой расы T1 (Дьяков, Еланский, 2007)). Наконец, баклажан относится к другому подроду рода *Solanum*, его генетические и биохимические

отличия от диких хозяев паразита настолько велики, что не позволяют инокульному накапливаться до эпидемиологически опасных размеров.

Другой пример — эпифитотии пузырчатой ржавчины веймутовой сосны в Северной Америке. Возбудитель болезни *Cronartium ribicola* формирует многолетний эциальный мицелий в тканях пятихвойных сосен (подрод *Strobilus*), который ослабляет дерево и приводит к усыханию пораженных ветвей. А уредине- и телиостадии образуются на листьях смородины. Пятихвойные сосны возникли в мезозе на исчезнувшем материке Берингии, соединявшем Сибирь с Аляской. Оттуда они распространились двумя потоками. Первый путь — на восток, в Аляску, Юкон, острова Франклина, Гренландию, Великобританию. На этом пути возникла, в частности, веймутова сосна, образующая сосновые леса на севере США и в Канаде. Второй путь — на юго-запад, в Сибирь, Китай, Афганистан, Турцию, Балканы, Альпы. На этом пути возникла сибирская сосна (сибирский кедр) и европейская альпийская (кедровая) сосна. Ржавчина, поражающая виды пятихвойных сосен, возникла, по-видимому, в Центральном Китае после исчезновения моста, связывающего Азию с Америкой. Поэтому паразит эволюционировал параллельно с азиатскими, а не американскими видами сосен, и, следовательно, у них выработались механизмы толерантности. Хотя сибирский кедр, как и европейская кедровая сосна поражаются болезнью, но она развивается медленно, не вызывая гибели деревьев. В начале XX века для посадок веймутовой сосны (ее дикие леса к этому времени были вырублены) американцы закупили ее саженцы в ботанических садах Европы и привезли с ними ржавчину, которая вызвала страшнейшие эпифитотии. Если бы американские лесоводы приняли во внимание закономерности коэволюции растений и их паразитов, они никогда бы не стали закупать посадочный материал в Старом Свете.

Еще одно важное правило, которое должно учитываться: устойчивость, возникшая в ходе коэволюции, может теряться после попадания растения в районы, где паразит отсутствовал. Поэтому повторная встреча после долгих лет разлуки также опасна, как и встреча впервые. Особенно важно учитывать это правило при работе с перекрестно-опыляющимися видами растений, в популяциях которых эволюционные процессы протекают быстрее, чем у самоопылителей. Дело в том, что гены устойчивости (и контролируемые ими метаболиты) накапливаются только в условиях постоянного инфекционного фона, когда сильные потери, вызываемые заболеванием, превышает незначительные потери, вызываемые функционированием защитных систем. Поэтому при отсутствии паразита гены устойчивости становятся «ненужными» и элиминируются. Яркий пример — история возделывания кукурузы в Африке. На своей родине, в Америке, кукуруза поражается несколькими видами ржавчин-

ных грибов, в частности, возбудителем южной ржавчины *Puccinia polysora*. Вследствие длительно коэволюции в растениях накопились комплексы генов резистентности, и южная ржавчина, как эндемичное заболевание, сохраняется в популяциях кукурузы, но не вызывает эпифитотий. В Африку кукурузу привезли католические миссионеры более 300 лет назад, но ржавчина в Африку не попала, так как во время длительных морских путешествий на парусных судах ее споры элиминировались. Кукуруза нашла в Африке вторую родину, она выращивалась там на миллионах гектаров и в ряде стран стала основной сельскохозяйственной культурой. Но к середине XX века, когда морские вояжи сменились авиаперелетами, в Африку была завезена ржавчина. И начались такие страшные эпифитотии, каких Америка никогда не знала.

Очень важно установить источники межконтинентальной миграции фитопатогенных грибов. Решению этой проблемы помогают молекулярные методы. Впервые они были применены австралийскими фитопатогами (Burdon et al., 1982) для установления источников миграции в Австралию возбудителя стеблевой ржавчины пшеницы *Puccinia graminis*. Было установлено, что расовый состав популяций гриба изменялся в XX веке три раза: 1) до 1925; 2) 1925 – 1954; 3) после 1954 г. В качестве источников миграции спор в эти периоды могли быть южная Африка и Южная Америка. Анализ изоферментов и расового состава образцов гриба, выделенных с трех континентов, показал, что источник межконтинентальной миграции ржавчины в Австралию — Южная Африка.

Другой пример — ржавчина сои в *Phacopsora sojae* (*P. pachyrhizae*) в Новом Свете. Родина сои и ее паразита — восточная Азия, так что соя в Америке — завезенное растение. Ее поражение там может быть следствием двух причин — миграции из стран Старого Света или переход с местных дикорастущих бобовых растений, на которых ржавчина была обнаружена. Для решения поставленного вопроса был проанализирован изоферментный состав белков образцов сои разного происхождения (табл. 1).

Как видно из таблицы, изоферментный состав штаммов, выделенных из разных регионов Старого Света оказался идентичным, но не имел сходства и изоферментами из Южной Америки; по-видимому, ржавчина перешла на сою, привезенную в Америку с местных бобовых растений. Однако на американском континенте дальнейшее распространение спор осуществлялось с помощью ветра. В 2004 г. споры возбудителя ржавчины сои перелетели с ураганом в Мексиканском заливе из Карибской зоны в США.

Таблица 1.

**Локусы изоферментов штаммов *Phakopsora pachyrhizae* из  
восточного и западного полушариев (Bomde et al., 1988)**

Локусы	Австралия, Китай, Индия, Филиппины, Тайвань	Бразилия, Пуэрто-Рико
Asp	100	96
Dia	100	38
Est	100	108
G6Pdh	100	36
GPI	100	50
LAP	100	100
MDG	100	75
MPI	100	47
PepLa1	100	0
PepLa2	100	95
PepLLL1	100	0
PepLLL2	100	90
Pgi	100	129

Коэффициент сходства — 0,07.

Глобальные миграции возбудителя желтой ржавчины пшеницы *Puccinia striiformis* были исследованы с помощью мультилокусного микросателлитного генотипирования 409 изолятов из шести континентов (Ali et al., 2014). Анализ неравновесного сцепления и генетического разнообразия показал наличие сильной региональной гетерогенности в уровне рекомбинации. В Гималаях (Непал, Пакистан) и прилегающих районах Китая отмечена четкая рекомбинационная структура, в то время как в остальных регионах — клональная структура популяций. Это не удивительно, так как Китай — единственный регион, в котором обнаружены популяции *P. striiformis*, имеющие полный жизненный цикл с эциальной стадией на местных видах барбариса (Jin et al., 2010). Эти особенности популяционной структуры, плюс наиболее высокое внутри-популяционное генетическое разнообразие позволило автору считать Гималаи и прилегающие к ним районы Китая — центром формирования гриба. Показано также, что источником миграции штаммов, адаптированных к высоким температурам, является Средний Восток – Восточная Африка: источником штаммов, попавших в страны Нового Света и в Австралию — Европа, а в Южную Африку — Средиземноморье.

2. *Постепенно (шаг за шагом) внутрорегиональное распространение.* Встречается гораздо чаще, чем межконтинентальное. Например, вирулентные расы возбудителя мучнистой росы ячменя *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* мигрируют по Европе в западном направлении со скоростью 110 км/год. В связи с постоянным перемещением большая часть Европы представляет собой одну эпидемиологическую единицу (Wolfe, McDermont,

1994). Ржавчинные грибы мигрируют по Европе с юга на север двумя рукавами: в Западной Европе из Северной Африки до Британии; в Восточной Европе из Румынии, Турции, Северного Кавказа до Скандинавии (Nagarajan, Singh, 1990)

В 1999 г. в Уганде обнаружена раса Ug99 (ТТКС) *Puccinia graminis*, которая поражает сорта пшеницы, защищенные многими генами устойчивости. Ее глобальное распространение может привести к гибели пшеницы на площади 50 млн. га (25 % всех площадей под пшеницей). В 2010 г. потери от стеблевой ржавчины в Кении составили 70 % урожая. Эта раса мигрирует двумя путями: 1/. На юг по восточно-африканскому направлению вплоть до ЮАР; 2/. На северо-восток; в этом направлении раса Ug99 захватила уже Аравийский полуостров, Иран и обнаружена в Афганистане (Singh et al., 2006).

3. *Распространение в зоны, где невозможно прохождение полного цикла вследствие суровых зим или отсутствия промежуточного хозяина (дочернии популяции).* Примером может служить так называемый ржавчинный коридор (*Puccinia path*) в Северной Америке. Для защиты от стеблевой ржавчины в Северной Америке уничтожены кусты барбариса (за исключением ботанических садов, где за их состоянием проводится мониторинг). Поэтому в северных штатах США и в Канаде, вследствие относительно суровых зим паразит не может зимовать в урдинеостадии на озимых, а зимовка в телиостадии исключена вследствие отсутствия промежуточного хозяина. Однако, благодаря ветрам, дующим в первую половину лета в северном направлении вдоль Кордильер, на север переносится инфекция, сформированная в Техасе и Мексике. Эта популяционная волна не имеет будущего, так как накопленные за лето урединиоспоры погибают зимой, и каждый год инфекция формируется заново за счет мигрантов.

Более сложная ситуация, связанная с путями миграции возбудителя бурой ржавчины пшеницы *Puccinia triticina*, наблюдается в России и сопредельных странах. Эта ржавчина способная вызывать эпифитотии по всей зоне возделывания пшеницы. Однако, редкая встречаемость промежуточных хозяев, дает основание полагать, что главный источник весеннего возобновления инфекции — урединиомицелий, зимующий под снегом на озимых. Такой жизненный цикл вполне прием для центральных и южных районов европейской России, но не Сибири, вследствие морозных зим и незначительных площадей, занятых озимой пшеницей. Поэтому предполагалось, что, как и в Америке, сибирские популяции ежегодно формируются за счет мигрантов из европейской России. Это предположение было подтверждено И.Г. Одинцовой и Л.Ф. Шеломовой (1977), которые обнаружили поражение сорта Кавказ (вирулентная к нему раса в эти годы накопилась в Краснодарском крае и на Украине) в

питомниках-ловушках, расположенных не только в Центральной России, но и в Западной Сибири. Однако, Л.А. Михайловой с соавторами получены данные, во-первых, по сравнению распределения генов вирулентности в популяциях ржавчины, и, во-вторых, по анализу направления господствующих ветров, которые отрицают возможность стабильной ежегодной миграции спор в Сибирь с юга России. В частности, распространению спор препятствуют циклон в Западном Казахстане и антициклон, спускающийся с севера Западной Сибири (Михайлова, 2006). Автор выделила на территории России несколько относительно изолированных популяций: европейскую, западно-азиатскую (Урал, Западная Сибирь, северный Казахстан), дальневосточную, кавказскую. Поскольку знание путей миграции имеет большое практическое значение (например, для рационального размещения сортов пшеницы), для окончательного его решения может быть полезно исследование микросателлитных ДНК-маркеров у штаммов из разных регионов России.

### Литература

- Дьяков Ю.Т., Еланский С.Н. (2007) Популяционная генетика *Phytophthora infestans* в сб. «Микология сегодня» (ред. Дьяков Ю.Т. и Сергеев Ю.В.) Том 1. Нац. акад. микол., М, 107 – 139.
- Левитин М.М. (2012) Изменение климата и прогноз развития болезней растений. Микол. и фитопатол. 46: 14 – 19.
- Жуковский П.М. (1971) Культурные растения и их сородичи, изд. «Колос», Ленинград.
- Михайлова Л.А. (1996) Структура популяций возбудителя бурой ржавчины пшеницы на территории СНГ. V. Ареалы популяций и направления миграции спор. Микол. и фитопатол. 30: 84 – 91.
- Михайлова Л.А. (2006) Генетика взаимоотношений возбудителя бурой ржавчины и пшеницы. Российский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург.
- Одинцова И.Г. и Шеломова Л.Ф. Пути селекции на устойчивость в связи с миграцией возбудителя бурой ржавчины пшеницы. Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. 58: 41 – 44.
- Степанов К.М. (1935) Распространение инфекционных болезней растений воздушными течениями. Труды по защите растений, 11, сер. фитопатол., вып. 8: 1 – 68.
- Ali S., Gladieux P., Leconte M., Gautier A., Justesen A.F., Hofmoller M.S., Enjalbert J., Vallavieille-Pope C.M. (2014) Origin, migration routes and world wide population genetic structure of the wheat yellow rust pathogen *Puccinia striiformis* f.sp.*tritici*. Plos Pathogens. DOI: 10.1371/Journal.ppat.1003903.
- Becker-Raterink S. (1982) Die Verbreitung des Kaffeerostes (*Hemellia vastatrix*) in Latin Amerika. Ztschr. Pflanzenkrankh. Pflanzenschutz. 89: 619 – 635.
- Bonde M.R., Peterson G.L., Dowler W.M. (1988) A comparison of isozymes of *Phakopsora pachyrhizae* from the eastern hemisphere and New World. Phytopathology. 78: 1491 – 1494.

- Brasier C.M. (1991) *Ophiostoma novo-ulmi* sp. nov., causative agent of current Dutch elm disease pandemic. *Mycopathologia*. 115: 151 – 161.
- Burdon J.J., Marshall D.R., Lluig N.H., Gow J.S. (1982) Isozyme studies of the origin and evolution of *Puccinia graminis* f.sp.*tritici* in Australia. *Austral. J. Biol. Sci.* 35: 231 – 238.
- Coakley S.M., Scherm H., Chakraborty S. (1999) Climate change and plant disease management. *Annu. Rev. Phytopathol.* 37: 399 – 426.
- Crandall B.S., Gravatt G.F. (1967) The distribution of *Phytophthora cinnamomi*. *Ceiba*. 13: 43 – 55.
- Davis J.M. (1987) Modeling the long range transport of plant pathogens in the atmosphere. *Annu. Rev. Phytopathol.* 25: 169 – 188.
- Ferradino F.J. and Aylor D.E. (1987) Relative abundance and deposition gradient of clusters of urediniospores of *Uromyces phaseoi*. *Phytopathology*. 77: 107 – 111.
- Gautam H.R., Bhardwaj V.L., Kumar R. (2013) Climate change and its impact on plant diseases. *Current Sci.* 105: 1685 – 1691.
- Jin Y., Szabo L.S., Carson M. (2010) Century-old mystery of *Puccinia striiformis* life history solved with the identification of *Berberis* as an alternate host. *Phytopathology*. 100: 432 – 435.
- Monaco K.C. (1977) Consequence of the introduction of coffee rust into Brazil. *Annu. N-Y Acad. Sci.* 287: 57 – 71.
- Nagarajan S. and Singh D.V. (1990) Long-distance dispersion of rust pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* 28: 139 – 153.
- Newhook F.J. and Podger F.D. (1972) The role of *Phytophthora cinnamomi* in Australian and New Zealand forests. *Annu. Rev. Phytopathol.* 10: 299 – 326.
- Pratt B.H. and Heather W.A. (1973) The origin and distribution of *Phytophthora cinnamomi* Rnds. in Australian native plant communities and the significance of its association with particular plant species. *Austr. J. Biol. Sci.* 26: 559 – 573.
- Schreiber E. (1972) Economic impact of coffee rust in Latin America. *Annu. Rev. Phytopathol.* 10: 490 – 510.
- Shepherd C.J. (1975) *Phytophthora cinnamomi* an ancient to Australia. *Search.* 6: 484 – 490.
- Singh R.P., Hodson D.P., Jin Y., Huerta-Espino J., Kinyua M.G., Wanyera R., Njau P., Ward R.W. (2006) Current status, likely migration and strategies to migrate the threat to wheat production from race Ug99 (TTKS) of stem rust pathogen. *CAB Revs: Prospectives in Agric. Veterinary Sci. Nutrition and Naturel Resources.* 1, N054.
- Sun B.-F., Xiao J.-H., He S., Liu L., Murphy R.W., Huang D.-W. (2013) Multiple interkingdom horizontal gene transfer in *Pyrenophora* and closely related species and their contribution to phytopathogenic lifestyles. *PLOS one*. DOI: 10.1371/Journal.pone.0060029.
- Verstmyer M., Kramer C.L., Burleigh J.R. (1973) Vertical spore concentrations of three wheat pathogens above of wheat fields. *Phytopathology*. 63: 211 – 218.
- Von Broemsen S.L. (1989) Native vegetation as source of *Phytophthora* spp. in rivers used for irrigation. *Phytopathology*. 79: 1219.
- Wofe M.S. and MacDermott J.M. (1994) Population genetic of plant-pathogen interactions: the example of the *Erysiphe graminis* – *Hordeum vulgare* pathosystem. *Annu. Rev. Phytopathol.* 32: 89 – 113.

# ЭНДОЦИТОЗ У ГРИБОВ

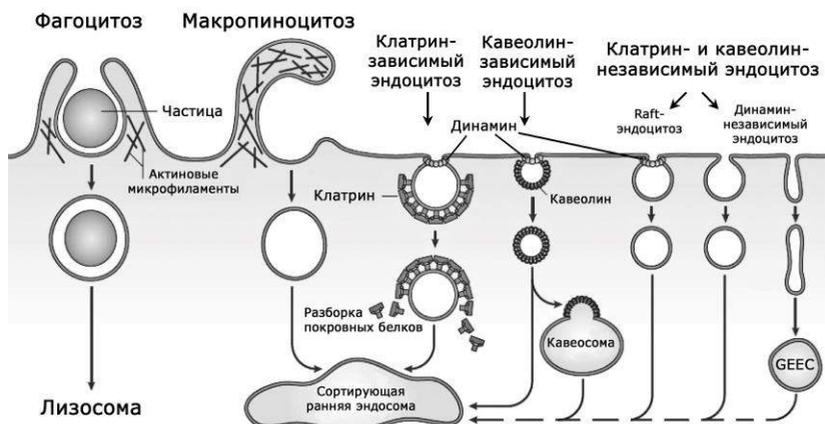
**Камзолкина О.В., Штаер О.В., Кудрявцева О.А., Мажейка И.С.**

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова*  
o-kamzolkina@yandex.ru

Обзор посвящен одному из важнейших клеточных процессов про- и эукариотических организмов — эндоцитозу, лучше всего изученному у животных и в меньшей степени у грибов. Эндоцитоз у животных отвечает за поглощение веществ внутрь клетки, имеет важное значение в онтогенезе, в иммунном ответе, в межклеточных взаимодействиях, в сигнальной трансдукции, в обеспечении клеточного и организменного гомеостаза (Conner and Schmid, 2003). Эндоцитоз у грибов участвует в поступлении питательных молекул в клетки, в апикальном росте гиф, во взаимодействии грибов с представителями других царств, с которыми они вступают в те или иные ассоциации, в обмене половыми факторами у дрожжевых грибов и в других процессах (Wessels, 1986; Toshima et al., 2006; Higuchi et al., 2009; Leborgne-Castel et al., 2010; Huisman et al., 2012). В обзоре рассмотрены основные представления об эндоцитозе, общие черты и особенности эндоцитоза у грибов в сравнении с другими эукариотами, роль эндоцитоза в таких системах как эндомикориза – растение, патогенный гриб – растение, гриб – среда обитания, а также перспективные направления исследования эндоцитоза на примере мицелиальных грибов.

Эндоцитоз представляет собой поглощение (или интернализацию) клеткой воды, веществ, частиц и микроорганизмов. Термин был предложен в 1963 году бельгийским цитологом Кристианом де Дювом для описания множества процессов интернализации, протекающих в клетках млекопитающих (de Duve, 1963). Эндоцитоз осуществляется путем впячивания плазматической мембраны, формирования и отделения везикул, их транспорта и слияния с мембранными компонентами внутри клетки (Hawes et al., 1995). В результате эндоцитоза клетка получает для своей жизнедеятельности гидрофильный материал, который иначе не проникает через липидный бислой клеточной мембраны. Разработана общая классификация, приведенная на рис. 1, которая отражает различные пути **эндоцитоза у животных**. К настоящему времени сформировались также представления о механизмах эндоцитоза у растений и грибов. Во многом данные механизмы укладываются в общую классификацию эндоцитоза животных. Эндоцитоз в широком смысле включает в себя фагоцитоз, макропиноцитоз и опосредованный рецеп-

торами эндоцитоз, или эндоцитоз в узком смысле. Последний может протекать при участии таких покровных (создающих как бы внешний скелет для везикулы) белков как клатрин или кавеолин (соответственно, типы эндоцитоза носят названия клатрин-зависимый (КЗЭ) и кавеолин-зависимый), либо без участия покровных белков (рис. 1).



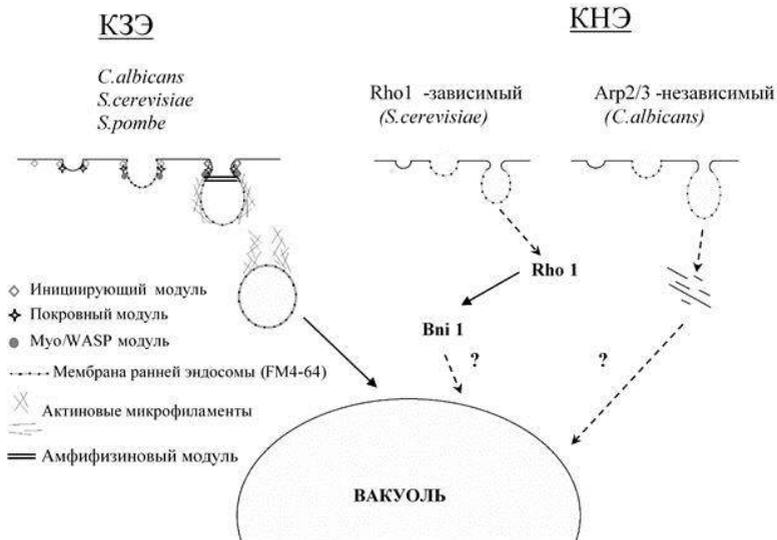
**Рис. 1.** Пути эндоцитоза, известные у животных (во многом схема является общей и для других групп организмов). В широком смысле эндоцитоз подразделяют на фагоцитоз, макропиноцитоз и рецептор-зависимый эндоцитоз. Фагоцитоз и макропиноцитоз включают в клетку крупные везикулы. Фагоцитоз служит для захвата макрочастиц (например, бактерий), макропиноцитоз — экстрацеллюлярной жидкости. Оба процесса актинзависимые. Рецептор-зависимый эндоцитоз (эндоцитоз в узком смысле, далее просто — эндоцитоз) ответственен за поглощение в клетку макромолекул и происходит путем формирования небольших (по сравнению с фагоцитозом и микропиноцитозом) первичных везикул. В зависимости от варианта начального этапа у животных выделяют четыре типа эндоцитоза. При формировании первичной везикулы в случае клатринзависимого и кавеолярного эндоцитозов участвуют покровные белки (клатрин и кавеолин соответственно). Raft-эндоцитоз родственен кавеолярному эндоцитозу, отшнуровку везикулы от мембраны здесь, как и в случае первых двух типов эндоцитоза, осуществляет динамин, но покровных белков нет. Также существует четвертый тип эндоцитоза (возможно, сборный) — динамин-независимый. Везикулы во всех четырех эндоцитарных вариантах могут сливаться с себе подобными везикулами и, в итоге, доставляют груз в ранние эндосомы (РЭ). РЭ также подразделяют на несколько типов. Клатриновый путь идет через сортирующие РЭ. Именно сортирующие РЭ затем созревают и превращаются в поздние эндосомы и мультивезикулярные тела, доставляя груз в лизосомы. Кавеолы и raft-везикулы могут транспортировать груз как в сортирующие РЭ, так и в РЭ специального типа — кавеосомы. Мишень везикул динаминнезависимого эндоцитоза — особые РЭ, которые обозначают ГЕЕС (Mayor and Pagano, 2007, с мод.).

Фагоцитоз — зависимое от актина поглощение крупных частиц, например, микроорганизмов или остатков клеток. В ходе фагоцитоза образуются большие эндоцитозные пузырьки — фагосомы. Фагосомы сливаются с лизосомами и формируют фаголизосомы. Макропиноцитоз — актин-зависимое поглощения жидкости и растворённых веществ с образованием везикул. Пиноцитоз можно рассматривать как неспецифический способ поглощения внеклеточных жидкостей и содержащихся в ней веществ, когда некоторая область клеточной мембраны впячивается, образует ямку и далее пузырёк, содержащий внеклеточную жидкость (рис. 1). Опосредуемый рецепторами эндоцитоз (рис. 1) характеризуется связыванием со специфическими рецепторами плазмалеммы и поглощением из внеклеточной жидкости конкретных макромолекул или вирусов (Mayor and Pagano, 2007).

**У растений** описаны фагоцитоз и макропиноцитоз (Parniske, 2000; Gall et al., 2010). Клатринзависимый эндоцитоз так же, как и у животных, является основным для конститутивного поглощения белков плазмалеммы. Этот процесс служит для транспорта подвергающихся обновлению мембранных компонентов (интегральные мембранные белки), деградация которых, в конечном счете, происходит в вакуолях (Murphy et al., 2005). Сравнительно недавно было показано, что эндосомы у *Arabidopsis* непосредственно участвуют в передаче сигнальных молекул (брасиностероида, BRI1) (Geldner and Jurgens, 2006; Geldner et al., 2007; Geldner and Robatzek, 2008).

Исследования эндоцитоза у грибов начались в 80-х гг. XX века. Первыми объектами были дрожжи (Riezman, 1985; Chvatchko et al., 1986; Jenness and Spatrick, 1986). Обратиться к дрожжам в качестве более простого модельного объекта для изучения механизмов эндоцитоза заставила чрезвычайно высокая сложность функционирования белков, вовлеченных в эндоцитоз у животных. Эндоцитоз **у дрожжей** исследовали на примере *Saccharomyces cerevisiae*, *Schizosaccharomyces pombe* и диморфного патогенного гриба *Candida albicans* (рис. 2). Первые результаты показали присутствие КЗЭ у почкующихся дрожжей, позднее — у *C. albicans* и *S. pombe*, детали которого сходны с КЗЭ животных (рис. 2). Для дрожжей *S. cerevisiae* показано, что КЗЭ участвует в поглощении секретуруемых клеткой **а**- и **α**-факторов (Marsh et al., 1991), в усвоении и деградации белков плазмалеммы, отработанных транспортеров (Riballo and Lagunas, 1994; Volland et al., 1994; Riballo et al., 1995; Horak and Wolf, 1997; Krampe et al., 1998). У почкующихся дрожжей получено доказательство деградации через эндоцитоз двух из трех хитинсинтаз. То есть хитинсинтазы, локализованные в плазмалемме и осуществляющие синтез хитина, подвергаются деградации через эндоцитозный путь в случае,

когда они больше не нужны или повреждены (Chuang and Schekman, 1996; Ziman et al., 1996, 1998; Holthuis et al., 1998).



**Рис. 2.** Модель клатрин-зависимого эндоцитоза (КЗЭ) и клатрин-независимого эндоцитоза (КНЭ) у дрожжевых грибов. КЗЭ у *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae* и *Schizosaccharomyces pombe* работает сходным модульным путем. Сначала место будущей инвагинации везикулы маркируют белки, входящие в так называемый иницирующий модуль. Затем здесь происходит сборка покровного модуля, содержащего клатрин, — начинается формирование везикулы и активируется Миозин/WASP-модуль. Последний стимулирует образование актиновой сети вокруг везикулы. Заключительный этап — посадка амфифизиновых гомологов, осуществляющих отшнуровку везикулы. После отделения везикула транспортирует груз в эндосомы, которые затем доставляют груз в вакуоли. КНЭ у дрожжей может проходить двумя путями: Rho1-зависимый КНЭ у *S. cerevisiae* и Arp2/3-независимый КНЭ у *C. albicans*. Оба пути не связаны с белковым модулем КЗЭ пути, но при этом краситель FM4-64, как и при КЗЭ, накапливается в вакуолях (Epp et al., 2013).

У дрожжей *S. cerevisiae*  $\alpha$ -фактор поглощается клеткой с помощью рецептор-опосредованного эндоцитоза, включает путь сигнальной трансдукции, который приводит к дифференциации и подготовке к половому процессу, после чего  $\alpha$ -фактор транспортируется через эндосомальный путь к вакуолям для деградации. Актин играет роль в поглощении  $\alpha$ -фактора и в дальнейшем участвует в передаче его от эндосом к вакуолям (Toshima et al., 2006). Микротрубочки не участвуют в этом процессе у почкующихся дрожжей. Актин-зависимый эндоцитоз сходен с эндоцитозом

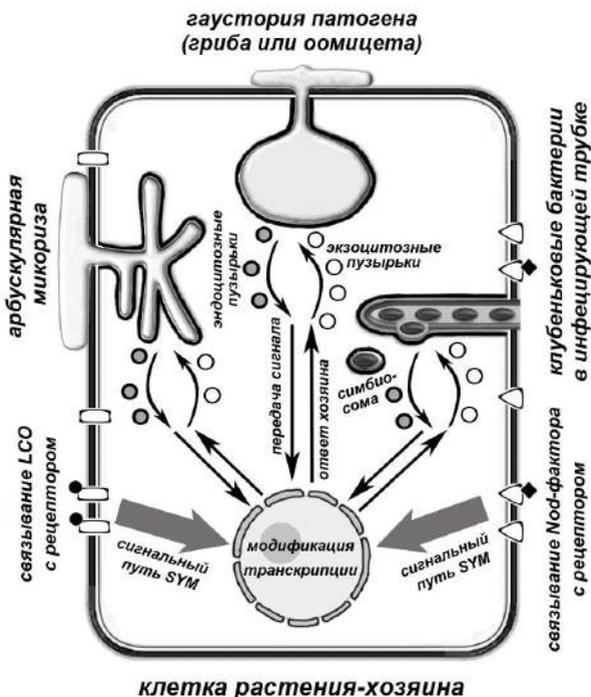
зом апикальной мембраны в поляризованных клетках животных (Kubler and Riezman, 1993). Для *S. cerevisiae*, *S. pombe* и *C. albicans* показаны и исследованы клатрин-зависимый и клатрин-независимый (КНЭ) варианты эндоцитоза (рис. 2).

### Эндоцитоз у симбиотрофных и патогенных грибов

Первые исследования эндоцитоза у мицелиальных грибов были сделаны на фитопатогенных грибах. Также важное место в изучении эндоцитарных процессов занимают арбускулярно-микоризные грибы (АМ), представляющие в современной системе отдельную группу гломусовых грибов. И патогенные, и симбиотрофные грибы для получения питательных веществ из клеток растений развивают специальные инвазивные трофические структуры (арбускулы, гаустории, инфекционные капли/симбиосомы) в тканях растения- хозяина (Pawlowski and Sirrenberg, 2003; Parniske, 2008).

Процесс взаимного узнавания между растением и грибом или бактерией происходит путем обмена сигнальными молекулами или эффекторами. Сигнальные молекулы представляют собой специфические вещества, выделяемые в среду, действующие в малых концентрациях и способные вызывать каскад ответных реакций у растения хозяина. Внутриклеточные патогены способны нейтрализовать ответ иммунной системы растений, секретировав эффекторы, которые изменяют физиологию клетки хозяина для успешной ее колонизации. Сравнительно недавно стало очевидно, что транспорт сигнальных молекул и / или эффекторов при развитии патогенных и симбиотрофных грибов в клетках растений происходит при участии везикул-эндосом (рис. 3) (Huisman et al., 2012).

Колонизация растения АМ-грибами и ризобиями зависит преимущественно от секреции липохитоолигосахаридных сигнальных молекул (LCOs), запускающих сигнальный путь SYM для репрограммирования ответных реакций у растения-хозяина. Например, гриб АМ *Rhizophagus irregularis* образует Мус-LCOs (Maillet et al., 2011), некоторые из которых сульфатированные и обладают структурой, схожей с факторами клубенькообразования *Nod Sinorhizobium meliloti* — симбионта *Medicago truncatula*. Сигнальные молекулы Мус-LCOs активируют у *M. truncatula*, подобно *Nod*-фактору, деформацию корневых волосков и способствуют разрастанию боковых корней (Maillet et al., 2011). Ответ на Мус-LCOs зависит от симбиотического сигнального пути и от рецептора *Nod*-фактора (NFP) у *M. truncatula*, который не участвует в формировании микоризы (Amor et al., 2003). Однако зависимость от downstream транскрипторного фактора связана с ассоциантами (Maillet et al., 2011): сульфатированный *Nod*-фактор *S. meliloti* стимулирует появление боковых корней у растения через сигнальный путь клубенькообразования (NSP1),



**Рис. 3.** Транспорт эффекторов в системе растение-хозяин – ассоциант. Арбускулярно-микоризные грибы формируют ветвящиеся арбускулы, окруженные специализированной периабускулярной мембраной. Ризобии освобождаются из окруженной мембраной капли на инфекционной трубке и формируют симбиосому. Патогенные грибы и оомицеты формируют гаустории в клетках хозяина, окруженные дополнительно экстрагаусториальной мембраной растительного происхождения.

LCO — lipo-chito-oligosaccharides;

SYM — symbiosis signaling pathway.

В рисунке использованы элементы схемы Leborgne-Castel and Bouhidel, 2014.

кодируемый транскрипторным фактором (белком GRAS), предпочтительным для нужд клубенькообразования (Smit et al., 2005; Hirsch et al., 2009), в то время как несulfатированные Мус-LCOs вызывают этот ответ через другой сигнальный путь, функционирующий у арбускулярной микоризы (RAM1), кодируемый фактором сигнальной транскрипции — белком

GRAS, участвующим в формировании эндомикоризы (Gobbato et al., 2012).

Кроме того, помимо LCOs, AM-грибы образуют короткоцепочечные хитоолигосахариды (COs), которые через сигнальный путь активируют осцилляцию кальция в эпидермальных клетках корней *M. truncatula* и моркови (*Daucus carota*) (Genre et al., 2013). Пока нет объяснения тому, как растения отличают COs сигналы, исходящие от симбиотических грибов, от тех, которые образуют патогенные грибы. И те и другие используют COs в программе реорганизации или в разрушении клеточной стенки растения- хозяина. Возможно, большую роль в восприятии разных сигнальных молекул AM-грибов играет частота и амплитуда осцилляции кальция в клетке растения (Ehrhardt et al., 1996; Genre et al., 2013; Sun et al., 2015).

Патогены, главным образом, секретируют эффекторный белки, являющиеся триггерами транскрипции клетки хозяина. Например, белок AvrL567, образуемый гаусториями ржавчинного гриба *Melampsora lini*, индуцирует гиперчувствительный ответ (реакцию гиперчувствительности) — некроз (Dodds et al., 2004). Среди огромного числа эффекторов, идентифицированных у формирующих гаустории грибов и оомицетов, некоторые имеют секреторный сигнал, необходимый для секреции в экстрагаусториальный матрикс (Catanzariti et al., 2007).

Сформированные биотрофные структуры (арбускулы, гаустории) отделены от цитоплазмы хозяина мембраной, отличающейся по составу от плазмалеммы (рис. 3). Это заключение основано на более высокой активности процессов эндо- и экзоцитоза в биотрофных структурах в сравнении с мицелием. В клетке растения сосуществуют разные популяции везикул (эндосом и экзосом), из которых одна популяция секретируется грибом и транспортируется через границу раздела в цитоплазму клетки хозяина, в то время как другая популяция транспортируется в обратном направлении к плазмалемме растения (Huisman et al., 2012) и попадают в мицелий биотрофного гриба (см. далее).

Одним из наиболее изученных модельных объектов в системе взаимодействия растение – гриб-патоген является головневый гриб *Ustilago maydis*. Мицелий патогенного гриба секретирует эффекторные белки в клетки растения (кукурузы) для подавления иммунитета и облегчения грибной инфекции. Совсем недавно на примере *U. maydis* была продемонстрирована роль ранних эндосом (РЭ), перемещающихся от кончика мицелия к ядру, в регуляции продукции и секреции эффектора при инвазии в клетку растения хозяина. В передаче такого ретроградного сигнала участвует митогенактивируемая киназа Crk1, которая транспортируется с помощью РЭ в ядро и контролирует продукцию эффектора

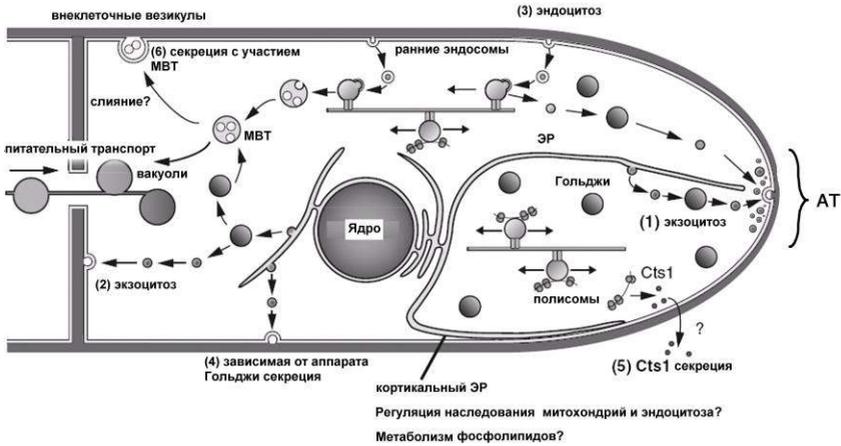
(Bielska et al., 2014). Таким образом, грибные патогены используют сигнальные молекулы для дирижирования процессом инвазии.

На мутантах по гену рецепторного белка Yup1 (t-SNARE), участвующего в эндоцитозе у *U. maydis*, показано, что половой процесс патогена инициируется выделением и чувствительностью к феромонам двух совместимых по локусу типа спаривания клеток. Эндоцитоз играет особую роль на начальных этапах улавливания феромона и его транспорта в клетки партнера. Последовательное формирование конъюгационной трубки возможно в отсутствие эндоцитоза, однако эндоцитоз важен при слиянии клеток. Рост дикариотической гифы зависит в небольшой степени от эндоцитоза. Подобным образом внедрение в растение и рост внутри растения возможны в отсутствие эндоцитоза, в то же время эндоцитоз необходим для формирования и прорастания телеоспор (Fuchs et al., 2006).

Поляризованный рост у мицелиальных грибов связан с деятельностью апикального тельца Spitzenkörper (Reinhard, 1892; Girbardt, 1957) и может происходить со скоростью до 18,5 мкм / мин. (Carlile and Watkinson, 1994). В период активного исследования апикального тельца возникло предположение, что быстрый поляризованный рост требует эндоцитозного поглощения и рециклинга компонентов стенки, таких как ферменты, участвующие в синтезе клеточной стенки (Wessels, 1986), которое впоследствии получило цитологическое подтверждение в исследованиях с маркерами эндоцитоза (FM4-64, Lucifer Yellow). В апикальных компартаментах гифы эндоцитоз участвует в рециклинге и повторном использовании некоторых белков, участвующих в росте кончика гифы (рис. 4). Восполнение в потребности этих белков происходит в большей степени за счет рециклинга, чем синтез всех этих белков de novo. Быстрый рециклинг происходит в гифе через эндосомы и/или спутник апикального тельца (Higuchi et al., 2009).

### **Изученность эндоцитоза у мицелиальных грибов**

Несмотря на то, что к настоящему времени уже известны основные механизмы эндоцитоза у дрожжей, первое доказательство эндоцитоза у мицелиальных грибов получено гораздо позднее (Hoffmann and Mendgen, 1998; Steinberg et al., 1998). В пионерских работах было продемонстрировано накопление эндоцитозных маркеров FM 4-64 и Lucifer Yellow в мицелии фитопатогенных грибов *Uromyces fabae* и *U. maydis* соответственно. Сходные исследования других видов грибов из разных систематических групп подтвердили, что эндоцитоз — общий процесс, характерный для мицелиальных грибов, таких как *Aspergillus nidulans*, *Botrytis cinerea*, *Magnaporthe grisea*, *Neurospora crassa*, *Phycomyces blakesleeana*, *Puccinia graminis*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*,



**Рис. 4.** Пути везикулярного транспорта у мицелиальных грибов. ЭР образует сеть с периферическим кортикальным ЭР, который может играть роль в метаболизме и регуляции внутриклеточной активности. Аппарат Гольджи накапливается с избытком в области кончика гифы, и его организация участвует в поддержании полярности гифы. Ранние эндосомы двигаются вдоль микротрубочек и транспортируют полисомы, чтобы обеспечить равномерное распределение рибосом. Поздние эндосомы/МВТ везикулярные структуры с внутренними везикулами, которые могут участвовать в нестандартной секреции. Вакуоли сферические органеллы с трубчатыми элементами, которые могут транспортировать питательные молекулы между компартаментами гифы. Стандартный секреторный путь удаляет груз через ЭР и Гольджи к плазмалемме либо к кончику гифы (1), субапикального района или септе (2). Эндоцитоз транспортирует груз от плазмалеммы либо к аппарату Гольджи или вакуоли через эндосомы (3). Некоторые секреторные белки входят в ЭР и достигают плазмалеммы без прохождения через аппарат Гольджи (4). Cts1 секретируется неизвестным механизмом после транспорта mRNA (мРНК) на эндосомах (5). Внеклеточные везикулы могут секретироваться через слияние МВТ с плазмалеммой, в результате слияния внутренние везикулы переносятся во внеклеточное пространство (6) (Shoji et al., 2014, с мод.).

- АТ — апикальное тельце;
- МВТ — мультивезикулярные тела;
- ЭР — эндоплазматический ретикулум;
- Cts -1 — секретируемый белок.

*Trichoderma viride*, *Lentinula edodes* (Cole et al., 1998; Fischer-Parton et al., 2000; Atkinson et al., 2002; Read and Kalkman, 2003; Penalva, 2005; Lee et al., 2007). Первое молекулярно-генетическое доказательство эндоцитоза было получено в исследовании *U. maydis*. Было показано, что мутанты по *Yup1* (белковый рецептор эндосом, t-SNARE) показывают сильно изме-

ненную морфологию (Wedlich-Söldner et al., 2000). Было подтверждено участие эндоцитоза у *A. oryzae* в поглощении и транспорте маркированного eGFP пуринового транспортера AoUapC, связанного с плазмалеммой (Higuchi et al., 2006).

Первые представления о роли рециклинга эндосом в морфогенезе гифы, участие цитоскелета (актина и микротрубочек) и моторных белков в формировании и перемещении эндосом были получены на *U. maydis* (Steinberg, 2007). Позднее подобное было показано и на *A. nidulans* (Abenza et al., 2009).

Скрининг опубликованных грибных геномов на предмет поиска гомологов белков, участвующих в эндоцитозе дрожжей, стал подтверждением существования эндоцитоза у мицелиальных грибов. Рид и Калкман (Read and Kalkman, 2003) провели поиск эндоцитарных белков по базам генома *N. crassa* и пришли к выводу, что все важные компоненты аппарата эндоцитоза присутствуют у этого мицелиального гриба. Подобный анализ был сделан и для фитопатогенного гриба *U. maydis* (Fuchs and Steinberg, 2005).

На примере животных известно, что эндосомы транспортируют липиды и белки на длинные дистанции, перемещаясь вдоль микротрубочек (Aniento et al., 1993). Они также переносят мРНК на своей поверхности, но точная функция этого процесса неизвестна. На живых клетках поляризованных грибных гиф показан микротрубочкозависимый транспорт мРНК септина и самого белка септина на эндосомах у *U. maydis*. Существует гипотеза, что мРНК септина транслируется на эндосомах и для накопления белка септина требуется аккумуляция мРНК септина. Синтезированный септин эндосомы доставляют в гифальные кончики для обеспечения однополюсного роста *U. maydis* (Baumann et al., 2013).

Эндоцитарная система состоит из нескольких компартментов: одни забирают груз от плазмалеммы для обработки, другие возвращаются обратно к поверхности или транспортируют груз к лизосомам для деградации (Seaman, 2008). Ключевые компоненты эндоцитозного пути — РЭ, они содержат маленькую ГТФазу Rab5, которая контролирует биогенез, слияние мембран, зависимость от микротрубочек подвижность РЭ (Nielsen et al., 1999; Zerial and McBride, 2001; Zeigerer et al., 2012). Подвижные эндосомы осуществляют сортировку груза, а также участвуют в передаче сигналов на длинные дистанции по клетке (Miaczynska et al., 2004). У грибов *U. maydis* и *A. oryzae* описаны подвижные Rab5-позитивные структуры (Wedlich-Söldner et al., 2000; Fuchs et al., 2006; Abenza et al., 2009). Предполагают, что РЭ важны для роста гифы и рециклинга мембран (Wedlich-Söldner et al., 2000; Fuchs et al., 2006; Lenz et al., 2006). Быстрое двунаправленное движение Rab5-положительных эндосом обеспечивают моторные белки кинезин-3 и динеин (Wedlich-Söldner et al.,

2002; Lenz et al., 2006; Zhang et al., 2010; Egan et al., 2012), которые часто меняют направление транспорта, способствуя перемещению органелл по всей гифе (Schuster et al., 2011a). Функция постоянной подвижности РЭ неясна, но они могут быть посредником в передаче сигналов на дальние расстояния от растущего кончика гифы к ядру, локализованному на расстоянии 50 мкм от кончика *U. maydis* (Steinberg, 2007).

Недавние исследования РНК-связанных белков у *U. maydis* показали, что РНК-связанный белок Rrm4 связан с РЭ (Baumann et al., 2012). Учитывая подвижность РЭ, можно предположить, что так осуществляется транспорт мРНК от ядра клетки к апексу (Becht et al. 2005, 2006; König et al., 2009; Koeperke et al., 2011; Vollmeister et al., 2012). Часть РЭ перемещаются от ядра к кончику гифы, но большинство из них перемещаются на короткие расстояния и постоянно меняют свое направление движения (Schuster et al., 2011b). На примере *U. maydis* было обнаружено, что двунаправленная подвижность РЭ случайным образом распределяет полисомы. Рибосомы, связанные с движением РЭ через РНК-связанный белок Rrm4, часто «загружаются» и «перегружаются» на РЭ. Изучение мутантов *U. maydis* показало, что подвижность эндосом необходима для равномерного распределения полисом в клетке и поддержания полярного роста клетки (Higuchi et al., 2014).

Некоторое время назад мы начали исследование эндоцитоза у ряда ксилотрофных грибов (*Stereum hirsutum*, *Fomes fomentarius*, *Fomitopsis pinicola*) с помощью липофильного стирилового флуорохрома AM4-64, поглощаемого клеткой путем эндоцитоза. В результате был обнаружен чрезвычайно интересный факт: поглощение флуорохрома мицелием происходит при температуре, близкой к 0 °С, всего за 8 – 15 минут. По данным Ли с сотрудниками, работавшим на ксилотрофном грибе *Lentinula edodes*, рассматриваемый процесс происходит при температуре 15 °С и выше и занимает около часа (Lee et al., 2007). Наиболее активно флуорохром поглощает тонкий мицелий (толщиной менее 1 мкм), активно образуемый ксилотрофными грибами на питательных средах, дефицитных по азоту, то есть в условиях, приближенных к их росту в древесине (Камзолкина и др., 2015). Можно предположить, что особенность эндоцитоза упомянутых выше видов грибов является мощным механизмом концентрирования азота в мицелии.

Таким образом, анализ литературных данных, посвященных грибному эндоцитозу, показал относительно хорошую изученность эндоцитоза у дрожжей — вплоть до деталей механизма некоторых путей эндоцитоза, и сравнительно слабую изученность у мицелиальных грибов. Учитывая разнообразие грибов, обитающих в разных биотопах и растущих на множестве субстратов, наличие большой коллекции грибов на кафедре микологии и альгологии биологического факультета МГУ имени

М.В.Ломоносова, пополняющийся список секвенированных грибных геномов, расширение научно-технической базы исследования эндоцитоза и значимость этого базового процесса для всех организмов, представляется перспективным проведение исследований механизмов эндоцитоза у мицелиальных грибов.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 14-04-00864.

### Литература

- Камзолкина О.В., Кудрявцева О.А., Штаер О.В., Мажейка И.С. (2015) Эндоцитоз у мицелиальных грибов: общее представление и особенности у ксилотрофного гриба *Stereum hirsutum* в сб. «Современная микология в России». том 4. Нац. акад. Микол., М., с. 30.
- Abenza, J.F., Pantazopoulou A., Rodríguez J.M., Galindo A., Peñalva M.A. (2009) Long-distance movement of *Aspergillus nidulans* early endosomes on microtubule tracks. *Traffic*. 10: 57 – 75.
- Amor B.B., Shaw S.L., Oldroyd G.E.D., Maillet F., Penmetsa R.V., Cook D. et al. (2003) The NFP locus of *Medicago truncatula* controls an early step of Nod factor signal transduction upstream of a rapid calcium flux and root hair deformation. *Plant J*. 34: 495 – 506.
- Aniento F., Emans N., Grittiths G. and Gruenberg J. (1993) Cytoplasmic dynein-dependent vesicular transport from early to late endosomes. *J Cell Biol*. 123: 1373 – 87.
- Atkinson H.A., Daniels A., Read N.D. (2002) Live-cell imaging of endocytosis during conidial germination in the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*. *Fungal Genet Biol*. 37: 233 – 244.
- Baumann, S., Pohlmann T., Jungbluth M., Brachmann A., Feldbrügge M. (2012) Kinesin-3 and dynein mediate microtubule-dependent co-transport of mRNPs and endosomes. *J. Cell Sci*. 125: 2740 – 2752.
- Baumann S., König J., Koepke J., Feldbrügge M. (2013) Endosomal transport of septin mRNA and protein indicates local translation on endosomes and is required for correct septin filamentation. *EMBO Reports*. 12: 1 – 9.
- Becht P., Vollmeister E., Feldbrügge M. (2005) Role for RNA-binding proteins implicated in pathogenic development of *Ustilago maydis*. *Eukaryot. Cell*. 4: 121 – 133.
- Becht, P., König J., Feldbrügge M. (2006) The RNA-binding protein Rrm4 is essential for polarity in *Ustilago maydis* and shuttles along microtubules. *J. Cell Sci*. 119: 4964 – 4973.
- Bielska E., Schuster M., Roger Y., Berepiki A., Soanes D.M., Talbot N., Steinberg G. (2014) Hook is an adapter that coordinates kinesin-3 and dynein cargo-attachment on early endosomes. *J Cell Biol*. 204: 989 – 1007.
- Boettner D.R., Chi R.J., Lemmon S.K. (2012) Lessons from yeast for clathrin-mediated endocytosis. *Nature Cell Biology* 14: 2 – 10.
- Carlile M. J., Watkinson S. C. (1994) *The fungi*. Academic Press, London, United Kingdom.

- Carreno S., Engqvist-Goldstein A.E., Zhang C.X., McDonald K.L., Drubin D.G. (2004) Actin dynamics coupled to clathrin-coated vesicle formation at the *trans*-Golgi network. *J. Cell Biol.* 165: 781 – 788.
- Catanzariti A.M., Dodds P.N., Ellis J.G. (2007) Avirulence proteins from haustoria-forming pathogens. *FEMS Microbiol. Lett.* 269: 181 – 188.
- Chuang J.S. Schekman R.W. (1996). Differential trafficking and timed localization of two chitin synthase proteins Chs2p and Chs3p. *J Cell Biol.* 135: 597 – 610.
- Chvatchko Y., Howald I., Riezman H. (1986) Two yeast mutants defective in endocytosis are defective in pheromone response. *Cell.* 46: 355 – 364.
- Cole L., Hyde G.J., Ashford A.E. (1997) Uptake and compartmentalisation of fluorescent probes by *Pisolithus tinctorius* hyphae: evidence for an anion transport mechanism at the tonoplast but not for fluid-phase endocytosis. *Protoplasma* 199: 18 – 29.
- Conner S.D., Schmid S.L. (2003) Regulated portals of entry into the cell. *Nature* 422: 37 – 44.
- Dodds P.N., Lawrence G.J., Catanzariti A.M., Ayliffe M.A., Ellis J.G. (2004) The *Melampsora lini* AvrL567 avirulence genes are expressed in haustoria and their products are recognized inside plant cells. *Plant Cell* 16: 755 – 768.
- De Duve C. (1963) The lysosome. *Sci. Am.* 208: 64 – 72.
- Egan M.J., Tan K., Reck-Peterson S.L. (2012) Lis1 is an initiation factor for dynein-driven organelle transport. *J. Cell Biol.* 197: 971 – 982.
- Ehrhardt D.W., Wais R., Long, S.R. (1996) Calcium spiking in plant root hairs responding to Rhizobium nodulation signals. *Cell* 85: 673 – 681.
- Epp E., Walther A., Lépine G., Leon Z., Mullick A., Raymond M., Wendland J., Whiteway M. (2010) Forward genetics in *Candida albicans* that reveals the Arp2/3 complex is required for hyphal formation, but not endocytosis. *Mol. Microbiol.* 75: 1182 – 1198.
- Epp E., Nazarova E., Regan H., Douglas L.M., Konopka J.B., Vogel J., Whiteway M. (2013) Clathrin- and Arp2/3-independent endocytosis in the fungal pathogen *Candida albicans*. *MBio.* 4: e00476-13.
- Fischer-Parton S., Parton R.M., Hickey P.C., Dijksterhuis J., Atkinson H.A., Read N.D. (2000) Confocal microscopy of FM4-64 as a tool for analysing endocytosis and vesicle trafficking in living fungal hyphae. *J Microsc.* 198: 246 – 259.
- Fuchs U., Steinberg G. (2005) Endocytosis in the plant-pathogenic fungus *Ustilago maydis*. *Protoplasma* 226: 75 – 80.
- Gall L., Stan R.C., Kress A., Hertel B., Thiel G., Meckel T. (2010) Fluorescent detection of fluid phase endocytosis allows for in vivo estimation of endocytic vesicle sizes in plant cells with subdiffraction accuracy. *Traffic* 11: 548 – 559.
- Geldner N., Jurgens G. (2006) Endocytosis in signalling and development. *Curr. Opin. Plant. Biol.* 9: 1– 6.
- Geldner N., Robatzek S. (2008) Plant receptors go endosomal: a moving view on signal transduction. *Plant Physiol.* 147: 1565 – 1574.
- Geldner N., Hyman D.L., Wang X., Schumacher K., Chory C. (2007) Endosomal signaling of plant steroid receptor kinase BRI1. *Genes Dev.* 21: 1598 – 1602.
- Genre A., Chabaud M., Balzergue C., Puech-Pagès V., Novero M., Rey T., Fournier J., Rochange S., Bécard G., Bonfante P. et al. (2013) Short-chain chitin oligomers from arbuscular mycorrhizal fungi trigger nuclear Ca<sup>2+</sup> spiking in *Medicago truncatula*

- roots and their production is enhanced by strigolactone. *New Phytol.* 198: 190 – 202.
- Girbardt M. (1957) Der Spitzenkörper von *Polystictus versicolor*. *Planta* 50: 47 – 59.
- Gobbato E., Marsh J.F., Vernie T., Wang E., Maillet F., Kim J., Miller J. B., Sun J., Bano S.A., Ratet P., Mysore K.S., Denarie J., Schultze M., Oldroyd G.E.D. (2012) A GRAS-type transcription factor with a specific function in mycorrhizal signaling. *Curr. Biol.* 22: 2236 – 2241.
- Hawes C., Crooks K., Coleman J., Satiat-Jeunemaitre B. (1995) Endocytosis in plants: fact or artifact? *Plant Cell Environ.* 18: 1245 – 1252.
- Higuchi Y., Arioka M., Kitamoto K. (2009) Endocytic recycling at the tip region in the filamentous fungus *Aspergillus oryzae*. *Communicative and Integrative Biology* 2: 327 – 328.
- Higuchi Y., Ashwin P., Roger Y., Steinberg G. (2014) Early endosome motility spatially organizes polysome distribution. *JCB.* 204: 343 – 357.
- Higuchi Y., Nakahama T., Shoji J.Y., Arioka M., Kitamoto K. (2006) Visualization of the endocytic pathway in the filamentous fungus *Aspergillus oryzae* using an EGFP-fused plasma membrane protein. *Biochem. Biophys. Res. Communications* 340: 784 – 791.
- Hirsch S., Kim J., Muñoz A., Heckmann A.B., Downie J.A., Oldroyd G.E. (2009) GRAS proteins form a DNA binding complex to induce gene expression during nodulation signaling in *Medicago truncatula*. *Plant Cell* 21: 545 – 557.
- Hoffmann J., Mendgen K. (1998) Endocytosis and membrane turnover in the germ tube of *Uromyces fabae*. *Fungal Genet Biol.* 24: 77 – 85.
- Holthuis J.C., Nichols B.J., Dhruvakumar S., Pelham H.R. (1998) Two syntaxin homologues in the TGN/endosomal system of yeast. *EMBO J.* 17: 113 – 26.
- Horak J., Wolf D.H. (1997) Catabolite inactivation of the galactose transporter in the yeast *Saccharomyces cerevisiae*: ubiquitination, endocytosis, and degradation in the vacuole. *J. Bacteriol.* 179: 1541 – 1549.
- Huisman R., Ovchinnikova E., Bisseling T. and Limpens E. (2012) Endocytic accommodation of microbes in plants. In «Endocytosis in plants» (ed Šamaj J.). Springer. Berlin. Heidelberg. 271 – 295.
- Idrissi F.Z., Grötsch H., Fernández-Golbano I.M., Presciatto-Baschong C., Riezman H., Geli M.I. (2008) Distinct actomyosin-I structures associate with endocytic profiles at the plasma membrane. *J. Cell Biol.* 180: 1219 – 1232.
- Jenness D.D., Spatrick P. (1986) Down regulation of the alpha-factor pheromone receptor in *S. cerevisiae*. *Cell.* 46: 345 – 53.
- Kaksonen M., Sun Y., Drubin D.G. (2003) A pathway for association of receptors, adaptors, and actin during endocytic internalization. *Cell* 115: 475 – 487.
- Koepke, J., Kaffarnik F., Haag C., Zarnack K., Luscombe N.M., König J., Ule J., Kellner R., Begerow D., Feldbrügge M. (2011) The RNA-binding protein Rrm4 is essential for efficient secretion of endochitinase Cts1. *Mol. Cell. Proteomics* 10: M111.011213.
- Krampe S., Stamm O., Hollenberg C. P., Boles E. (1998) Catabolite inactivation of the high hexose transporters Hxt6 and Hxt7 of *Saccharomyces cerevisiae* occurs in the vacuole after internalization by endocytosis. *FEBS Lett.* 441: 343 – 347.
- Kubler E., Riezman H. (1993) Actin and fimbrin are required for the internalization step of endocytosis in yeast. *EMBO J.* 12: 2855 – 62.

- König J., Baumann S., J. Koepke T., Pohlmann, K. Zarnack, and M. Feldbrügge. (2009) The fungal RNA-binding protein Rrm4 mediates long-distance transport of ubi1 and rho3 mRNAs. *EMBO J.* 28: 1855 – 1866.
- Leborgne-Castel N., Adam T., Bouhidel K. (2010) Endocytosis in plant–microbe interactions. *Protoplasma* 247: 177 – 93.
- Leborgne-Castel N., Bouhidel K. (2014) Plasma membrane protein trafficking in plant–microbe interactions: a plant cell point of view. *Front. Plant Sci.* 5: 735.
- Lee M.T., Szeto C.Y.Y., Ng T.P., Kwan H.S. (2007) Endocytosis in the shiitake mushroom *Lentinula edodes* and involvement of GTPase LeRAB7. *Eukaryot Cell* 6: 2406 – 18.
- Lenz J.H., Schuchardt I., Straube A., Steinberg G. (2006) A dynein loading zone for retrograde endosome motility at microtubule plus-ends. *EMBO J.* 25: 2275 – 2286.
- Maillet F., Poinot V., André O., Puech-Pagès V., Haouy A., Gueunier M. Cromer L., Giraudet D., Formey D., Niebel A., et al. (2011) Fungal lipochitoooligosaccharide symbiotic signals in arbuscular mycorrhiza. *Nature* 469: 58 – 63.
- Marsh L., Neiman A. M., Herskowitz I. (1991) Signal transduction during pheromone response in yeast. *Annu. Rev. Cell Biol.* 7: 699 – 728.
- Mayor S., Pagano R. E. (2007) Pathways of clathrin-independent endocytosis. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 8: 603 – 612.
- Miaczynska M., Pelkmans L., Zerial M. (2004) Not just a sink: endosomes in control of signal transduction. *Curr. Opin. Cell Biol.* 16: 400 – 406.
- Murphy A.S., Bandyopadhyay A., Holstein S.E., Peer W.A. (2005) Endocytotic cycling of PM proteins. *Annu Rev Plant Biol.* 56: 221 – 251.
- Nielsen E., Severin F., Backer J.M., Hyman A.A., Zerial M. (1999) Rab5 regulates motility of early endosomes on microtubules. *Nat. Cell Biol.* 1: 376 – 382.
- Parniske M. (2000) Intracellular accommodation of microbes by plants: a common developmental program for symbiosis and disease? *Curr Opin Plant Biol.* 3: 320 – 328.
- Parniske M. (2008) Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nat Rev Microbiol.* 6: 763 – 775.
- Pawlowski K., Sirrenberg A. (2003) Symbiosis between Frankia and actinorhizal plants: root nodules of non-legumes. *Indian J Exp. Biol.* 41: 1165 – 1183.
- Penalva M.A. (2005) Tracing the endocytic pathway of *Aspergillus nidulans* with FM4-64. *Fungal Genet. Biol.* 42: 963 – 975.
- Prosser D.C., Drivas T.G., Maldonado-Báez L., Wendland B. (2011) Existence of a novel clathrin-independent endocytic pathway in yeast that depends on Rho1 and formin. *J. Cell Biol.* 195: 657 – 671.
- Read N. D., Kalkman E. R. (2003) Does endocytosis occur in fungal hyphae? *Fungal Genet. Biol.* 39: 199 – 203.
- Reinhardt M.O. (1892) Das Wachstum von Pilzhyphen. *Jahrb Wiss Bot.* 23: 479 – 566.
- Riballo E., Herweijer M., Wolf D.H., Lagunas R. (1995) Catabolite inactivation of the yeast maltose transporter occurs in the vacuole after internalization by endocytosis. *J. Bacteriol.* 177: 5622 – 5627.
- Riballo E., Lagunas R. (1994) Involvement of endocytosis in catabolite inactivation of the K<sup>+</sup> and glucose transport systems in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Microbiol. Lett.* 121: 77 – 80.

- Riezman H. (1985) Endocytosis in yeast: several of the yeast secretory mutants are defective in endocytosis. *Cell* 40: 1001 – 1009.
- Seaman, M.N. (2008) Endosome protein sorting: motifs and machinery. *Cell. Mol. Life Sci.* 65: 2842 – 2858.
- Shoji J-y., Kikuma T., Kitamoto K. (2014) Vesicle trafficking, organelle functions, and unconventional secretion in fungal physiology and pathogenicity. *Current Opinion in Microbiology* 20: 1 – 9.
- Schuster M., Kilaru S., Fink G., Collemare J., Roger Y., Steinberg G. (2011 a) Kinesin-3 and dynein cooperate in long-range retrograde endosome motility along a nonuniform microtubule array. *Mol. Biol. Cell* 22: 3645 – 3657.
- Schuster, M., Lipowsky R., Assmann M.A., Lenz P., Steinberg G. (2011 b) Transient binding of dynein controls bidirectional long-range motility of early endosomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 108: 3618 – 3623.
- Smit P., Raedts J., Portyanko V., Debelle F., Gough C., Bisseling T., Geurts R. (2005) NSP1 of the GRAS protein family is essential for rhizobial Nod factor-induced transcription. *Science* 308: 1789 – 1791.
- Steinberg G., Schliwa M., Lehmler C., Bolker M., Kahmann R., McIntosh J. R. (1998) Kinesin from the plant pathogenic fungus *Ustilago maydis* is involved in vacuole formation and cytoplasmic migration. *J. Cell Sci.* 111: 2235 – 2246.
- Steinberg G. (2007) On the move: endosomes in fungal growth and pathogenicity. *Nat. Rev. Microbiol.* 5: 309 – 316.
- Sun J., Miller J.B., Granqvist E., Wiley-Kalil A., Gobbato E., Maillet F., Cottaz S., Samain E., Venkateshwaran M., Fort S., Morris R.J., Ané J.-M., Dénarié J. and Oldroyd G.E.D. (2015) Activation of symbiosis signaling by arbuscular mycorrhizal fungi in legumes and rice. *The Plant Cell* 27: 823 – 838.
- Sun Y., Martin A.C., Drubin D.G. (2006) Endocytic internalization in budding yeast requires coordinated actin nucleation and myosin motor activity. *Dev. Cell* 11: 33 – 46.
- Toshima J.Y., Toshima J., Kaksonen M., Martin A.C., King D.S., Drubin D.G. (2006) Spatial dynamics of receptor-mediated endocytic trafficking in budding yeast revealed by using fluorescent alpha-factor derivatives. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 103: 5793 – 5798.
- Volland C., Urban-Grimal D., Géraud G., Haguenaer-Tsapis R. (1994) Endocytosis and degradation of the yeast uracil permease under adverse conditions. *J. Biol. Chem.* 269: 9833 – 9841.
- Vollmeister E., Schipper K., Baumann S., Haag C., Pohlmann T., Stock J., Feldbrügge M. (2012) Fungal development of the plant pathogen *Ustilago maydis*. *FEMS Microbiol. Rev.* 36: 59 – 77.
- Wedlich-Söldner, R., Bölker M., Kahmann R., Steinberg G. (2000) A putative endosomal t-SNARE links exo- and endocytosis in the phytopathogenic fungus *Ustilago maydis*. *EMBO J.* 19: 1974 – 1986.
- Wedlich-Söldner R., Straube A., Friedrich M.W., Steinberg G. (2002) A balance of KIF1A-like kinesin and dynein organizes early endosomes in the fungus *Ustilago maydis*. *EMBO J.* 21: 2946 – 2957.
- Wessels J.G.H. (1986) Cell wall synthesis in apical hyphal growth. *Int. Rev. Cytol.* 104: 7 – 79.

- Windler S.L., Bilder D. (2010) Endocytic internalization routes required for  $\Delta$  otch signaling. *Curr. Biol.* 20: 538 – 543.
- Zerial, M., McBride H. (2001) Rab proteins as membrane organizers. *Nat.Rev. Mol. Cell Biol.* 2: 107 – 117.
- Ziman, M., Chuang J.S., Tsung M., Hamamoto S., Schekman R. (1998) Chs6p-dependent anterograde transport of Chs3p from the chitosome to the plasma membrane in *Saccharomyces cerevisiae*. *Mol. Biol. Cell* 9: 1565 – 1576.
- Ziman M., Chuang J.S., Schekman R.W. (1996) Chs1p and Chs3p, two proteins involved in chitin synthesis, populate a compartment of the *Saccharomyces cerevisiae* endocytic pathway. *Mol Biol Cell* 7: 1909 – 19.
- Zeigerer A., Gilleron J., Bogorad R.L., Marsico G., Nonaka H., Seifert S., Epstein-Barash H., Kuchimanchi S., Peng C.G., Ruda V.M. et al. (2012) Rab5 is necessary for the biogenesis of the endolysosomal system *in vivo*. *Nature* 485: 465 – 470.
- Zhang, J., Zhuang L., Lee Y., Abenza J.F., Pecalva M.A., Xiang X. (2010) The microtubule plus-end localization of *Aspergillus* dynein is important for dynein-early-endosome interaction but not for dynein ATPase activation. *J. Cell Sci.* 123: 3596 – 3604.

# ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ГРИБОВ И ДОЖДЕВЫХ ЧЕРВЕЙ

Кураков А.В., Харин С.А.

*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова*  
[kurakov57@mail.ru](mailto:kurakov57@mail.ru)

Грибы и дождевые черви являются важнейшими компонентами почвенной биоты. В почвах они находятся в постоянном контакте. Грибы представляют ведущий по биомассе и активности блок редуцентов, дождевые черви — консументов, типичных организмов функциональной группы средообразователей или экосистемных инженеров.

Взаимодействия между дождевыми червями и микроорганизмами, и грибами, как главными редуцентами растительных остатков, имеет важнейшее значение в деградации органических веществ и поступлении минеральных элементов в почву (Lee, 1985). В присутствии червей разложение органического вещества возрастает на 17 – 20 %, что определяется как прямым воздействием, так и стимуляцией активности микроорганизмов (Satchell, 1983). Прямой вклад дождевых червей в разложение органического вещества в почвах невысок — всего несколько процентов. В кишечнике животных разрушаются и перевариваются микроорганизмы, и работают в частности их целлюлазы (Anderson, 2000). Наличие целлюлазной активности в кишечнике у некоторых видов червей указывали, но в большинстве случаев она низка или отсутствует (Lattaud et al., 1998 и др.). И до сих пор не доказано, образуют ли эти ферменты сами черви, или обнаруживают активность целлюлаз обитателей пищеварительного тракта и транзитных микроорганизмов, так как очень трудно экспериментально разделить их микробное или животное происхождения. Но животные оказывают большое косвенное влияние на деструкцию растительных субстратов. Измельчение ими подстилки и опада, при которой в сотни и тысячи раз возрастает удельная поверхность растительных субстратов, значительно увеличивает их доступность для микроорганизмов и, как следствие, скорость разложения и высвобождения питательных элементов (Стриганова, 1980; Тиунов, 2007; Anderson, 1980).

Взаимодействия дождевых червей и грибов, активизация роста мицелия в свежих копролитах, обуславливает на 20 – 25 % в комплексе других факторов их повышенную водопрочность в сравнении с почвенными агрегатами (Кураков, Харин, 2012; Bear et al., 1996), иммобилизацию минеральных форм азота в экскретах и снижение эмиссии газообразных азотных соединений (Харин, Кураков, 2008).

Какие же еще возможны между грибами и дождевыми червями взаимодействия? Влияние дождевых червей на находящиеся в почве грибы может быть трофическое, использование их в пищу, форическое — перенос спор и фрагментов мицелия по почвенному профилю в горизонтальном и вертикальном направлениях, метаболическое — действие выделяемых животным соединений (аминокислот, витаминов и т.д.). За счет изменения порозности и структуры почв, ее химических свойств, потребления и измельчения растительных остатков они создают принципиально новые экониши почвообитающих организмов (в том числе грибов). Такое не прямое, метабиотическое воздействие носит комплексный характер, при котором четкое разделение разных механизмов провести сложно (Jones et al., 1997; Тиунов, 2007).

Влияние грибов на дождевые черви, по-видимому, определяется пулом, питательной ценностью грибной биомассы для червей, видовой структурой сообществ почвообитающих грибов, спектром и количеством биологически-активных веществ, ими продуцируемых.

Конечно, не все аспекты взаимоотношений дождевых червей и грибов исследованы, еще сложнее вскрыть их механизмы, но ряд из них довольно ясен и конкретные данные получены.

Цель настоящей публикации — дать краткий обзор результатов работ по изучению взаимодействий дождевых червей и грибов.

Многие аспекты функционального значения этих взаимодействий для экосистем не обсуждаются. Рассмотрены данные, полученные преимущественно в исследованиях с 3 видами дождевых червей — *Aporrectodea caliginosa* (эндогейные, живущие в минеральных горизонтах почв в горизонтальных норах), *Lumbricus terrestris* (норные, формирующие вертикальные норы и питающиеся растительными остатками подстилки, смешанной с минеральными частицами почвы) и *Eisenia fetida* (подстилочные, обитают в подстилке, не образуют нор в почве).

### **Влияние дождевых червей на физико-химические свойства почв**

В почвенных экосистемах черви осуществляют измельчение растительных остатков, перемещение и перемешивание подстилки и минеральных горизонтов почвы, образование копролитовых агрегатов и порового пространства. Масштабы этой часто невидимой деятельности дождевых червей поистине грандиозны. Суммарная площадь поверхности нор дождевых червей может достигать нескольких квадратных метров на 1 м<sup>2</sup> почвенного покрова (Bouche, 1975), а объем, занимаемый ходами, составлять до 5 % от общего объема почвы (Edwards, Lofty, 1977). Дрилосфера (слой почвы около 2 мм прилегающий к ходам червей) широко распространенного норного червя *Lumbricus terrestris* характеризуется повышен-

ным содержанием органического вещества, общего углерода и азота (в 2 – 3 раза), большей влажностью и рН (на 1 – 2 единицы) (Tiunov, Scheu, 1999). Ежегодно черви перемешивают на 1 га около 3 – 5 т. подстилки с минеральными горизонтами. В регионах с умеренным климатом за 50 – 100 лет верхние горизонты пахотных почв пропускаются через пищеварительный тракт дождевых червей (Barois et al., 1993; Makeshin, 1997). Годовая продукция копролитов червями в почвах составляет десятки-сотни тонн на гектар ежегодно в зависимости от природной зоны. Дождевые черви экскретируют неорганические и органические метаболиты с выделениями, в составе кишечной и поверхностной слизи. Основной конечный продукт азотного обмена — мочевины, очень быстро гидролизуются до аммония. Слизистые выделения состоят из мукопротеинов — водорастворимых соединений, богатых белком и свободными аминокислотами: аспарагином, серином, глицином, а также этаноламином. Ежедневный выход азота из червей с выделениями составляет 88 – 270 мг / кг биомассы и достигает нескольких десятков килограмм на гектар в год (Makeshin, 1997). Такие виды как, например, *Lumbricus* spp. экскретируют кальциевые сферулы, образующиеся в кальциевых железах и в просвете кишечника.

### **Влияние дождевых червей на микобиоту почв**

**Изменения в грибных сообществах почв в результате деятельности дождевых червей.** Модифицируя физико-химические условия, создавая новые экониши, дождевые черви влияют на активность и состав обитателей почв (Стриганова, 1980; Vouche, 1980; Lee, 1985 и др.).

Имеются данные, о различиях состава и структуры сообществ грибов в почве, растительных субстратах (подстилке) и копролитах и дриосфере. Инвазия европейского подстилочного червя *Dendrobaena octaedra* в сосновый лес в провинции Альберта, Канада (численность червей при этом достигала 3300 экз. на кв. метр) привела к увеличению относительного обилия быстрорастущих видов, таких как *Trichoderma polysporum*, и снижению обилия *Oidiodendron echinulatum*. Кроме того, в почве с высокой численностью червей было меньше обилие зигомицетов (*Mortierella* spp., *Mucor* spp.). Мицелий зигомицетов имеет мало септ, и эти грибы, видимо, особенно страдают от механических повреждений (McLean, Parkinson, 2000).

Дождевые черви (особенно активно норные, такие как *Lumbricus terrestris*) перемешивают органические остатки с минеральными частицами, т.е. создают экониши, в которых к обитателям минеральных горизонтов интродуцируются эпифитные, “подстилочные” виды.

Состав сообщества микромицетов в стенках нор существенно различается в разных типах почв и имеет свои особенности в сравнении с

окружающей почвой. Так, в почве липового леса в стенках нор *L. terrestris* было обнаружено много видов, типичных для липового опада, прежде всего *Trichoderma koningii* и *Mucor hiemalis*. Аналогичным образом, в стенках нор *L. terrestris*, обитающем в буковом лесу, высокого обилия достигали *Mortierella gamsii* и *Trichoderma pseudokoningii*, характерные для опада этого леса (Тиунов, 2007). Отмечены изменения в обилии некоторых видов при сравнении почвы липового леса и стенок нор (в частности, уменьшение обилия представителей рода *Cylindrocarpon*, преимущественно *C. destructa*, *Gliocladium* sp., *Chrysosporium* sp., *Mortierella parvispora* возрастание *Penicillium* spp., *Trichoderma koningi* и *Mucor hiemalis*). Для микобиоты дрилозоферы характерно почти полное отсутствие темноокрашенных ранних колонизаторов опада, например *Alternaria* или *Cladosporium* и снижение обилия *Trichoderma koningi*, доминировавших в опаде (Тиунов и др., 2001; Тиунов, 2007). Итак, ходы норных червей, представляют собой местообитания с грибным населением отличным по составу и структуре от такового опада и почвы, с большим содержанием мицелия, чем минеральные горизонты почвы.

В лабораторных опытах для копролитов червей со смешанным питанием была характерна высокая численность грибов рода *Trichoderma*. При инкубации копролитов в почве произошла существенная перестройка структуры сообщества микромицетов. В частности, относительное обилие *Trichoderma* spp. снизилось почти в два раза, а обилие "почвенных" грибов, таких как *Absidia* и *Penicillium* spp. возросло (Тиунов, 2007). В полевом эксперименте сообщество микромицетов в копролитах также состояло из смеси почвенных и подстилочных видов. Не обнаружены виды, которые были бы выделены только из копролитов, и наоборот, все обильные (> 4 %) в почве или подстилке виды были и в копролитах. В то же время в копролитах, по сравнению с подстилкой, резко снизилось обилие темноокрашенных ранних колонизаторов опада (*Alternaria*, *Cladosporium*).

Показано, что детритоядные черви, такие как *L. terrestris* являются ключевыми агентами в снижении фузариумов на зараженной ими пшеничной соломе (Wolfarth et al., 2011). В этом контексте роль геофаговых червей, подобных *Aporrectodea caliginosa* оценивается как минорная (Wolfarth et al., 2011).

Прямое потребление не единственный путь, каким черви снижают биомассу фузариумов в почвенных экосистемах. Возможна индукция «priming» (затравочного) эффекта при секреции мукуса червями, содержащего легкодоступные соединения, что резко активизирует разложение соломы, на котором сохраняется эти фитопатогены. Это подтверждают наблюдения о значительном снижении биомассы *Fusarium* на соломе, инкорпорированной в почву, но не потребляемой червями *L. terrestris* (Wolfarth et al., 2011).

Имеются данные, что дождевые черви влияют на поражение растений грибными болезнями. В вегетационных опытах с аспарагусом и томатами показано, что внесение *Lumbricus terrestris* в почвы, инфицированные фитопатогенами рода *Fusarium*, снизили заболеваемость растений на 50 – 70 %, а их биомасса возросла на 60 – 80 %. Интродукция *Lumbricus terrestris* (1 – 2 червя на квадратный фут) также существенно снижало заболеваемость аспарагуса и баклажанов и повышало вес растений на фоне инфицированной *Verticillium dahliae* почвы, в сравнении с контролем ([www.ct.gov/caes/lib/caes/](http://www.ct.gov/caes/lib/caes/)).

Есть сообщения, что в копролитах червей может быть более высокое число спор арбускулярно-микоризных грибов, чем окружающей почвы. Это обнаружено, в частности, в копролитах дождевых червей, обитающих в альфисойле (Индия), вне зависимости от режима ее обработки (без вспашки с добавлением соломы, глубокая вспашка, без вспашки с многолетним выращиванием *Stylosanthes hamata*) (Lee et al., 1996).

Установлено, что в свежих копролитах дождевых червей, обитающих в дерново-подзолистой почве, происходит активное развитие грибов. Уже через 3 – 4 суток их инкубации биомасса мицелия в них возросла с 1,22 до 5,14 мг / г и сохранялась на близком уровне в течение последующих 2-х недель (7 сут. – 5,57 мг / г, 12 сут. – 3,83 мг / г) (Кураков, Харин, 2012). На 3 – 5 сутки копролиты покрываются густой сетью мицелия и к 7 – 10 суткам отмечено спороношение грибов родов *Mucor*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Fusarium*.

Доминируют в копролитах червей, живущих в дерново-подзолистой почве из-под разных биоценозов грибы, сходных таксономических групп. Это — преимущественно, быстрорастущие, обильно спороносящие микромицеты, которые способны конкурировать с бактериями за соединения углерода и азота: виды родов *Acremonium*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Paecilomyces*, *Mucor*, *Trichoderma*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Cladosporium*, *Geotrichum* и грибы, представленные стерильным светлоокрашенным мицелием. Обнаружены и заметные отличия в микобиоте копролитов червей из-под разных фитоценозов.

Представленные данные свидетельствуют о значительных изменениях в микобиоте почв под влиянием дождевых червей. Это не только отражается в изменении относительного обилия видов грибов и активизации роста мицелия в свежих копролитах и дрилосфере, что влияет на интенсивность разложения органических веществ, заболеваемость растений грибными болезнями, развитие микоризы.

**Изменения в микобиоте при прохождении через пищеварительный тракт дождевых червей.** Прохождение почвы через дождевых

червей, несомненно, представляет важный феномен, играющий роль как в модификации состава и структуры микробного комплекса почв, так и активности биологических процессов в ассоциированных с червями местообитаниях. Об этом говорят многие факты. В слое почвы площадью 1 м<sup>2</sup> при плотности популяции дождевых червей 1000 особей суммарный пищеварительный тракт червей, своеобразный "биореактор" с повышенным содержанием легкодоступного органического вещества достигает значительной величины — 1 литра, а продукция копролитов несколько десятков-сотен тонн на гектар (Drake, Horne, 2007; Barois et al., 1993; Makeschin, 1997).

Два противоположных процесса действуют при пассаже микроорганизмов через пищеварительный тракт дождевых червей. Благоприятные значения рН, повышенный уровень обеспечения питательными веществами и водой в кишечнике увеличивает численность микроорганизмов при пассаже через пищеварительный тракт (Barois & Lavelle 1986), и в тоже время прохождение микроорганизмов через пищеварительный тракт и переваривание их кишечной жидкостью может уменьшать видовое разнообразие (Devliegher & Verstraete, 1995).

В проведенных нами лабораторных опытах были исследованы изменения в микобиоте при прохождении дерново-подзолистой почвы с добавками листьев одуванчика и компостируемой смеси соломы и навоза через пищеварительный тракт дождевых червей *A. caliginosa* и *L. terrestris*, и навозного червя *E. fetida*, соответственно (Харин, 2008).

Изменения численности и биомассы грибов при пассаже почвы через пищеварительный тракт дождевых червей. Численность КОЕ грибов в почве, содержимом кишечника и экскрементах дождевых червей *A. caliginosa* и *E. fetida* достоверно не отличалась. В пищеварительном тракте *L. terrestris* плотность грибных популяций немного уменьшилась, но в копролитах была уже близка к численности в почве (табл. 1). Кроме того наблюдали более позднее появление колоний грибов в посевах из пищеварительного тракта, чем из почвы.

**Таблица 1.**

*Численность КОЕ грибов в почве, содержимом пищеварительного тракта и копролитах дождевых червей*

Вид дождевого червя	КОЕ / г 10 <sup>5</sup>		
	<i>A. caliginosa</i>	<i>L. terrestris</i>	<i>Eisenia fetida</i>
Почва/Компост	1,4 ± 0,5	1,7 ± 0,6	4,4 ± 1,2
Содержимое кишечника	1,2 ± 0,4	0,7 ± 0,0	6,4 ± 2,9
Копролиты	1,3 ± 0,3	1,1 ± 0,1	6,2 ± 0,1

Известно, что колонии грибов, выделяемых из почв, формируются преимущественно из спор, и поэтому данные посевов часто не дают представления о различии в биомассе грибов. Современные данные о характере и масштабах модификации биомассы грибов при прохождении почвы через пищеварительный тракт дождевых червей весьма противоречивы. По данным одних авторов потребление почвы червями вызывает уменьшение биомассы грибов (Pearce, 1978; Cooke, 1983), другие исследователи подобной тенденции не обнаруживали, биомасса грибов по их наблюдениям существенно не изменялась (Тупов, Scheu, 2000). Связано это может быть не только с различиями между червями разных экологотрофических групп и условий, в которых они обитают, но и с тем, что часто проводится сопоставление почвы с достаточно зрелыми копролитами (2-х недельными и более старыми), когда легкодоступные субстраты в копролитах практически исчерпаны. Наиболее значимые изменения в биомассе микроорганизмов происходят в первые недели после прохождения почвы через кишечник червей. В наших экспериментах прямое микроскопическое измерение показало, что при прохождении почвы через кишечник червей грибная биомасса достоверно снижается. Биомасса мицелия грибов уменьшилась на 30 – 50 % в содержимом пищеварительного тракта, на 80 – 90 % была меньше в пустом кишечнике и на 40 – 60 % в свежих копролитах червей по сравнению с почвой. В четырехсуточных экскрементах *Aporrectodea caliginosa* биомасса мицелия возрастала в 2,0 – 2,5 раза.

Биомасса бактерий не различалась в этих местообитаниях, за исключением пустого пищеварительного тракта червей, где она была значительно меньше, чем в исходной и переработанной червями почве (табл. 2). В связи с этим отношение биомассы грибов и бактерий уменьшается в кишечнике, содержимом и экскрементах дождевых червей по сравнению с почвой. Это совпадает с уменьшением биомассы грибного мицелия. Можно предполагать, что часть грибов погибает, попав в кишечник, и ассимилируется червями в качестве пищи, причем интенсивнее, чем бактерий, даже если принять возрастание бактериальной биомассы в пищеварительном тракте.

Отношение биомассы грибов и бактерий после нескольких суток инкубации копролитов становится близким к таковому в почве. Это было обусловлено большим приростом грибной, чем бактериальной биомассы в свежих копролитах.

**Таблица 2.**

*Биомасса грибного мицелия и бактерий  
в дерново-подзолистой почве, содержанием кишечника,  
пищеварительном тракте и копролитах дождевых червей*

Вид червя	Биомасса (мг/г субстрата)	Краситель	Почва/ компост	Содержимое кишечника	Пустой Кишечник	Свежие копролиты
A. <i>caliginosa</i>	Грибной мицелий	КФ	1.9±0.3	1.2±0.2	0.3±0.1	1.3±0.1
		ФДА	1.5±0.2	1.3±0.2	0.2±0.1	1.0±0.1
	Бактерии (×10 <sup>-2</sup> )	АО	4.8±0.8	5.1±1.3	1.7±0.9	6.8±1.4
L. <i>terrestris</i>	Грибной мицелий	КФ	1.8±0.2	1.2±0.1	0.1±0.0	0.9±0.1
		ФДА	1.5±0.2	0.4±0.1	0.2±0.1	0.6±0.1
	Бактерии (×10 <sup>-2</sup> )	АО	4.6±0.2	5.0±2.2	1.9±0.5	4.6±0.8
E. <i>fetida</i>	Грибной мицелий	КФ	3.4±0.5	2.2±0.2	0.7±0.1	1.9±0.3
		ФДА	2.7±0.5	1.5±0.2	0.3±0.0	1.8±0.2
	Бактерии (×10 <sup>-2</sup> )	АО	12.2±2.6	8.8±3.4	5.3±2.8	11.4±5.1

КФ — калькофлюор белый, ФДА — флюоресцеин диацетат, АО — акридин оранжевый.

Модификация состава и структуры грибов при прохождении почвы через пищеварительный тракт дождевых червей. Заметные различия установлены и в составе грибов почвы, содержимого кишечника и копролитов. Они выражаются в меньшем видовом богатстве, разнообразии и выровненности относительного обилия видов грибов в кишечном тракте и экскрементах по сравнению с почвой (табл. 3, 4).

**Таблица 3.**

*Значение индексов разнообразия и выровненности видов комплексов  
микроскопических грибов почвы / компоста, пищеварительного тракта  
и копролитов дождевых червей*

Показатель	A. <i>caliginosa</i>			L. <i>terrestris</i>			E. <i>fetida</i>		
	70*	47**	37***	70*	35**	30***	43*	40**	32***
Число видов	70*	47**	37***	70*	35**	30***	43*	40**	32***
Индекс Шеннона	4.58	3.61	2.83	4.58	2.79	2.28	3.47	3.11	2.46
Индекс Пиелу	1.08	0.94	0.78	1.08	0.79	0.67	0.92	0.84	0.71

\* — почва, \*\* — содержимое кишечника, \*\*\* — копролиты.

**Таблица 4.**

*Состав и относительное обилие доминирующих таксонов грибов в дерново-подзолистой почве, содержимом кишечника и копролитах дождевых червей *Aporrectodea caliginosa**

Вид / Род	Почва	Содержимое кишечника	Копролиты
	Обилие, %		
<i>Acremonium</i> ( <i>Acremonium murorum</i> , <i>A. roseum</i> , <i>Acremonium strictum</i> ) <sup>^</sup> *	4.4	4.7	0.6
<i>Alternaria</i> ( <i>A. alternata</i> , <i>Alternaria</i> spp.)	2.1	2.1	0.8
<i>Aspergillus</i> ( <i>A. candidus</i> <sup>^</sup> , <i>A. fumigatus</i> , <i>A. niger</i> , <i>A. terreus</i> , <i>A. ustus</i> , <i>A. versicolor</i> ) <sup>*</sup>	4.3	2.3	1.0
<i>Chaetomium globosum</i> <sup>*</sup>	2.9		0.6
<i>Cladosporium</i> ( <i>C. cladosporioides</i> , <i>C. sphaerospermum</i> )	3.5	3.9	4.7
<i>Coprinus</i> sp. <sup>^</sup>	0,2		
<i>Doratomyces stemonitis</i> <sup>*</sup>	0.4	0.2	2.2
<i>Eupenicillium crutaceum</i> <sup>^</sup>	0.1		
<i>Fusarium</i> ( <i>F. oxysporum</i> , <i>F. solani</i> , <i>F. sambucinum</i> , <i>Fusarium</i> sp.) <sup>*</sup>	1.0	5.7	4.1
<i>Geomyces pannorum</i>	0.8	0.4	
<i>Clonostachys</i> ( <i>C. rosea</i> , <i>C. solani</i> )	2.5	2.4	1.0
<i>Graphium</i> sp.			0.5
<i>Humicola</i> ( <i>H. grisea</i> , <i>Humicola</i> sp.) <sup>*</sup>	1.7		
<i>Lecanicillium lecanii</i>	0.7	0.1	
<i>Mortierella</i> sp.	0.2		
<i>Mucor</i> ( <i>M. hiemalis</i> , <i>M. circinelloides</i> <sup>^</sup> , <i>M. rasemosus</i> <sup>^</sup> , <i>Mucor</i> sp.) <sup>*</sup>	2.8	3.6	14.7
<i>Paecilomyces</i> ( <i>P. marquandii</i> , <i>P. variotii</i> ), <i>Purpureocillium lilacinum</i>	2.8	2.5	4.5

<i>Penicillium</i> ^ ( <i>P. aurantiogriseum</i> , <i>P. canescens</i> , <i>P. commune</i> , <i>P. corylophilum</i> , <i>P. chrysogenum</i> , <i>P. crustosum</i> , <i>P. echinulatum</i> , <i>P. janczewskii</i> , <i>P. funiculosum</i> , <i>P. griseoroseum</i> , <i>P. melenii</i> , <i>P. simplicissimum</i> , <i>P. pinophilium</i> , <i>P. purpurogenum</i> , <i>P. viridicatum</i> , <i>P. waksmani</i> , <i>Penicillium</i> spp.)*	51.0	14.0	29.2
<i>Rhizopus oryzae</i> *	0.6	4.9	4.1
<i>Trichoderma</i> ^ ( <i>T. harzianum</i> , <i>T. hamatum</i> , <i>T. koningi</i> , <i>T. viride</i> , <i>Trichoderma</i> sp.)*	3.7	3.2	11.7
<i>Verticillium</i> ( <i>V. lateritium</i> , <i>V. epiphytum</i> ^)	0.6	0.3	
<i>Geotrichum candidum</i> ^ и виды, представленные стерильным светлым мицелием ( <i>Systaspora parasitica</i> ^, <i>Bjerkandera adusta</i> ^ и др.)*	13.0	460	21.2
Дрожжи^ ( <i>Rhodotorula</i> sp., <i>Candida</i> sp., <i>Candida vartiovaarae</i> , <i>Trichosporon laibachii</i> , <i>Trichosporon porosum</i> )*	0.1	3.0	0.1
<i>Scopulariopsis</i> ( <i>S. brevicaulis</i> , <i>S. acremonium</i> )	0.4	0.1	
<i>Ulocladium</i> sp.	0.5		

\* — различия достоверны,  $P < 0,95$ ;

^ — таксономическая принадлежность определена на основе культурально-морфологического и молекулярно-генетического подходов.

В дерново-подзолистой почвы доминировали *Penicillium aurantiogriseum*, *P. canescens*, *P. janczewskii*, *P. pinophilium*, *P. purpurogenum*, часто встречались *Chaetomium globosum*, *Acremonium strictum*, *Humicola grisea*, представители родов *Trichoderma* и *Gliocladium*, а также виды представленные белым стерильным мицелием. Нахождение почвы в пищеварительном тракте *A. caliginosa* вызвало существенные изменения в составе и структуре грибного сообщества (табл. 4). Снизилась доля видов, доминирующих или часто встречающихся в почве, в частности, достоверно уменьшилось относительное обилие грибов рода *Penicillium* (*P. aurantiogriseum*, *P. canescens*, *P. commune*, *P. corylophilum*, *P. chrysogenum*, *P. crustosum*, *P. echinulatum*, *P. janczewskii*, *P. funiculosum*, *P. griseoroseum*, *P. melenii*, *P. simplicissimum*, *P. pinophilium*, *P. purpurogenum*, *P. viridicatum*, *P. waksmani*,

*Penicillium* spp.), а *Chaetomium globosum*, *Humicola grisea*, *Humicola* sp. не были изолированы из пищеварительного тракта, несмотря на то, что имели высокое обилие в почве. Обилие же видов, представленных стерильным светлоокрашенным мицелием, *Geotrichum candidum*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizopus oryzae* и дрожжевых грибов значительно увеличилось, именно эта группировка доминировала в содержимом пищеварительного тракта. Следует отметить, что различия в относительном обилии многих видов (*Alternaria alternata*, *Acremonium strictum*, *Cladosporium cladosporioides* и т.д.) были не достоверными, хотя отмечали тенденцию к снижению количества большинства из них. Пищеварительный тракт характеризуется градиентом от аэробных до анаэробных условий (Drake, Horn, 2007). В анаэробных условиях инкубации посевов из кишечника *A. caliginosa* выделены факультативно-анаэробные виды *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *Mucor circinelloides*, *M. hiemalis*, *Zygorrhynchus* sp. В свежих копролитах *Aporrectodea caliginosa* доминировали представители родов *Mucor*, *Trichoderma*. Активное развитие этих видов грибов происходило на поверхности копролитов, что наблюдали при световой стереоскопической микроскопии. В копролитах, по сравнению с пищеварительным трактом, возросло также обилие пенициллов, а видов с белым стерильным мицелием — уменьшилось в 2 раза. Содержание темноокрашенных грибов не изменилось. Из копролитов не изолировали дрожжевые грибы и значительно меньше представителей рода *Aspergillus*, значительно уменьшилось обилие видов рода *Acremonium*. В целом видовое богатство микромицетов было существенно меньше, чем в почве и пищеварительном тракте (табл. 3, 4).

Сходные изменения в составе грибов происходили при прохождении почвы через пищеварительный тракт *L. terrestris*. Доля пенициллов была значительно меньше в пищеварительном тракте, чем в почве, но затем возрастала в копролитах. В кишечнике преобладали *G. candidum*, мукоровые, дрожжевые грибы и виды со стерильным светлоокрашенным мицелием, обилие видов *Fusarium* было меньше в сравнении с таковым в содержимом пищеварительного тракта *A. caliginosa*. В копролитах кроме видов *Penicillium*, доминировали представители родов *Mucor*, *Trichoderma*, *Paecilomyces*, *Rhizopus*, *Cladosporium*, а также *Doratomyces stemonitis*, не выделялись дрожжевые грибы.

Согласно данным А.В. Тиунова (2007), прохождение минеральной почвы или растительного опада через кишечник *L. terrestris* оказывает слабое влияние на состав и структуру доминирующих видов в грибных сообществах копролитов. В лабораторного эксперимента только у 4 из 37 выделенных видов грибов относительное обилие достоверно изменилось в копролитах по сравнению с почвой из под букового леса (Тиунов, 2007). Суммарное обилие этих видов в почве составляло менее 10 %. При корм-

лении *L. terrestris* липовым опадом структура грибного сообщества практически не отличалась в опаде и копролитах (дискриминантный анализ:  $p > 0,350$ ), хотя относительное обилие некоторых таксонов изменилось. Ни один из доминирующих в опаде видов микромицетов ( $> 1,5$  % относительного обилия) не исчез в копролитах. Аналогичные результаты были получены и при кормлении *L. terrestris* другими видами опада.

Обнаружено, что прохождение почвы и опада через кишечник *L. terrestris* привело к значительному увеличению числа незаселенных грибами органических фрагментов в копролитах и к уменьшению (как правило, формально не достоверному) обилия отдельных видов (Тиунов, 2007). Доля таких видов в зависимости от потребляемого червями субстрата варьировала от 8 до 25 %. Большая часть из них относится к темноокрашенным ранним колонизаторам опада и мукоровым грибам. Дизайн проведенных опытов не позволил количественно оценить относительную важность метабиотических (селективное потребление, перемешивание почвы и опада) и физиологических (переваривание, ингибирование или стимуляция грибов в кишечнике) механизмов формирования грибных сообществ в копролитах.

Состав и структура комплекса микроскопических грибов компоста существенно отличается от такового в дерново-подзолистой почве. Вместе с тем в пищеварительном тракте *E. fetida* также снижалось обилие доминирующих в компосте видов — аспергиллов и пенициллов, часто выделялись виды со светлоокрашенным стерильным мицелием, представители мукоровых, *Geotrichum candidum*, *Paecilomyces varioti* (рис. 1, см. Приложение).

Ординация грибных сообществ методом главных компонент в осях двухфакторного анализа подтвердила, что близкими по составу и структуре микобиоты местообитаниями являются пищеварительные тракты всех трех видов червей. Вторую группу формируют компост и копролиты *E. fetida*, третью — копролиты *A. caliginosa* и *L. terrestris*, которые наиболее близки к почве (рис. 2, см. Приложение).

**Грибы, ассоциированные с пищеварительным трактом дождевых червей.** Работы в этом направлении касались преимущественно выделения бактерий из пищеварительного тракта червей. Имеются данные о видовом составе бактерий, обнаруживаемых в этом местообитании. Согласно одним из них обнаруживаемые в пищеварительном тракте червей виды бактерий те же, что встречаются в почве и пищевом субстрате или отличия незначительные (Drake et al., 2007 и др.), по-видимому, ассоциированных с этой эконишей (Govindaraj, Prabaharan, 2014). В других работах показано, что некоторые микроорганизмы, изолированные из кишечного тракта, отсутствовали в окружающей почве (Бызов и др.,

2009). О специфическом микробном сообществе указывают и данные о составе и различиях в концентрации жирных кислот в стенках кишечника *L. terrestris*, его содержимом и почве (Sampredo et al., 2006). Недавние исследования с применением молекулярно-генетических подходов показывают о наличии отличного бактериального сообщества, ассоциированного со стенками кишечника разных экологических групп червей, несмотря на определенные изменения при смене питания и условий обитания (Thakuria et al., 2010). Однако доказательств имеют бактерии симбиотические или мутуалистические взаимоотношения с дождевые черви на данный момент нет.

Симбиотические бактерии рода *Acidovorax* обнаружены в нефридиях дождевых червей (Schramm et al., 2003, цит. по Zirbes et al., 2012). Эти бактерии напрямую передаются от взрослых особей в капсулы коконов при спаривании, а не попадают из окружающей среды. При созревании нефридиевых каналов в сементах червя, выделяются аттрактанты, индуцирующих селективную миграцию в них *Acidovorax*-подобные бактерии (Davidson, Stahl, 2008). После изоляции из нефридий *E. fetida* и характеристики близких к роду *Acidovorax* бактерий новый род и вид был идентифицирован — *Verminephrobacter* и *Verminephrobacter eiseniae* (Pinel et al., 2008). К настоящему времени наличие симбиотических бактерий рода *Verminephrobacter* показано в нефридиях 19 из 23 обследованных дождевых червей (Lund et al., 2010, цит. по Zirbes et al., 2012). Обнаружено, что нефридии *E. fetida* имеют три бактериальных симбиота (*V. eiseniae*, и представителя *Microbacteriaceae* и *Flexibacteriaceae*), передающиеся через капсулы кокона следующему поколению (Davidson et al., 2010). Роль этих бактерий остается неопределенной, но правдоподобным можно считать устранение токсичных соединений, протеолитическую деятельность, что может способствовать улучшению сорбции пептидов и аминокислот хозяином.

Мутуалистическое микробное сообщество пищеварительного тракта рассматриваются с точки зрения поставки отсутствующих у дождевых червей или образуемых в недостаточных количествах ферментов для переваривания пищи, источников витаминов или иных физиологически важных соединений.

Нами было обнаружено, что численность КОЕ микромицетов в пищеварительном тракте и *A. caliginosa* и *L. terrestris* возростала в 2 – 3 раза от желудка к заднему отделу кишечника (табл. 5). В ряде работ сообщали о возрастании численности КОЕ бактерий в заднем отделе кишечника червей. Это объясняли размножением популяций бактерий, адаптированных к условиям пищеварительного тракта (Бызов, 2005; Fischer et al., 1995; Schönholzer et al., 1999; Lavelle, Spain, 2001). У грибов такая закономерность изменения численности КОЕ по отделам пищеварительной

системы отмечена впервые. Можно предполагать, что увеличение численности выделяемых грибов из заднего отдела кишечника связано с комплексом причин. Среди них — стимуляция прорастания спор, развитие устойчивых к этому местообитанию видов, дезинтеграция скоплений спор при их прохождении через пищеварительный тракт дождевых червей или фрагментация гиф от желудка к заднему отделу кишечника, что тоже должно увеличивать количество КОЕ грибов в посевах, при сохранении ими жизнеспособности. Неизвестно какая из них определяет существование этого феномена.

**Таблица 5.**

*Численность КОЕ грибов в пищеварительных трактах червей *Aporrectodea caliginosa*, *Lumbricus terrestris* и *Eisenia fetida* при их содержании без пищи в течение 20 суток при различной температуре*

Вид червя	КОЕ / кишечник x 10 <sup>3</sup>	
	4 °С	15 °С
<i>Aporrectodea caliginosa</i>	1.0 ± 0.4*	0.9 ± 0.4
<i>Lumbricus terrestris</i>	0.5 ± 0.3	1.1 ± 0.3
<i>Eisenia fetida</i>	0.7 ± 0.2	1.0 ± 0.5

\* — n = 3

Данные о выделении микроскопических мицелиальных грибов из содержимого пищеварительного тракта дождевых червей имеются в работе Стригановой с соавторами (1988). Авторы изолировали несколько видов пеницилов и муконовых и полагали, что облигатным видом для кишечника червей является *Aspergillus fumigatus*. По их мнению, он находит более благоприятные условия в пищеварительном тракте, чем в почве. Однако, это эвритоный вид, и скорее в пище червей была высокая плотность его популяции, и часть спор сохранилась в пищеварительном тракте.

В более высоком количестве или не меньшем, чем окружающей среде, из пищеварительного тракта *Aporrectodea caliginosa* были выделены представители родов *Mucor*, *Rhizopus*, *Fusarium*, *Cladosporium*, дрожжевые грибы (табл. 4, рис. 1). Существуют различия микобиоте кишечника в зависимости от вида червя и потребляемых ими субстратов (Parthasarathi et al., 2007).

Из содержимого кишечника и свежих экскрементов выделялись дрожжеподобные грибы *Blastobotrys sp.* и аскоспорные дрожжи *Williopsis saturnus*. Вероятно, эти дрожжи максимально устойчивы к пищеварительной среде, а другие быстро лизируются (Yurkov, Tiunov, 2004). Аскомицетовые дрожжи выделялись из содержимого кишечника и экскрементов

червей семейств *Lumbriculidae* и *Enchytreidae* (Теренина, Чернов, 2001). У червей *Aporrectodea caliginosa* и *Eisenia fetida* в кишечнике, отмытом от содержимого, дрожжей не было обнаружено (Ву Нгуен Тхань, 1993).

Перспективным подходом для выявления грибов, ассоциированных с дождевыми червями, представляется оценка сохранения ими жизнеспособности в пищеварительном тракте при длительном голодании животных. Согласно нашим данным существуют дрожжевые и мицелиальные грибы, способные адаптироваться к длительному существованию в пищеварительном тракте дождевых червей (табл. 5 – 7). Неясным остается, насколько они активно там функционируют.

**Таблица 6.**

*Количество КОЕ грибов и длина жизнеспособного мицелия в пищеварительном тракте A. caliginosa, длительно не получавших пищи*

Период инкубации дождевых червей на песке, сут			
5	20	30	40
КОЕ / г кишечника			
12000±4000	13000 ± 3000	3000 ± 1000	2000 ± 1000
Длина жизнеспособного мицелия (ФДА), м/г			
63 ± 17	—	—	35 ± 15

Для выявления видов устойчивых к условиям пищеварительного тракта дождевых червей, а возможно и обитающих в этих условиях, был проведен эксперимент с длительным выдерживанием *Aporrectodea caliginosa* без пищи в чашках Петри на фильтровальной бумаге, на стерильном песке и стерильной почве. Полагали, что после их выдерживания при отсутствии поступления грибов с пищей, должны сохраниться виды, устойчивые к условиям пищеварительного тракта.

Из пустого пищеварительного тракта после длительного (40 суток) голодания червей были выделены грибы. Резкое снижение (в 6 раз) численности КОЕ грибов происходило после 4 недель, а к концу 6-й недели их количество в пищеварительном тракте уменьшилось еще в 1,5 раза и составило 2000 КОЕ / г. Методом люминесцентной микроскопии на 40 сутки голодания в пищеварительном тракте *A. caliginosa* обнаружен жизнеспособный мицелий (табл. 6).

Видовое богатство микромицетов, выделяемых из кишечника, после содержания червей без пищи также резко снизилось. Только относительное обилие отдельных таксонов возросло и можно полагать, что эти грибы являются наиболее адаптированными к условиям пищеварительного тракта. Группа грибов, сохранивших жизнеспособность в пищеварительной системе *A. caliginosa* к 20 суткам без пищи, включала *Geotrichum*

**Таблица 7.**

*Микромицеты, выделенные из кишечника червей A. caliginosa, содержащихся без пищи*

Вид / Род	Время содержания червей (сутки)	
	5	20
<i>Acremonium</i> sp.	+	-
<i>A. fumigatus</i>	+	-
<i>A. ustus</i>	+	-
<i>A. versicolor</i>	+	+
<i>Cladosporium sphaerospermum</i>	+	+
<i>Eupenicillium crutaceum</i> *	+	-
<i>Fusarium</i> ( <i>F. oxysporum</i> , <i>Fusarium</i> sp.)	+	+
<i>Gliocladium penicilloides</i>	+	-
<i>Mucor hiemalis</i> *	+	+
<i>Penicillium</i> ( <i>P. chrysogenum</i> , <i>P. griseoroseum</i> *, <i>P. crustosum</i> *, <i>Penicillium</i> spp.)	+	+
<i>Rhizomucor racemosus</i> *	+	+
<i>Trichoderma viride</i> ( <i>Trichoderma rufa</i> )*	+	-
<i>Verticillium</i> ( <i>V. lateritium</i> , <i>V. epiphytum</i> *)	+	-
<i>Geotrichum candidum</i> , <i>Syspastospora parasitica</i> *, <i>Bjerkandera adusta</i> *, светлоокрашенный стерильный мицелий	+	+
<i>Candida variotvaare</i> , <i>Candida</i> sp., <i>Pichia</i> sp., <i>Trichosporon laibachii</i> , <i>Trichosporon porosum</i>	+	+

\* — идентифицирован по 28S рДНК (D1 / D2 домен).

*candidum*, *Mucor hiemalis*, *Fusarium oxysporum*, виды, представленные светлоокрашенным стерильным мицелием, а также дрожжи родов *Candida*, *Pichia*, *Trichosporon*. Из кишечника постоянно выделяли также единичные колонии видов родов *Cladosporium*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Trichoderma*, споры которых обильно представлены в почвах и часть из них, по-видимому, сохраняется в пищеварительном тракте (табл. 7). Полученные нами результаты также свидетельствуют, что в пищеварительном тракте могут «удержаться» дрожжевые грибы и, возможно, некоторые быстрорастущие мицелиальные виды.

Дрожжи *Rhodotorula* sp. и *Candida* sp. в количестве нескольких КОЕ на кишечник выделялись также из червей *A. caliginosa* и *Lumbricus terrestris*, которых содержали 20 суток на стерильной почве. Этот прием позволял существенно очистить пищеварительный тракт от привходящих микроорганизмов (Бызов, 2005).

Пока нельзя с уверенностью утверждать, что они тесно ассоциированы с пищеварительным трактом червей, но некоторые из них, по-видимому, могут адаптироваться к этому местообитанию. Для большинства же из

них пищеварительный тракт червей — временная экониша, в которую они попадают с пищей.

Функции грибов, которые были выделены из пустого пищеварительного тракта, нам неизвестны. Однако длительное выживание их в кишечнике при сохранении довольно существенной плотности популяции, позволяет предполагать, что они довольно тесно ассоциированы с этой эконишей.

**Изменения физиолого-биохимических свойств микобиоты при прохождении почвы через пищеварительный тракт дождевых червей.** Физиологическое состояние грибов из почвы, пищеварительного тракта и свежих копролитов дождевых червей. Судьба микроорганизмов при прохождении пищеварительного тракта может иметь несколько сценариев — гибель, ингибирование роста, сохранение жизнеспособности, инициацию роста и размножения.

Для выяснения физиологического состояния грибных популяций в местообитаниях, связанных с дождевыми червями, использовали подход, который ранее был предложен Хаттори для оценки состояния бактерий в почве и водных средах (Hattori, 1982; Ishikuri, Hattori, 1985; Харин, Кураков, 2014). Суть метода состоит в анализе расписания появления колоний на плотных питательных средах. Для этого после посева периодически учитывают количество вновь образовавшихся колоний. Динамика появления колоний описывается экспоненциальным уравнением:  $N(t) = N_{\infty}(1 - e^{-\lambda(t-tr)})$ , где  $N(t)$  — количество колоний к данному моменту времени  $t$ ;  $N_{\infty}$  — финальное число колоний;  $\lambda$  — вероятность образования колоний отдельной клеткой в единицу времени;  $tr$  — время задержки (включающее в себя lag-период и время до образования колонии, видимой невооруженным глазом). Условием применимости данного уравнения является соответствие расписания появления колоний на твердых средах распределению Пуассона. Оно было доказано в экспериментах с чистыми культурами грибов, для популяций, интродуцированных в стерильную почву, и для комплексов микромицетов в нативных почвах (Харин, Кураков, 2014). Вычисление  $tr$  — времени появления колоний и  $\lambda$  — вероятности размножения клеток, которые характеризуют их физиологическое состояние, проводили методом наименьших квадратов.

Физиологическая активность грибов в содержимом кишечника, пищеварительном тракте и свежих копролитах *A. caliginosa* более низкая, чем в почве. Об этом свидетельствует большая продолжительность лаг-фазы — времени появления колоний на питательной среде и меньшие величины лямбда — показателя вероятности размножения грибов. Уже после 3-х суток инкубации копролитов грибные популяции в них резко активизировались, характеризовались минимальными значениями лаг-периода и

максимальными показателями вероятности размножения по сравнению с грибами в других местообитаниях. Сходные различия установлены для популяций грибов из почвы, кишечника и свежих копролитов *L. terrestris*. Более долгий период лаг-фазы и меньшие значения показателя вероятности размножения были у грибов из кишечника и копролитов по сравнению с почвенными изолятами (табл. 8). Воздействие пассажа компоста через пищеварительный тракт *E. fetida* на физиологическую активность грибов было более сильным, чем у *A. caliginosa* и *L. terrestris*, для свежих копролитах сохранялся заметно более длительный лаг-период проявления колоний в посевах и низкая вероятность размножения грибов.

**Таблица 8.**

*Показатели физиологического состояния грибных популяций в местообитаниях, связанных с червями Aporectodea caliginosa и Lumbricus terrestris*

Показатель	<i>L. terrestris</i>			<i>A. caliginosa</i>				
	Почва	Кишечник	Свежие копролиты	Почва	Содержимое кишечника	Кишечник	Свежие копролиты	3-х суточные копролиты
<i>tr</i> (час)	22	43	36	23	34	40	33	14
$\lambda$ (час <sup>-1</sup> )	0.021	0.018	0.017	0.014	0.09	0.008	0.011	0.021

Метаболическая активность грибов почвы, пищеварительного тракта и свежих копролитов дождевых червей. В последние годы для функциональной характеристики микробных сообществ местообитаний, связанных с дождевыми червями, начали использовать метод Биолог / мультисубстратного тестирования (Garlynnd, Mills, 1991; Горленко, 2005). В работе Умарова с соавторами (Умаров и др., 2008) интенсивность утилизации 47 субстратов была сходной для образцов дерново-подзолистой почвы из-под леса и пищеварительного тракта *A. caliginosa* и возрастала в копролитах. У навозного червя *E. fetida*, напротив, не было отмечено различий в активности потребления субстратов в пище (навозе) и экскрементах, но она была ниже в кишечном тракте (Якушев, Бызов, 2008).

Нами определен физиологический профиль и активность усвоения субстратов микробными сообществами почв, копролитов и кишечного тракта червей *A. caliginosa* с использованием набора из 23 субстратов: глюкоза, ксилоза, арабиноза, сахара, мальтоза, рамноза, лактоза, цистеин, аланин, глутамин, гистидин, фенилаланин, валин, лизин, глицерин, маннит, сорбит, инозит, дульцит, ацетат натрия, цитрат калия, крахмал,

твин. Для определения участия грибов в утилизации этих соединений применяли ингибиторный подход. В водные суспензии образцов перед их внесением в лунки с тестируемыми соединениями был добавлен циклогексимид (16 мг / г), антибиотик ингибирующий синтез белков у грибов.

Общая активность утилизации (бактериями и грибами) 23-х субстратов существенно возрастала в пищеварительном тракте *A. caliginosa* по сравнению с почвой и затем снижалась в копролитах (на 10 %) (рис. 3). Активность и разнообразие потребляемых субстратов грибами, напротив, уменьшались в пищеварительном тракте и росли в копролитах. Из 23 соединений грибами почвы активно потреблялись 6 субстратов, кишечника — 4, свежих экскрементов — 6 и 3-х суток копролитов — 18 субстратов. Обнаружена специфика в интенсивности утилизации субстратов грибами в этих местообитаниях. Только микромицеты почвы использовали дульцит, пищеварительного тракта — валин, свежих копролитов — рамнозу и лактозу, и во всех местообитаниях активно ассимилировали аланин и глутамин.

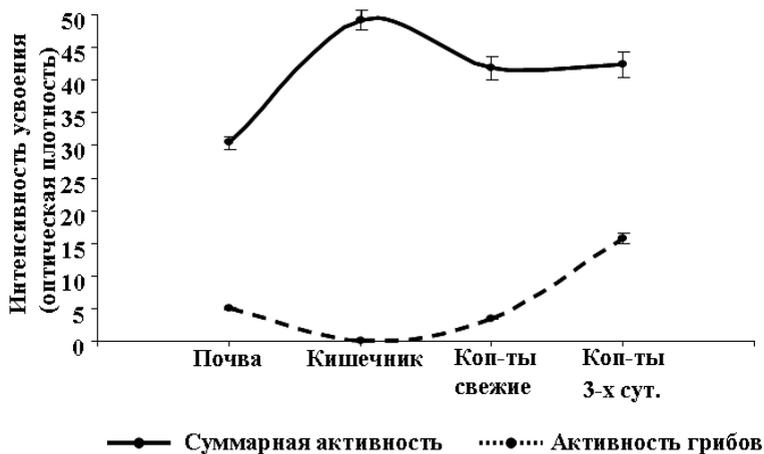


Рис. 3. Метаболическая активность усвоения 23 субстратов образцов почвы, кишечника и копролитов *A. caliginosa*.

Низкая метаболическая активность грибов в кишечном тракте и ее активизация в копролитах согласуется с данными по изменению биомассы мицелия грибов в этих эконисах в сравнении с почвой.

Протеолитическая активность изолятов грибов из почвы, пищеварительного тракта и копролитов. Дана сравнительная оценка протеолитической активности грибов, выделенных из почвы и местообитаний, созда-

ваемых червями (копролитах) и их пищеварительного тракта. Штаммы, использованные для тестирования, представляют виды, характерные для почвы, экскрементов (свежих копролитов) и кишечного тракта дождевых червей.

Проверка 198 свежевыделенных изолятов грибов на среде Чапека с добавкой желатина показала, что 31 штамм (16 % от общего числа) являются активными продуцентами внеклеточных конститутивных протеазам (зона просветления желатина вокруг колоний превышала 5 мм). Выявлено, что активных протеолитиков было заметно больше среди изолятов из почвы (20 %), чем свежих копролитов (10 %) и кишечника (7 %) (табл. 9).

**Таблица 9.**

*Протеолитическая активность у микроскопических грибов, изолированных из дерново-подзолистой почвы, свежих экскрементов и кишечников дождевых червей  
Aporrectodea caliginosa и Lumbricus terrestris*

Питательная среда		Почва	Кишечник червей	Копролиты
Чапека с желатином	Проверено штаммов	131	57	10
	Из них активных	26* (20%)	4 (7%)	1 (10%)
Глюкозо-пептонный агар с желатином	Проверено штаммов	39	13	9
	Из них активных	14** (36%) 28*** (72%)	1 (8%) 6 (5%)	3 (30%) 8 (89%)
Среда с кератином как источником	Проверено штаммов	62	39	21
	Из них активных	9**** (15%) 3***** (5%)	0 0	0 0

\* — число штаммов с высокой активностью (зона просветления желатина не менее 5 мм);

\*\* — число штаммов с высокой активностью (зона не менее 10 мм);

\*\*\* — общее число штаммов, проявивших протеолитическую активность (зона более 2 мм);

\*\*\*\* — число штаммов, имевших зону просветления на среде с кератином в качестве источника азота;

\*\*\*\*\* — число штаммов, имевших зону просветления на среде с кератином в качестве источника азота и углерода.

Протеазную активность (на глюкозо-пептонной среде с желатином) проявляли подавляющее большинство изолятов (69 %). Эта активность обнаружена у 81 % изолятов из экскрементов, у 70 % — из почвы и у

46 % — из кишечников, если сравнивать эти местообитания по представленности изолятов с довольно высокой активностью, то среди почвенных изолятов их доля 36 %, выделенных из копролитов — 30 % и пищеварительного тракта — 8 %.

По способности гидролизовать белки по D-аланиновыми окончаниями положительный результат получен для 14 из 450 штаммов грибов (3 %). Из каждого местообитания выделено по несколько изолятов, обладающих такой активностью.

Наиболее высокую экзопротеазную активность проявили *Penicillium canescens*, *P. janczewskii*, *P. aurantiogriseum*, *P. melenii*, *P. chrysogenum*, *P. lilacinus*, *Acremonium* sp., *Aspergillus versicolor*, формы в виде стерильного светлоокрашенного мицелия *B. adusta*. Большинство грибов были выделены из почв и экскрементов (табл. 9).

Кератинолитической активностью обладали только штаммы грибов из почвы (табл. 9). Это — *Paecylomyces lilacinus*, *Paecylomyces* sp., *Acremonium* sp., *C. rosea*, *Cladosporium* sp., *C. cladosporioides*, *Penicillium* spp. и виды, представленные стерильным мицелием. Активных продуцентов кератиназ среди изолятов грибов из пищеварительного тракта червей не найдено.

Итак, представленность активных протеолитиков выше среди изолятов из почвы, затем следуют свежие копролиты (1 – 2 сут) и значительно меньше их среди штаммов, выделенных из пищеварительного тракта дождевых червей.

Итак, накоплена значительная информация об изменениях в биомассе, видовом составе и активности микобиоты под влиянием дождевых червей, модификациях в грибных сообществах при прохождении через их пищеварительный тракт.

Установлено, что физиологическая активность грибов была ниже у изолятов из кишечников, чем у изолятов из почвы / компоста и из в свежих копролитов. Показатель  $\lambda$  у грибов в 3-х суточных копролитах был больше, чем в почве, а лаг-период был минимальным. Интенсивность утилизации субстратов значительно (в 1,8 раза) выше у изолятов из пищеварительного тракта *A. caliginosa*, чем из почвы и ниже у изолятов из копролитов. Метаболическая активность и разнообразие потребляемых субстратов грибами, напротив, уменьшались в пищеварительном тракте и резко увеличивались в копролитах. Сравнение относительных количеств изолятов, обладающих активными экзопротеазами, указывает на их меньшее число в кишечнике, чем почве и экскрементах. Это совпадает со значительным уменьшением разнообразия грибов, изолируемых из кишечников.

Полученные данные свидетельствуют о снижении функциональных возможностей грибных сообществ в пищеварительном тракте и их росте

уже после нескольких суток инкубации копролитов и, соответственно, скорости осуществляемых ими процессов.

### **Механизмы воздействия дождевых червей на грибы в почвах**

**Модификация физико-химических свойств почвы, перемешивание ее и растительных субстратов дождевыми червями.** На состав и структуру сообществ грибов должны влиять различия в физико-химических условиях (например, более высокое содержание доступных источников углерода и азота) в копролитах и дрилосфере, в сравнении с окружающей почвой. И это действительно отражается, как показывают наши данные и анализ литературы, на пуле грибной биомассы и составе грибов в почвах. В свежих копролитах (до возраста 2-х недель) больше в несколько раз мицелия, чем окружающей почве и активно развиваются быстрорастущие виды грибов (в частности, представители триходермы), которые первые реагируют на богатые источниками углерода и азота местообитания.

Аналогичные наблюдения есть и для дрилосферы. Другим механизмом, который, по мнению А.В. Тиунова, определяет таксономический состав микробного населения стенок нор, является транслокация растительных остатков с поверхности почвы в минеральные горизонты (Тиунов, 2007).

Важным фактором формирования грибного сообщества копролитов является, по-видимому, перемешивание в пищеварительном тракте растительного опада и минеральной почвы (Тиунов, 2007). Этот вывод делается на основе данных, которые свидетельствуют, что сообщество микромицетов в копролитах *L. terrestris* при питании почвой и опадом представляло собой смесь "подстилочных" и "почвенных" видов, причем их относительное обилие зависело от массовой доли почвы и опада в копролитах.

Для эндогейных (*A. caliginosa*) и эпигейных червей (*E. fetida*) перемешивание почвы с растительным субстратом имеет меньшее значение.

**Трофическое воздействие на грибы дождевых червей.** Дождевые черви оказывают существенное влияние на состав микобиоты почвы посредством трофического воздействия. Полученные нами данные и имеющиеся сведения в литературе свидетельствуют о заметных изменениях в обилии многих видов грибов при прохождении почвы и других субстратов через пищеварительный тракт дождевых червей, о различном предпочтении червями представителей разных таксонов и экологических групп грибов.

Как консументы, дождевые черви занимают следующий за микроорганизмами трофический уровень в детритных пищевых сетях. Грибы в их питании считаются одним из главных компонентов, за ними следуют

простейшие, одноклеточные и мицелиальные бактерии (Edwards, Fletcher, 1988).

Аминокислоты и белки, которые являются основным конструктивным материалом организма животных, не являются основными энергоносителями, эту роль выполняют сахара и липиды. Но для получения азота и фосфора представители почвенной фауны должны питаться почвенными микроорганизмами. Рассчитано, что почвенные беспозвоночные зависят от микроорганизмов, как источника незаменимых аминокислот, которые сами синтезировать не могут, а в растениях или в свободном состоянии в почве их содержится мало (Покаржевский и др., 1984).

Механизм переваривания микроорганизмов в кишечнике беспозвоночных животных представляется следующим образом (Бызов, 2005). Чувствительные микробные клетки, попадающие в пищеварительный отдел кишечника, быстро гибнут под действием киллерных веществ. Киллерные вещества нарушают барьер проницаемости, и в раствор выходит часть содержимого цитоплазмы. Гидролиз клеточного материала осуществляют вместе автолитические ферменты микробной клетки и ферменты животного. Эффективность переваривания повышается благодаря мутуалистическим отношениям животного с кишечной микробиотой (Trigo, Lavelle, 1993). Живые организмы перевариваются эффективнее мертвых. Известно, что состав автолитических ферментов любой клетки более широк, чем спектр пищеварительных ферментов животного (Уголев и др., 1985).

Дождевые черви пропускают пищу через свой кишечник очень быстро — от 4 до 20 часов. У них обнаружены разнообразные гидролитические (липазы, хитинизы, протеазы, амилазы) и окислительные ферменты, которые участвуют в переваривании растительных остатков и микробной биомассы. Так, у *Lumbricus terrestris* установлена более высокая активность протеаз, амилаз, содержание белка и ионов кальция в переднем и среднем отделах кишечника, чем в заднем отделе. В заднем отделе сосредоточена активность глутаматдегидрогеназы и сериндегидрогеназы. Предполагают, что образование аммония в заднем отделе кишечника — результат активности ферментов, образуемых кишечным эпителием (Tillinghast et al., 2001).

У тропического червя *Polypheretima longate* найдены разнообразные гликозидазы, возможно, участвующие в переваривании субстратов, содержащиеся в растительных остатках и грибных гифах (целлюлозу, маннан). Активность обнаружена как в кишечных тканях, так и в содержимом кишечника, что позволило предположить, что эти ферменты образует животное (Lattaud et al., 1997). У двух других видов *Pontoscolex corethrurus* и *Millsonia anomala* проявления активности маннаназы и целлюлазы в тканях кишечника не установлено (Lattaud et al., 1998). Гликозидазная

активность обнаружена и в кишечниках эпигейных червей *Microscolex kerguelensis* и *Dendrodrilus rubidus tenuis*. Оба вида могли использовать крахмал, мальтозу, ламинарин, N-ацетилглюкозамин, что позволило сделать вывод об их способности переваривать корни растений, дрожжи, бурые водоросли и грибы. Обнаружена также активность против лишенина, ксилана, целлюлозы и карбоксиметилцеллюлозы. Деградация углеводов происходила, в основном, в переднем и / или в среднем отделе. Черви не гидролизovali лактозу, сахарозу и целлобиозу. Таким образом, у этих эпигейных червей не найдено всех ферментов, необходимых для разрушения целлюлозы (Prat et al., 2002). В принципе, вопрос о способности дождевых червей к самостоятельному гидролизу целлюлозы не решен, так как не дана оценка вклада целлюлаз микроорганизмов и животного в определяемую в опытах активность (Shweta, 2012).

Эндогеиные черви обладают низкой активностью пищеварительных ферментов, в то время как поглощаемые ими почвенные микроорганизмы способны разрушать любые органические вещества, что дает основание предполагать на формирование этими видами мутуалистических взаимодействий с микробиотой в кишечнике.

**Киллерное действие кишечной жидкости дождевых червей на грибы.** Одним из механизмов модификации состава, биомассы и активности грибов при прохождении почвы через дождевых червей является киллерная активность пищеварительной жидкости.

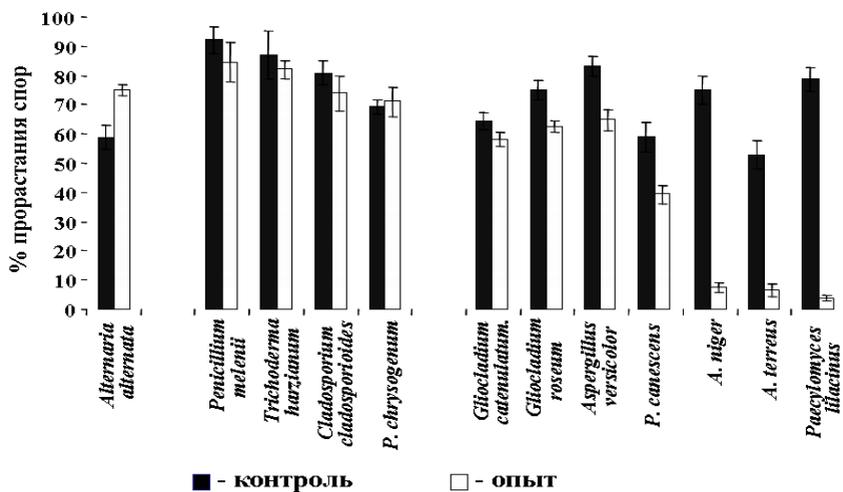
В кишечной жидкости дождевых червей, помимо гидролитических ферментов, возможно, имеются, как в случае с кивсяками *Pachyiulus flavipes*, *Rossiulus kessleri*, *Megaphyllum rossicum* и мокрицами *Armadillidium vulgare* вещества киллерной природы (Бызов, 2005), обеспечивающие быструю гибель грибов. У этих животных обнаружена так называемая киллерная активность по отношению к бактериям и грибам, изолированным из разных мест обитания. У дрожжей, мицелиальных грибов и некоторых бактерий регистрировали методом посева и в световом микроскопе по разрушению вакуолей гибель более чем 90 % клеток в первые минуты инкубации в кишечной жидкости. Среди протестированных штаммов были и более устойчивые, а также не чувствительные к действию пищеварительной жидкости (Byzov et al., 1998). Масс-спектрометрический анализ показал преобладание (более 90 %) в киллерной фракции кивсяков 16-сульфогидроксипальмитиновой кислоты (-SO<sub>3</sub>-O-(CH<sub>2</sub>)-15-COOH), умеренного детергента, т.е. способного к разрушению мембран (Бызов, 2005).

Киллерную активность по отношению к бактериям и дрожжам обнаружили и в жидкости из переднего отдела дождевых червей *Aporrectodea*

*caliginosa*, *Eisenia fetida* и *Lumbricus terrestris* (Byzov, Khomyakov, 2004; Хомяков и др., 2007).

Нами показано наличие киллерной активности кишечной жидкости дождевых червей по отношению к мицелиальным грибам.

Выдерживание мицелия *Trichoderma harzianum* и *Penicillium decumbens* в пищеварительной жидкости в течение 1 – 2 минут приводило к его гибели (рис. 4). При всех протестированных сроках воздействия пищеварительной жидкости не погибали мицелий *Fusarium oxysporum*, *Paecilomyces lilacinus*, *Penicillium aurantiogriseum*, *Gliocladium catenulatum*, а их радиальная скорость достоверно не менялась. У *Bjerkandera adusta* наблюдали небольшое снижение, а у *Penicillium chrysogenum* повышение радиальной скорости роста при выдерживании мицелия в кишечной жидкости (табл. 10). Изменение доли жизнеспособных фрагментов мицелия этих грибов при инкубации в кишечной жидкости не оценивали.



**Рис. 4.** Прорастание спор грибов после кратковременного (2 мин.) воздействия на них пищеварительной жидкости *A. caliginosa*.

Кратковременное действие кишечной жидкости на споры грибов не меняло количество прорастающих спор у 4-х культур, у 6 видов их число снижалось и только у штамма *Alternaria alternata* возросло. Важно подчеркнуть, что у *Aspergillus niger*, *A. terreus* и *Paecilomyces lilacinus* прорастание спор подавляется практически полностью уже при кратковременном воздействии кишечной жидкости. Это свидетельствует о наличии в

ней киллерного фактора, который оказывает острый токсический эффект на грибные споры.

**Таблица 10.**

*Радиальная скорость роста грибов после инкубации их мицелия в пищеварительной жидкости A. caliginosa*

Вид / штамм	Радиальная скорость роста, мм / час.			
	Контроль	Время воздействия		
		1 – 2 мин.	2 часа	24 часа
<i>Trichoderma harzianum</i>	0.17 ± 0.02	0	0	0
<i>Penicillium decumbens</i>	0.13 ± 0.00	0	0	0
<i>P. chrysogenum</i>	0.09 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.11 ± 0.01	0.12 ± 0.01
<i>Bjerkandera adusta</i>	0.20 ± 0.02	0.16 ± 0.02	0.14 ± 0.01	0.15 ± 0.00
<i>Fusarium oxysporum</i>	0.10 ± 0.00	0.12 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.10 ± 0.01
<i>P. aurantiogriseum</i>	0.12 ± 0.00	0.09 ± 0.01	0.12 ± 0.01	0.11 ± 0.01
<i>Gliocladium catenulatum</i>	0.09 ± 0.02	0.09 ± 0.01	0.07 ± 0.01	0.08 ± 0.05
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	0.11 ± 0.01	0.10 ± 0.02	0.13 ± 0.01	0.11 ± 0.00

Подавление прорастания спор у многих грибов и снижение скорости роста соответствует данным о более низкой физиологической активности грибов в пищеварительном тракте.

**Жизнеспособность спор грибов после прохождения с песком через пищеварительный тракт червей.** Для моделирования комплекса факторов (ферментов, киллерных веществ, условий пищеварительного тракта, воздействия минеральных частиц) на грибы был проведен эксперимент по оценке изменения количества жизнеспособных пропагул после прохождения спор 6 видов через пищеварительный тракт *A. caliginosa*.

После пассажа песка с пропагулами штамма *Alternaria alternata* его количество в экскрементах *A. caliginosa* было выше ( $2,7 \pm 0,9 \times 10^3$  КОЕ / г), по сравнению с исходным субстратом ( $0,7 \pm 0,2 \times 10^3$  КОЕ / г), что согласуется с обнаруженным нами стимулирующим эффектом кишечной жидкости на прорастание спор этого вида. Снижение числа КОЕ *Clonostachys solani* (с  $5,3 \pm 0,3 \times 10^3$  до  $4,0 \pm 0,5 \times 10^3$  КОЕ / г) в прошедшем через червя песке также соответствовало данным по ингибированию прорастания их спор кишечной жидкостью и уменьшением их обилия в копролитах (табл. 5). Аналогично большая численность *T. harzianum* ( $9,2 \pm 0,7 \times 10^3$  по сравнению с  $7,5 \pm 0,2 \times 10^3$  КОЕ / г) после прохождения ее пропагул с песком через пищеварительный тракт соответствовали наблюдаемому росту обилия этих грибов копролитах. Кишечная жидкость прорастание спор этого гриба не подавляла. Жизнеспособность спор *C. cladosporioides* достоверно не изменилась после пассажа с песком через червя, что соответствовало

отсутствию влияния пищеварительной жидкости на прорастание его спор и росту относительного обилия в свежих копролитах. Вместе с тем, для таких видов, как *P. lilacinum* и *F. oxysporum* не отмечено соответствия между изменением жизнеспособности их спор после прохождения их с песком через пищеварительный тракт и данными по их обилию в кишечнике и копролитах и влиянию непосредственно кишечной жидкости на прорастание спор. Прорастание спор *P. lilacinum* ингибировалось под действием кишечной жидкости, однако их жизнеспособность, оцененная по числу его КОЕ, после прохождения через пищеварительный тракт червей была выше ( $5,6 \pm 1,3 \times 10^4$  в сравнении с  $1,5 \pm 0,3 \times 10^4$  КОЕ / г в исходном песке). Обилие в копролитах также возросло. Жизнеспособность пропагул *F. oxysporum* снизилась с  $5,0 \pm 0,8 \times 10^3$  до  $2,5 \pm 0,6 \times 10^3$  КОЕ / г в песке после его пассажа через *A. caliginosa*, но в копролитах относительное обилие этих грибов выросло.

Таким образом, для ряда испытанных видов обнаружено соответствие изменения жизнеспособности спор при пассаже с песком через пищеварительный тракт *A. caliginosa* с характером действия его кишечной жидкости и их обилием в содержимом кишечника и копролитах. Возможно, что это может быть обусловлено литическим действием ферментов на клеточную стенку спор, протекторными свойствами минеральных частиц или их абразивным эффектом. Хорошо известно, что ферменты пищеварительного тракта животных инициируют прорастание копротрофных грибов. Абразивное действие почвенных частиц может стимулировать прорастание спор некоторых видов микромицетов (Moody et al., 1996).

Влияние целомической жидкости червей на грибы. Целомическая жидкость образуется в жировой ткани и выделяется наружу особенно активно при механическом повреждении червей. Известно, что целомическая жидкость ингибирует рост многих бактерий. Она активна и против эукариот, однако данных по ее влиянию на грибы крайне мало. Добавление в разбавленное жидкое сусло целомической жидкости *E. fetida* (в соотношении 1:8 до 1:2) сдерживало рост дрожжей *Debaryomyces hansenii*, *Candida famata*, *Galactomyces geotrichum* и *Hyphopichia burtonii*. Эффект возрастал с повышением концентрации жидкости, но полностью рост дрожжей не прекращался. Микроскопия показала, что дрожжевые клетки были окружены коллоидной оболочкой (Бызов, 2005).

Исследования по воздействию целомической жидкости в отношении мицелиальных грибов разных таксономических и эколого-трофических групп представляются актуальными как для объяснения природных явлений, так и практических целей (поиском нетоксичных для эукариот антибиотических веществ). С накоплением веществ с антибиотической

активностью, содержащихся в ней, может быть связана супрессивность вермикомпостов.

Избирательность потребления и распространение грибов дождевыми червями в почвах. Существует точка зрения, что черви являются слишком крупными животными для того, чтобы иметь возможность эффективно выбирать из почвы грибной мицелий, и тем более мицелий определенных видов грибов. Однако, дождевые черви существенно различаются по размерам, трофике и локализации в почве, что может вполне отражаться на их возможности к избирательному питанию грибами.

Имеются данные, что состав грибного сообщества в потенциальных пищевых субстратах влияет на их привлекательность для дождевых червей (Cooke 1983; Bonkowski et al., 2000). Поэтому одним из механизмов влияния дождевых червей на микобиоту могут быть их различия в пищевом рационе.

Так, значительно более предпочитаемыми дождевыми червями являются распространенные в подстилке и минеральных горизонтах почв микроскопические мицелиальные аскомицеты, в сравнении с базидиомицетами (Bonkowski et al., 2000).

Дождевые черви могут быть важными агентами распространения грибов в почве, которое они осуществляют путем поглощения спор в одном месте и выбрасывания с экскрементами в другом. Это обусловлено, тем что многие виды почвенных и подстилочных микромицетов способны сохранить жизнеспособность при прохождении через кишечник дождевых червей. Об этом свидетельствуют результаты наших опытов и данные в литературе.

Форические связи дождевых червей и грибов могут ускорять колонизацию поступающего на поверхность почвы растительного опада почвенными грибами, и способствовать проникновению подстилочных грибов глубоко в почвенные горизонты. В лесных экосистемах умеренного климата масштабная форическая деятельность *L. terrestris* и других норных дождевых червей, возможно, не дублируется в полной мере другими механизмами (Тиунов, 2007). Почвенные микромицеты редко распространяются на большие расстояния (Bruehl, 1987) из-за медленного роста гиф к источнику питания (Fitter, Garbaye, 1994), поэтому важное значение для колонизации больших пространств имеют их взаимодействия с широким кругом микро- и макроорганизмов (Reddell, Spain 1991; Jayasinghe, Parkinson, 2009).

Есть сообщения, что дождевые черви способны распространять фитопатогенные грибы (Evwards, Fletcher, 1988), в частности, споры фитопатогенов-оомицетов рода *Pythium* и представителей рода *Fusarium*. С другой стороны, считают, что норные черви могут препятствовать их

расселению путем потребления и погребения зараженной ими опавшей листвы. Так, присутствие в почве эндогеичных червей (*Aporrectodea* spp.) существенно снижало зараженность растений *Rhizoctonia solani*. Механизмы этого воздействия не выяснены.

Дождевые червы способствуют расселению спор эндомикоризных грибов в почвенных экосистемах (Reddel, Spain, 1991; Gange, 1993). Образующие арбускулярную микоризу грибы не формируют плодовых тел, а их крупные споры, образующиеся в почве, имеют ограниченные возможности для распространения. В копролитах нескольких видов дождевых червей обнаружены жизнеспособные споры и фрагменты мицелия АМ грибов, причем их обилие часто было выше, чем в окружающей почве, поскольку черви предпочитают питаться в ризосфере растений (Reddel, Spain, 1991; Gange, 1993). Увеличение доли заселенных микоризой корней в присутствии дождевых червей было показано в некоторых экспериментах (Ydrogo, 1994; Patron et al., 1999). Однако это наблюдается далеко не всегда (Brown et al., 2000; Wurst et al., 2004). Одним из механизмов отрицательного влияния дождевых червей на АМ грибы может быть механическое нарушение мицелия. На это указывают как лабораторные (Pattinson et al., 1997; Tuffen et al., 2002), так и полевые наблюдения (Lawrence et al., 2003).

Существуют отличия между видами червей по способности распространять грибы разных эколого-трофических и таксономических групп. Так, *A. caliginosa* переваривал предложенные в опыте базидиомицеты (*L. laccata*, *P. arhizus*), и не использовал или не полностью переваривал *S. grevillei* и *X. chrysen-teron*. То есть *A. caliginosa* может действовать как вектор переноса двух эктомикоризообразователей (*S. grevillei* и *X. chrysen-teron*). Однако *Lumbricus rubellus*, *L. terrestris* отвергали *S. grevillei* и *X. chrysen-teron*, а также *L. laccata*, *P. arhizus* как пищевой ресурс и жизнеспособных пропагул этих грибов в копролитах не обнаруживали (Montecchio et al., 2015).

В копролитах *A. caliginosa*, *L. rubellus*, *L. terrestris* при их питании *A. ostoyae* его жизнеспособных пропагул не было, то есть этот опасный паразит древесных растений полностью переваривался червями (Montecchio et al., 2015).

### **Влияние грибов на дождевые черви и его механизмы**

Грибы, по-видимому, главный источник пищи и биологически активных соединений для многих видов дождевых червей, особенно тех, которые питаются и обитают в подстилке и других субстратах, обильно ими заселенными. Поэтому велика вероятность зависимости роста и развития дождевых червей от состава и обилия видов грибов в таких субстратах, и, соответственно, их пище.

**Аттракция грибами дождевых червей.** В экспериментах Кука (Cooke, 1983) было установлено, что *L. terrestris* предпочитал диски из фильтровальной бумаги, инокулированные *Fusarium oxysporum*, *Alternaria solani*, *Trichoderma viride*, в отличие от тех, что были с *Cladosporium cladosporioides*, *Poronia piliformis*, *Chaetomium globosum* и *Penicillium digitatum*. В случае инокуляции дисков из фильтровальной бумаги *Pseudomonas fluorescens* и двух видов грибов *Mucor hiemalis* и *Penicillium* sp. черви также потребляли значительно больше пищи, чем без них (Cooke, Luxton, 1980).

Для тропических видов дождевых червей на основе лабораторных опытов был предложен список (довольно условный) грибов по их предпочтению червями. Виды грибов были разделены на «переваривающиеся» (*Actinomucor* spp., *Helmintosporium* spp., *Nigrospora sphaeria*, *Rhizopus nigricans*, *Trichoderma* spp., *Curvularia* spp., *Fusarium* spp., *Chaetomium* spp., *Cladosporium* spp.) и на «не переваривающиеся» (*Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger*, *A. terreus*, *Penicillium* spp.) (Dash et al., 1979, 1986). На аттракцию грибами дождевых червей указывали и другие исследователи, приводя близкий список видов (Марфенина, Ищенко, 1997; Cooke, 1983; Moody et al., 1996).

В опытах Бонковского с коллегами было протестировано предпочтение нескольких видов дождевых червей (*Lumbricus terrestris*, *Lumbricus castaneus*, *Aporrectodea caliginosa*, *Aporrectodea rosea*, *Octolasion cyaneum*) в отношении потребления *Cladosporium cladosporioides*, *Rhizoctonia solani*, *Mucor* sp., *Trichoderma viride*, *Fusarium nivale*, *Phlebia radiata*, *Glaeophyllum trabeum*, *Coniophora puteana*, *Coriolus versicolor* (Bonkowski et al., 2000). Самыми предпочитаемыми видами для червей разных эколого-трофических групп были *Fusarium nivale* и *Cladosporium cladosporioides*, затем следовали быстрорастущие грибы, такие как *Rhizoctonia solani*, *Mucor* sp., а виды базидиомицетов черви, обычно, отвергали. Далее, эндогейные черви предпочитали довольно многие виды грибов, эпигейные проявляли выраженное предпочтение небольшому числу конкретных видов. Сделано предположение, что предпочтение ранних сукцессионных видов грибов червями отражает механизм обнаружения ими свежих разлагающихся органических субстратов в почвах. Причиной такого явления считают большую пищевую ценность свежего опада и самих грибов для червей. Кроме того, на более поздних стадиях разложения растительных субстратов среди грибов (активных гидролитиков) больше видов, образующих вторичные метаболиты (антибиотики, токсины) среди которых могут быть и токсичные для животных.

Обнаружено, что зараженная фузариями солома пшеницы, гораздо более привлекательна для *Lumbricus terrestris*, чем контрольные варианты. Муди с соавторами (Moody et al., 1995) также отмечали повышенную

пищевую активность на инфицированных грибами растительных остатках. Бонковский с коллегами (Bonkowski et al., 2000) наблюдали выраженное предпочтение у 3-х видов червей, включая *L. terrestris*, к видам рода *Fusarium* как источникам пищи из 8 протестированных таксонов грибов. Показано, детритоядные черви, такие как *L. terrestris* являются ключевыми агентами в снижении фузариозной инфекции на зараженной ими пшеничной соломе (Wolfarth et al., 2011). В этом контексте роль геофаговых червей, подобных *Aporrectodea caliginosa* оценивается как минорная (Wolfarth et al., 2011).

В последние годы начаты исследования по выяснению роли летучих соединений грибов во взаимодействиях с дождевыми червями. Известно, что навозный червь *Eisenia fetida* способен переваривать *Geotrichum candidum*, сапротрофный вид, встречающийся в почвах и желудке животных, в том числе червей. Оказалось, что фильтраты из культуральной жидкости *G. candidum* привлекают *E. fetida*. Летучие соединения из фильтрата были идентифицированы и протестированы с помощью ольфактометра. Установлено, что способностью аттракции *E. fetida* обладают из обнаруженных летучих веществ этилпентаноат и этилгексаноат (Zirbes et al., 2010).

**Влияние потребляемых грибов на развитие и жизнеспособность дождевых червей.** В исследованиях Монтечио с коллегами (Monterocchio et al., 2015) показано, что поведение и жизнеспособность червей сильно зависело от потребляемого вида грибов и его количества. Дождевые черви *L. terrestris* демонстрировали различное поведение при питании оомицетами (*Phytophthora cactorum*) и аскомицетами (*Neonectria radicola*, *Fusarium reticulatum*, *Verticillium dahliae* и *Trichoderma harzianum*), в сравнении с базидиомицетами — ксилотрофным патогеном (*Armillaria ostroyae*) и эктомикоризообразователями (*Laccaria laccata*, *Pisolithus arhizus*, *Suillus grevillei* и *Xerocomus chrysenteron*). *L. terrestris* при питании фитопатогенами *P. cactorum*, *N. radicola*, *F. reticulatum*, *V. dahliae* и микопаразитом *T. harzianum* (в двух различных концентрациях) формировал копролиты с жизнеспособными пропагулами этих грибов. Если в пище были представители отдела *Basidiomycota*, то только в случае с *A. ostroyae* у червей не было стрессовых симптомов. Потребление ими *L. laccata*, *P. arhizus*, *S. grevillei* и *X. chrysenteron* снижало их активность, копролиты не образовывались в течение 5 – 11 суток, и грибы в них не обнаруживали. Дождевые черви *Lumbricus rubellus* реагировали на питание аскомицетами сходно с *L. terrestris*, а при выращивании с *P. cactorum* в высокой концентрации умирали на 9 сутки. При росте *Lumbricus rubellus* с *A. ostroyae* и *S. grevillei* стрессовых симптомы не наблюдали, но на вариантах с *L. laccata*, *P. arhizus*, *X. chrysenteron* погибали на 5, 9 и 11

сутки, соответственно. *A. caliginosa* развивался без негативных последствий на *N. radicolica*, *F. reticulatum*, *T. harzianum* и *P. arhizus* (в низких концентрациях). Во всех других случаях у червей отмечены стрессовые отклонения (переход к покою, гибель или отсутствие продукции копролитов).

Наблюдаемые стрессовые симптомы у червей могли быть вызваны микотоксинами (Smith, Read, 2008), но предположение нуждается в проведении исследований для подтверждения.

Полученные данные позволяют предполагать, что различия в активности дождевых червей в течение сезона и разных слоях почвы могут зависеть от динамики развития грибных сообществ, пула грибной биомассы, состава грибов, которые постоянно меняются в пространстве и времени.

Наиболее исследованным с этой точки зрения влияния грибов на рост, развитие и жизнеспособность является компостный червь *Eisenia fetida*. Стерильно выведенную из коконов молодь *E. fetida* (стерилизовали с поверхности карбенциллином) содержали в целлюлозе с 16 чистыми культурами разных видов грибов. Черви, питающиеся 9 культурами, такими как *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *Fusarium* sp. и *Penicillium* sp., погибли в период от 10 до 40 дней. При питании *Ascobolus* sp. и *Trichoderma* sp., *Aspergillus* sp. черви теряли в весе, но не погибали. Только на грибах *Arthrotrix* sp. и *Cladosporium herbarum* отмечали прибавку в весе у червей, а их скорость роста была 0,5 и 0,8 мг / сут., соответственно, в течение 14 недель и они продолжали расти (Morgan, 1985). В аналогичном эксперименте стерильно выведенную молодь *E. fetida* кормили стерилизованными субстратами, инокулированными чистыми культурами грибов. Привес червей был отмечен при кормлении *Trichoderma harzianum* (заметим, что другой вид триходермы был не столь питателен). Хенд и Хайес (Hand, Hayes, 1988) также сообщали о хорошем росте *E. fetida* в присутствии *Trichoderma* sp. и *Mucor* spp.

Дождевые черви, по-видимому, могут быть очень чувствительными к изменениям среды, которые вызывают грибы. Это возможно благодаря секретлируемым грибами разнообразным метаболитам.

Дрожжевые добавки (*Candida famata* и *Geotrichum candidum*) эффективно влияют на рост и репродуктивный потенциал *E. fetida* при его росте на смеси навоза и отработанного шампиньонного грунта. Прибавку в росте червей *E. fetida* наблюдали при внесении дрожжей (*C. famata* и *G. candidum*) в вермикомпост. Эффект от этих инокулятов, обусловлен по мнению автора не столько от увеличения биомассы потребляемых червями микроорганизмов (внесенные дрожжи могли обеспечить не более 1 / 3 потребностей для прироста червей), а служили источником физиологически активных веществ, в частности витаминов группы В, amino-

кислот. Лишь небольшие количества этих веществ необходимы для роста и размножения червей. Находясь в живых клетках, эти соединения защищены от разрушения, а в кишечнике червей клетки погибают, и вещества становятся доступными животным (Бызов, 2005). Показано, что добавление живого мицелия *Trichoderma harzianum* (1 мг / г) способствовало повышению продуктивности вермиккультуры: увеличивало численность молодежи, взрослых особей и коконов. Аналогично этому виду триходермы действовали и живые дрожжи *Candida famata* и *Saccharomyces cerevisiae* (Бызов, 2005).

Установлено позитивное влияние штамма *T. asperellum* МГ/6 (обладает антагонистическими свойствами к грибным фитопатогенам, продуцирует фитогормон — индолиуксусную кислоту, целлюлолитик) и полученного на его основе биопрепарата на развитие *E. fetida* на эффективность вермикомпостирования соломы, опилок и навоза (Садыкова, Кураков, 2012). Добавление *T. asperellum* или препарата «Триходермин-М» (в дозе  $10^6$  КОЕ / кг) в смесь исходных субстратов повышало накопление биомассы и скорость формирования половозрелых особей *E. fetida*, ускоряло минерализацию органических соединений и содержание неорганических форм азота. Численность популяции триходермы при этом сохранялась на высоком уровне, что соответствует представлениям о том, что эти грибы являются одними из характерных для пищеварительного тракта червей и активно развиваются в свежих копролитах червей. Биомасса дождевых червей в контроле возрастала за 42 суток на 28 %, при инокуляции *T. asperellum* — на 43 % и Триходермина-М — на 45 %. Доля половозрелых особей в популяции *E. fetida* была также выше при добавке *T. asperellum* или Триходермина-М субстраты для вермикомпостирования, чем в контрольном варианте. Уже через 14 суток их доля достигала половины от общей численности, а в контроле в течение всего опыта составляла 31 – 40 %. При добавке *T. asperellum* и биопрепарата количество коконов, отложенных дождевыми червями, за период вермикомпостирования возросло на 15 – 25 %.

Полученные данные указывают на перспективность работ в этом направлении для оптимизации условий вермикомпостирования различных отходов.

### **Заключение**

Взаимодействия дождевых червей и грибов имеют принципиальное значение для наземных экосистем. Дождевые черви, перемешивая и пропуская через пищеварительный тракт минеральные частицы почвы и растительный опад, повышая порозность, улучшая агрегатную структуру, повышают доступность субстратов для обитателей почвы, т.е. для редуцентов (в первую очередь для грибов как ведущей их группы). Тем самым

черви обеспечивают ускорение процессов разложения органических веществ, что признается со времен классических работ Ч. Дарвина. Проведенные оценки деятельности червей показали грандиозность ее масштабов по «обработке» почвы, «запашке» органических субстратов, то есть, по сути, «культивированию» почвообитающих сапротрофных грибов, как источника питания. И это не удивительно, грибная биомасса доминирующий компонент во многих почвах, особенно под естественными фитоденозами. Экспериментально показано, что после снижения физиологической и биохимической активности, уменьшения биомассы грибов в пищеварительном тракте червей происходит резкий всплеск роста мицелия и процессов деструкции органических субстратов в свежих копролитах.

Анализ имеющихся данных позволяет полагать, что благодаря деятельности дождевых червей создается и поддерживается высокое разнообразие микроорганизмов (грибов в частности) в почвенных экосистемах. Это обусловлено не только возникновением принципиально новых довольно динамичных местообитаний в почвах (копролитных агрегатов, дрилосферы). Они, таким образом, постоянно запускают в многочисленных локусах почвы несколько различные сукцессии грибов и других организмов по освоению выделяемых ими органических субстратов.

Существенными факторами являются также распространение ими грибных пропагул в почвах, улучшение развития определенных видов (например, микоризных грибов при повышении в присутствии червей микотрофности растений), оптимизация таких важных параметров для грибов, как аэрированность и увлажненность почв, участие в удалении токсичных веществ из почв и снижении поражения корней грибами инфекциями, что требует дальнейшего изучения.

Расселение грибов дождевыми червями должно играть в почвах пионерных растительных ценозов и нарушенных почвах. Но, видимо, важнейший ключевой механизм — это воздействия дождевых червей (в первую очередь трофические) на грибы при прохождении почвы и растительных субстратов через их пищеварительный тракт. При этом важна как избирательность червей в питании определенными видами грибов, но главное значение имеет снижение ими плотности популяций доминирующих видов, повышение выровненности обилия видов в грибных сообществах, что и поддерживает в них высокое разнообразие грибов в сформировавшихся почвах. Причем как свидетельствуют имеющиеся данные, такой «прессинг» дождевые черви оказывают преимущественно на быстрорастущие, обильно спороносящие виды, развивающиеся на растительных субстратах.

Грибы способны оказывать существенный эффект на развитие червей, что предстоит исследовать более детально для природных условий, и

продемонстрировано на примерах грибных инокулятах при вермикультуре.

Актуальным остается выявление видов грибов, тесно ассоциированных с пищеварительным трактом дождевых червей и их взаимоотношений с ними.

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФИ № 14-04-01423а. Часть работы, связанная с изучением физиолого-биохимических свойств микромицетов, выполнена при поддержке гранта РНФ № 14-50-00029 (Кураков А.В.).

### Литература

- Бызов Б.А. (2005) Зоомикробные взаимодействия в почве. Изд-во ГЕОС. М.
- Бызов Б.А., Нечитайло Т.Ю., Бумажкин Б.К., Кураков А.В., Гольшин П.Н., Звягинцев Д.Г. (2009) Культивируемые микроорганизмы пищеварительного тракта дождевых червей. Микробиология. Т. 78, № 2: 1 – 10.
- Горленко М.В., Кожевин П.А. (2005) Мультисубстратное тестирование природных микробных сообществ. М.: Макс Пресс.
- Ищенко И.А., Марфенина О.Е., Василенко А.Н. (1994) Сукцессии микроскопических грибов при переработке субстратов дождевыми червями. Микол. фитопат. Т. 28. Вып. 6: 61 – 69.
- Кураков А.В., Харин С.А. (2012) Формирование водопрочных копролитных агрегатов в дерново-подзолистых почвах и участие в этом процессе грибов. Почвоведение № 4: 60 – 66.
- Марфенина О.Е., Ищенко И.А. (1997) Избирательность дождевых червей по отношению к почвенным микроскопическим грибам. Известия РАН, Сер. Биологическая, № 4: 504 – 506.
- Ву Нгуен Тхань (1993) Судьба дрожжей в ассоциациях с почвенными беспозвоночными. Автореф. дисс. канд. биол. наук. М.: Изд-во МГУ.
- Покаржевский А.Д., Сикора И., Гордиенко С.А. (1984) Ресурсы аминокислот в пище сапрофагов. Доклады АН СССР, Т. 277, № 1: 253 – 256.
- Садькова В.С., Кураков А.В. (2013) Перспективы использования штаммов рода *Trichoderma* для получения вермикомпостов с фунгицидными и рост стимулирующими свойствами. Доклады РАСХН, № 2: 37 – 40.
- Стриганова Б.Р. (1980) Питание почвенных сапрофагов. М.: Наука, 1980.
- Стриганова Б.Р., Марфенина О.Е., Пономаренко В.А. (1988) Некоторые новые аспекты влияния дождевых червей на почвенные грибы. Известия АН СССР, Сер. биология, № 5: 715 – 719.
- Тиунов А.В., Добровольская Т.Г., Полянская Л.М. (2001) Микробные комплексы в стенках жилых и покинутых нор дождевых червей *Lumbricus terrestris* L. в дерново-подзолистой почве. Почвоведение, № 5: 594 – 599.
- Тиунов А.В. (2007) Метабиоз в почвенной системе: влияние дождевых червей на структуру и функционирование почвенной биоты. Автореф. дисс. докт. биол. наук. М.: Институт проблем экологии и эволюции РАН.
- Уголев А.М. (1985) Эволюция пищеварения и принципы эволюции функций. Л.: Наука.

- Умаров М.М., Стриганова Б.Р., Костина Н.В. (2008) Особенности трансформации азота в кишечнике и копролитах дождевых червей. Известия РАН, Сер. биологическая. 6: 746 – 756.
- Хомьяков Н.В., Харин С.А., Нечитайло Т.Ю., Гольшин П.Н., Кураков А.В., Бызов Б.А., Звягинцев Д.Г. (2007) Реакция микроорганизмов на воздействие пищеварительной жидкости дождевых червей. Микробиология. 76: 55 – 65.
- Харин С.А., Кураков А. В. (2014) Характеристика физиологического состояния грибов по расписанию появления колоний на твердых средах. Микробиология, 83 (1): 83 – 89.
- Харин С.А., Кураков А.В. (2009) Трансформация азота и динамика микробной биомассы в свежих копролитах *Aporrectodea caliginosa*. Почвоведение. 42 (1): 75 – 81.
- Якушев А.В., Бызов Б.А. (2008) Микробиологическая характеристика вермикомпостирования методом мультисубстратного тестирования. Почвоведение, 11: 98 – 104.
- Anderson J.M. (2000) Food web functioning and ecosystems processes: problems and perception of scaling. Invertebrates as Webmasters in Ecosystems. Eds. D.C. Coleman and P.F. Hendrix, CABI Publishing: 3 – 24.
- Beare M.H., S. Hu, D.C. Coleman, Hendrix P.F. (1997) Influence.s of mycelial fungi on soil aggregation and organic matter storage in conventional and no-tillage soils. Appl. Soil Ecol. 5: 211 – 219.
- Bruehl GW (1987) Soilborne plant pathogens. MacMillan Publishing Company, New York, USA.
- Binet F, Fayolle L, Pussard M, Crawford JJ, Traina SJ. (1998) Significance of earthworms in stimulating soil microbial activity. Biol. Fertil. Soils, 27: 79 – 84.
- Bonkowski M., Griffiths B.S., Ritz K. (2000) Food preference of earthworms for soil fungi. Pedobiologia 44: 666 – 676.
- Bouche M.B. (1975) Action de la faune du sol sur les etats de la matiere organique dans les ecosystems. Humification et biodegradation, Eds. G. Kilbertus et al., Pierron, 157 – 168.
- Brown G. G. (1995) How do earthworms affect microfloral and faunal community diversity? Plant Soil, 170 (1): 209 – 231.
- Byzov B.A., Kurakov A.V., Tretyakova E.B., Vu Nguyen Thanh, Nguyen Duc To Luu and Rabinovich Ya.M. (1998) Principles of the digestion of microorganisms in the gut of soil millipedes: specificity and possible mechanisms. Appl. Soil Ecol. 9: 145 – 151.
- Byzov B.A., Vu Nguyen Thanh, Bab'eva I.P., Tretyakova E.B., Dyvak I.A. and Rabinovich Ya. M. (1998) Killing and hydrolytic activities of the gut fluid of the millipede *Pachyiulus flavipes* C.L. Koch on yeast cells. Soil Biol. Biochem. 30 (8 / 9): 1137 – 1145.
- Byzov B.A., Khomyakov N.V. (2004) The microbicidal activity of the earthworm gut extracts. Abstr. XIV Intern. Colloquium on Soil Zoology and Ecology, Univ. Rouen – Mont Saint Aignan, France. P. 120.
- Byzov B.A., Khomyakov N.V., Kharin S.A., Kurakov A.V. (2007) Fate of soil bacteria and fungi in the gut of earthworms. Eur. J. Soil Biol. 43: 149 – 156.
- Cooke A. (1983) The effects of fungi on food selection by *Lumbricus terrestris* L. Earthworm Ecol., Eds J.E. Satchell., London: Chapman and Hall, P. 365 – 373.

- Dash M.C., Mishra P.C., Behera N. (1979) Fungal feeding by a tropical earthworm. *Trop. Ecol.* 20: 9 – 12.
- Dash N.K., Behera N., Dash M.C. (1986) Gut load, transit time, gut microflora and turnover of soil, plant and fungal material by some tropical earthworms., *Pedobiologia*, 29: 13 – 20.
- Davidson S.K., Stahl D.A. (2008) Selective recruitment of bacteria during embryogenesis of an earthworm., *ISMEJ* 3: 510 – 518.
- Davidson S.K., Powell R.J. Stahl D.A. (1020) Transmission of a bacterial consortium in *Eisenia fetida* egg capsules., *Environ. Microbiol.* 12: 2277 – 2288.
- Drake H.L., Horn M.A. (2007) As the worms turns: the earthworm gut as a transient habitat for soil microbial biomes., *Ann. Rev. Microbiol.* 61: 169 – 189.
- Devlieghe W., Verstraete W. (1995) *Lumbricus terrestris* in a soil core experiment: nutrient-enrichment processes (NEP) and gut-associated processes (GAP) and their effect on microbial biomass and microbial activity., *Soil Biol. Biochem.* 27: 1573 – 1580.
- Edwards C.A., Fletcher K.E. (1988) Interactions between earthworms and microorganisms in organic matter breakdown., *Agricult. Ecosyst. Environ.* 24 (1 – 3): 235 – 247.
- Edwards C.A., Lofty J.R. (1977) *Biology of Earthworms.*, London: Chapman & Hall.
- Fischer K., Hahn D., Amann R.I., Daniel O., Zeyer J. In situ-analysis of the bacterial community in the gut of the earthworm *Lumbricus terrestris* L. by whole-cell hybridization., *Can. J. Microbiol.*, 41: 666 – 673.
- Fitter A.H., Garbaye J. (1994) Interactions between mycorrhizal fungi and other soil organisms., *Plant Soil* 159: 23 – 132.
- Garland J.L., Mills A.L. (1991) Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community level sole-carbon-source utilization., *Appl. Environ. Microbiol.*, 57: 2351 – 2359.
- Gange A.C. (1993) Translocation of mycorrhizal fungi by earthworms during early succession., *Soil Biol. Biochem.*, 25: 1021 – 1026.
- Govindarajan B and Prabakaran V. (2014) Gut micro-flora of earthworms: a review. *Am. J. Biol. Pharm. Res.*, 1 (3): 125 – 130.
- Hattori T. (1982) Analysis of plate count data of bacteria in natural environments., *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 28 (6): 13 – 22.
- Jayasinghe B.D., Parkinson D. (2009) Earthworms as the vectors of actinomycetes antagonistic to litter decomposer fungi., *Appl. Soil Ecol.*, 43 (1): 1 – 10.
- Jones C.G., Lawton J.H., Shachak M. (1997) Positive and negative effects of organisms as physical ecosystem engineers., *Ecology* 78: 1946 – 1957.
- Ishikuri S., Hattori T. (1985) Formation of bacterial colonies in successive time intervals., *Appl. Environ. Microbiol.*, 49 (4): 870 – 873.
- Lattaud C., Zhang B.G., Locati S., Rouland C., Lavelle P. Activities of the digestive enzymes in the gut and in tissue culture of a tropical geophagous earthworm, *Polypheretima elongata* (Megascolecidae)., *Soil Biol. Biochem.* 29 (3 – 4): 335 – 339.
- Lattaud C., Locati S., Moira P., Rouland C., Lavelle P. (1998) The diversity of digestive systems in tropical geophagous earthworms., *Appl. Soil Ecol.* 9 (1 – 3): 193 – 199.
- Lavelle P., Spain A.V. (2001) *Soil Ecology.*, Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.

- Lawrence B., Fisk M.C., Fahey T.J., Suarez E.R. (2003) Influence of nonnative earthworms on mycorrhizal colonization of sugar maple (*Acer saccharum*)., *New Phytol.* 157: 145 – 157.
- Lee K.E. (1985) Earthworms: their ecology and relationships with soils and land use., Sydney: Academic Press.
- Lee K.K. , M.V. Reddy, S.P. Wani, Trimurtulu N. (1996) Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in earthworm casts and surrounding soil in relation to soil management of a semi-arid tropical Alfisol., *Appl. Soil Ecol.*, 3 (2): 177 – 181.
- Makeschin F. (1997) Earthworms (Lumbricidae: Oligochaeta): Important promoters of soil development and soil fertility., *Fauna in soil ecosystems. Recycling processes, nutrient fluxes and agricultural production.*, Ed. G. Benckiser, New York: Marcel Dekker, 173 – 223.
- McLean M.A., Parkinson D. (2000) Field evidence of the effects of the epigeic earthworm *Dendrobaena octaedra* on the microfungal community in pine forest floor., *Soil Biol. Biochem.* 32: 351 – 360.
- Montecchio L., L. Scattolin, A. Squartini, Butt K.R. (2015) Potential spread of forest soil-borne fungi through earthworm consumption and casting., *Forest Biogeosci. Forestry* 8: 295 – 301.
- Moody S.A., Briones M.J.I., Pearce, T.G., Dighton J. (1995) Selective consumption of decomposing wheat straw by earthworms., *Soil Biol. Biochem.* 27: 1209 – 1213.
- Moody S.A., Pearce, T.G., Dighton J. (1996) Fate of some fungal spores associated with wheat straw decomposition on passage through the guts of *Lumbricus terrestris* and *Aporrectodea longa*., *Soil Biol. Biochem.* 28: 533 – 537.
- Morgan M., Burrows I. (1982) Earthworms / Microorganisms interaction., Rothamsted Experimental Station, USA.
- Parle J.N. (1963) A microbial study of earthworm casts., *J. Gen. Microbiol.* 31: 13 – 22.
- Parthasarathi K., L.S.Ranganathan, V.Anandi, Zeyer J. (2007) Diversity of microflora in the gut and casts of tropical composting earthworms reared on different substrates., *J. Environ. Biol.*, 28 (1): 87 – 97.
- Patron J.C., Sanchez P., Brown G.G., Brossard M., Barois I., Gutierrez C. (1999) Phosphorus in soil and *Brachiaria decumbens* plants as affected by the geophagous earthworm *Pontoscolex corethrurus* and *P. fertilization*., *Pedobiologia* 43: 547 – 556.
- Pattinson G.S., Smith S.E., Doube B. (1997) Earthworm *Aporrectodea trapezoides* had no effect on the dispersal of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi, *Glomus intraradices*., *Soil Biol. Biochem.* 29: 1079 – 1088.
- Pinel N., Davidson S.K., Stahl D.A. (2008) *Verminephrobacter eiseniae* gen. nov., sp. Nov., a nephridial symbiont of the earthworm *Eisenia foetida* (savigny)., *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 58: 2147 – 2157.
- Prat P., Charrier M., Deleporte S., Frenot Y. (2002) Digestive carbohydrases in two epigeic earthworm species of the Kerguelen Islands (Subantarctic)., *Pedobiologia* 46 (5): 417 – 427.
- Reddell P., Spain A.V. (1991) Earthworms as vectors of viable propagules of mycorrhizal fungi., *Soil Biol. Biochem.* 23: 767 – 774.
- Sampedro L., Jeannotte R., Whalen J.K. (2006) Trophic transfer of fatty acids from gut microbiota to the earthworm *Lumbricus terrestris* L., *Soil Biol. Biochem.* 38: 2188 – 2198.

- Satchell J.E. (1983) Earthworm microbiology., Earthworm ecology from Darwin to vermiculture. London, New-York: 351 – 364.
- Shweta Ms. (2012) Cellulolysis: A transient property of earthworm or symbiotic / ingested microorganisms? Intern. J. Sci. Res. Publ. 2 (11): 1 – 7.
- Schönholzer F., Hanh D., Zeyer J. (1999) Origins and fate of fungi and bacteria in the gut of *Lumbricus terrestris* L. studied by image analysis. FEMS Microbial Ecol. 28 (3): 235 – 248.
- Thakuria D, Olaf Schmidt, Dillon Finan, Damian Egan, Fiona M Doohan. (2010) Gut wall bacteria of earthworms, a natural selection process. ISMEJ 4: 357 – 366.
- Tillinghast E. K., Donnell R.O., et al. (2001) Water-soluble luminal contents of the gut of the earthworm *Lumbricus terrestris* L. and their physiological significance. Comp. Biochem. Physiol. B. 129 (2 – 3): 345 – 53.
- Tiunov A., Scheu S. (1999) Microbial respiration, biomass and nutrient status in burrow walls of *Lumbricus terrestris* L. (Lumbricidae). Soil Biol. Biochem. 31: 2039 – 2048.
- Tiunov A.V., Scheu S. (2000) Microfungal communities in soil, litter and casts of *Lumbricus terrestris* L.: a laboratory experiment. Appl. Soil Ecol. 14: 17 – 26.
- Tiunov A.V., Scheu S. (2000) Microbial biomass, biovolume and respiration in *Lumbricus terrestris* L. cast material of different age. Soil Biol. Biochem. 32: 265 – 276.
- Tiunov A.V., Scheu S. (2004) Carbon availability controls the growth of detritivores (Lumbricidae) and their effect on nitrogen mineralization. Oecologia. 138: 83 – 90.
- Trigo D., Lavelle P. (1993) Changes in respiration rate and some physicochemical properties of soil during gut transit through *Allolobophora molleri* (Lumbricidae, Oligochaeta). Biol. Fertil. Soils. 15 (3): 185 – 188.
- Wolfarth F., Schrader S., Oldenburg E., Weinert J., Brunotte J. (2011) Earthworms promote the reduction of *Fusarium* biomass and deoxynivalenol content in wheat straw under field conditions. Soil Biol. Biochem. 43: 1858 – 1865
- Zaller J.G., F. Sacconi, T. Frank (2011) Effects of earthworms and mycorrhizal fungi on the growth of the medicinal herb *Calendula officinalis* (Asteraceae). Plant Soil Environ. 57 (11): 499 – 504.
- Zirbes L., Thonart P., Wathelet J.-P., Haubruge E. (2010) Interaction between earthworms and soil fungi: volatiles attraction. 9 Intern. Symp. Earthworm Ecol., 5 – 10 Sept. 2010, Mexico, Xalapa, p.163.
- Wurst S., Dugassa-Gobena D., Langel R., Bonkowski M., Scheu S. (2004) Combined effects of earthworms and vesicular-arbuscular mycorrhizas on plant and aphid performance. New Phytol. 163: 169 – 173.
- Ydrogo H.F.B. (1994) Efecto de las lombrices de tierra (*Pontoscolex corethrurus*) en las micorrizas vesículo arbusculares (M.V.A.) en la etapa de crecimiento de araza (*Eugenia stipitata*), achote (*Bixa orellana*), pijuayo (*Bactris gasipaes*), en suelos ultisoles de Yurimaguas. Thesis, Univ. Nac. San Martín, Peru, P. 34.
- Yurkov A., Tiunov A. (2004) Metabiotic activity of earthworms affects patterns of microbial succession in plant litter. Abstr. XIV Intern. Colloquium Soil Zool. Ecol. Univ. Rouen – Mont Saint Aignan, France P. 147.

[www.ct.gov/caes/lib/caes/](http://www.ct.gov/caes/lib/caes/)

# ТРОФИЧЕСКИЕ ГРУППЫ ФИТОПАТОГЕНОВ: МЕХАНИЗМЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ И КОЭВОЛЮЦИЯ С ХОЗЯЕВАМИ

**Максимов И.В., Яруллина Л.Г.**

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки  
Институт биохимии и генетики Уфимского научного центра РАН,  
Уфа, пр. Октября 71  
maksimov@ufaras.ru*

Функционирование и устойчивость Жизни на Земле предполагает постоянное взаимодействие между автотрофными (зелеными растениями) и гетеротрофными (другими) организмами. За миллионы лет совместной эволюции растения и гетеротрофные организмы приобрели всевозможные способы сосуществования, что предполагает наличие у растений определенных механизмов, препятствующих их полному уничтожению, а у гетеротрофов — способов «отъёма» определенной доли синтезированного растениями органического вещества.

Особое место среди гетеротрофов занимают грибы. В отличие от животных, у грибов ферментативный аппарат настроен на разложение наряду с белками, органического вещества полисахаридной природы. Соответственно большая часть грибного царства эволюционировала на усвоение органического вещества именно растительного происхождения. Тесная связь грибного царства с растительным установилась на самых ранних этапах эволюции партнеров и даже привела к формированию таких надорганизменных структур, как лишайники и микоризы, где клетки водорослей и растений или их органы, например корни, находятся в тесных симбиотических отношениях со структурами грибов. По отдельности организмы этих симбиотических систем не могут существовать. По одной из гипотез, в освоении земного пространства растения обязаны грибам, которые помогали им не только питаться, но и способствовали прикреплению к субстрату, а также защищали от неблагоприятных условий среды. Грибы представляют наиболее разнообразные популяции, которые отвечают за разложение органических веществ, круговорот питательных веществ, минерализацию, деградацию загрязняющих веществ и т.д., таким образом, поддерживая жизнедеятельность растений.

Следующая особенность организмов грибного царства заключается в том, что в отличие от животных у них отсутствует специализированная пищеварительная система. Грибы выделяют гидролазы в окружающую

среду и, уже потом, вбирают продукты гидролиза — растительные углеводы и аминокислоты, вместе с другими веществами, в свое тело — мицелий, активно участвуя в разложении органического вещества.

Наряду с безусловно полезной функцией — утилизацией органических отходов, грибы являются основными патогенами растений и наносят значительный урон урожайности культурных растений. Подсчитано, например, что из всех возбудителей болезней культурных растений более 80 % вызываются грибами. Причем способы паразитирования грибов на растениях оказались столь разнообразными, что приходится только удивляться устойчивости фитоиммунной системы, направленной на ограничение развития патогенов. Механизмы устойчивости растений связаны с формированием вокруг патогена эшелонированной защиты механической и химической природы, часть которой функционирует конститутивно, а часть индуцируется различного рода сигнальными молекулами, такими как салициловая (СК) и жасмоновая (ЖАК) кислоты, элиситоры патогенов, а также эндофитными регулирующими рост растений бактериями, и находится в постоянном «режиме ожидания», названном термином праймирование. Феномен праймирования заключается в приобретении растительными клетками повышенной чувствительности к воздействию чужеродных веществ и характеризуется более быстрой и сильной активацией клеточных механизмов защиты растения при атаке патогенами или насекомыми и может длиться довольно долго, что приводит к повышению устойчивости растений (Conrath et al., 2006; Pastor et al., 2013).

### **1. Типы паразитирования возбудителей болезней**

Как известно, биологическая специализация вредных видов имеет наследственную природу. Организмы заселяют те растения, поражают те ткани, которые содержат необходимые питательные вещества и обеспечивают рост и развитие патогена или фитофага. Растительные организмы проявляют большую изменчивость и приспособляемость к изменяющимся внешним условиям, в том числе приспосабливаются к различным питательным субстратам.

К патогенам относятся микроорганизмы, которые полностью или частично питаются веществом живых клеток и, соответственно, наносят вред растительному организму. В настоящее время на примере видов, находящихся в стадии перехода к паразитическому образу жизни, а также специализированных родов и видов (например, рода *Phytophthora*) убедительно показано, что эволюция паразитизма шла от форм микроорганизмов, ведущих сапротрофный образ жизни, т.е. питательным субстратом для которых является органическое вещество мертвых клеток (организмов). Такие сапротрофы могут существовать и на поверхности

надземных или подземных органов растений, не причиняя им вред, или даже могут быть полезными, например, ризосферные и филлосферные бактерии, грибы (Дьяков и др., 2010). При переходе к паразитическому образу жизни патогены должны приобрести два важных качества: 1) преодолевать неспецифический видовой иммунитет растений, 2) адаптироваться к обмену веществ соответствующего рода, семейства и вида растений, то есть специализироваться.

По поводу способов паразитирования давно было замечено и обобщено в трудах академика Н.И. Вавилова (1918), что «огромное большинство видов паразитических грибов строго специализировано в своем паразитизме по растениям-хозяевам и приурочено к определенным видам, родам и семействам; каждому роду растений, как правило, свойственен больший или меньший ряд видов грибов, исключительно паразитирующих на представителях данного вида растений». То есть патогены характеризуются строгой специализацией к паразитированию на определенных растениях, где в ходе эволюционного взаимодействия они смогли подобрать наиболее «удачные» ключи к иммунной системе конкретного хозяина.

Факультативные паразиты (некротрофы) обычно живут как сапротрофы, но при определенных условиях способны проникать внутрь живых тканей. Питаются они за счет клеток растений, предварительно убитых токсинами патогена. Действие токсинов на растительные ткани вызывает патологические нарушения. Некротрофы обычно имеют более узкий круг растений-хозяев, чем сапрофиты, и в основном поражают ослабленные растения. Типичными представителями этой группы патогенов являются грибы родов *Helminthosporium* (синоним *Bipolaris*), *Alternaria*, *Botrytis*, *Sclerotinia* и *Fusarium* (Tudzynski, Kokkelinink, 2009; Manamgoda et al., 2014; Matny, 2015).

Наиболее важными свойствами некротрофов можно считать их способность:

1. Проникать в ткани растений предварительно убивая клетки и формируя различного рода некрозы;
2. Питаться за счет ресурсов убитых клеток;
3. Выделять вредные для хозяина токсины;
4. Адаптироваться под особенности физиологии хозяина не требуется;
5. Секретировать широкий спектр гидролитических ферментов, разрушающих органическое вещество растений;
6. Существовать самостоятельно, вне тканей растения и легко культивироваться в лабораторных условиях.

Некротрофы поражают проростки и взрослые растения многих культур. Как правило, интенсивное заражение происходит патогеном через поврежденные или обезвоженные клетки корней, однако, инфекционные гифы могут проникать и через неповрежденные ткани. Они способны к

выработке гидролитических ферментов и фитотоксинов, что обуславливает их патогенные свойства. Правда в последнее время стали поступать сведения, что даже у этих грибов существует, пусть и короткая, но биотрофная фаза, когда еще клетки растений живы, а гриб уже распространился по прилежащему к зоне инфицирования пространству. Поражению некротрофами подвергаются ослабленные растения, но в то же время, хотя их специализация не очень высокая, токсины, вырабатываемые ими, проявляют специфичность к отдельным видам и даже сортам сельскохозяйственных культур.

Промежуточной формой эволюции в царстве грибов являются гемибиотрофы (полупаразиты или факультативные сапротрофы), которые могут вести паразитический биотрофный образ жизни, но в определённых условиях могут питаться и мёртвом органическим субстратом. Они поражают живые ткани, но выживают и после отмирания хозяина, сохраняясь на растительных остатках определенное время. Эта группа является довольно распространенной. Некоторые из них специализировались до такой степени, что на биотрофной фазе развития могут интенсивно размножаться бесполовыми конидиями, а половая стадия размножения происходит исключительно на отмерших тканях хозяина, например, как у возбудителя парши яблони *Venturia inaequalis*.

Наиболее важными способностями гемибиотрофов являются:

1. Способность проникать в ткани растений, предпочитая обход защитные образования (например, через поры, устьица или механические поранения);
2. Локализация в тканях растения по типу эндопаразитизма;
3. Добывать питание из растительной клетки в основном с помощью специфических образований — гаусторий, но могут обходиться и без этого;
4. Адаптироваться под особенности физиологии хозяина и зависеть от них;
5. На начальных этапах патогенеза не причинять летального повреждения клеткам растений, но впоследствии, на стадии споруляции, убивать их;
6. Выделять вредные для хозяина специфические токсины, но при этом длительно сохранять клетки хозяина в активно функционирующем состоянии за счет выработки различных соединений, подобных фитогормонам и ингибиторам ферментов;
7. Специализация к паразитированию на отдельных родах, видах;
8. Способность отключать компоненты иммунной системы растений путем выработки различных эффекторов;
9. Существовать определенное время самостоятельно и культивироваться в лабораторных условиях на специфических питательных средах;

10. Терять вирулентность при долговременном существовании в отсутствие хозяина.

Типичным гембиотрофом можно считать возбудителя септориоза пшеницы гриба *Septoria nodorum* Berk. Обнаруженные в живых клетках растения гифы *S. nodorum* говорят о наличии биотрофии, а выработка токсинов, свидетельствует о его некротрофности. Этот патоген поражает проростки и взрослые растения пшеницы. Визуальным проявлением поражения является появление коричневых или бурых мелких пятен на поверхности различных органов пораженных растений. Гриб *S. nodorum* способен продуцировать в культуре, а также в инфицированных тканях пшеницы ауксины, ферменты, разрушающие клеточные стенки хозяина: полигалактуроназу, ксиланазу и целлюлазу, которые могут обеспечивать непосредственное проникновение патогена в клетки хозяина.

Вершиной эволюционного развития патогенов можно считать облигатных паразитов (биотрофов). В научной литературе накоплен значительный фактический материал по их этиологии, распространенности и вредоносности. Они полностью утратили способность к сапрофитному питанию и могут расти и развиваться в естественных условиях только на живых растениях.

Наиболее типичными отличиями этой группы патогенов являются:

1. Проникновение в ткани растений, минуя (обходя) защитные образования (через поры, например устьица);

2. Определенная локализация в тканях растений. Условно их делятся на экто- и эндопаразитов:

Эктопаразиты распространяются по растению, внедряя в клетки хозяина только гаустории. Спороношение их происходит на поверхности растения. Эндопаразиты тоже выносят свои органы спороношения наружу, проходя через устьица или прорывая растительные ткани, но таллом их остается внутри хозяина (в межклетниках, клеточных стенках, внутри клеток);

3. Извлечение питательных веществ из живой растительной клетки с помощью специфических образований — гаусторий;

4. Наличие ограниченного набора гидролаз для разрушения биополимеров хозяина;

5. Не причинение летального повреждения клеткам растений;

6. Способность длительно сохранять клетки хозяина в активно функционирующем состоянии;

7. Регуляция физиологических процессов растения-хозяина путем выработки различных соединений, подобных фитогормонам, ингибиторам ферментов;

8. Способность отключать компоненты защитной системы растений, вырабатывая эффекторы;

9. Адаптация под особенности физиологии хозяина;

10. Узкая специализация к паразитированию на отдельных видах и даже на отдельных сортах и линиях растений;

11. Не могут существовать вне растения, не культивируются (плохо культивируются) в лабораторных условиях.

К типичным представителям биотрофов можно отнести например, возбудителей килы крестоцветных — *Plasmiodiophora brassicae*, ложной (*Pseudoperonospora*) и настоящей (*Erysiphe*) мучнистых рос, ржавчины (*Puccinia*), головни (*Ustilago, Tilletia*).

Нередко, на ранних этапах биотрофного патогенеза имеет место «обман» рецепторной системы хозяина и стимуляция определенных физиологических процессов растения-хозяина для полного жизнеобеспечения патогена. Многие авторы указывают на значительные изменения в балансе гормонов в тканях растений при заражении их биотрофами.

Разделение патогенов на группы условно, между ними существуют промежуточные формы, однако по мере продвижения в направлении паразитизма усиливается ряд признаков:

— степень специализации к видам растений (от полифагии к монофагии);

— длительность паразитических стадий в цикле жизни патогена;

— зависимость от растения-хозяина;

— требовательность к условиям питания;

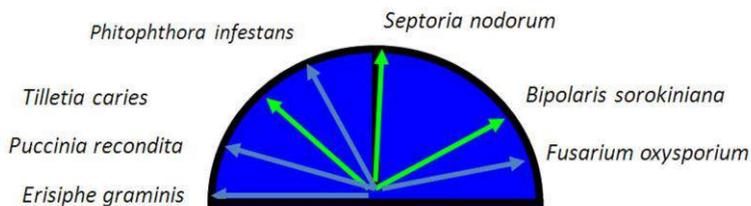
— способность проникать в ткань, не повреждая ее;

— способность поражать активно развивающиеся растения.

Для различия патогенов по трофности и упрощения конкретной классификации, используют соотношение скоростей гибели зараженной ткани (некроза) и развития паразита в растении. Это наглядно демонстрирует представленная на рис. 1 схема, где видно, что если некроз опережает распространение паразита, следовательно, тип питания некротрофный, если же распространение паразита опережает некроз, — питание биотрофное. Все же в основе этих закономерностей трофности патогенов лежат сложившиеся в процессе эволюции их взаимодействия с растениями-хозяевами. Конечный исход такого взаимодействия зависит от агрессивности патогена и защитных свойств растения. Тип питания (трофность) создает трудности с их аксеническим культивированием в отсутствие хозяина. Если с сапротрофами и с большинством некротрофов вопроса о сохранении их физиологических свойств при выращивании в культуре *in vitro* не возникает, то с гемибiotрофами потеря вирулентности при культивировании в такой культуре обычное явление. Более сложная схема, учитывающая еще и симбиотрофные формы патогенов, способ питания которых, по сути, имеет особенности биотрофии, с

поправкой, что в этом случае они приносят определенную «пользу» своему хозяину, приведена в работе Newton с сотр. 2010 (рис. 2).

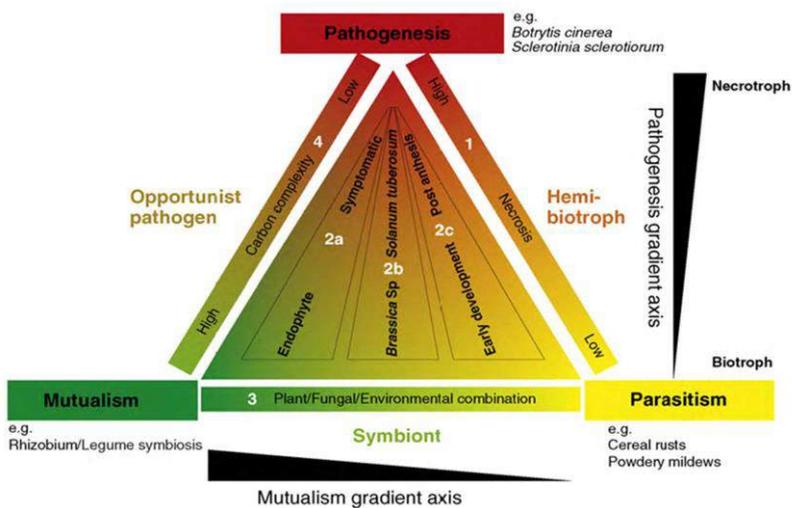
Гембиотрофы – мицелий гриба растет в живых тканях растения, но формирование спор происходит в убитых.



Биотрофы – рост и развитие гриба происходит в живых тканях растения.

Некротрофы – рост и развитие гриба происходит в тканях растения, убитых токсинами патогена.

Рис. 1. Схематичное распределение патогенов различной трофности.



TRENDS in Microbiology

Рис. 2. Схематичное распределение патогенов различной трофности согласно Newton et al., 2010 (с любезного разрешения автора).

Специализация позволяет патогену развиваться на растениях соответствующего вида. Однако в процессе эволюции в популяциях растений-хозяев возникают мутации по генам устойчивости, в результате чего

возникают устойчивые к патогену формы растений. Такие растения перестают поражаться болезнями, становятся более жизнеспособными и продуктивными и начинают накапливаться в популяции, ограничивая развитие патогена.

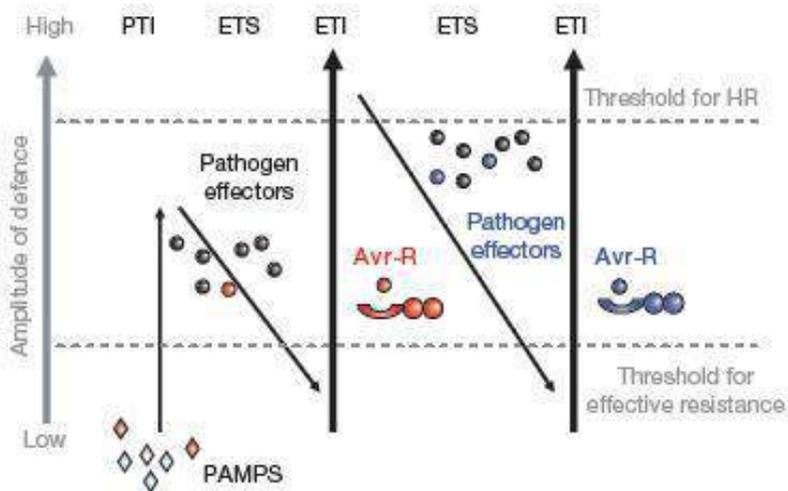
В ответ на появление устойчивых форм растений у паразита начинают отбираться гены, позволяющие преодолевать гены устойчивости (гены вирулентности), и накапливаются мутантные формы, способные преодолевать механизмы иммунитета и поражать формы устойчивых растений. Этот процесс тесно связанной эволюции растений и патогенных организмов называется сопряженной эволюцией и четко сформулирован Н.И. Вавиловым (1918). Исследования последних лет доказали что в результате сопряженной эволюции у хозяина и его паразита возникают комплементарные (соответствующие друг другу) пары генов: ген устойчивости растения и преодолевающий его ген (ген вирулентности) паразита. Особо следует заметить, что такие пары генов в связи с активным развитием таких направлений биологической науки как молекулярная биология и протеомика активно открываются и их функционирование часто преподносит различного рода сюрпризы.

## **2. Сигнальная регуляция защитного ответа растений**

В естественной среде обитания растения постоянно подвергаются воздействию множества организмов-фитофагов, поэтому они нуждаются в регуляторных механизмах для эффективной защиты. Причем, защита может быть эффективной только в том случае, если растение сможет вовремя распознать патоген. Причем, следует заметить, что индуцируемые защитные против некротрофов не всегда эффективны против биотрофов.

На рис. 3 представлена классическая схема взаимодействия защитных систем растения и эффекторов патогенов в виде теории «зиг-заг» (Jones, Dangl, 2006), элементы которой были сформулированы применительно к популяциям еще в начале XX века Н.И. Вавиловым как процесс тесно связанной эволюции растения-хозяина и патогена. Распознавание любых патогенов растением осуществляется через специальные вещества, т.н. элиситоры или патоген-ассоциированные молекулярные структуры (pathogen-associated molecular patterns, PAMP), такие как флагелин, хитин, липополисахариды (рис. 3). Элиситоры активируют структурно распознающий рецептор (pattern recognition receptors — PRRs), который инициирует различные сигналы в растениях и приводит к развитию первичной устойчивости — PTI (PAMP-triggered immunity) (Jones, Dangl, 2006). Однако патоген может подавить PTI с помощью эффекторов, которые транспортируются в клетку растения-хозяина, повышая вирулентность возбудителя. Таким образом, развивается ETS (effector-triggered suscepti-

bility) — восприимчивость, связанная с эффекторами. Эффекторными молекулами могут быть белки гаусторий и низкомолекулярные соединения, такие как коронатин, имитирующий действие ЖАК, и даже соединения гормональной природы — ауксины, цитокинины (ЦК) и абсцизовая кислота (АБК). Взаимодействие между РТИ и гормональным сигналом растений и влиянием на них эффекторов только начинает изучаться и предстоит еще разгадать.



**Рис. 3.** Модель «зиг-заг» взаимодействия иммунной системы растений с эффекторами патогена (Jones, Dangl, 2006).

Эффекторы (элиситоры) распознаются специфическими белками растений, в результате чего развивается вторичный иммунитет — ETI (effector-triggered immunity), связанный с эффекторами. Развитие ETI приводит к окислительному взрыву, накоплению АФК и как следствие гибели клеток в месте поражения, что предотвращает дальнейшее распространение патогена при биотрофной инфекции. А при некротрофной инфекции иммунитет будет направлен на обезвреживание патогенных токсинов и ферментов, разрушающих клеточную стенку растений.

Регуляция системы защиты во многом зависит от действия фитогормонов. Инфицирование стимулирует растение к синтезу одного или более гормональных сигналов в зависимости от типа патогена. Доказательства ключевой роли гормонов в формировании защитного ответа растений были получены на трансгенных линиях арабидопсиса и табака с нарушенным биосинтезом (восприятием) гормонов. Оказалось, что устой-

чивость к биотрофным патогенам регулируются СК, а формирование защитного ответа к некротрофам контролируется ЖАК и этиленом.

С повышенным уровнем СК связывают развитие системно приобретенной устойчивости — СПУ (SAR). СПУ характеризуется координированной активацией специфического набора PR генов. Индуцированная системная устойчивость — ИСУ (ISR) развивается у растений, колонизованных почвенными микроорганизмами (микоризными грибами, эндофитами, стимулирующими рост растений микроорганизмами (PGPR), и регулируется ЖАК и этиленовым сигнальными путями.

Наиболее важным регуляторным компонентом салицилатного сигналинга является NPR1 (Non-Expressor of Pathogenesis Related1) — белок, который в отсутствие СК находится в цитозоле в виде олигомера, удерживающегося дисульфидными связями чувствительными к окислению. СК изменяет окислительно-восстановительный гомеостаз клетки, что приводит к разрушению олигомеров NPR1 до мономеров, которые перемещаются в ядро и активируют транскрипцию СК-чувствительных генов. NPR1 связывается с ДНК через транскрипционные факторы, такие как TGA1, TGA2, TGA4, WRKY. Предполагается, что NPR1 повышает ДНК-связывающую активность TGA белков. Оказалось, что ЦК положительно активируют транскрипционный фактор ARR2, который взаимодействует с фактором СК ответа TGA3 и индуцируют экспрессию PR1 и PR2 генов, что доказывает важность участия ЦК в СК-зависимом ответе (Choi et al., 2011).

Механизм жасмонатного сигналинга в настоящее время слабо изучен. Предполагается участие в нем белка JAR1, который конъюгирует аминокислоты с ЖАК. В растениях подобные конъюгаты являются биологически активными формами ЖАК при взаимодействии с комплексом COI1. Ген COI1 (coronative insensitive1) считается ключевым компонентом ЖАК-сигналинга. Белок COI1 в комплексе с белками SCF (фермент убиквитин лигаза) и CSN (фермент убиквитинового пути деградации белков в протеосомах), необходим для удаления белков-репрессоров JAZ (jasmonate ZIM-domain) транскрипт-факторов генов сигналинга ЖАК. В отсутствие ЖАК белок-репрессор JAZ образует комплекс с транскрипционным фактором, который подавляет транскрипцию ЖАК-чувствительных генов. При накоплении ЖАК и ее конъюгатов с аминокислотами JAZ белок взаимодействует с комплексом убиквитин лигазы SCF и белка COI1 и деградирует в протеосоме. В результате происходит активация ЖАК-чувствительных генов.

Исследования последних лет свидетельствуют, что между различными сигнальными путями существует взаимодействие. Оно может быть как нейтральным, так и антагонистическим и синергическим. Исследования на арабидопсисе показали СК-опосредованное подавление экспрессии

ЖАК-чувствительных генов. Однако при обработке арабидопсиса низкими концентрациями СК и ЖАК и наблюдался синергический эффект ЖАК-, СК-чувствительных генов, кодирующих белки PDF1.2, PR1 соответственно. Это подтверждает, что исход взаимодействия СК- и ЖАК-зависимых сигнальных путей зависит от относительной концентрации каждого гормона (Mur et.al., 2006), времени воздействия и последовательности обработки (Koornneef et al., 2008). При этом многочисленными опытами доказано, что ключевую роль в развитии защитной реакции растений к патогенам, индуцированной как СК, так и ЖАК-этилен сигнальным каскадом играет белок NPR1, который характеризуется и цитозольной и ядерной локализацией (Mukhtar et al., 2009). И на мутантных линиях арабидопсиса доказано, что ядерный мономер NPR1 важен в активации СК-чувствительных генов, а цитозольный олигомер - в контроле СК-ЖАК взаимодействия (Leon-Reyes, et al., 2009). Кроме того показано, что этот же белок является эффективным рецептором СК (Wu et al., 2012).

В инфицированных растениях арабидопсиса при индивидуальном внесении эти соединения индуцировали СИУ против биотрофов (СК) или некротрофов (ЖАК), но в комбинации подавляли физиологическую активность друг друга, вызывая вместо защитного ответа развитие восприимчивости (Koornneef et al., 2008). В целом, при совместном использовании данные интермедиаты могут как усиливать защитное действие друг друга (Васюкова и др., 2008, Koornneef et al., 2008; Sorokan et al., 2013), так и проявлять взаимный антагонизм (Mur et al., 2006). Одним из механизмов последнего может быть ингибирование синтеза предшественников ЖАК под влиянием СК (Pena-Cortes et al., 1993) или снижение содержания СК на фоне высокого уровня ЖАК (Ayoung et al., 2004). Однако при дефиците СК содержание ЖАК не повышалось (Takahashi et al., 2004), а сама ЖАК в концентрации 50 мкМ индуцировала многократное повышение эндогенного уровня СК (Repka et al., 2004). Эти данные получены на растениях, принадлежащих к далеким друг от друга таксономическим группам (томате, рисе, арабидопсисе, винограде).

Особый интерес в связи с тесным взаимодействием салицилатного и жасмонатного сигналинга представляет данные по анализу ответной реакции растений на гемибиотрофную инфекцию. Так, ранее нами была выявлена важная роль оксалаатоксидазы в генерации  $H_2O_2$  и формировании защитного ответа растений пшеницы к грибным патогенам. Ее активация и сопряженная генерация  $H_2O_2$  под воздействием СК и хитоолигосахаридов повышали устойчивость пшеницы к возбудителям твердой головни и корневой гнили (Трошина и др., 2007; Яруллина, Ибрагимов, 2006). Важно заметить, что запуск защитных механизмов под влиянием хитоолигосахаридов, как показано, может сочетать в себе

эксперсию генов как салицилатного, так и жасмонатного сигнальных путей (Yin et al., 2010), то есть формировать устойчивость к патогенам с различным типом трофности (Яруллина и др., 2013, 2014). Предобработка растений интермедиатами сигнальных систем и их смесями с элиситорами весьма перспективно в сельском хозяйстве для защиты растений, поскольку такие композиты эффективны даже в наномолярных концентрациях (Озерцовская и др., 2006).

Выявлено стимулирующее действие СК и ЖАК на защитный потенциал растений пшеницы при инфицировании возбудителем септориоза (Яруллина и др., 2011). В то же время, комбинация СК + ЖАК (1 : 1) проявляла меньший защитный эффект, что свидетельствует об интерференции между сигнальными путями. Как известно, одним из наиболее ранних защитных ответов клеток на инфицирование является генерация АФК (Тарчевский, 2002), что связано с функционированием на плазмалемме НАДФН-оксидазы и конвертацией генерирующегося супероксиданиона в  $\text{H}_2\text{O}_2$  с помощью супероксиддисмутазы. Показано, что в ответ на инфицирование *S. nodorum* в листьях пшеницы наблюдался высокий уровень  $\text{O}_2^-$  через 24 ч., а  $\text{H}_2\text{O}_2$  через 48 ч. после инфицирования (Яруллина и др., 2011). Предварительная обработка СК и ЖАК усиливала продукцию АФК, в регуляции уровня которых были задействованы различные оксидоредуктазы (рис. 4). Ранее нами был выявлен важный вклад в регуляцию продукции  $\text{H}_2\text{O}_2$  растительного фермента — оксалаксоксидазы (Яруллина и др., 2005).

Интересно, что в инфицированных растениях, обработанных СК, накопление АФК происходило в более ранние сроки, чем в предобработанных ЖАК. В литературе имеются сведения об индуцировании СК ранней продукции  $\text{O}_2^-$  в замыкающих клетках устьиц и отложения фенилпропаноидов в клетках мезофилла листьев пшеницы при инфицировании возбудителем бурой ржавчины (Плотникова, 2009) и значительном увеличении содержания  $\text{H}_2\text{O}_2$  под воздействием обработки ЖАК на более поздних стадиях патогенеза (Лиу и др., 2008). Вероятно, более раннее и эффективное накопление АФК под влиянием СК и обусловлено биотрофной стадией развития возбудителя септориоза. Защитное действие ЖАК проявляется при переходе гриба к некротрофной стадии развития.

Ранее нами было показано, что возбудитель септориоза способен секретировать каталазу в среду культивирования (Максимов и др., 2009; 2013). Таким способом гриб подавляет генерацию АФК в местах инфицирования (Zhang et al., 2004; Гесслер и др., 2007 Zhang et al., 2015).

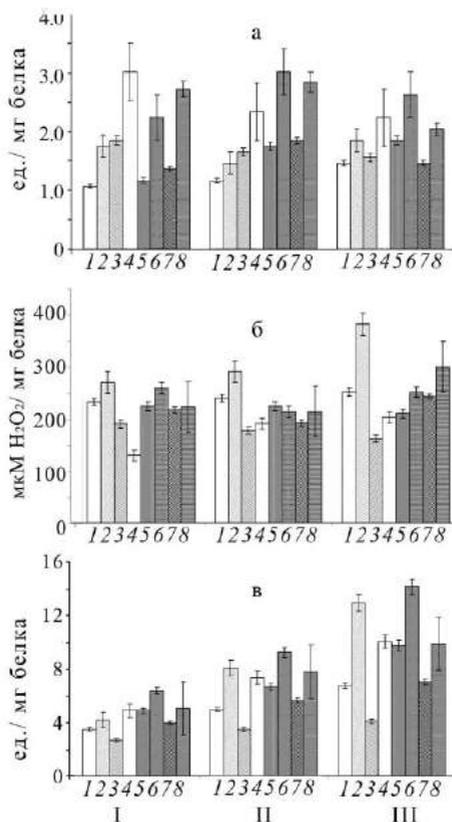


Рис. 4. Влияние СК и ЖАК на активность оксалатоксидазы (а), каталазы (б) и пероксидазы (в) в листьях пшеницы при инфицировании *S. nodorum*:

- 1 — контроль;
  - 2 — инфицирование *S. nodorum*;
  - 3 — обработка СК;
  - 4 — обработка СК + инфицирование *S. nodorum*;
  - 5 — обработка ЖАК;
  - 6 — обработка ЖАК + инфицирование *S. nodorum*;
  - 7 — обработка смесью СК + ЖАК;
  - 8 — обработка смесью СК + ЖАК + инфицирование *S. nodorum*.
- I — 24, II — 48, III — 72 ч. после инокуляции.

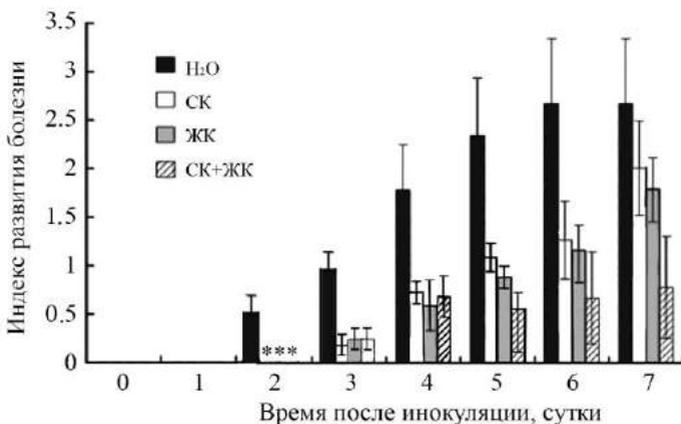
В наших исследованиях обработка и СК и ЖАК снижали каталазную активность в листьях пшеницы при инфицировании *S. nodorum* уже через 24 ч после инфицирования, тогда как предобработка ЖАК только к 72 ч (рис. 4-II б). Совместное использование СК и ЖАК не подавляла

активность каталазы в инфицированных растениях. Поскольку  $H_2O_2$  является необходимым компонентом развития локальной и системной устойчивости растений, то подавление каталазной активности под воздействием СК и ЖАК способствует индукции защитного ответа в листьях пшеницы к *S. nodorum*.

Отсутствие эффекта подавления активности грибной каталазы при совместном применении СК и ЖАК, на фоне относительно высокого значения в активности пероксидазы и оксалатоксидазы предполагает, что патогены могут инфицировать, праймированные сигнальными молекулами растения, посредством высокой активности каталазы (Максимов и др., 2013). Важно заметить и то, что успешный переход гембиотрофных патогенов на некротрофную фазу также тесно связан с функционированием генов каталазы (Goodwin et al., 2001).

Таким образом, обе сигнальные молекулы — СК и ЖАК оказывали пролонгированное защитное действие на растения пшеницы при инфицировании *S. nodorum*, индуцируя в них генерацию супероксидного радикала и  $H_2O_2$ . Причем СК оказывала более раннее индуцирующее действие на уровень АФК, чем ЖАК. Защитное действие сигнальных молекул против возбудителя септориоза было обусловлено активацией оксалатоксидазы, индукцией анионных и катионных пероксидаз и снижением активности каталазы в период 24 – 48 ч после инфицирования. Ослабление защитного эффекта под воздействием смеси СК и ЖАК на растения пшеницы при инфицировании *S. nodorum*, вероятно, обусловлено как биологическими особенностями гембиотрофного патогена, так и возможной интерференцией сигнальных путей (Cipollini et al., 2004).

Интересны данные об особенностях воздействия СК и ЖАК на защитный потенциал растений в другой патосистеме. Считается, что устойчивость картофеля к возбудителю фитофтороза *Phytophthora infestans* связана с реакцией сверхчувствительности (СВЧ-реакция) (Cohen et al., 1993; Панина и др., 2005). Предполагается, что в ее развитии важную роль играют АФК: в низких концентрациях — в качестве сигнальных молекул, а в высоких — проявляющих прямой биоцидный эффект (Shetty et al., 2008; Bolwell, Daudi, 2009). Показано, что обработка растений СК, ЖАК и их смесью подавляла развитие фитофтороза на растениях картофеля (рис. 5). Причем, наиболее эффективно в варианте комбинации СК + ЖАК.



**Рис. 5.** Влияние СК и ЖАК на развитие фитофтороза на листьях пробирочных растений картофеля.

1 — H<sub>2</sub>O; 2 — СК, 10<sup>-6</sup> М; 3 — ЖАК, 10<sup>-7</sup> М; 4 — СК + ЖАК.  
Звездочки (\*) — симптомы болезни не обнаружены.

Известно, что АФК необходимы для окисления фенольных соединений в клеточной стенке, что является важным звеном формирования защитных реакций против патогенов. В наших опытах обработка растений СК и ЖАК индуцировала этот процесс (Максимов и др., 2011; Яруллина и др., 2012). Поскольку проникновение *P. infestans* в листья картофеля происходит преимущественно через устьица (Hardham, Shan, 2009), интенсивность защитных реакций именно этих клеток определяет, по-видимому, развитие устойчивости растений.

При применении ЖАК накопление H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> было максимальным. Полученные данные говорят, что растения картофеля, в отличие от растений пшеницы, более чувствительны к ЖАК. Растения картофеля характеризуются конститутивно высоким содержанием СК (Панина и др., 2005). При этом, как СК, так и ЖАК, повышая уровень H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в инфицированных тканях (Hung et al., 2006; Лиу и др., 2008), участвуют в регуляции формирования устойчивости картофеля к фитофторозу (Васюкова и др., 2008). Поскольку *P. infestans* относится к патогенам со смешанным типом трофности (Hardham, Shan, 2009), то роль СК и ЖАК в устойчивости картофеля к фитофторозу может быть неоднозначной. Высокий уровень H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, вероятно, активировал локальное накопление пероксидаз, способных к ионообменному взаимодействию с клеточными стенками *P. infestans* (Максимов и др., 2011).

Особый интерес в связи с функционированием салицилатной и жасмонатной сигнальных систем представляет этилен, который, как показано, вовлечен в систему их регуляции (Leon-Reyes et al., 2009). Однако

показано и то, что этилен может подавлять иммунитет к биотрофам и повышать — к некротрофам, что отражает антагонизм СК- и ЖАК-сигналинга. Взаимодействие ЖАК и этилена во многих случаях являются синергичными. Например, регуляция гена дефензина PDF1.2 в растениях арабидопсиса требует совместной активации ЖАК и этиленовых сигнальных путей. Влияние этилена на СК-путь весьма неоднозначно. Показано, что этилен усиливает ответ арабидопсиса на СК, что приводит к экспрессии маркерного гена СК-пути PR1. Оказалось, что модуляция СК-сигналинга зависит от регуляторного белка этиленового пути EIN2 и действует через этиленовый сигнальный путь. Отрицательное действие этилена на салицилатный сигналинг проявлялось в том, что у нечувствительных к этилену двойных мутантов *ein3-1 eil1-1* наблюдался повышенный уровень СК (Chen et al., 2009).

Нами обнаружено, что под влиянием ингибитора рецепции этилена 1-метилциклопропена (1-МЦП) в растениях пшеницы задерживался рост мицелия *S. nodorum* на поверхности листа, что в последующем приводило к заметному замедлению проявления симптомов заболевания (Веселова и др., 2014). При этом в растениях препарат 1-МЦП приводил к генерации H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, активации оксалактоксидазы, пероксидазы, отложению лигнина в клеточных стенках зоны инфицирования и подавлял активность каталазы уже через 24 ч после инфицирования обоих сортов в зоне проникновения мицелия патогена, который сохранялся в течение всего периода эксперимента.

В исследованиях последних лет доказана важная роль рецепторов сигнальных молекул в распознавании и последующем развитии адекватной защитной реакции растений на действие стрессовых факторов (Шишова и др., 2008). Несмотря на то, что достаточно хорошо изучены молекулярные механизмы рецепции этилена у двудольных растений, в наибольшей степени у арабидопсиса (Ракитин и др., 2009; Wang et al., 2013). Известно, что у нечувствительных к этилену растений снижены симптомы развития различных болезней (Chen et al., 2009; Vleesschauwer et al., 2010; Wi et al., 2012). Результаты позволяют предположить, что 1-МЦП обладает способностью индуцировать в растениях защитные реакции, среди которых важное место занимают компоненты про-/антиоксидантных систем. Если при биотическом стрессе H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> индуцировала синтез этилена (Wi et al., 2012), который принимал участие в механизмах формирования патоген-индуцированных некрозов в растительных тканях и таким путем защищал растения от патогена, то в отношении гемиботрофной инфекции, напротив, способствовал последующей колонизации тканей растения-хозяина (Chen et al., 2009; Vleesschauwer et al., 2010; Wi et al., 2012).

Обнаруженное быстрое и значительное транзитное накопление H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и параллельное ингибирование активности каталазы у обработанных 1-

МЦП инфицированных растений (Веселова и др., 2014) подтверждает данные, полученные на трансгенных растениях с нарушенным синтезом и рецепцией этилена (Wi et al., 2012; Sewelam et al., 2013). Это согласуется с предположением, что патогены, регулируя образование этилена, могут влиять на гомеостаз гормонов и подавлять ответную реакцию растений (Chen et al., 2009; Vleeschauwer et al., 2010).

### **3. Трофические группы патогенов и гормональный баланс больного растения**

Гормонам принадлежит ведущая роль в регуляции ответной реакции растений на действие стрессовых факторов, в том числе на внедрение патогенов. Функционирование гормональной системы обеспечивается взаимодействием ее компонентов, т.е. способностью одного гормона влиять на концентрацию других. Известно, что заражение патогеном сопровождается изменением уровня гормонов не только в инфицированных тканях, но и системно в целом растении. Однако пока остается не до конца изученным вклад растения и патогена в эти изменения, поскольку сложно отделить в инфицированных тканях фитогормоны от гормонов, синтезируемых грибом. В зависимости от трофности патогенов спектр гормонов, вырабатываемых ими в качестве эффекторов защитных систем растений и, напротив, вырабатываемых растениями в качестве индукторов ответной защитной реакции на инфицирование, значительно различается. Так, показана возможная роль ряда патогенов в повышении уровня ауксинов в тканях зараженных растений (Li, Heath, 1990; Вольнец и др., 1993). Многие патогены могут продуцировать индолилуксусную кислоту, способствующую их проникновению в растения за счет «разрыхления» межклеточного пространства (Robert-Seilaniantz et al., 2007). В то же время, способность устойчивых растений инактивировать этот гормон характеризует один из действенных механизмов их защиты от биотрофного патогена. Интересно и то, что ингибирование ауксинового сигнального пути практически снижала поражаемость растений и некротрофными патогенами (Lorente et al., 2008). Особо следует отметить то, что ауксины участвуют в торможении развития системной индуцированной устойчивости растений посредством ингибирования защитных механизмов, находящихся под контролем СК, например, в экспрессии гена *PR1* (Rabe et al., 2013).

Показано, что кроме ауксинов грибы могут синтезировать и другие фитогормоны (Вольнец и др., 1993; Ashby, 2000). В связи с этим практически невозможно разделить растительные и грибные гормоны и оценить долю каждого в развитии инфекционного процесса, поскольку исход взаимодействия партнеров, относящихся к различным таксонам,

базируется на сложном и динамичном взаимодействии многих факторов, как со стороны растения-хозяина, так и патогена (Дьяков и др., 2001).

Эффект фитогормонов зависит от их структуры, концентрации, от времени их воздействия на растительную клетку, от их взаимосвязи друг с другом через метаболические и сигнальные пути. Было показано, что в инфицированном растении проявление реакции устойчивости связано с изменением разных групп гормонов и зависит от трофности патогена (Яруллина, 2006). Возможно, гиперколичества экзогенных гормоноподобных соединений, вырабатываемых патогеном, блокируют рецепцию и снижают интенсивность гормонального сигнала в растительной клетке (Ладьяженская, Проценко, 2002) и даже, вероятно, могут способствовать отключению защитных программ, запущенных ранее.

Сведения, о роли АБК в формировании устойчивости растений к заражению довольно противоречивы (Максимов, 2009). Инфицирование грибом, бактерией или вирусом является сильным стрессовым фактором для растения и сопровождается локальными повреждениями, что может способствовать накоплению эндогенной растительной АБК. Кроме этого, АБК синтезируется и микроорганизмами. Как метаболит, это соединение выделено из *Cercospora cruentia*, *Botrytis cinerea*, *Ceratocystis coerulea* и ряда других патогенных грибов (Kettner, Dörfling, 2006; Schmidt et al., 2008). Под влиянием экзогенной АБК происходит подавление реакции сверхчувствительности и снижается экспрессия генов, отвечающих за синтез ряда защитных белков (AbuQamar et al., 2006). Так, у дефицитных по АБК мутантных растений был выявлен более высокий уровень экспрессии гена, кодирующего анионную пероксидазу (Asselbergh et al., 2007) и повышение устойчивости к *Pythium irregulare* и *Leptosphaeria maculans* (Adie et al., 2007). Участие АБК в подавлении защитного ответа растительных клеток показано в патогенной системе томат – *Peronospora parasitica* (Mohr, Cahill, 2003), а также при формировании симбиозов растений с везикулярно-арбускулярным грибом (Fester, Hause, 2007).

С другой стороны, АБК повышала устойчивость растений арабидопсиса к таким патогенам как *Alternaria brassicicola* и *Pectoshaerella cucumerina* (Ton et al., 2009). Предполагается, что одним из путей регуляции защитного ответа под влиянием АБК является ее участие в синтезе предшественников ЖАК (Adie et al., 2007), регуляции синтеза ЦК (Shakirova et al., 2012). На примере патосистемы пшеница – биотрофный гриб *Tilletia caries* показано, что повышение уровня АБК негативно отражается на устойчивости растений (Максимов, Хайруллин, 2012). Можно предположить, и в случае инфицирования восприимчивых растений некротрофным возбудителем корневой гнили *B. sorokiniana* значительное накопление АБК в корневой системе также способствует развитию болезни.

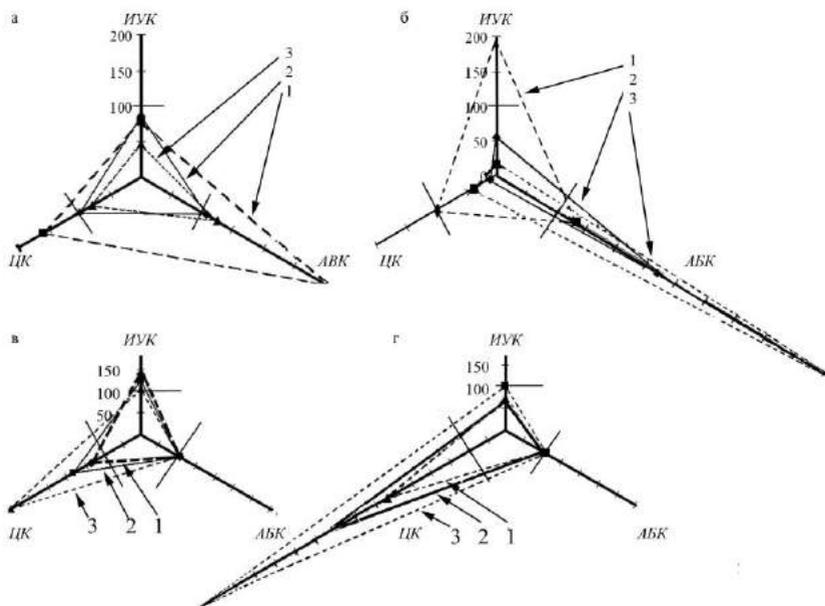
Особо интересны данные по ЦК. Характерная их особенность — широкий спектр физиологического действия в клетках растений. ЦК повышают уровень митотической активности и усиливают синтез белков и приток питательных веществ к месту инфицирования (Pertry et al., 2010). Но под влиянием ЦК усиливается экспрессия ряда генов защитных белков (AbuQamar et al., 2006), синтез антифунгальных алкалоидов (Yahia et al., 1998), этилена и ЖАК (Шакирова и др., 2013). Важно отметить, что ЖАК может служить эффективным индуктором накопления ЦК (Shakirova et al., 2012). Показано также, что ЦК в низких концентрациях и в сочетании с ауксинами — необходимый регулятор синтеза пероксидазы, ингибиторов протеиназ и насыщения клеточной стенки ксиланазами, полифенолоксидазами и хитиназами, участвующими в защите от патогенов (Choi et al., 2011; Максимов, Хайруллин, 2012). Так на фоне обработки растений ячменя кинетином происходило повышение эндогенного содержания ЦК и устойчивости листьев к заражению *B. sorokiniana* (Sarhan et al., 1991).

**Некротрофный тип питания — возбудитель корневых гнилей *B. sorokiniana*.** Наиболее эффективное и значимое "оружие нападения" фитопатогенов-некротрофов — токсины. К сожалению, при хорошей изученности биологии возбудителя корневой гнили пшеницы *B. sorokiniana* и свойств его токсинов, физиологические и биохимические основы его взаимодействия с растением остаются пока еще не достаточно исследованными. Показано, что в начальные этапы инфицирования в корнях проростков пшеницы с различной устойчивостью к корневой гнили (устойчивый сорт Заря и восприимчивый сорт Жница) наблюдалось повышение содержания ИУК (рис. 6). У растений устойчивого сорта это повышение было более существенным, по сравнению с растениями восприимчивого сорта. Кроме этого обращает на себя внимание, что проростки устойчивого сорта отвечали на инфицирование быстрым и ранним повышением ее содержания. В тканях восприимчивого сорта уровень ИУК повышался с определенным запаздыванием.

В этих же условиях нами обнаружено повышение уровня АБК при инфицировании *B. sorokiniana*, как в проростках пшеницы сорта Жница, так и сорта Заря (рис. 6). У растений устойчивого сорта это повышение незначительное в сравнении с контролем, что, вероятно, связано с исходно высоким, в сравнении с восприимчивым сортом, уровнем АБК в растениях. Таким образом, на примере двух контрастных по устойчивости к корневым гнилям сортов пшеницы, прослежен разный гормональный ответ.

Анализ изменения уровня ЦК в проростках пшеницы при инфицировании *B. sorokiniana* (рис. 6) показал, что у устойчивого сорта изначально в корнях происходило снижение их содержания, а затем, к третьим

суткам, напротив, повышение. Инфицирование не вызывало достоверных изменений в уровне ЦК у восприимчивой пшеницы (рис. 6).

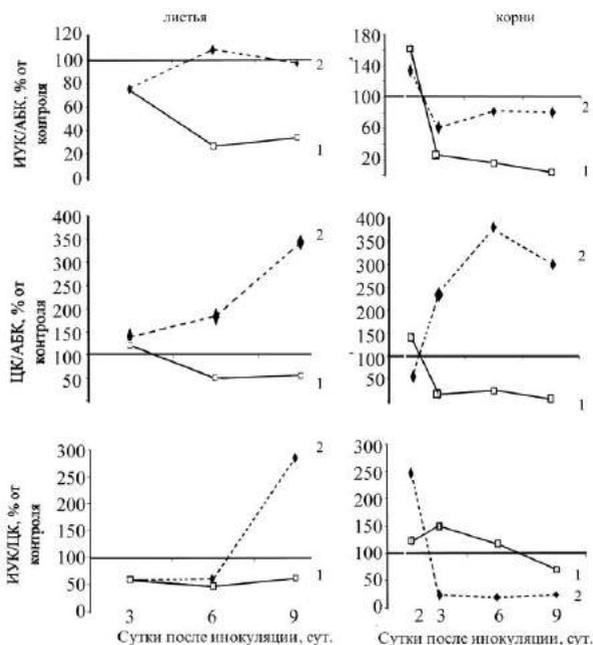


**Рис. 6.** Баланс фитогормонов в листьях (а, в) и в корнях (б, г) проростков пшеницы, контрастных по устойчивости к *V. sorokiniana* сортов Московская 35 (а, б) и Заря (в, г), % к контролю.  
 1 — 3-и сут. после инфицирования;  
 2 — 6-е сут. после инфицирования;  
 3 — 9-е сут. после инфицирования.

Мы провели также анализ уровня фитогормонов ИУК, АБК и ЦК в инфицированных и неинфицированных *V. sorokiniana* органах растений пшеницы различной устойчивости на более поздних этапах инфекционного процесса (Яруллина и др., 2001), которые показали, что высокое содержание ЦК в растительных тканях в условиях сохранения баланса АБК / ИУК при патогенезе способствует формированию устойчивости растений, в то время, как снижение содержания ЦК в тканях, индуцируемое метаболитами патогена, является одним из механизмов подавления защитных реакций растений пшеницы при заражении грибом-некротрофом.

Как известно, функционирование гормональной системы обеспечивается взаимодействием гормонов, т.е. способностью одного гормона

изменять концентрацию других. На рис. 7 представлены данные анализа соотношения фитогормонов ИУК, АБК и ЦК в листьях и корнях проростков пшеницы, из которого видно, что в восприимчивых растениях инфицирование изменяло баланс фитогормонов в сторону повышения уровня АБК (рис. 7).



**Рис. 7.** Изменение соотношения фитогормонов в инфицированных *B. sorokiniana* проростках пшеницы восприимчивого Жница (1) и устойчивого Заря (2) сортов.

Обращает на себя внимание то, что содержание ИУК и ЦК в инфицированных корнях восприимчивой пшеницы в поздние сроки патогенеза всегда оказывалось ниже уровня контрольных. В устойчивом сорте их баланс, был сдвинут в сторону высоких концентраций ЦК. Таким образом, для проростков устойчивого сорта, на начальных стадиях развития корневой гнили характерным является транзитное повышенное содержание ИУК в листьях и последующее многократное повышение уровня ЦК. Кроме того, инфицирование приводит к резкому снижению соотношения ИУК / АБК (рис. 7). В устойчивом сорте этот показатель значительным изменениям не подвергается. Особо следует остановиться на соотношении ЦК / АБК. Оно, так же как и соотношение ИУК / АБК, говорит о превалировании рост-стимулирующих (ИУК и ЦК) гормонов в

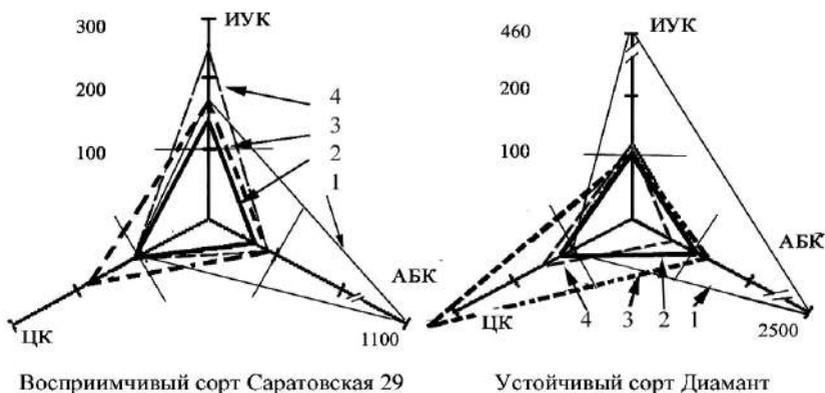
устойчивом растении. Этот показатель в листьях и корнях растений устойчивой пшеницы оказывается намного выше, чем у восприимчивой, что предполагает сохранение в них активных синтетических процессов

***Гембиотрофная инфекция — возбудитель септориоза *S. nodorum*.***

Гормональный баланс больного растения при патогенезе, вызванном *S. nodorum*, ранее не исследовался, хотя было известно, что этот фитопатоген выделяет в культуральную среду ИУК (Кобильский и др., 1990; Васюк и др., 1996). Мы проводили измерения содержания ИУК в проростках пшеницы при их инфицировании *S. nodorum* (рис. 8). Заражение листьев приводило к транзитному подъему содержания ИУК сразу после инфицирования у растений восприимчивого сорта в 1,6 раза, а у устойчивого — в 4,6 раза. Через 48 ч. после инокуляции, ее уровень в обоих вариантах опыта снижался до значения контроля. В дальнейшем, на шестой день после инокуляции только в листьях восприимчивого сорта ее содержание было в 1,8 раза, а на 9-й день более чем в 2,5 раза выше, чем в здоровых.

Мы не можем однозначно ответить, растительного или грибного происхождения ИУК превалирует в начальные и в последующие стадии инфицирования фитопатогеном, поскольку как растение, так и гриб продуцируют и используют ауксины в процессе своей жизнедеятельности. Однако не исключено и то, что первое и раннее повышение уровня ИУК связано с ответной реакцией именно растения (рис. 8). Можно предположить, что при растительном происхождении гормона и в корневой системе должны произойти изменения в уровне ИУК, поскольку, как известно, синтез ауксинов в основном происходит в надземной части растений и транспортируется в корни (Bennet et al., 1998).

Для проверки этого нами был проведен анализ уровня ИУК в корневой системе инфицированных проростков. Действительно, как видно из рис. 8, инфицирование повышало к 3-м сут опыта содержание этого фитогормона в корнях устойчивой и восприимчивой пшеницы. Таким образом, повышенный уровень ИУК в ранние сроки развития септориозной инфекции предположительно связан с растительной природой ее накопления. Интересно, что последующего повышения уровня ауксинов в корнях обоих сортов, а также в листьях устойчивой пшеницы не происходило, что, вероятно, связано с запуском механизмов эффективной инактивации накопления ауксинов, например, за счет активной работы про/антиоксидантной системы. Вероятно, в листьях восприимчивой пшеницы эта система, работает с меньшей степенью, что проявляется в локальном последующем накоплении ауксинов в "больных" листьях при септориозе. Не исключено, что патоген вырабатывает определенные соединения, способные дезактивировать антиауксиновую защитную систему в тканях листа и успешно развиваться.

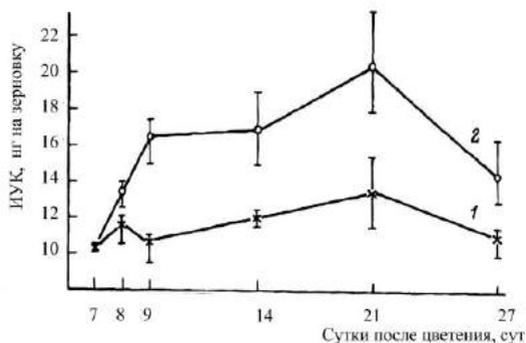


**Рис. 8.** Баланс фитогормонов в корнях пшеницы, инфицированных *S. nodorum*, % к контролю:

- 1 — 1 сут. после инфицирования;
- 2 — 3-и сут. после инфицирования;
- 3 — 6-е сут. после инфицирования;
- 4 — 9-е сут. после инфицирования.

Нами был проведен также анализ изменений содержания ИУК в ходе формирования и созревания зерновок пшеницы восприимчивого сорта Саратовская 29, пораженных септориозом, который показал, что заражение вызывает накопление ИУК через 48 ч после инфицирования (9 сут. после цветения) (рис. 9). Такое различие по содержанию ИУК сохранялось в течение всех исследованных периодов развития семян. Зрелые зерновки из инфицированных колосьев также имели больший уровень гормона, в сравнении с контролем. Интересно отметить, что и в контрольных, и в опытных зерновках максимум содержания ИУК совпадает и соответствует 21-му дню после цветения (14 сут. после инокуляции).

Итак, нами обнаружено, что инфицирование растений и колосьев пшеницы спорами *S.nodorum* вызывало в восприимчивом варианте опыта стабильное накопление ауксинов, что, вероятно, является одним из условий успешного развития этой болезни в растениях. В то же время, в растениях устойчивой пшеницы, транзитное и многократное накопление ауксинов в начальный период опыта, может являться условием последующей стабилизации их уровня и сдерживания индуцируемого патогеном накопления ИУК в растениях.



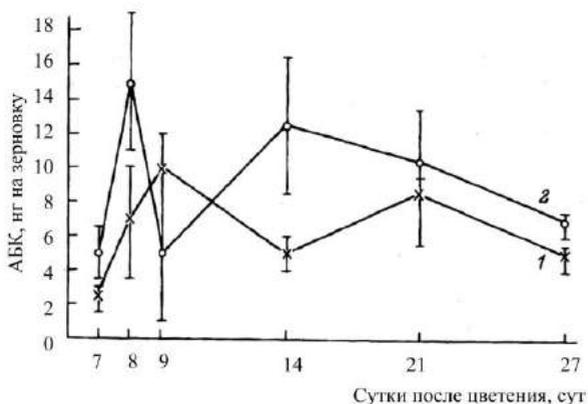
**Рис. 9.** Характер изменения уровня ИУК (а) в развивающихся зерновках пшеницы сорта Саратовская 29 под влиянием *S. nodorum*. 1 — контроль, 2 — опыт.

На рис. 8 представлена динамика содержания АБК в растениях контрастных по устойчивости сортов пшеницы при инфицировании их *S. nodorum* в сравнении с контрольными не инфицированными растениями. В начальный период патогенеза в инфицированных проростках происходило резкое и транзитное повышение содержания АБК, как в восприимчивом сорте Саратовская 29, так и в устойчивом сорте Диамант. В последующие сроки фиксации изменений в уровне этого фитогормона в надземной части инфицированных растений, как устойчивого, так и восприимчивого сортов нами не наблюдалось. Корневая система растений устойчивого сорта отвечала на инфицирование также быстрым и обратимым двукратным увеличением содержания АБК. В то же время у восприимчивого сорта ее количество повышалось плавно, с максимум на 9-е сут.

Низкая концентрация АБК в инфицированных *S. nodorum* листьях и изменение уровня этого гормона в корнях, удаленных от места инфекции предполагают ее растительное происхождение. В корнях устойчивого сорта это повышение наблюдалось только в начале опыта, а в последующем не отличалось от контроля (рис. 8 б). Вероятно, для восприимчивой пшеницы инфицирование представляет гораздо более значительный стресс, который наиболее отчетливо проявляется в корнях. Поскольку растения устойчивого к патогену сорта способны ограничить его рост и развитие, то и уровень АБК в растительных тканях в конце опыта не отличается от контроля.

Ранее было показано, что уровень АБК в колосьях, пораженных септориозом, повышенный в сравнении со здоровыми растениями (Vousquet et al., 1990). Проведенные нами эксперименты показали, что динамика содержания АБК в развивающихся зерновках здоровых растений

описывалась кривой с двумя максимумами (рис. 10). Первый максимум длился в течение 8 дней от начала опыта с пиком на девятый день после цветения. Второй — в период достижения максимальной сырой массы зерна, с пиком на 21 день после цветения.



**Рис. 10.** Характер изменения уровня АБК в развивающихся зерновках пшеницы сорта Саратовская 29 под влиянием *S. nodorum*.

1 — контроль, 2 — опыт.

Несколько иной характер изменения уровня АБК прослеживается в зерновках пшеницы, инокулированных *S. nodorum* (рис. 10). Уже спустя 24 ч. после заражения наблюдается увеличение содержания АБК в опытных зерновках, в сравнении с контрольными. Однако к 9-м сут. происходит снижение этого первого максимума. Пик второго максимума приходится на 14 день после инокуляции. В последующие точки фиксации наблюдается постепенное снижение уровня АБК, однако и в зрелых зерновках инфицированных растений этого гормона больше, чем у контрольных (рис. 10), то есть заражение ускоряет накопление АБК и, соответственно, начало созревания семян, что соответствует данным, проведенным другими исследователями (Hess, Carman, 1998).

В надземной части восприимчивых растений наблюдался незначительный транзитный подъем содержания ЦК на 6-е сут. после инфицирования проростков пшеницы *S. nodorum* (рис. 8). В корнях же уровень ЦК был заметно ниже, чем у здоровых растений. При инфицировании концентрация гормона в устойчивых растениях, напротив, и в корнях, и в надземной части проростков превышала контрольные значения более чем 2 раза. Следует заметить, что в листьях проростков устойчивых растений максимальный пик в накоплении ЦК, также как и в листьях восприимчивых, наблюдался на 6-е сут после заражения.

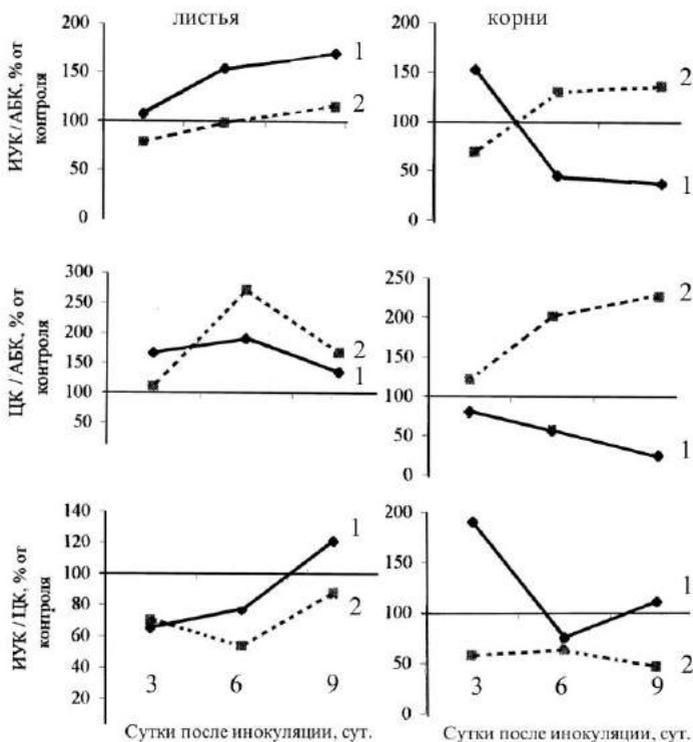
Наиболее четким и визуально определяемым результатом изменения концентрации ЦК может служить уровень хлорофилла в листьях, а также в случае листовых патогенов, биотрофов и гембиотрофов — проявление так называемых "зеленых островков", в сроки, предшествующие проявлению настоящих симптомов болезни (Ashby, 2000). Как видно (табл. 1), содержание хлорофилла в инфицированных проростках восприимчивого сорта снижается, тогда как в устойчивом сорте его уровень, напротив, почти вдвое больше, чем в контроле. В табл. 1 представлены фотографии отрезков инфицированных *S. nodorum* листьев пшеницы зафиксированных на 3-й день после инфицирования, где видно образование "зеленых островков", что предполагает накопление в зоне инфекции ЦК (Ashby, 2000).

**Таблица 1.**

Влияние инфицирования проростков пшеницы *S. nodorum* на содержание хлорофилла в листьях пшеницы различной устойчивости

Вариант опыта	Содержание хлорофилла		Сумма хлорофилла а + в	Формирование «зеленых островков» в точке инфицирования
	а	в		
Восприимчивый сорт Саратовская 29				
Контроль	11,1±0.20	4,2±0.12	14,3	
Опыт	6,7±0.12	2,5±0.09	9,3	
Устойчивый сорт Диамант				
Контроль	8,5±0.33	3,4±0.10	11,9	
Опыт	15,4±0.15	5,6±0.24	21,0	

На рис. 11 представлены данные по соотношению фитогормонов ИУК / АБК, ИУК / ЦК, ЦК / АБК в инфицированных *S. nodorum* проростках пшеницы в сравнении с контрольными. Видно, что в начальные фазы развития патогена гормональный баланс в листьях у обоих сортов сдвинут в сторону повышенного содержания АБК. В последующие фазы патогенеза происходит сдвиг этого показателя в сторону повышенного содержания ИУК.

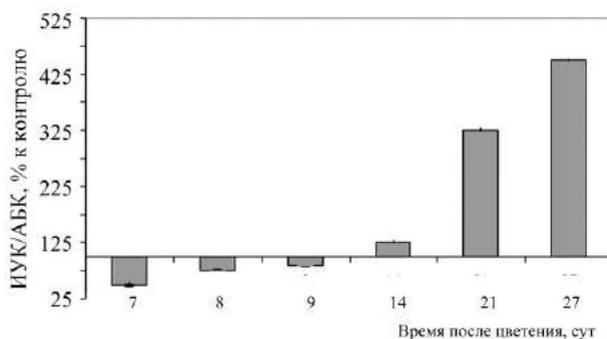


**Рис . 11.** Изменение соотношения фитогормонов в проростках пшеницы сорта Саратовская 29 (1) и Диамант (2) под влиянием *S. nodorum*.

Резкий подъем соотношения ИУК/АБК в листьях восприимчивого сорта свидетельствует о недостаточной сбалансированности метаболических процессов в них и, напротив, сохранение соотношения в пределах контрольных показателей, при явном изменении абсолютных, представляет гомеостатичность гормонального баланса у устойчивых растений. Соотношение ЦК / АБК в инфицированных листьях во всех вариантах опыта было выше контрольных. Однако у восприимчивого сорта его увеличение происходило только в начальные фазы опыта, а у устойчивого он повышался в более чем 2,5 раза на 6-е сут после инфицирования. Инфицирование приводит к резким изменениям в коэффициенте ИУК/ЦК у восприимчивой пшеницы, который у устойчивого сорта, при аналогичном характере изменения баланса фитогормонов, имеет более слабую амплитуду.

Иная картина наблюдается в корнях. Соотношения ИУК / АБК и ЦК / АБК у восприимчивой пшеницы сдвигаются в сторону повышенного содержания АБК, а у устойчивой — в сторону повышенных концентраций ИУК и ЦК (рис. 11). Относительно соотношения ИУК / ЦК можно отметить преобладание содержания ИУК в корнях восприимчивой пшеницы в сравнении с устойчивой.

Мы исследовали характер изменения баланса ИУК/АБК в зерновках пшеницы сорта Саратовская 29, в ходе их созревания и при инфицировании колосьев *S. nodorum* (рис. 12). Как видно, в колосьях инфицированных растений показатель ИУК / АБК от низких значений резко переходит к высоким. Это связано с тем, что при инокуляции в начале опыта наблюдается накопление АБК, тогда как уровень ИУК, в эти сроки фиксации, таких изменений, в сравнении с контролем, еще не дает.



**Рис. 12.** Характер изменения баланса ИУК / АБК в развивающихся зерновках пшеницы сорта Саратовская 29 под влиянием *S. nodorum*.

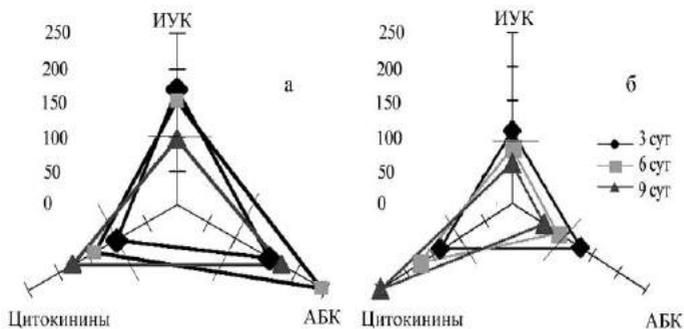
Последующий подъем этого показателя связан со стойким, более чем 1,5 кратным повышением уровня ИУК в инфицированных зерновках в сравнении с контролем. Таким образом, заражение после цветения колосьев пшеницы восприимчивого к септориозу сорта, приводит к значительному увеличению в семенах уровня ИУК в сравнении с АБК, что, возможно, является характерным для данной системы растение-фозиян – гриб – патоген.

Таким образом, показано, что инфицирование гембиотрофным патогеном приводит к сдвигу гормонального баланса у восприимчивой пшеницы в сторону повышенных концентраций ИУК в листьях. Если в корнях восприимчивой пшеницы соотношение фитогормонов сдвигается в сторону высоких концентраций АБК, то у устойчивой пшеницы оно и в листьях и в корнях сдвигается в сторону повышения концентрации ЦК.

Полученные результаты говорят о значительных различиях между сорто-образцами в их физиологическом ответе на инфицирование.

Поскольку патоген является сильным стрессором для растения мы, как и следовало ожидать, видим резкое повышение уровня стрессового гормона АБК, который, вероятно, также способствует, подавлению метаболических функций клеток корней, что четко сопровождается снижением уровня ЦК в этом органе на конечных этапах опыта. В устойчивом же сорте, вероятно, корневая система, синтезируя высокие концентрации ЦК, приводит к их повышению и в надземной части растений. Это способствует усилению метаболических функций в клетках растений, находящихся в непосредственном контакте с фитопатогеном.

**Биотрофная инфекция — возбудитель твердой головки *Tilletia caries*.** Жизненный цикл биотрофов тесно связан с растением-хозяином. До появления репродуктивных структур гриба с данным типом питания не только не подавляют метаболизм растения, но даже активизирует его (Parbery, 1996). На рис. 13 представлены результаты анализа содержания ИУК в инокулированных *T. caries* и контрольных растениях контрастных по устойчивости к этому патогену видов пшеницы в сравнении с контролем.



**Рис. 13.** Изменение соотношения фитогормонов в инфицированных *T. caries* проростках восприимчивой *T. aestivum* (а) и устойчивой *T. timopheevii* (б) пшеницы, в % к контролю.

Как видно, инфицирование грибом восприимчивого вида приводило к достоверному увеличению на 70 % содержания ИУК. Однако к концу опыта ее уровень приближалось к значению у контрольных проростков (рис. 13 а). Это предполагает необходимость ауксинов в начальных стадиях твердо-головневого патогенеза.

Полевые эксперименты показали, что в фазу кушения инфицированные растения восприимчивой пшеницы характеризуются пониженным, в сравнении с контрольными, уровнем ИУК (табл. 2). Поскольку ауксины

являются ответственными за апикальное доминирование, их низкий уровень в этот срок опыта, вероятно, способствует активному формированию в узле кущения большого количества колосоносных побегов, которые затем заселяются грибом. Таким образом, популяция этого гриба повышает свой коэффициент размножения. В фазу трубкования — цветения, напротив, уровень ИУК в инфицированных проростках оказался выше значения контрольных растений, что, вероятно, способствовало более быстрому росту растительных тканей в этот срок опыта. Итак, гриб *T. caries* активно может воздействовать на содержание ауксинов в "больном" восприимчивом растении на протяжении всего вегетационного периода.

**Таблица 2.**

*Влияние инфицирования семян возбудителем твердой головни на уровень ИУК в растениях пшеницы, мкг / г сырой массы*

Вариант	Вегетативная фаза, сут после посева			
	Кущение, 30 сут.	Выход в трубку, 40 сут.	Цветение, 55 сут.	Молочная спелость, 65 сут.
<i>T. aestivum</i> (восприимчивый)				
Контроль	3,87±0,06	1,68±0,06	1,41±0,03	1,11±0,03
Опыт	2,16±0,05	2,23±0,05	1,90±0,07	0,76±0,03
% от контроля	56	133	136	68
<i>T. timopheevii</i> (устойчивый)				
Контроль	2,84±0,05	2,06±0,10	1,30±0,08	1,44±0,04
Опыт	3,43±0,18	2,32±0,07	1,52±0,05	1,41±0,06
% от контроля	120	110	114	94

В растениях же устойчивой пшеницы значительного изменения уровня ИУК не происходит. После незначительного, статистически недостоверного, повышения на 3-и сут. опыта содержание ИУК в инфицированных растениях к 9-м сут. оказывалось ниже контрольных (рис. 13 б), а впоследствии, на протяжении всего вегетационного периода, удерживалось на уровне контроля (табл. 2).

На примере биотрофного патогена, нами показано, что накопление ауксинов необходимо для развития гриба в тканях растений восприимчивой пшеницы, что подтверждается индукцией многократного накопления ауксинов в совместной культуре каллусов пшеницы с грибом. В то же время изменения в динамике содержания ауксинов в иммунной пшенице значительно от контрольных не отличались. Это предполагает способность растения поддерживать уровень ауксинов в гомеостатическом состоянии, в отличие от восприимчивой пшеницы.

Накопление ИУК в тканях восприимчивой пшеницы при гембиотрофной септориозной и биотрофной головневой инфекции свидетельствуют о том, что ауксины способствуют развитию патологического процесса у растений и могут иметь "паразитарное" происхождение (Кобыльский и др., 1990; Васюк и др., 1996; Tanaka et al., 2003). Как известно, от уровня ауксинов зависят не только ростовые характеристики растений, но и вирулентность патогена (Ладыженская, Проценко, 2002; Tanaka et al., 2003). Так, мы обнаружили высокое содержание ИУК в сухих спорах *T. caries* ( $0,52 \pm 0,05$  мкг / г спор) и в мицелии этого гриба в чистой культуре ( $12,0 \pm 1,0$  мкг / г сырого мицелия). Гиперсинтез ауксинов в культуре *S. nodorum* отмечали ранее (Кобыльский и др., 1990; Васюк и др., 1996).

Можно предположить следующие механизмы опосредованного ИУК развития патологического процесса у восприимчивых растений пшеницы. Ауксины могут "разрыхлять" клеточные стенки растения (Rayle, Cleland, 1992), что увеличивает возможность быстрой деградации его полисахаридов ферментами фитопатогенов (Дьяков и др., 2001). Разрыхлению клеточных стенок может способствовать также экспрессия под влиянием экзогенного ауксина эндо- $\beta$ -1,4-глюканазы растений (Wu et al., 1996). ИУК может снижать активность некоторых защитных белков, например, ФАЛ (Hughes, Dickerson, 1990), хитиназы (Shinshi et al., 1987) и  $\beta$ -1,3-глюканазы (Harpster et al., 1998), подавлять экспрессию RIP белка (Rakwal et al., 2001). Как показано, ауксины негативно влияют на экспрессию генов, индуцируемых поранением, что лимитирует восстановление целостности растительной клетки (Rojo et al., 1998). Ауксины могут быть важны для аттракции питательных веществ пораженного растения к месту локализации гриба и стимулирования его спороношения (Readay, Strzlezyk, 1989). Это, несомненно, способствует эффективному росту и развитию грибов биотрофов и гембиотрофов в тканях хозяина.

При микоризной инфекции высокий уровень ауксинов способствовал формированию большего количества эктомикоризных корней (Gay et al., 1994). Показано, что ИУК ингибировала связывание метаболитов несовместимой расы гриба, среди которых есть и элиситоры, с плазмалеммой растительной клетки и способствовал усилению ее проницаемости (Ладыженская, Проценко, 2002). Таким образом ИУК, вероятно, затрудняет доступ элиситорного сигнала к рецептору растительной клетки, формируя эффект восприимчивости.

Растения устойчивого сорта пшеницы, вероятно, обладают механизмом ингибирования развития патогена, проявляющимся в отсутствии значительных изменений уровня ИУК в растительных тканях на поздних стадиях патогенеза. Можно предположить, что многократное повышение уровня ауксинов в инфицированных органах растений на первоначальных этапах патогенеза проявляется как ответная реакция растения, поскольку

в этот срок доля инфекционного начала в растениях, например *S. nodorum*, еще крайне мала. Это повышение характерно как для устойчивой, так и для восприимчивой пшеницы, что, несомненно, показывает неспецифичность этого явления. В растениях восприимчивой к *S. nodorum* пшеницы оно менее значительно, чем у устойчивой, а в опытах с возбудителем корневых гнилей, даже запаздывает. Согласно данным литературы, *S. nodorum* наиболее активно синтезирует ауксины в конце периода культивирования (Васюк и др., 1996). Вероятно, резкое и многократное повышение уровня ИУК в начальных стадиях патогенеза в устойчивых растениях способствует повышению активности окисляющих ее ферментов. Образующиеся продукты деградации ИУК — оксиндолы и перекиси, обладают высокой цито- и фунгитоксичностью (Гесслер и др., 2007) и могут являться первичным защитным барьером, способствующим подавлению роста гриба в тканях устойчивых растений и в то же время сигналом для запуска систем защиты растительной клетки от патогенного агента. Считается доказанным, что появление ИУК в среде, содержащей пероксидазу, способствует переключению функциональных свойств последней с пероксидазных на оксидазные (Kawano, Furuichi, 2007). При этом фермент начинает активно генерировать супероксид радикалы и включается в процессы окисления ИУК. Кроме этого, ИУК, взаимодействуя с ауксин-связывающими белками АВР<sub>57</sub> (auxin binding protein), может за очень короткое время активировать АТФ-азы плазматической мембраны (Kim et al., 2001), участвующие в сигнальном каскаде и запускающие экспрессию протекторных генов. Расшифрована цепь гормональных изменений, происходящих в растении под влиянием ауксинов. Предполагается, что ранние изменения в уровне ИУК приводят к индукции ферментов этиленового биосинтеза. Этилен, в свою очередь, повышая синтез АБК, приводит к нейтрализации эффекта ауксинов (Grossmann, Hansen, 2001).

Физиологический эффект ауксинов экзогенного (грибного) и эндогенного (растительного) происхождения, вероятно, может различаться, поскольку рецепторы ауксинов обнаруженные на плазмалемме (белок АВР<sub>1</sub>) (Napier et al., 2002), на эндоплазматическом ретикулуме (протеин-дисульфид-изомераза (Sugaya et al., 2000) и в цитоплазме (формальдегид дегидрогеназа (Sugaya, Sakai, 1996), представлены различными белками. Установлено, что обработка растений ауксинами уже через несколько минут может оказывать влияние на экспрессию ряда генов, часть которых задействована в синтезе белков, участвующих в процессах адаптации к стрессовым воздействиям. Трансгенные растения, гиперпродуценты ИУК характеризуются высокой пероксидазной активностью и, как следствие, большей стресс устойчивостью (Csiszar et al., 2004). В то же время мутанты нечувствительные к эндогенному ауксину оказываются восприимчивыми, в частности, к вирусам (Mayda et al., 2000).

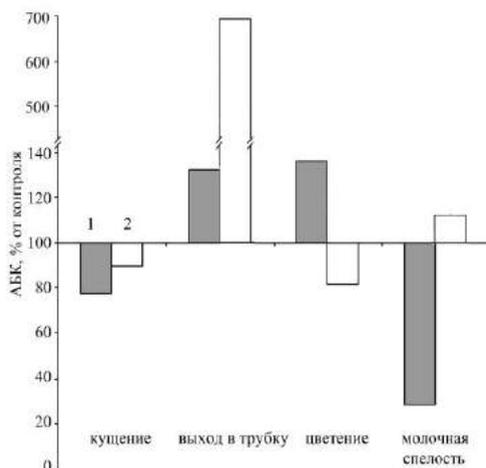
Полученные нами результаты предполагают, что роль ауксинов в развитии защитных реакций неоднозначна. Не вызывает сомнений, что привносимые фитопатогенными грибами ауксины способствуют снижению защитных функций растительной клетки. Однако, резкие изменения в их содержании, в начальные фазы патогенеза, вероятно, происходящие за счет иммобилизации эндогенных резервов этого гормона, могут запускать некоторые механизмы, регулирующие устойчивость растительной клетки против биотрофных патогенов, посредством, например, многократного и локального увеличения уровня АФК с участием оксидоредуктаз (Von Tiedemann, 1997).

На рис. 14 представлены сравнительные данные по изменению уровня АБК в инфицированных *T. caries* проростках (а, б). Как видно, уровень этого фитогормона резко и многократно повышается у восприимчивой пшеницы (рис. 14 а), что отражает стресс при патогенезе. В инфицированных растениях устойчивой пшеницы (рис. 14 б) в начале патогенеза также обнаруживается тенденция к повышению уровня АБК, но в последующем ее содержание снижается и сохраняется на низком, даже в сравнении с контрольными растениями, уровне вплоть до фазы кущения.

Интересно, что в фазу кущения у восприимчивых растений уровень этого гормона резко снижается, что предполагает активное протекание синтетических процессов, происходящих в этот период в инфицированных растениях (рис. 14). В фазу выхода в трубку у растений устойчивой пшеницы содержание АБК повышается многократно, а у восприимчивой — на 30 % (рис. 14). Следует заметить, что, согласно Т.В Ярошенко (1981), в эту фазу роста, устойчивая пшеница окончательно "освобождается" от патогена. В связи с этим транзитное повышение уровня АБК, вероятно, способствует экспрессии генов стрессовых белков, синтез которых находится под контролем этого гормона.

При анализе уровня АБК мы обнаружили в начальной фазе развития септориоза (3 сут.) в растениях повышенный уровень этого гормона. Его содержание в растениях устойчивого сорта было более высоким и кратковременным (рис. 14). В то же время, в восприимчивых растениях уровень АБК постоянно превышал контрольный вариант, что согласуется с данными других авторов (Никитина, Талиева, 2001). В растениях этот гормон запускает синтез более десятка стрессовых PR-белков (Rock, 2000), в том числе тауматин-подобных (PR-5) (Kuwabara et al., 2002), ингибиторов протеиназ [Cartera, Prat, 1998]. Причем важно подчеркнуть, что такой ответ в растениях наблюдается не только под воздействием экзогенной АБК, но и при повышении уровня эндогенного фитогормона (Талиева и др., 1999). Транзитное повышение уровня АБК, более сильное в устойчивых растениях, чем в восприимчивых, вероятно, приводит к снижению негативного воздействия метаболитов грибного происхождения (Волынец и др., 1993)

посредством запуска опосредованного этим фитогормонов антипатогенной программы. Однако нельзя, по-видимому, считать, что АБК, являясь стрессовым гормоном, активно вовлекается в защите растений от фитопатогенов. Позднее и долговременное увеличение количества АБК, вероятно, может приводить к угнетению и ослаблению растений. Так, высокий уровень АБК в растениях при поражении септориозом или корневыми гнилями также способствует некрозу инфицированных тканей, что может благоприятствовать росту и развитию гриба (Michniewicz et al., 1990; Von Tiedemann, 1997).



**Рис. 14.** Влияние *T. caries* на уровень АБК в растениях, контрастных по устойчивости к патогену видов пшеницы *T. aestivum* (восприимчивый) (1) и *T. timopheevii* (устойчивый) (2) в различные фазы вегетационного периода.

Под действием АБК резко снижалось содержание фитоалексинов в клубнях картофеля, вследствие чего они становились восприимчивыми к *P. infestans* (Li, Heath, 1990). АБК в высоких концентрациях снимает вызываемую элиситорами, СК и арахидоновой кислотами СВЧ-реакцию клеток (Audenaert et al., 2002), подавляет активность и экспрессию генов катион стимулируемой АТФ-азы (Ладыженская, Проценко, 2002), анионной и клеточно-стеночной пероксидазы, рибосома инактивирующего белка риса (Rakwal et al., 2001) и ФАЛ (Audenaert et al., 2002). Кроме того, показано, что мутанты томата со сниженным уровнем АБК становятся более устойчивыми к некротрофам, что тесно связано с активностью ФАЛ (Audenaert et al., 2002).

Основываясь на этом можно полагать, что слишком позднее повышение уровня АБК и длительное удержание ее уровня на высоком уровне в восприимчивых растениях не только показатель стресса, но и механизм через который патоген, в особенности некротрофный и гембиотрофный способны инфицировать растения.

Следует отметить, что в отличие от характера изменения уровня ИУК и АБК при грибном патогенезе, содержание ЦК остается более высоким в инфицированных проростках устойчивой пшеницы, чем в восприимчивой. ЦК отводится важная роль в активации фотосинтеза в растениях (Yang et al., 2003), тогда как АБК, напротив, подавляет интенсивность синтетических реакций в хлоропластах (Shu-Qing et al., 2004). Полученные нами данные о различии в концентрации этой пары фитогормонов у растений изученных видов при инфицировании отражаются в характере изменений содержания хлорофиллов. В инфицированных листьях восприимчивой пшеницы происходит снижение их содержания, а в листьях устойчивого вида, напротив, повышение.

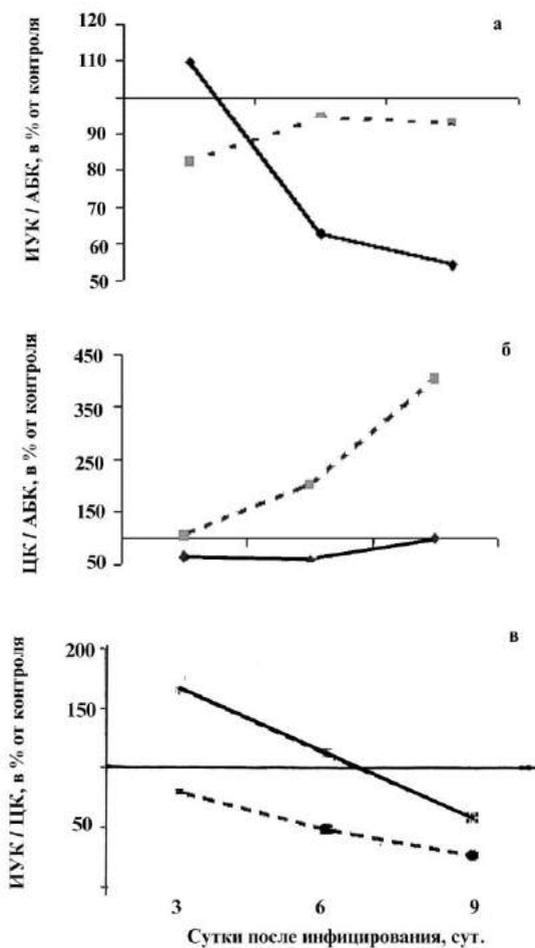
Известно, что патогены способны выделять в среду культивирования ЦК (Ashby, 2000), что вполне справедливо и для спор *T. caries* (Trione, Sajaverdo-Soto, 1986). Считается, что ЦК при биотрофной инфекции экскретируются из спор патогенов во время их прорастания (Андреев, Плотникова, 1989). Поэтому можно предположить, что наблюдаемые изменения в уровне ЦК могут являться следствием их продукции фитопатогенами. О преимуществе грибной доли ЦК в системах хозяин - патоген могут говорить факты выявления высокой их концентрации в грибной цитоплазме и на поверхности гифальных клеток и гаусторий гриба, проникшего в ткани растений пшеницы возбудителя ржавчины (Hu, Rijkenberg, 1998). Аналогичной позиции придерживаются по отношению к биотрофным грибам и другие авторы (Талиева и др., 1999; Ashby, 2000). Повышение содержания ЦК в растениях приводит к увеличению в зоне инфекции размеров ядер клеток и их органелл, увеличению содержания в них РНК и белка и, в случае инокуляции головневыми грибами, вероятно, к усилению митотической активности клеток. Можно предположить, что при биотрофной инфекции, ЦК посредством индуцирования активности ферментов, таких как супероксиддисмутаза и каталаза, могут приводить к снижению эффекта гипернакопления АФК и, как следствие этого, снижению вероятности появления СВЧ-реакции (Beckman, Ingram, 1994). Встречаются данные о подавлении ЦК активности некоторых защитных ферментов растений (Shinshi et al., 1987), а также синтеза фитоалексинов (Beckman, Ingram, 1994) и полиаминов (Walters, 2003).

В то же время, не совсем логично связывать возрастание уровня ЦК в устойчивых растениях со способностью патогенов продуцировать соеди-

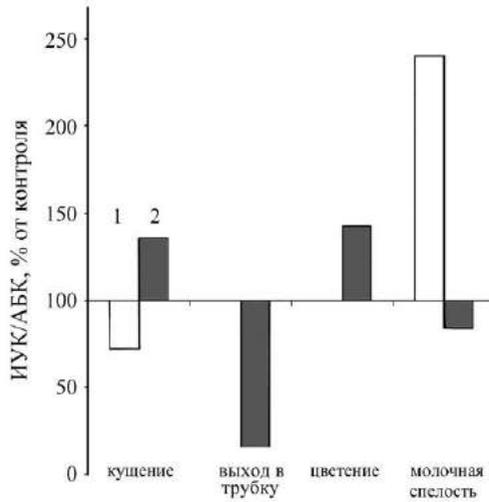
нения этого класса, так как в проростках устойчивых форм пшеницы, где накопление ЦК было более заметным, патогены развивались слабее, чем на восприимчивых растениях. Поэтому многократное увеличение концентрации ЦК в устойчивых растениях, вероятно, связано с усилением метаболической активности растительных клеток и характеризует их способность противостоять патогенам.

Полученные данные свидетельствуют, что роль фитогормонов при формировании реакции устойчивости или восприимчивости сложна и даже неоднозначна, поскольку в изменении их уровня в системе хозяин – патоген участвуют гормоны как хозяина, так и гриба. Однако использование контрастных по устойчивости к патогенам форм пшеницы позволили определить основные отличия в балансе фитогормонов у растений. Показано, что транзитное и многократное увеличение уровня ауксинов и АБК является показателем последующего формирования устойчивости растительных тканей к патогену. В то же время долговременное поддержание их высокого содержания, напротив, является проявлением реакции восприимчивости. Сравнение динамики изменения коэффициента отношения ИУК / ЦК выявило, что она сходна для инфицированных проростков обоих видов пшеницы (рис. 15 в). В инфицированных растениях восприимчивого вида этот коэффициент был высоким в сравнении с собственным контролем и растениями устойчивого вида. Не исключено, что вследствие такого сдвига в балансе указанных гормонов обнаруживаются изменения в ростовых показателях проростков, а также различия в содержании хлорофилла.

Проникновение патогена в растение не остается незаметным для хозяина. На 6 – 9 сут после его инфицирования баланс ИУК / АБК в растениях *T. aestivum* резко падает (рис. 16 а). В связи с увеличением уровня АБК в инфицированных проростках в сравнении с контролем, по видимому, резких изменений в соотношении ЦК/АБК в проростках *T. aestivum* не обнаруживается (рис. 16 б). Таким образом, инфицирование грибом *T. caries* восприимчивых проростков приводит к заметному, но кратковременному увеличению содержания ИУК, и постепенному, но долговременному увеличению уровня АБК в проростках. В то же время в этих проростках изменяется и концентрация ЦК, что в целом приводит к дисбалансу гормональной системы, который, вероятно, и необходим патогену для успешного проникновения в ткани восприимчивой пшеницы.



**Рис. 15.** Влияние инфицирования проростков пшеницы *T. aestivum* (————) и *T. timopheevii* (- - - - -) возбудителем твердой головни на соотношения фитогормонов ИУК / АБК (а), ЦК / АБК (б) и ИУК / ЦК (в).



**Рис. 16.** Характер изменения баланса ИУК/АБК в больных растениях восприимчивой *T. aestivum* (1) и устойчивой *T. timopheevii* (2) к возбудителю твердой головки *T. caries* пшеницы.

Проростки устойчивого вида характеризуются относительной стабильностью коэффициента ИУК / АБК вследствие понижения концентрации обоих фитогормонов (рис. 16 б). Инокуляция приводит к 2,5-кратному увеличению уровня ЦК на фоне снижения концентрации как АБК, так и ИУК в сравнении с контролем, что отражается в сдвиге баланса ЦК / АБК и ИУК/ЦК (рис. 16 б).

Мы изучали влияние *T. caries* на изменение баланса ИУК/АБК в растениях пшеницы также в различные фазы вегетации, которые, как известно, являются значимыми в физиологии взаимоотношения патогена с хозяином (рис. 16). Так, патоген может "усиливать" коэффициент кушения пшеницы и тем самым свой репродуктивный коэффициент. В фазу трубкования грибок "подготавливается" к переходу от вегетативного роста в узле кушения к активному заселению зачатков колоса и формированию в них телиоспор (Trione, Sayaverda-Soto, 1981). В то же время в устойчивых формах растений к фазе трубкования - цветения в тканях растения грибок полностью элиминируется (Ярошенко, 1981).

Как видно (рис. 16), в фазу кушения баланс ИУК / АБК у восприимчивой пшеницы сдвинут в сторону низких значений ИУК в сравнении с АБК, что, вероятно, является одним из факторов снижения апикального доминирования центрального побега и индуцирования закладки новых. Как следствие этого, у таких растений наблюдается повышение коэффициента кушения. Характерно, что в последующем, вплоть до фазы

молочной спелости в балансе этих двух фитогормонов отличий от контрольных растений не наблюдается, что говорит об установлении сбалансированных по изученным фитогормонам "симбиотических" отношений между растением и патогеном на этих этапах роста пшеницы.

Многokратное увеличение соотношения ИУК / АБК в фазу молочной спелости зерновок, вероятно, связано с формированием инфекционных, визуально различимых, структур и замене содержимого зерновки вновь образованными телиоспорами патогена. У устойчивой же пшеницы, напротив, в фазу кушения соотношение ИУК / АБК сдвинуто в сторону повышенных концентраций ИУК, а впоследствии, к фазе трубкавания, наоборот, этот коэффициент сдвигается в сторону повышенного уровня АБК. Резкие изменения в уровне АБК, в сравнении с ауксинами, вероятно, способствуют запуску программы элиминации патогена. Поскольку в устойчивых растениях уровень исследованных фитогормонов находится в целом в сбалансированном состоянии, значительных изменений в коэффициенте ИУК / АБК не наблюдается. В то же время у восприимчивых растений они могут быть значительными. Необходимо заметить, что и в фазу кушения в растениях мы также наблюдаем относительно низкий уровень ИУК в сравнении с АБК.

Таким образом, мы проследили изменение уровня фитогормонов (ИУК, АБК и ЦК) в проростках и взрослых растениях пшеницы, инфицированных тремя видами фитопатогенов. Исследования пространственно разобнесенных органов растений показало, что местное изменение концентрации фитогормонов, вероятно, за счет высвобождения из связанных форм может приводить к передаче сигнала по растению и вызывать в разных органах специфические физиологические реакции. Определение уровня фитогормонов в удаленных от инфекции органах, вероятно, могут нам подсказать, какого преимущественно они происхождения растительного или грибного, поскольку давно доказано, что в растении их продукция приурочена к определенным органам. Так, например, известно, что ауксины, преимущественно синтезируются в надземной апикальной меристеме, транспортируются в корни, а ЦК, напротив, преимущественно синтезируются в корневой системе, транспортируются в надземные органы. Получены экспериментальные доказательства усиления образования АБК, ЖАК и системина в отдаленных органах при распространении через стебли электрических сигналов (Keith, 1992). В то же время ясно, что локально развивающиеся патогены (*S. nodorum* и *V. sorokiniana*), вероятно, регулируют баланс фитогормонов только в местах своего развития, поскольку растения для них, в первую очередь, субстрат для существования.

Известно, что ауксины, АБК и ЦК могут проявлять четко выраженный антагонизм в действии на растительную клетку (Swarup et al., 2002). Это

визуально проявляется на каллусах в виде корнеобразования при высоких концентрациях ауксинов и образования побегов под влиянием ЦК, а АБК ингибирует все процессы индуцируемые вышеуказанными фитогормонами. Ауксины могут регулировать уровень ЦК посредством экспрессии генов ЦК оксидазы (Swarup et al., 2002), а ЦК регулируют синтез пероксидаз, вовлеченных в катаболизм ауксинов. Известно, что в интактных растениях, не подвергнутых стрессу, соотношение фитогормонов находится во взаимно компенсирующем друг друга балансе. Инфицирование, как и любой другой стресс, приводит к его нарушению, что четко проявляется у растений, восприимчивых к патогенам. Так биотрофный и гембиотрофный патогены, стимулируя синтез ауксинов, приводят к увеличению соотношения ИУК / АБК. В устойчивых сортах содержание ауксинов тоже повышается. Но в этом случае повышается также и уровень АБК, компенсирующий всплеск в содержании ИУК, и в балансе ИУК / АБК значительных изменений не наблюдается. Баланс ЦК / АБК в восприимчивых сортах сдвинут в сторону АБК, а в устойчивых — в сторону ЦК. Это предполагает превалирование процессов синтеза белков, в том числе и защитных, у последних, и, напротив, супрессирование у восприимчивых.

Интерес представляют данные о комбинационной регуляции активности защитных белков под влиянием гормонов. Так, например, если отдельно экзогенные ЦК приводили к репрессии активности 1-аминоциклопропан-1-карбоксилат-оксидазы, ключевого фермента синтеза этилена, то в комбинации с ИУК и МЖ многократно экспрессировали ее (Biondi et al., 2003). Ингибирование ауксинами и ЦК синтеза полиаминов, характеризующихся определенными антифунгальными свойствами, восстанавливалось метилжасмонатом (Biondi et al., 2003). Особо высокая их экспрессия наблюдалась под воздействием комплекса ИУК + бензиладенин + метилжасмонат, что предполагает синергизм при их совместном влиянии. Однако, иные данные, были получены на листьях риса, где ЖАК индуцирует синтез фитоалексинов (Tamogami et al., 1997). ЦК, как правило, ингибировали активность ключевого фермента их синтеза (Tamogami et al., 1997). ЖАК, метилжасмонат и АБК ингибировали активность кислых липоксигеназ сои, однако добавление в среду инкубации гипокотилей НУК приводило к увеличению их активности.

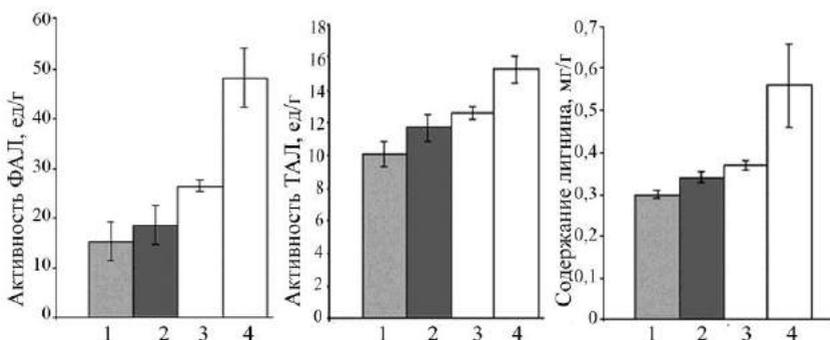
Можно уверенно сказать, что в процессе развития патологического процесса гормоны играют критическую (главную) роль, связанную как с формированием устойчивости, так и восприимчивости.

#### 4. Регуляция синтеза лигнина растений и трофность патогенов

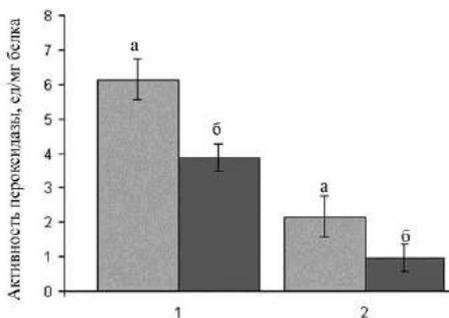
Накопление и отложение лигнина рассматривается как один из основных механизмов защиты растений при взаимодействии их с патогенами (Blokchina et al., 2003; Горшкова и др., 2005; Яруллина, Ибрагимов, 2006). Большинство патогенов не способно расщеплять лигнинсодержащие структуры растительных клеток. Поэтому лигнифицированные клетки образуют вокруг внедряющегося фитопатогена своеобразный физический и химический барьер, препятствующий его продвижению и развитию, а также ограничивает диффузию, выделяемых им токсинов (Дьяков и др., 2001; Bolwell, Daudi, 2009).

**Биотрофный тип паразитизма.** Выявлено, что при заражении растений пшеницы возбудителем твердой головки, значительная роль принадлежит процессам лигнификации и накопления лигнина в растительных тканях. Как видно, в зараженных проростках восприимчивого сорта Жница содержание лигнина не повышается и определяется на уровне контроля. Тогда как в проростках устойчивой пшеницы *T. timopheevii* в ответ на инфицирование происходит интенсификация лигнинообразовательных процессов (рис. 17). Так, в 7-ми суточных проростках *T. timopheevii* содержание лигнина повышается в 1,5 раза по сравнению с незараженными растениями. При этом высокий постинфекционный уровень накопления лигнина в растениях устойчивого вида обусловлен активацией ферментативных систем, как ФАЛ, так и ТАЛ (рис. 17). Как уже отмечалось, повышение активностей этих ферментов обычно коррелирует с быстрой и эффективной лигнификацией.

В литературе имеется много фактического материала о повышении активности пероксидазы в устойчивых и восприимчивых сортах растений при заражении их патогенами. Часть исследователей считает, что повышение активности фермента коррелирует с устойчивостью (Максимов, 2005), в то время как другие связывают повышение активности пероксидазы с чувствительностью к болезням. Возможно, что выявленное нами (рис. 18) снижение общей активности пероксидазы в проростках устойчивого и восприимчивого видов пшеницы при заражении возбудителем твердой головки, способствует проникновению патогена в ткани хозяина.

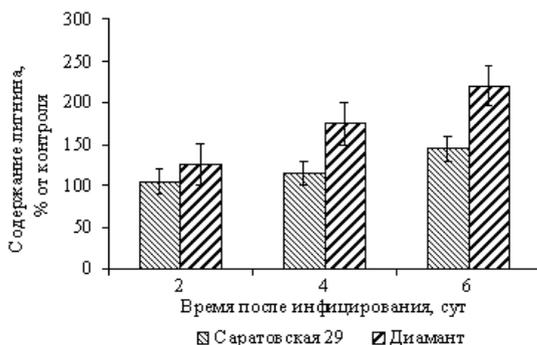


**Рис. 17.** Активность ФАЛ, ТАЛ, содержание лигнина в проростках пшеницы восприимчивого сорта Жница (1,2) и устойчивого вида *T. timopheevii* К-58665 (3,4) при инфицировании *T. caries*.  
1, 3 — контроль, 2, 4 — заражение.



**Рис. 18.** Активность пероксидазы в проростках пшеницы при инфицировании возбудителем твердой головни (ед/мг белка).  
1 — *T. timopheevii*; 2 — *T. aestivum*;  
а — контроль; б — инфицирование.

**Гемибактериальный тип паразитизма.** Результаты наших исследований показали, что интенсивность процессов лигнификации в растительных тканях является одним из ведущих факторов обеспечения устойчивости к этому патогену. Как видно на рис. 19, в листьях растений устойчивого сорта на 6-е сут. после инфицирования *S. nodorum* происходит двукратное повышение содержания лигнина. В тканях восприимчивого сорта повышение уровня лигнина составляет всего 40% к контрольному значению.

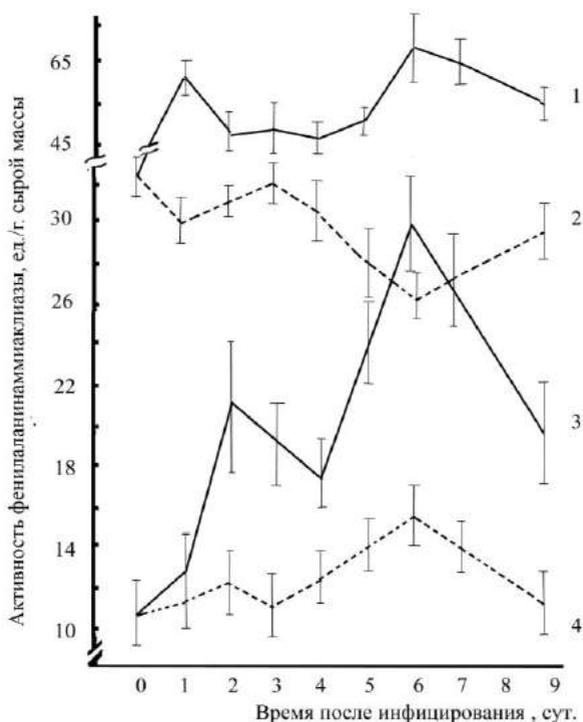


**Рис. 19.** Динамика изменения содержания лигнина в листьях пшеницы устойчивого сорта Диамант и восприимчивого сорта Саратовская 29 при инфицировании возбудителем септориоза.

Нами уже отмечалось, что начальным этапом синтеза лигнина служит дезаминирование фенилаланина и тирозина, катализируемое ферментами ФАЛ и ТАЛ, что приводит к образованию оксикоричных кислот (Boudet, 2000). В дальнейшем, неупорядоченная полимеризация этих кислот под действием пероксидазы приводит к образованию лигнина (Hawkins, Boudet, 2003).

Проведенные исследования показали, что инфицирование растений пшеницы возбудителем септориоза приводит к активации ФАЛ в листьях, которая в зависимости от устойчивости сорта различна (рис. 20). Растения устойчивого сорта Диамант уже через 24 ч. после инокуляции характеризуется увеличением активности ФАЛ вдвое по сравнению с контролем, а на 6-е сут. происходит трехкратное увеличение активности фермента. Увеличение активности ФАЛ в растениях восприимчивого сорта Саратовская 29 наступает лишь через 48 ч. после заражения; оно значительно ниже, чем в листьях устойчивого сорта Диамант. Активация ФАЛ через 24 ч. после инфицирования свидетельствует о раннем ответе растительных клеток устойчивого сорта на проникновение патогена.

Повышение активности фермента на 6-е сут. после заражения, вероятно, связано с включением защитных реакций растительного организма. Высокая активность ФАЛ обуславливает синтез антигрибных веществ, играющих существенную роль в устойчивости растений (Тютюрев, 2002). Показано, что на ранних этапах патогенеза в растениях устойчивого сорта активируется не только ФАЛ, но ТАЛ (Яруллина и др., 1997).

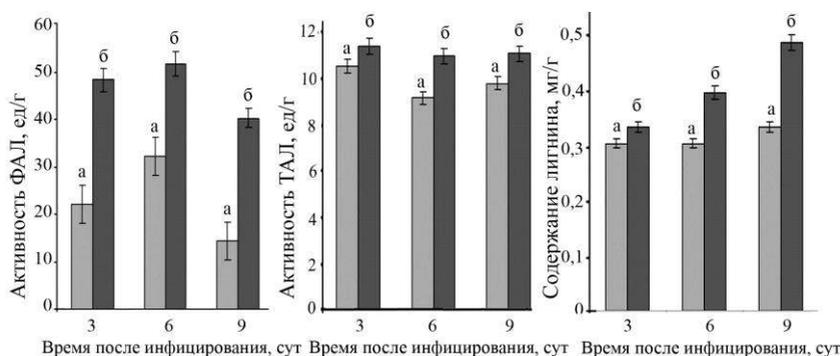


**Рис. 20.** Динамика активности ФАЛ в листьях пшеницы устойчивого сорта Диамант (1,2) и восприимчивого сорта Саратовская 29 (3, 4) при инфицировании возбудителем септориоза: контроль (2, 4); опыт (1, 3).

Повышение активности этих ферментов обычно коррелирует с быстрой и эффективной лигнификацией (Boudet, 2000). Как уже отмечалось, в листьях растений оксикоричные кислоты из предшественников могут образовываться и под действием ТАЛ. Показано, что здоровые проростки устойчивого сорта характеризуются более высоким уровнем ионно-связанной пероксидазы, чем проростки восприимчивого сорта (Максимов, 2005). Эффективная защитная функция пероксидаз осуществляется в результате синтеза полифенольных соединений в непосредственной близости от инфекционных структур (Максимов и др., 2011). Высокая активность ионно-связанных и клеточно-стеночных пероксидаз обеспечивает основу протекторной функции растительной клеточной стенки за счет инактивации поступающих извне токсинов и других физиологически активных соединений. Результаты исследований свидетельствуют, что

инфицирование пшеницы возбудителем септориоза, сопровождается активацией ферментов лигнинового обмена. У растений устойчивого сорта активационные процессы происходят значительно быстрее и эффективнее, по сравнению с растениями восприимчивого сорта. За счет этого достигается высокий уровень синтеза фенольных соединений в клетках устойчивых растений и в тканях создается эффективный лигниновый защитный барьер.

**Некротрофный тип паразитизма.** Эксперименты, проведенные с контрастными по устойчивости к *Bipolaris sorokiniana* сортами мягкой пшеницы, позволили установить определенные закономерности проявления активности ферментов ФАЛ и ТАЛ и накопления лигнина в инфицированных растениях. Показано, что у растений устойчивого сорта Заря в местах внедрения и локализации патогена (корни) происходит интенсивная активация ФАЛ на протяжении всего срока наблюдений, что сопровождается высоким уровнем лигнина (рис. 21).



**Рис. 21.** Динамика активности ФАЛ, ТАЛ, содержания лигнина в корнях пшеницы устойчивого сорта Заря при инфицировании *B.sorokiniana*: а — контроль, б — заражение.

В растениях восприимчивого сорта кратковременное повышение активности ФАЛ не приводило к повышению содержания лигнина в тканях. Вероятно, защитный эффект накопления лигнина достигается при более продолжительной активации фермента ФАЛ, которое имеет место в тканях корней устойчивого сорта пшеницы.

Заражение растений обоих сортов не приводило к изменениям в активности ТАЛ в корнях. Это, вероятно, свидетельствует о том, что в корнях растений пшеницы поток ассимилятов шикиматного пути направляется в русло биогенеза лигнина в основном через L-фенилаланин, а не через L-тирозин. В корнях L-тирозин может подвергаться декарбок-силированию с образованием ароматических аминов. В надземных частях

растений эта аминокислота дезаминируется до образования оксикоричных кислот и лигнина (Загоскина и др., 2005).

В листьях растений устойчивого сорта высокая ферментативная активность выявляется на всех этапах патогенеза. В листьях растений восприимчивого сорта инфицирование приводило к кратковременному повышению активности ФАЛ и ТАЛ, а затем уровень ферментативной активности в них был даже ниже, чем у контрольных растений. Можно предположить, что в инфицированных растениях устойчивого сорта часть предшественников и промежуточных соединений лигнина могут транспортироваться из листьев в корни и включаться в синтетические процессы.

Таким образом, стратегия защитного ответа растения–хозяина определяется типом паразитизма возбудителя болезни. При заражении пшеницы патогеном с некротрофным типом питания, высокий уровень лигнина в местах внедрения гриба обеспечивается активацией ферментов фенольного метаболизма, как в инфицированных органах, так и в неинфицированных. Концентрация лигнина, необходимая для подавления развития грибов с биотрофным и гембиотрофным типом питания, достигается активацией не только ФАЛ, но и ТАЛ. Несмотря на различия в этиологии болезней, признаком устойчивых форм является высокий постинфекционный уровень синтеза и накопления лигнина, обусловленный ранней и значительной активацией ферментов лигнификации. Для восприимчивых растений характерна исходно низкая активность ферментов лигнификации, что не обеспечивает достаточную интенсивность синтетических процессов и, в конечном итоге, высокий уровень содержания лигнина, достаточный для эффективной защиты при патогенезе.

## **5. Функциональная активность ДНК в патогенных системах с различным типом трофности**

Особое важное место во взаимодействиях растений с патогеном занимает система рецепции, передачи сигнала и запуска экспрессии ряда генов защитных белков (PR-белков). Проведенная нами оценка функциональной активности ДНК ядер клеток растений *T. aestivum* сорта Московская 35, окружающих пораженные *B.sorokiniana*, *S. nodorum* и *P. recondita* участки листьев, показала зависимость величины этого параметра от времени, прошедшего после инокуляции растений, и видовой принадлежности патогенов.

Так, через 24 ч. после инокуляции во всех вариантах опыта функциональная активность ДНК соответствовала уровню контроля. Затем, в течение 36 – 48 ч она постепенно возрастала в 1,2 – 1,6 раза (рис. 21), хотя характер ответа клеток мезофилла зависел от типа питания фитопатогена. Через 5 – 6 сут после инокуляции листьев *P. recondita* функциональная

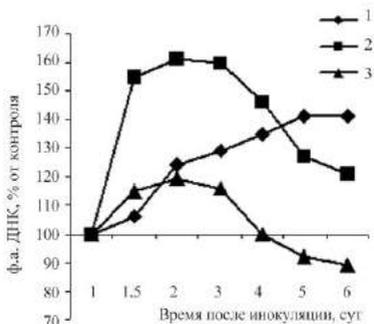
активность ДНК ядер клеток продолжала возрастать. Это неудивительно, так как известно, что *P. recondita*, характеризующийся биотрофным способом питания, в больших количествах выделяет в ткани растений рост стимулирующие соединения (Андреев, Плотникова, 1989).

В вариантах опыта с инфицированием листьев *B. sorokiniana*, напротив, после небольшого и кратковременного подъема происходило postupательное подавление метаболической активности ядер. По-видимому, в ходе патогенеза в балансе метаболитов этих грибов доля компонентов, оказывающих неблагоприятное влияние на клетки растений, возрастала. В самом деле, установлено, что токсические вещества, продуцируемые *B. sorokiniana*, временно активируют, а затем подавляют метаболическую активность клеток растений.

Закономерности развития на растениях гембиотрофных грибов исследованы мало. Тем не менее, уровень функциональной активности ДНК ядер в опыте с *S. nodorum*, более высокий на протяжении первых 2 сут. эксперимента, чем в случае инфицирования *P. recondita* (рис. 22), позволяет сказать, что в эти сроки опыта *S. nodorum*, по-видимому, в значительных количествах выделяет рост стимулирующие соединения. Постепенное снижение функциональной активности ядер, отмечаемое через 5 – 6 сут после инокуляции (рис. 21), происходило, вероятно, за счет продукции *S. nodorum* ингибиторов метаболической активности клеток растений. Таким образом, оценка функциональной активности ДНК показала, что во всех вариантах опыта на протяжении 2 сут. после инокуляции вокруг инфицированных клеток растения образуются зоны, где клетки мезофилла характеризуются повышенным по сравнению с контролем значениями этого показателя. Параметры этих зон были неодинаковы для исследуемых патогенов. В связи со сказанным можно было ожидать, что при последовательной инокуляции листьев любой парой патогенов интенсивность вторичной инфекции будет зависеть как от их комбинации, так и от расстояния между точками нанесения инокулюма.

При проверке этого выявлено, что при расстоянии между точками нанесения инокулюма в 1 мм зоны пораженных грибами *S. nodorum* и *P. recondita* соприкасались, но их суммарная площадь была значительно меньше удвоенной величины контроля (табл. 3). Вероятно, в таком варианте опыта происходило самоигибирование развития на растениях как грибом *S. nodorum*, так и *P. recondita*. С увеличением расстояния до 3 мм участки первичного и вторичного поражения листьев наблюдались раздельно. В этом случае площадь первичного поражения соответствовала контролю, а вторичного — была несколько ниже контроля, что указывает на влияние первичной инфекции на интенсивность симптомов вторичной

инфекции. Однако это влияние не регистрировалось при увеличении расстояния между точками инокуляции до 6 мм (табл. 3).



**Рис. 22.** Функциональная активность ДНК ядер клеток мезофилла растений пшеницы *T. aestivum* сорта Московская 35 в зонах развития *P. recondita* (1), *S. nodorum* (2) и *B. sorokiniana* (3) (Трошина и др., 1992).

**Таблица 3**

Площадь пораженных участков листьев пшеницы сорта Московская 35 грибами *S. nodorum* (1) и *P. recondita* (2)

Расстояние между точками нанесения инокулюма, мм	Интенсивность симптомов болезней			
	1+1	2+2	1+2	2+1
1	1.2	1.3	1.1± 0.1	0.2± 1.5
3	1.0± 0.9	1.0± 0.9	0.6± 0.4	0.5± 0.7
6	1.0± 1.0	1.0± 1.0	1.0± 0.8	0.9± 1.0

Примечание: показатель регистрировали через 7 сут. после инокуляции; показатель при однократной инокуляции листьев грибами *S. nodorum* и *P. recondita* были приняты за 1,0.

Иная картина наблюдалась при заражении листьев растений грибами разных видов *S. nodorum* и *P. recondita*. Нами обнаружено, что при обеих комбинациях грибов при расстоянии между точками нанесения инокулюма 1 мм возбудитель септориоза развивался интенсивнее, чем в контроле, одновременно с очень ослабленным развитием возбудителя бурой ржавчины (табл. 3). Эти факты заставляют предполагать, что при нанесении инокулюма грибов на эпидермис листьев растений пшеницы на расстоянии 1 мм между точками инокуляции гриб *S. nodorum* подавляет развитие гриба *P. recondita*, но гриб *P. recondita* стимулирует развитие гриба *S. nodorum*.

С увеличения расстояния между точками инокуляции до 3 мм размеры пораженных каждым из грибов участков были значительно меньше, чем в контроле (табл. 3). Это свидетельствовало о взаимном ингибировании

развития патогенов, но в большей степени все-таки гриба *P. recondita*. При дальнейшем увеличении расстояния между точками инокуляции площади инфицированных участков приближались к уровню контроля. Ослаблению развития на листьях растений пшеницы разных видов ржавчины на фоне интенсивного развития возбудителя септориоза описано в литературе. Обращает на себя внимание резкая смена характера взаимоотношений грибов грибами *S. nodorum* и *P. recondita* на расстоянии 1 и 3 мм. Причина ее неясна и требует особого исследования.

Таким образом, чтобы защитить себя от большого количества патогенов в растениях развиваются сложные системы защиты в зависимости от трофности инфицирующего агента. СК и ЖАК-зависимые защитные ответы являются доминирующими первичными сигналами развития локальной и системной устойчивости, а взаимодействие между сигнальными путями обеспечивает растение мощным регуляторным потенциалом и может позволить ему адаптировать защитный ответ на воздействие различных патогенов. Устойчивость растения находится под влиянием системных сигналов, опосредованных растительными гормонами. Фитогормоны их совместный вклад во взаимоотношения растение – патоген имеет решающее значение для фитопатологии. Предполагается, что ключевой стратегией вирулентности патогена является модуляция гормонального сигнала у растений. Эти стратегии весьма разнообразны. Как показали наши исследования возбудители грибных болезней различной трофности индуцируют сдвиг гормонального баланса инфицированного растения. Изменение концентрации фитогормонов в устойчивых растениях обеспечивает успешное протекание защитных реакций, в том числе направленных на укрепление физических и химических барьеров (лигнификация). Дисбаланс гормональной системы в восприимчивых растениях направлен на подавление формирования защитного ответа растительных клеток и обеспечивает успешный рост и развитие патогенов. Изменения в содержании фитогормонов больного растения определяются трофностью инфицирующего агента, местом его локализации и фазой развития растения. Понимание механизмов сигнального взаимодействия СК, ЖАК и этилена с гормонами растения и гриба, такими как ЦК, ИУК, АБК представляется ключевой задачей будущего, от решения которой во много зависит раскрытие особенностей взаимоотношений в системе «растение-хозяин – патоген». Полученные знания в конечном итоге позволят подойти к проблеме профилактики защиты растений от патогенов различной степени трофности.

## **6. Использование знаний о трофности патогенов в защите растений**

Современная система защиты сельскохозяйственных культур от болезней основывается на научно обоснованных способах культивирования растений, обеспечивающих наиболее благоприятные условия их развития и способствующие формированию у них устойчивости к патогенам с различным типом трофности. Во всех системах земледелия важнейшим условием получения высоких урожаев является интегрированная защита посевов от вредителей и болезней, включающая организационно-хозяйственные, селекционные и агротехнические мероприятия, использование различных средств защиты (СЗР).

Наиболее надежный метод защиты растений от болезней — возделывание устойчивых сортов. Селекционерами созданы сорта зерновых культур, устойчивые к отдельным видам головни и ржавчины, сорта льна, устойчивые к фузариозу, картофеля — к фитофторозу и раку, подсолнечника — к ржавчине, табака — к пероноспорозу, яблони — к парше, капусты — к киле и др. Знания о путях рецепции, передачи сигнала и дальнейшей ответной реакции позволяют создать ряд более технологичных сортов, характеризующихся, с одной стороны, высокой комплексной устойчивостью относительно широкому кругу патогенов, а с другой, — формирующих высокую продуктивность.

Основными СЗР до настоящего времени остаются пестициды, прошедшие сложный путь от чисто эмпирических приемов до научно обоснованных комплексных мероприятий. Современные препараты для защиты растений от вредных организмов можно условно разделить на 3 группы. Первая — это пестициды с явным биоцидным эффектом, уничтожающие целевые «вредные» организмы. Эффективность их применения достаточно высока. Однако, они уничтожают и «полезные» в агроценозе виды, что является их основным «минусом», имеют слабую степень утилизации в природных сообществах, накапливаются в продуктах питания и характеризуются высокой канцерогенностью. Согласно данным ФАО-ВОЗ, остатки пестицидов обнаруживаются в почти 40 % используемых в пищу продуктах. В связи с этим в растениеводство стали внедряться фунгициды системного действия, менее токсичные и быстро утилизирующиеся в растениях. Важно заметить, что системные препараты азольного ряда, в дополнение к биоцидному эффекту, способны запускать в растениях естественные механизмы защиты растений по сценарию СПУ (Iwai et al., 2007), то есть формировать у растений устойчивость к патогенам-биотрофам. Их использование, к сожалению, сопряжено с материальными затратами, поскольку они дороги, производятся за рубежом, и у патогенов к ним со временем может формироваться резистентность.

К потенциальной группе средств защиты растений следует отнести низкомолекулярные вещества, использование которых основано на знаниях особенностей патогенов и способные стимулировать иммунный потенциал растений. По одной из классификаций (Дьяков и др., 2001) такие биопрепараты условно делятся на: 1) повышающие устойчивость клеточных стенок растений к атаке патогена за счет накопления в инфицированных тканях кремния или лигнина; 2) активирующие фенольный метаболизм; 3) индуцирующие синтез фитоалексинов; 4) приводящие к сенсбилизации растений, то есть подготавливающие их к атаке патогена; 5) усиливающие чувствительность клеток гриба к внешним воздействиям, в том числе со стороны гидролаз растений. Согласно О.Л. Озерецковской и др. (2006), индуцирование системной болезнеустойчивости растений с помощью природных элиситоров обладает рядом преимуществ перед химическими. К их числу следует отнести низкую степень опасности для людей, организмов, не являющихся мишенями действия препарата, и окружающей среды; способность повышать устойчивость у растений-хозяев, лишенных генов устойчивости, к болезнетворным агентам; способность индуцировать устойчивость растений на горизонтальном уровне, создавая их более длительную защиту, чем при применении фунгицидов, и требующее более низких концентраций специфичных для хозяина веществ; полифункциональность, то есть формирование неспецифической устойчивости растений к комплексу патогенов и фитофагов.

Особый интерес представляют препараты, действующим началом которых являются живые культуры микроорганизмов (бактерий, грибов) и их метаболиты (Bakker et al., 2007; Pieterse et al., 2014). Их защитное действие обусловлено способностью продуцировать: а) антибиотические соединения пептидной и низкомолекулярной природы; б) различные сидерофоры и хелаторы, способствующие усилению усвояемости растениями макро- и микроэлементов, в том числе кальция, железа или, напротив, изолирующие тяжёлые металлы или токсические органические вещества, в том числе вырабатываемые и патогенными микроорганизмами; в) вещества, переводящие фосфор из нерастворимого состояния в растворимое, а также, усиливающие способность других азотфиксирующих бактерий фиксировать атмосферный азот; г) ферменты, деградирующие клеточные стенки патогенов (хитиназы,  $\beta$ -1,3-глюканазы), а также их токсины; д) регуляторы роста и различные сигнальные молекулы (ауксины, гиббереллины, ЦК, АБК, СК и ЖАК); е) ферменты, способствующие синтезу этилена в растениях и др.

Регулирующие рост растений бактерии способны как продуцировать ауксины (Dodd et al., 2010), ЦК (Kudoyarova et al., 2014), гиббереллины (Dobbelaere et al., 2003), АБК (Dodd et al., 2010; Belimov et al., 2014), ЖАК (Forchetti et al., 2007) и СК (De Meyer et al., 1999) так и, напротив,

тормозить их синтез растениями (Belimov et al., 2008) или утилизировать гормоны (Belimov et al., 2014). В сигнальной регуляции с участием ризосферных и эндофитных бактерий вовлечены также низкомолекулярные летучие органические соединения, такие как 3-гидрокси-2-бутанон (ацетоин) и 2,3-бутандиол, 2-пентилфуран, способные легко распространяться на большие расстояния посредством диффузии в воздухе, через поры в почве и передавать соседним растениям сигнал о появлении угрозы повреждения (Pertry et al., 2006). Например, 2,4-диацетилфлороглюцин, продуцируемый *P. fluorescens* ША0, индуцировал СИУ в растениях арабидопсиса к оомицету *Hyaloperonospora arabidopsidis* (биотрофу), томатов — к галловой нематоды *Meloidogyne javanica* (De Vleesschauwer, Höfte, 2009). 2,4-диацетилфлороглюцин действовал через подавление патогениндуцированного ауксинового сигнала, что стало ясно из работ с ауксин-устойчивыми мутантами томатов, нечувствительными к этому соединению (Bakker et al., 2007). Интересны данные об усилении устойчивости растений к гембиотрофам и некротрофам, вызванное вырабатываемыми бактериями циклолипопептидами и связанное с активацией ферментов липоксигеназного пути, ведущего к формированию широкого спектра вторичных метаболитов (Ongena et al., 2010; Sawoy et al., 2014). В то же время интересны данные о индуцировании этими низкомолекулярными веществами ферментов фенилпропаноидного метаболизма (Dixon et al., 2002), Са-зависимого подщелачивания среды и накопления активных форм кислорода (АФК) (Simons et al., 2008), говорящие, что ризобактерии могут вовлекаться и в активацию системы защиты против биотрофов. Псевдобацин, выделенный из штамма *P. putida* В10, подавлял развитие *F. oxysporum* в почвах обедненных железом (Klopper et al., 2009; Luo et al., 2012), продуцируемый штаммом *P. putida* WCS 358, подавлял рост гриба *B. cinerea* (некротроф) в томатах (Bakker et al., 2007). В то же время бактерии, не синтезирующие псевдобацин, теряли способность индуцировать СИУ в растениях (De Vleesschauwer et al., 2009). В растениях риса псевдобацин *P. fluorescens* WCS 374 индуцировал СИУ к пирикулярриозу, вызываемому аскомицетом *Magnaporthe oryzae* (гембиотроф), усиливая генерацию  $H_2O_2$  в эпидермисе, накопление фенольных соединений и укрепление клеточной стенки растений в зоне инфицирования (De Vleesschauwer et al., 2008).

Феномен опосредованной защиты растений ризобактериями благодаря регуляции ими иммунного ответа хозяина был впервые описан тремя независимыми исследовательскими группами: Alstrom (1991) на растениях фасоли, инокулированных штаммом *Pseudomonas fluorescens* S97 и зараженных *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*, van Peer с соавт. (1991) при повышении устойчивости растений гвоздики к *Fusarium oxysporum* f. sp. *Dianthi* (некротроф), инокулированных штаммом *P. fluorescens*

WCS417, и Wei с соавт. (1991), которые показали способность шести из 94 штаммов ризобактерий повышать устойчивость растений огурца к антракнозу, вызываемому *Colletotrichum orbiculare* (гемибиотроф). СИУ, вызываемая ризобактериями, является эффективной против широкого спектра патогенов растений, в том числе оомицетов, грибов, бактерий и вирусов (Van Loon, 2007), и даже насекомых и травоядных животных (Van Oosten et al., 2008), и проявляется у разнообразных видов растений, в том числе арабидопсиса, фасоли, гвоздики, эвкалипта, редиса, табака, томата (Van der Ent et al., 2009; Beneduzi et al., 2012; Kloepper et al., 2009), риса, кукурузы и пшеницы (Rosenblueth, Martínez-Romero, 2011; Yi et al., 2013). Но в то же время вызываемая эндозитными бактериями СИУ, фенотипически сходна с патоген-индуцированной СПУ, однако характеризуется активацией синтеза ЖАК и этилена (Pieterse et al., 2014).

В арабидопсисе СПУ, индуцированная авирулентным штаммом *P. syringae* pv. *tomato*, и СИУ, индуцированная штаммом *P. fluorescens* WCS417г, были одинаково эффективны против вирулентных штаммов *F. oxysporum* (некротроф) и *H. arabidopsidis* (биотроф), вызывающих корневую гниль и ложную мучнистую росу соответственно (Van der Ent et al., 2009). С другой стороны, штаммы бактерий *P. fluorescens* СНА0, *P. aeruginosa* 7NSK2, *B. subtilis* 26Д и *Penicillium chrysogenum* вызывали СИУ, эффективную при заражении такими некротрофами, как *Alternaria brassicicola* и *Botrytis cinerea* (Van der Ent et al., 2009); штаммы *B. cereus* BS107 и *P. fluorescens* индуцировали устойчивость к бактериальной гнили, вызванной *Xantomonas* sp. (Ton et al., 2002).

При исследованиях мутантов арабидопсиса с нарушениями сигналов ЖАК (*jar1*, *jin1* и *coi1*) и этилена (*etr1*, *ein2*, *ein3* и *eir1*) было показано, что в регуляции СИУ, индуцированной *P. fluorescens* WCS417г, *Serratia marcescens* 90–166 ЖАК и этилен являются гормонами, регулирующими устойчивость по независимому от СК пути (Pozo et al., 2008; Pieterse et al., 2014). То же самое было показано на растениях томата и риса (Van der Ent et al., 2009; Pieterse et al., 2014). Тем не менее, встречаются микроорганизмы вызывающие СК-зависимый тип СИУ. Так, СК-продуцирующий мутант *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2 повышал устойчивость к различным болезням у растений фасоли и томатов дикого типа, но не у мутантов NahG, не способных накапливать СК (Audenaert et al., 2002). Индуцированная штаммом *B. subtilis* FB17 устойчивость арабидопсиса к *P. syringae* pv. *tomato*, а также устойчивость, индуцированная *Streptomyces* sp. EN27 к *Erwinia carotovora* и *F. oxysporum* в арабидопсисе, была связана с накоплением эндогенной СК и увеличением экспрессии *PR-1* (Van der Ent et al., 2009).

Еще одной отличительной особенностью СК-независимой СИУ, опосредованной СРРБ, является отсутствие прямой активации экспрессии

*PR*-генов и развитие прайминга (Conrath et al., 2006; Pastor et al., 2013). При изучении влияния бактерии *P. fluorescens* WCS417г на транскриптом арабидопсиса до и после заражения патогеном было доказано, что СИУ связана с усилением экспрессии ЖАК / этилен-регулируемых генов, индуцирующихся после атаки патогеном (Актуганов и др., 2007). СИУ, развивающаяся по пути прайминга, проявляется на различных этапах взаимодействия растений с патогенами и насекомыми, начиная от ранних ответов, контролируемых гормональной системой, активирующей различные сигнальные и защитные белки, и заканчивая долгосрочными ответами, вовлекающими регулированные изменения хроматина и метилирование ДНК (Pastor et al., 2013).

Ризобактерия *P. putida* LSW17S индуцировала быстрое накопление транскриптов *PR*-генов и продукцию  $H_2O_2$  в растениях томата, инфицированных *P. syringae* pv. *tomato* DC3000, что приводило к ингибированию развития патогена (Ahn et al., 2011). Уменьшение гнили, вызванной *Rhizopus stolonifer*, на плодах персика, обработанных *B. cereus* AR156 и *B. subtilis* SM21, было связано с повышением содержания  $H_2O_2$ , увеличением транскрипционной активности генов хитиназы,  $\beta$ -1,3-глюканазы и фенилаланинаммоний-лиазы (ФАЛ) и активностью их белковых продуктов (Журавлева, Лукьянов, 2004; Wang et al., 2013). Штамм *B. subtilis* 26Д индуцировал СИУ в растениях пшеницы, инфицированных гембиотрофным грибом *Septoria nodorum*, и в растениях картофеля, инфицированных оомицетом *Phytophthora infestans*, через накопление  $H_2O_2$  и увеличение транскрипционной активности ЖАК-регулируемых генов *PR*-белков, а также увеличения активности пероксидазы и отложения лигнина в местах инфицирования (Максимов и др., 2014, Veselova et al., 2015).

Генерация АФК, ведущая к экспрессии защитных генов, может быть связана с защитным действием липополисахаридов (Van Loon, 2007). Показана прямая корреляция между генерацией  $H_2O_2$  и концентрацией сурфактина различных штаммов *B. subtilis*, которым обрабатывали культуру клеток табака (Falardeau et al., 2013). Роль элиситоров СИУ могут также выполнять фитогормоны (Pieterse et al., 2014). Кроме того, АФК могут непосредственно активировать транскрипционные факторы и через них регулировать АФК-чувствительные гены (Torges, 2010; Sewelam et al., 2013; Pastor et al., 2013). Исследования транскриптома растений показали, что после инокуляции ризобактериями в растениях накапливаются транскрипционные факторы, которые однако остаются неактивными до инфицирования патогенами, но, как предполагают, дают растению возможность более быстро реагировать на атаку патогенов и вредителей, т.е. обеспечивают эффект прайминга (Conrath et al., 2006; Van der Ent et al., 2009; Pieterse et al., 2014). При индукции СИУ в арабидопсисе в большом количестве накапливались транскрипты некоторых членов

семейства AP2/ERF (ERF1) и MYC2 транскрипционных факторов, регулирующих ЖАК- и этилен-зависимые защитные реакции (Rajendran et al., 2011; Pieterse et al., 2014). В растениях арабидопсиса ERF-путь активировался при атаке некротрофными патогенами, а MYC-путь — при поранении и атаке насекомыми (Sewelam et al., 2013; Vos et al., 2013). При индукции СИУ штаммом *P. fluorescens* WCS417r в арабидопсисе совместно активировались гены транскрипционных факторов *MYB72* и *MYC2*, причем *MYB72* активировался при колонизации корней бактериями и регулировал начальные стадии развития СИУ, а MYC2 отвечал за долговременные и системные ответы во время развития СИУ, что было доказано с помощью различных мутантов, однако молекулярный механизм действия этих факторов еще не известен (Pozo et al., 2008; Sharma, 2009; Pieterse et al., 2014).

Приведенные в статье материалы свидетельствуют о сложности механизмов, формирующих взаимоотношения растений с патогенами различной трофности. Показано, что под влиянием биотрофов, гемибитрофов, некротрофов включаются различные сигнальные системы растений. В результате осуществляются перепрограммирование работы генетического аппарата клеток и формирование защитных антипатогенных химических и физических барьеров (Тарчевский, 2002).

Повышение устойчивости к патогенам различной пищевой специализации определяется изменением уровня АФК, активности оксидоредуктаз, сдвигом в гормональном балансе, укреплением клеточных стенок в результате их лигнификации, изменением функциональной активности ДНК, содержания и соотношения белковых и липидных компонентов мембран. Выявлена важная роль в формировании устойчивости растений к патогенам сигнальных молекулы, таких как салициловая и жасмоновая кислоты, этилен. Предполагается, что салицилатный сигналинг влияет на устойчивость к биотрофам, а жасмонатный сигналинг определяет развитие устойчивости к некротрофам. Однако нет однозначного ответа о взаимодействии сигнальных путей, поскольку в процессе роста и развития растения взаимодействуют с различными патогенами. В наших исследованиях показано, что обработка жасмоновой и салициловой кислотами способствует активации защитных реакций на инфицирование биотрофов, некротрофов и гемибитрофов.

Результаты исследований механизмов патогенности возбудителей болезней и устойчивости растений служат фундаментальной основой для разработки высокоэффективных мероприятий по защите растений. Одно из направлений в стратегии защиты растений — стимулирование естественных защитных механизмов растительного организма при обработке препаратами на основе эндофитных бактерий. Важным составляющим

активного воздействия бактериальных метаболитов является то, что они могут участвовать в регуляции защитных систем самого растения.

Исследование молекулярных механизмов взаимоотношений в системе «растение-хозяин-патоген» способствует расшифровке обмена сигналами между геномами противоборствующих биологических систем и позволит оперативно управлять устойчивостью растений к возбудителям болезней с различной стратегией питания при помощи сигнальных молекул и биопрепаратов на их основе.

Работа частично выполнена при поддержке гранта Министерства образования и науки РФ № 14.604.21.0016 по приоритетному направлению “Науки о жизни” в рамках мероприятия 1.2 Программы (уникальный идентификатор (RFMEFI60414X0016)).

- Акутуганов Г.Э., Галимзянова Н.Ф., Мелентьев А.И., Кузьмина Л.Ю. (2007) Внеклеточные гидролазы штамма *Basillus* sp. 739 и их участие в лизисе клеточных стенок микромицетов. Микробиология. 76: 471 – 479.
- Андреев Л.Н., Плотникова Ю.М. (1989) Ржавчина пшеницы: цитология и физиология. Отв. ред. М.В. Горленко. М.: Наука, 304 с.
- Бурханова Г.Ф., Яруллина Л.Г., Максимов И.В. (2007) Пути регуляции хитоолигосахаридами защитных реакций в растениях пшеницы при инфицировании *Bipolaris sorokiniana*. Физиол. раст. 54: 104 – 110.
- Вавилов Н.И. (1918) Иммуитет растений к инфекционным болезням // Изв. Петровской с.-х. академии., вып.1 4. 244 с. Цит. по изд.: Вавилов Н.И. (1986) Иммуитет растений к инфекционным болезням. Отв. ред. Л.Н. Андреев. М.: Наука. 520 с.
- Васюк В.А., Андрианова Т.В., Мусатенко Л.И. (1996) Индолилуксусная кислота фитопатогенных грибов *Septoria tritici* Rob ex Desm и *Stangospora nodorum* (Berk) Cast et Desm (*Septoria nodorum* Berk.). Укр. ботан. журнал. 53: 215 – 218.
- Васюкова Н.И., Чаленко Г.И., Герасимова Н.Г., Валуева Т.А., Озерецковская О.Л. (2008) Активизация защитных свойств элиситоров с помощью системных сигнальных молекул при взаимодействии картофеля и возбудителя фитофтороза. Прикл. биохим и микробиол. 44: 236 – 240.
- Веселова С.В., Нужная Т.В., Максимов И.В. (2014) Влияние 1-метилциклопропена на компоненты про-/антиоксидантной системы растений пшеницы и развитие защитных реакций при грибном патогенезе. Прикл. биохим. и микробиол. 50: 517 – 525.
- Вольнец А.П., Пшеничная Л.А., Кароза С.Э., Манжелесова Н.Е. (1993) О природе нарушения ауксинового обмена растений ячменя гельминтоспориозной инфекцией. Докл. АН Беларуси. 39: 166 – 168.
- Вольнец А.П., Кароза С.Э., Сухова Л.С. (1993) Абсцизовая кислота как возможный фактор защиты ячменя при грибной инфекции. ДАН. 329: 380 – 382.
- Гесслер Н.Н., Аверьянов А.А., Белозерская Т.А (2007) Активные формы кислорода в регуляции развития грибов. Биохимия. 72: 1342 – 1364.

- Горшкова Т.А., Николовски Н., Финаев Д.Н. (2005) Клеточная стенка растений - камень преткновения для молекулярных биологов. Физиол. раст. 52: 443 – 462.
- Дьяков Ю.Т., Озерецковская О.Л., Джавахия В.Г., Багирова С.Ф. Общая и молекулярная фитопатология. - М.: Из-во Общество фитопатологов, 2001. 302 с.
- Журавлева Н.В., Лукьянов П.А. (2004) Хитиноподобные ферменты: источники, характеристика и применение в биотехнологии. Вестн. ДВО РАН. 3: 76 – 86.
- Загоскина Н.В., Олениченко Н.А., Чжоу Юньвэй, Живухина Е.А. (2005) Способность различных сортов пшеницы (*Triticum aestivum* L.) к образованию различных фенольных соединений. Прикл. биохим. и микробиол. 41: 113 – 1167.
- Кобильский Г.И., Алипекоев О.А., Герцог Н.М. (1990) Биосинтез индолилуксусной кислоты фитопатогенным грибом *Septoria nodorum* Berk. Вест. с.-х. науки Казахстана. 3: 37 – 39.
- Ладыженская Э.П., Проценко М.А. (2002) Биохимические механизмы передачи внешних сигналов через плазмалемму растительной клетки при регуляции покоя и устойчивости. Биохимия. 67: 181 – 193.
- Лиу Ю., Пан Ц.Х., Ян Х.Р., Лиу Ю.Ю., Хуан В.Д. (2008) Взаимосвязь между H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> и жасмоновой кислотой в ответной реакции листьев гороха на поранение. Физиол. раст. 55: 851 – 862.
- Максимов И.В. (2005) Оксидоредуктазы и фитогормоны в регуляции устойчивости пшеницы к фитопатогенным грибам. Автореф. дисс. доктора биол. наук. Уфа. 47 с.
- Максимов И.В. (2009) Абсцизовая кислота во взаимоотношениях растений с микроорганизмами. Физиол. раст. 56: 741-751.
- Максимов И.В., Валеев А.Ш., Черепанова Е.А., Яруллина Л.Г. (2009) Продукция активных форм кислорода в листьях пшеницы, инфицированных разновирулентными штаммами *Septoria nodorum* Berk. Прикл. биохимия и микробиол. 46: 481 – 486.
- Максимов И. В., Сорокань А. В., Черепанова Е. А., Сурина О. Б., Трошина Н. Б., Яруллина Л. Г. (2011) Влияние салициловой и жасмоновой кислот на компоненты про-/антиоксидантной системы в растениях картофеля при фитофторозе. Физиол. рас. 58: 243 – 251.
- Максимов И.В., Хайруллин Р.М. (2012) Активность ингибиторов трипсина в проростках пшеницы под действием патогенного гриба *Tilletia caries* Tul. и фитогормонов. Физиол. раст. 59: 711 – 716.
- Максимов И.В., Яруллина Л.Г., Бурханова Г.Ф., Заикина Е.А. (2013) Связь агрессивности возбудителя септориоза с активностью внеклеточной каталазы. Известия РАН. Сер биол. 40: 558 – 564.
- Максимов И.В., Абизгильдина Р.Р., Сорокань А.В., Бурханова Г.Ф. (2014) Регуляция пероксидазной активности под влиянием сигнальных молекул и *Bacillus subtilis* 26Д инфицированных *Phytophthora infestans* растениях картофеля. Прикл. биохим. и микробиол. 50: 197 – 202.
- Никитина А.В., Талиева М.Н. (2001) Эндогенная абсцизовая кислота в растениях пшеницы при заражении возбудителем мучнистой росы (*Erisiphe graminis* f. sp. *tritici*) // Известия АН. Сер. Биол., 3: 318 - 322.

- Озерецковская О.Л., Васюкова Н.И., Панина Я.С., Чаленко Г.И. (2006) Действие иммуномодуляторов на устойчивость и восприимчивость картофеля к *Phytophthora infestans*. Физиол. раст. 53: 546 – 553
- Панина Я.С., Герасимова Н.Г., Чаленко Г.И., Васюкова Н.И., Озерецковская О.Л. (2005) Салициловая кислота и фенилаланинаммиак-лиаза в картофеле, инфицированном возбудителем фитофтороза. Физиол. раст. 52: 573 – 577.
- Плотникова Л.Я. (2009) Влияние бензотиодиазола – индуктора системной приобретенной устойчивости – на патогенез бурой ржавчины пшеницы. Физиол. раст. 56: 571 – 580.
- Ракитин В.Ю., Прудникова О.Н., Ракитина Т.Я., Карягин В.В., Власов П.В., Новикова Г.В., Мошков И.Е. (2009) Взаимодействие этилена и АБК в регуляции уровня полиаминов у *Arabidopsis thaliana* при УФ-В стрессе. Физиол. раст. 56: 163 – 169.
- Талиева М.Н., Бельнская Е.В., Кондратьева В.В. (1999) Уровень эндогенных цитокининов и абсцизовой кислоты в листьях флокса метельчатого в связи с устойчивостью к облигатному патогену *Erysiphe cichoracearum* DC. F. Phlogis Jazc. Изв. АН. Сер. биол., 3: 290 – 295.
- Тарчевский И.А. (2002) Сигнальные системы растений. М.: Наука. 294 с.
- Трошина Н.Б. Исаев Р.Ф. Ямалеев А.М. (1992) Влияние возбудителей грибных болезней на функциональную активность ядер пшеницы. Микол. и фитопатол. 26: 148-152.
- Трошина Н.Б. Яруллина Л.Г., Валеев А.Ш., Максимов И.В. (2007) Индукция салициловой кислотой устойчивости пшеницы к *Septoria nodorum* Berk. Известия РАН. 34: 545 – 550.
- Шакирова Ф.М. (2001) Неспецифическая устойчивость растений к стрессовым факторам и ее регуляция. Уфа: Гилем, 160 с.
- Шакирова Ф.М., Масленникова Д.Р., Фатхутдинова Р.А., Авальбаев А.М., Сомов К.А., Юлдашев Р.А. (2013) Сравнительный анализ физиологического действия метилжасмоната и цитокинина на растения пшеницы. Агрехимия. 2: 49 – 55.
- Шишова М.Ф., Танкелюн О.В., Емельянов В.В., Полевой В.В. (2008) Рецепция и трансдукция сигналов у растений / Рец. Э.А. Гончаровой, Л.А. Лутовой. СПб.: Изд-во С-Пб. университета. 263 с.
- Ярошенко Т.В. (1981) Закономерности регрессивных изменений головневых грибов в тканях питающих растений. Микол. и фитопатол. 2: 133 – 140.
- Яруллина Л.Г. (2006) Механизмы индуцирования устойчивости пшеницы к грибным патогенам. Автореф. дисс. доктора биол. наук. Уфа. 47 с.
- Яруллина Л.Г., Ибрагимов Р.И., Ахметов Р.Р. (2001) Гормональный баланс у пшеницы, пораженной возбудителем корневой гнили *Helminthosporium sativum*. Известия АН. Серия биологическая. 4: 499 – 502.
- Яруллина Л.Г., Ибрагимов Р.И. (2006) Клеточные механизмы формирования устойчивости растений к грибным патогенам. Уфа: Гилем, 232 с.
- Яруллина Л.Г., Трошина Н.Б., Черепанова Е.А., Заикина Е.А., Максимов И.В. (2011) Салициловая и жасмоновая кислота в регуляции про-антиоксидантного статуса листьев пшеницы при инфицировании *Septoria nodorum* Berk.// Прикл. биохим. и микробиол. 47: 602 – 608.

- Яруллина Л.Г., Касимова Р.И. Ахатова А.Р. (2014) Активность защитных белков в растениях пшеницы при обработке хитоолигосахаридами с различной степенью ацетилирования и инфицировании *Bipolaris sorokiniana*. Прикл. биохим. и микробиол. 50: 526 – 532.
- Яруллина Л.Г., Заикина Е.А., Бурханова Г.Ф., Ахатова А.Р., Касимова Р.И. (2013) Влияние хитоолигосахаридов с различной степенью ацетилирования на активность защитных белков в листьях пшеницы при инфицировании возбудителем септориоза. Агрехимия. 12: 3 – 9.
- Яруллина Л.Г., Максимов И.В., Муртазина Г.Ф. (2005) Защитная роль оксалактоксидазы при поражении пшеницы возбудителем корневой гнили *Bipolaris sorokiniana*. Микология и фитопатология. 39: 92 – 96.
- Яруллина Л.Г., Максимов И.В., Ямалеев А.М. (1997) Защитная роль лигнификации при инфицировании пшеницы септориозом. Микология и фитопатология. 31: 43 – 46.
- AbuQamar S., Chen X., Dhawan R., Bluhm B., Salmeron J., Lam S., Dietrich R.A., Mengiste T. (2006) Expression profiling and mutant analysis reveals complex regulatory networks involved in Arabidopsis response to *Botrytis* infection. Plant J. 48: 28 – 44.
- Adie B.A., Perz-Perez J., Perz-Perez M.M., Godoy M., Sanches-Serano J.J., Schmels E.A., Solano R. (2007) ABA is an assentional signal for plant resistance to pathogens affecting JA biosynthesis and the activation of defenses in *Arabidopsis*. Plant Cell. 19: 1665 – 1681.
- Ahn I.P., Lee S.W., Kim M.G., Park S.R., Hwang D.J., Bae S.C. (2011) Priming by rhizobacterium protects tomato plants from biotrophic and necrotrophic pathogen infections through multiple defense mechanisms. Mol. Cells. 32: 7 – 14.
- Alstrom S. (1991) Induction of disease resistance in common bean susceptible to halo blight bacterial pathogen after seed bacterization with rhizosphere pseudomonads. J. Gen. Appl. Microbiol. 37: 495 – 501.
- Asselbergh B., Hofte M. (2007) Basal tomato defences to *Botrytis cinerea* include abscisic acid-depend callose formation. Physiol. Mol. Plant Pathol. 71: 33 – 40.
- Ashby A.M. (2000) Biotrophy and the cytokinin conundrum. Phys. Mol. Plant Pathol. 57: 147 – 158.
- Audenaert K., Meyer G.B.D., Hofte M.M. (2002) Abscisic acid determines basal susceptibility of tomato to *Botrytis cinerea* and Suppresses Salicylic Acid-dependent signaling mechanisms. Plant Physiol. 128: 491 – 501
- Audenaert K., Pattery T., Cornelis P., Höfte M. (2002) Induction of systemic resistance to *Botrytis cinerea* in tomato by *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2: role of salicylic acid, pyochelin, and pyocyanin. Mol. Plant–Microbe Interact. 15: 1147 – 1156.
- Ayoung L., Kyoungwon C., Sungkuk J., Rakwal R., Iwahashi H., Ganesh K.F., Shim J., Oksoo H. (2004) Inverse Correlation between Jasmonic Acid and Salicylic Acid during Early Wound Response in Rice. Biochem. Biophys. Res. Commun. 318: 734 – 738.
- Beckman K.B., Ingram D.S. (1994) The inhibition of the hypersensitive response of potato tuber tissues by cytokinins: similarities between senescence and plant defense responses // Physiol. Mol. Plant Pathol. V. 44. P. 33 – 50.

- Bakker P.A.H.M., Pieterse C.M.J., van Loon L.C. (2007) Induced systemic resistance by fluorescent *Pseudomonas* spp. *Phytopathology*. 97: 239 – 243.
- Belimov A.A., Dodd I.C., Hontzeas N., Theobald J.C., Safronova V.I., Davies W.J. (2009) Rhizosphere bacteria containing ACC deaminase increase yield of plants grown in drying soil via both local and systemic hormone signaling. *New Phytol.* 181: 413 – 423.
- Belimov A.A., Dodd I.C., Safronova V.I., Dumova V.A., Shaposhnikov A.I., Ladatko A.G., Davies W.J. (2014) Abscisic acid metabolizing rhizobacteria decrease ABA concentrations *in planta* and alter plant growth. *Plant Physiol. Biochem.* 74: 84 – 91.
- Beneduzi A., Ambrosini A., Passaglia L.M.P. (2012) Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genet. Mol. Biol.* 35: 1044 – 1051.
- Bennet M.J., Marchant A., May S.T., Swarup R. (1998) Gooding the distance with auxin: unraveling the molecular basis of auxin transport. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 353: 1511 – 1515.
- Blokhina O., Virolainen E., Fagerstedt K.V. (2003) Antioxidants, oxidative damage and Oxygen deprivation stress: a Review. *Annals of Botany*. 91: 179 – 194.
- Bolwell G.P., Daudi A. (2009) Reactive Oxygen Species in Plant–Pathogen Interactions. in *Reactive Oxygen Species in Plant Signaling*, Eds. del Rio L.A., Puppo A., Springer-Verlag Berlin Heidelberg. 113 – 133.
- Biondi S., Scocciani V., Scaramagli S., et al. (2003) Auxin and cytokinin modify jasmonate effect on polyamine metabolism and ethylene biosynthesis in tobacco leaf discs. *Plant Sci.* 165: 95 – 101.
- Bousquet J.F., Touraud G., Piollat M.T., Bosch U. (1990) ABA accumulation in wheat heads inoculated with *Septoria nodorum* in the field condition. *J. Agron. Crop. Sci.* 165: 297 – 300.
- Boudet A.M. (2000) Lignins and lignification: Selected issues. *Plant Physiol. Biochem.* 38: 81 – 96.
- Carrera E., Prat S. (1998). Expression of the *Arabidopsis abil-1* mutant allele inhibits proteinase inhibitor wound-induction in tomato. *Plant J.* 15: 765 – 771.
- Cawoy H., Mariutto M., Henry G., Fisher C., Vasilyeva N., Thonart P., Dommes J., Ongena M. (2014) Plant defense stimulation by natural isolates of *Bacillus* depends on efficient surfactin production. *Mol. Plant–Microbe Interact.* 27: 87 – 100.
- Chen X., Steed A., Travella S., Keller B., Nicholson P. (2009) *Fusarium graminearum* exploits ethylene signalling to colonize dicotyledonous and monocotyledonous plants. *New Phytol.* 182: 975 – 983.
- Choi J., Choi D., Lee S., Ryu Ch.-M., Hwang I. (2011) Cytokinins and plant immunity: old foes or new friends? *Trends in Plant Science*. 16: 388 – 394.
- Cohen Y., Gisi U., Niderman T. (1993) Local and Systemic Protection against *Phytophthora infestans* Induced in Potato and Tomato Plants by Jasmonic Acid and Jasmonic-Methyl-Ester. *Phytopathology*. 83: 1054 – 1062.
- Conrath U., Beckers G.J.M., Flors V., García-Agustín P., Jakab G., Mauch F., Newman M.A., Pieterse C.M.J., Poinssot B., Pozo M.J., Pugin A., Schaffrath U., Ton J., Wendehenne W., Zimmerli L., Mauch-Mani B. Priming: getting ready for battle // *Mol. Plant–Microbe Interact.* 2006. 19: 1062 – 1071.

- Cipollini D., Enright S., Traw M.B., Bergelson J. (2004) Salicylic acid inhibits jasmonic acid-induced resistance of *Arabidopsis thaliana* to *Spodoptera exigua*. *Mol. Ecol.* 13: 1643 – 1653.
- Csiszar J., Szabo M., Ergei L. et al. (2004) Auxin autotrophic tobacco callus tissues resist oxidative stress: the importance of glutathione S-transferase and glutathione peroxidase activities in auxin heterotrophic and autotrophic calli. *J. Plant Physiol.* 161: 691 – 699.
- De Meyer G., Audenaert K., Höfte M. (1999) *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2-induced systemic resistance in tobacco depends on *in planta* salicylic acid accumulation but is not associated with PR1a expression. *Eur. J. Plant Pathol.* 105: 513 – 517.
- De Vleeschauwer D., Djavaheri M., Bakker P.A.H.M., Hofte M. (2008) *Pseudomonas fluorescens* WCS374r-induced resistance in rice against *Magnaporthe oryzae* is based on pseudobactin-mediated priming for a salicylic acid-repressible multifaceted defense response. *Plant Physiol.* 148: 1996 – 2012.
- De Vleeschauwer D., Höfte M. (2009) Rhizobacteria-induced systemic resistance. *Adv. Bot. Res.* 51: 223 – 281.
- De Vleeschauwer D., Yang Y., Cruz C.V., Hofte M. Abscisic acid-induced resistance against the brown spot pathogen *Cochliobolus miyabeanus* in rice involves MAP kinase-mediated repression of ethylene signaling. *Physiol. Plant.* 2010. V. 152. № 4. P. 2036 – 2052.
- Dixon R.A., Achnine L., Kota P., Liu C.J., Reddy M.S., Wang L. (2002) The phenylpropanoid pathway and plant defense – a genomics perspective. *Mol. Plant Pathol.* 3: 371 – 390.
- Dobbelaere S., Vanderleyden J., Okon Y. (2003) Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. *Crit. Rev. Plant Sci.* 22: 107 – 149.
- Dodd I.C., Zinovkina N.Y., Safronova V.I., Belimov A.A. (2010) Rhizobacterial mediation of plant hormone status. *Ann. Appl. Biol.* 157: 361 – 379.
- Falardeau J., Wise C., Novitsky L., Avis T.J. (2013) Ecological and mechanistic insights into the direct and indirect antimicrobial properties of *Bacillus subtilis* lipopeptides on plant pathogens. *J. Chem. Ecol.* 39: 869–878.
- Fawke S., Doumane M., Schornack S. (2015) Oomycete Interactions with Plants: Infection Strategies and Resistance Principles. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 79: 263 – 280.
- Fester T., Hause B. (2007) Drought and symbiosis – why is abscisic acid necessary for arbuscular mycorrhiza? *New Phytol.* 175: 383 – 386.
- Forchetti G., Masciarelli O., Alemano S., Alvarez D., Abdala G. (2007) Endophytic bacteria in sunflower (*Helianthus annuus* L.): isolation, characterization, and production of jasmonates and abscisic acid in culture medium. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 76: 1145 – 1152.
- Gay G., Normand L., Marmeisse R. et al. (1994) Auxin overproducers mutants of *Hebeloma cylindrosporum* Romagnesi have increased mycorrhizal activity. *New Phytol.* 128: 645 – 657.
- Goodwin P.H., Li J., Jin S. (2001) A catalase gene of *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *malvae* is highly expressed during the necrotrophic phase of infection of round-leaved mallow, *Malva pusilla*. *FEMS Microbiology Letters.* 202: 103 – 107.
- Grossmann K., Hansen H. (2001) Ethylene-Triggered Abscisic Acid: A Principle Plant Growth Regulation? *Physiol. Plant.* 113: 9 – 14.

- Hardham A.R., Shan W. (2009) Cellular and Molecular Biology of *Phytophthora*–Plant Interaction. The Mykoto. V. Plant Relationship / Ed. Deising H. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag. 3-27.
- Harpster M. H., Brummell D.A., Dunsmuir P. (1998) Expression Analysis of Ripening-Specific, Auxin-Repressed Endo-1,4-Glucanase Gene in Strawberry. *Plant Physiol.* 118: 1307 -1316.
- Hawkins S., Boudet A. (2003) Defence lignin and hydroxycinnamyl alcohol dehydrogenase activities in wounded *Eucalyptus gunnii*. *For. Path.* 33: 91 – 104.
- Hess J.R., Carman J.G. (1998) Embryonic competence of immature wheat embryos: genotype, donor plant environment and endogenous hormone levels. *Crop sci.* 38: 249 – 253.
- Hu G.G., Rijkenberg F.H. (1998) Ultrastructural localization of cytokinins in *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*-infected wheat leaves. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 52: 79 – 94.
- Hughes R.K., Dickerson A.G. (1990) Auxin Regulation of the response of *Phaseolus vulgaris* to a fungal Elicitor. *Plant Cell Physiol.* 31: 667 – 675.
- Hung K.T., Hsu Y.T., Kao C.H. (2006) Hydrogen Peroxide Is Involved in Methyl Jasmonate-Induced Senescence of Rice Leaves. *Physiol. Plant.* 127: 293 – 303.
- Iwai T., Seo Sh., Mitsuhashi I., Ohashi Y. (2007) Probenazole-Induced Accumulation of Salicylic Acid Confers Resistance to *Magnaporthe grisea* in Adult Rice. *Plants Plant Cell Physiol.* 48(7): 915 – 924.
- Jones J.D.G., Dangl J.L. (2006) The plant immune system. *Nature.* 444: 323 – 329.
- Kawano T., Furuichi T. (2007) Salicylic Acid as a Defense-Related Plant Hormone: Roles of Oxidative and Calcium Signaling Paths in Salicylic Acid Biology // *Salicylic Acid: A Plant Hormone.* Ed. Hayat S., Ahmad A. Berlin, Heidelberg: Springer, P. 277 – 322.
- Keith R. (1992) Potential awareness of plants. *Nature.* 360(6399): 14 – 15.
- Kettner J., Dörfling K. (2006) Abscisic acid metabolism in *Ceratocystis coerulea* // *Physiologia Plantarum.* 69: 278 - 282.
- Kim H.J., Ryu H., Hong S.H., Woo H.R., Lim P.O., Lee I.C., Sheen J., Nam H.G., Hwang I., (2006) Cytokinin-mediated control of leaf longevity by AHK3 through phosphorylation of ARR2 in Arabidopsis. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 103: 814 – 819.
- Kloepper J.W., Gutierrez-Estrada A., McNroy J.A. (2009) Photoperiod regulates elicitation of growth promotion but not induced resistance by plant growth-promoting rhizobacteria. *Can. J. Microbiol.* 53: 159 – 167.
- Koorneef A., Verhage A., Leon-Reyes A., Snetselaar R., van Loon L.C., Pieterse C.M.J. (2008) Towards a Reporter System to Identify Regulators of Cross-Talk between Salicylate and Jasmonate Signaling Pathways in Arabidopsis. *Plant Signal. Behav.* 3: 543 – 546.
- Kudoyarova G.R., Melentiev A.I., Martynenko E.V., Timergalina L.N., Arkhipova T.N., Shendel G.V., Kuz'mina L.Y., Dodd I.C., Veselov S.Y. (2014) Cytokinin producing bacteria stimulate amino acid deposition by wheat roots. *Plant Physiol. Biochem.* 83: 285 – 291.
- Kuwabara C., Takezawa D., Shimada T. et al. (2002) Abscisic acid and cold-induced thaumatin-like protein in winter wheat has an antifungal activity against snow mould, *Microdochium nivale*. *Physiol Plant.* 115: 101 – 110.

- Leon-Reyes A., Spoel S.H., De Lange E.S., Abe H., Kobayashi M., Tsuda Sh., Millenaar F.F., Welschen R.A.M., Ritsema T., Pieterse C.M.J. (2009) Ethylene Modulates the Role of Nonexpressor of Pathogenesis-Related genes in Cross Talk between Salicylate and Jasmonate Signaling. *Plant Physiol.* 149: 1797 – 1809.
- Li A., Heath C. (1990) Effect of plant growth regulators on the interactions between bean plants and rust fungi nonpathogenic on beans. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 37: 245 – 254.
- Lorente F., Muskett P., Sanchez-Vallet A., Lopez G., Ramos B., Sanchez-Rodriguez C., Jorda L., Parker J., Molina A. (2008) Repression of the Auxin Response Pathway Increases Arabidopsis Susceptibility to Necrotrophic Fungi. *Molecular Plant.* 1: 496 – 509.
- Luo S., Xu T., Chen L., Chen J., Rao C., Xiao X., Wan Y., Zeng G., Long F., Liu C., Liu Y. (2012) Endophyte-assisted promotion of biomass production and metal-uptake of energy crop sweet sorghum by plant-growth-promoting endophyte *Bacillus* sp. SLS18. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 93: 1745 – 1753.
- Manangoda D.S., Rossman A.Y., Castlebury L.A., Crous P.W., Madrid H., Chukeatirote E., Hyde K.D. (2014) The genus *Bipolaris*. *Studies in mycology.* 79: 221 – 288.
- Matny O. N. (2015) Fusarium Head Blight and Crown Rot on Wheat Barley: Losses and Health Risks. *Adv. in Plants & Agricult. Res.* 2: 00039.
- Mayda E., Marques C., Conejero V., Vera P. (2000) Expression of pathogen -induced gene can be mimicked by auxin insensitivity. *Mol Plant-Microbe interact.* 13: 23 – 31.
- Michniewicz M., Czerwinska E., Rezej B. (1990) Interaction of abscisic acid and ethylene in relation to disease development in wheat seedlings infected by *Fusarium culmorum* (W.G.) Sacc. // *Acta Physiol. Plant.* 12: 41 – 48.
- Mohr P.G., Cahill D.M. (2007) Suppression by ABA of salicylic acid and lignin accumulation and the expression of multiple genes, in *Arabidopsis* infected with *Pseudomonas syringae* pv *tomato*. *Funct. Integr. Genomics.* 7: 181 – 191.
- Mukhtar M. Sh., Nishimura M.T., Dangl J. (2009) NPR1 in Plant Defense: It's Not over 'til It's Turned over. *Cell.* 137: 804 – 806.
- Mur L.A.J., Kenton P., Atzorn R., Miersch O., Wasternack C. (2006) The outcomes of Concentration-Specific Interactions between Salicylate and Jasmonate Signaling Include Synergy, Antagonism and Oxidative Stress Leading to Cell Death. *Plant Physiol.* 140: 249 – 262.
- Napier R. (2004) Plant Hormone Binding Sites // *Annals of Botany.* V.93. P.227 – 233.
- Newton A.C., Fitt B.D.L., Atkins S.D., Walters D.R., Daniell T.J. (2010) Pathogenesis, parasitism and mutualism in the trophic space of microbe–plant interactions. *Trends in Microbiol.* 18: 365 – 373.
- Ongena M., Henry G., Thonart P. (2010) The role of cyclic lipopeptides in the biocontrol activity of *Bacillus subtilis*. *Recent Developments in Management of Plant Diseases (Plant Pathology in the 21st century).* V. 1 / Eds. Gisi U., Chet L., Guillino M.L., Dordrecht Heidelberg, London New Yoerk, Springer Science+Business Media B.V. 59 – 69.
- Parbery D.G. (1996) Trophism and the ecology of fungi associated with plants. *Biol. Rev.* 71: 473 – 527.

- Pastor V., Luna E., Mauch-Mani B., Ton J., Flors V. (2013) Primed plants do not forget // Environ. Exp. Bot. V. 94. P. 46 – 56.
- Pena-Cortes H., Albrecht T., Prat S., Weiler E.W., Willmitzer L. (1993) Aspirin Prevents Wound-Induced Gene Expression in Tomato Leaves by Blocking Jasmonic Acid Biosynthesis. *Planta*. 191: 123 – 128.
- Pertry I., Vaclavíková K., Depuydt S., Galuszka P., Spíchal L., Temmerman W., Stes E., Schmulling T., Kakimoto T., van Montagu M.C.E., Strnad M., Holsters M., Tarkowski P., Vereecke D. (2006) Identification of *Rhodococcus fascians* cytokinins and their modus operandi to reshape the plant. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA*. 106: 929 – 934.
- Pieterse C.M., Zamioudis C., Berendsen R.L., Weller D.M., van Wees S.C., Bakker P.A. (2014) Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annu. Rev. Phytopathol.* 52: 347 – 375.
- Pozo M.J., van der Ent S., van Loon L.C., Pieterse C.M.J. (2008) Transcription factor MYC2 is involved in priming for enhanced defense during rhizobacteria-induced systemic resistance in *Arabidopsis thaliana*. *New Phytol.* 180: 511 – 523.
- Rabe F., Ajami-Rashidi Z., Doehlemann G., Kahmann R., Djamei A. (2013) Degradation of the plant defence hormone salicylic acid by the biotrophic fungus *Ustilago maydis*. *Mol. Microbiol.* 89: 179 – 188
- Rajendran L., Ramanathan A., Durairaj C., Samiyappan R. (2011) Endophytic *Bacillus subtilis* enriched with chitin offer induced systemic resistance in cotton against aphid infestation. *Arch. Phytopathol. Plant Protect.* 44: 1375 – 1389.
- Rakwal R., Agrawal G., Yonekura M. (2001) Light-dependent induction of OsPR 10 in rice seedlings by the global stress signaling molecule jasmonic acid and protein phosphatase 2A inhibitors. *Plant Sci.* 161: 469 – 479.
- Rayle L.D., Cleand R.E. (1992) The acid growth of auxin induced cell elongation is alive and well. *Plant Physiol.* 99: 1271 – 1274.
- Readay M.N., Strzlezyk E. (1989) Influence of plant growth and virulence of *Rhizoctonia solani* (Kuhn.) pathogenic to groundnut seedling (*Arahis hipogea* L. var TMV 2). *J. Phytopathol.* 125: 187 – 191.
- Repka V., Fisherova I., Silharova K. (2004) Methyl Jasmonate Is a Potent Elicitor of Multiple Defense Responses in Grapevine Leaves and Cell-Suspension Cultures. *Biol. Plant.* 48: 273 – 283.
- Rock C. (2000) Pathways to Abscisic Acid – Regulated Gene Expression. *New Phytol.* 148: 357 – 396
- Royo E., Titarenko E., Leon J. et al. (1998) Reversible protein phosphorylation regulates JA-depend and -independ wound signal transduction pathways in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Cell.* 13: 153 – 165.
- Robert-Seilantz A., Navarro L., Bari R.J., Jones J.D.G. (2007) Pathological hormone imbalances. *Curr. Opin. Plant Biol.* 10: 372 – 379.
- Rosenblueth M., Martínez-Romero E. (2006). Bacterial endophytes and their interactions with hosts. *Mol. Plant–Microbe Interact.* 19: 827 – 837.
- Sarhan A.R.T., Király Z., Sziráki I., Smedegaard-Petersen V. (1991) Increased levels of cytokinins in barley leaves having the systemic acquired resistance to *Bipolaris Sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker. *J. Phytopathol.* 131: 101 – 108.

- Sewelam N., Kazan K., Thomas-Hall S.R., Kidd B.N., Manners J.M., Schenk P.M. (2013) Ethylene response factor 6 is a regulator of reactive oxygen species signaling in *Arabidopsis*. PLoS ONE. 8: e70289. doi 10.1371/journal.pone.0070289.
- Sharma H.C. Biotechnological Approaches for Pest Management and Ecological Sustainability. Boca Raton (FL): CRC Press, 2009.
- Shakirova, FM; Avalbaev, AM; Bezrukova, MV; Fatkhutdinova, RA; Maslennikova, DR; Yuldashev, RA; Allagulova, CR; Lastochkina, OV. (2012) Hormonal intermediates in the protective action of exogenous phytohormones in wheat plants under salinity: Chapter 9. In: Khan NA, Nazar R, Iqbal N, Anjum NA editors. Phytohormones and Abiotic Stress Tolerance in Plants. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag; 185 – 228.
- Shetty N.P., Jorgensen H.J.L., Jensen J.D., Collinge D.B., Shetty H.S. (2008) Roles of Reactive Oxygen Species in Interaction between Plants and Pathogen. Eur. J. Plant Pathol. 121: 267 – 280.
- Simons L., Bultman T.L., Sullivan T.J. (2008) Effects of methyl jasmonate and an endophytic fungus on plant resistance to insect herbivores. J. Chem. Ecol. 34: 1511 – 1517.
- Schmidt K., Pflugmacher M., Klages S., Maser A., Mock A., Stahl D.J. (2008) Accumulation of the hormone abscisic acid (ABA) at the infection site of the fungus *Cercospora beticola* supports the role of ABA as a repressor of plant defense in sugar beet. Mol. Plant Pathol. 9: 661 – 673.
- Shinshi H., Mohnen D., Meins F. (1987) Regulation of plant pathogenesis related enzyme: inhibition of chitinase and chitinase mRNA accumulation in cultural tobacco tissues by auxin and cytokinin. Proc. Nat. Ac. Sci. USA. 84: 89 – 99.
- Shu-Qing C., Rong-Xian Z., Wei L. et al. (2004) The involvement of cytokinin and abscisic acid levels in roots in the regulation of photosynthesis function in flag leaves during grain filling in super high-yielding rice (*Oryza sativa*) J. Agronomy Crop Sci. 190: 73 – 80.
- Sorokan A.V., Burkhanova G.F., Maksimov I.V. (2013) The interplay between salicylic and jasmonic acid during phytopathogenesis Salicylic Acid: Plant Growth and Development Eds. Shamsul Hayat, Aqil Ahmad, Mohammad Naseer Alyemini. Springer Science+Business Media Dordrecht. Chapter 12. P. 277 – 297.
- Sugaya S., Ohmiya A., Kikuchi M., Hayashi T. (2000) Isolation and characterization of a 60 kDa 2,4-D-binding protein from the shoot apices of peach trees (*Prunus persica* L.); it is a homologue of protein disulfide isomerase. Plant Cell Physiol. 41: 503 – 508.
- Swarup R., Parry G., Graham N. et al. (2002) Auxin cross-talk: integration of signaling pathways to control plant development. Plant Mol. Biol. 49: 411 – 426.
- Sugaya S., Sakai S. (1996) Identification of a soluble auxin-binding protein as a glutathione-dependent formaldehyde dehydrogenase. Plant Sci. 114: 1 – 9.
- Takahashi H., Kanayama Y., Zheng M.S., Kusano T., Hase S., Ikegami M., Shah J. (2004) Antagonistic Interactions between the SA and JA Signaling Pathways in *Arabidopsis* Modulate Expression of Defense Genes and Gene-for-Gene Resistance to Cucumber Mosaic Virus. Plant Cell Physiol. 45: 803 – 809.
- Tanaka E., Tanaka C., Ishihara A., et al. (2003) Indole-3-acetic acid biosynthesis in *Aciculosporium take*, a causal agent of witches' broom of bamboo. J. Gen. Plant Pathol. 69: 1 – 6.

- Tamogami S., Rakwal R., Kodama O. (1997) Phytoalexin production elicited by exogenously applied jasmonic acid in rice leaves (*Oryza sativa* L.) is under the control of cytokinins and ascorbic acid. FEBS Letter. 412: 61 – 64.
- Ton J., van Pelt J.A., van Loon L.C., Pieterse C.M.J. (2002) Differential effectiveness of salicylate-dependent and jasmonate/ethylene-dependent induced resistance in *Arabidopsis*. Mol. Plant–Microbe Interact.. 15: 27 – 34.
- Ton J, Flors V, Mauch-Mani B. (2009) The multifaceted role of ABA in disease resistance. Trends Plant Sci. 14: 310 – 317.
- Torres M.A. (2010) ROS in biotic interactions. Physiol. Plant. 138: 414 – 429.
- Trione E.J., Sayaverda-Soto L.A. (1988) Wheat development enhanced by hormone syndrome. Bot. Gaz. 149: 317 – 324.
- Tudzynski P., Kokkelinink L. Chapter 2. *Botrytis cinerea*: Molecular Aspects of a Necrotrophic Life Style Plant Relationships, 2nd Edition H. Deising (Ed.). Springer-Verlag Berlin Heidelberg 2009. 29 – 50
- Van der Ent S., van Wees S.C.M., Pieterse C.M.J. (2009) Jasmonate signaling in plant interactions with resistance-inducing beneficial microbes. Phytochemistry. 70: 1581 – 1588.
- Van Loon L.C. (2007) Plant responses to plant growth-promoting rhizobacteria. Eur. J. Plant Pathol. 119: 243 – 254.
- Van Oosten V.R., Bodenhausen N., Reymond P., van Pelt J.A., van Loon L.C., Dicke M., Pieterse C.M.J. (2008) Differential effectiveness of microbial induced resistance against herbivorous insects in *Arabidopsis*. Mol. Plant–Microbe Interact. 21: 919 – 930.
- Van Peer R., Niemann G.J., Schippers B. (1991) Induced resistance and phytoalexin accumulation in biological control of *Fusarium* wilt of carnation by *Pseudomonas* sp. WCS417r. Phytopathology. 81: 728 – 734.
- Veselova S.V., Nuzhnaya T.V., Maksimov I.V. (2015) Chapter 3. Role of jasmonic acid in interaction of plants with plant growth promoting rhizobacteria during fungal pathogenesis. Jasmonic Acid: Biosynthesis, Functions and Role in Plant Development. Ed. Morrison L. New York: Nova Sci. Publ., 33 – 66.
- Von Tiedemann A. (1997) Evidence for a primary role of active oxygen species in induction of host cell deaths during infection of bean leaves with *Botrytis cinerea*. Physiol. and Mol. Plant Pathol. 50: 151 – 166.
- Vos I.A., Pieterse C.M.J., van Wees S.C.M. (2013) Costs and benefits of hormone-regulated plant defenses. Plant Pathol. 62: 43 – 55.
- Walters D. (2003) Polyamines and plant disease. Phytochemistry. 64: 97 – 107.
- Wang F., Cui X., Sun Y., Dong C.-H. (2013) // Plant Cell Rep. 2013. V. 32. № 7. P. 1099 – 1109.
- Wei G., Kloepper J.W., Tuzun S. (1991) Induction of systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum orbiculare* by select strains of plant growth promoting rhizobacteria. Phytopathology. 81: 1508 – 1512.
- Wi S.J., Ji N.R., Park K.Y. (2012) Synergistic biosynthesis of biphasic ethylene and reactive oxygen species in response to hemibiotrophic *Phytophthora parasitica* in tobacco plants. Physiol. Plant. 159: 251 – 265.
- Wu S.C., Blumer J.M., Darvill A.G., Albersheim P. (1996) Characterization of an endo- $\beta$ -1, 4- glucanase gene in elongating pea epicotyls. Plant Physiol. 110: 163 –170.

- Wu Y., Zhang D., Chu J.Y., Boyle P., Wang Y., Brindle I.D., De Luca V., Despres Ch. (2012) The Arabidopsis NPR1 Protein Is a Receptor for the Plant Defense Hormone Salicylic Acid. *Cell Reports*. 1: 639 – 647.
- Yahia A, Kevers C.B., Gaspar T.B. et al. (1998) Cytokinins and Ethylene Stimulate Indole Alkaloid Accumulation in Cell Suspension Cultures of *Catharanthus roseus* by Two Distinct Mechanisms. *Plant Sci*. 133: 9 – 15.
- Yang J.C., Zhang J.H., Wang Z.O. et al. (2003) Involvement of abscisic acid and cytokinins in the senescence and remobilization of carbon reserves in wheat subjected to water stress during grain filling. *Plant, Cell and Environ*. 26: 1621 – 1631.
- Yi H.S., Yang J.W., Ryu C.M. (2013) ISR meets SAR outside: additive action of the endophyte *Bacillus pumilus* INR7 and the chemical inducer, benzothiadiazole, on induced resistance against bacterial spot in field-grown pepper. *Front. Plant Sci*. 4(Article 122) 1 – 11.
- Yin H., Zhao X., Du Y. (2010) Oligochitosan: A plant diseases vaccine—A review. *Carbohydrate Polymers*. 82: 1 – 8.
- Zhang Z., Henderson C., Gurr S.J. (2004) *Blumeria graminis* secretes an extracellular catalase during infection of barley: potential role in suppression of host defence. *Mol. Plant Pathol*. 5: 537 – 547.
- Zhang M., Li Q., Liu L., Shen D., Zhu Y., Liu P., Zhou J.-M., Dou D. (2015) Two Cytoplasmic Effectors of *Phytophthora sojae* Regulate Plant Cell Death via Interactions with Plant Catalases // *Plant Physiol*. 167: 164 – 175

# ЖИЗНЕННЫЕ ФОРМЫ ЛИШАЙНИКОВ: ВЗГЛЯДЫ, СИСТЕМЫ, ЭВОЛЮЦИЯ

Мучник Е.Э.

*Институт лесоведения Российской академии наук*  
eugenia@lichenfield.com

Общепризнанным основоположником учения о жизненных формах растений является выдающийся немецкий естествоиспытатель Александр Гумбольдт (1769 – 1859). Однако сам А. Гумбольдт термин "жизненная форма" не использовал. Он выделил 19 основных типов растений, говоря современным языком, основываясь на ландшафтно-экологических позициях (Кирпотин, 1999) и понимал свои основные типы как структурные элементы, "распределением и группировкой которых определяется физиономия растительности страны..., которые массой общего впечатления индивидуализируют местность" (Гумбольдт, 1936., с. 84). Однако в дальнейшем физиономическое направление Гумбольдта было признано "узким" и "малоперспективным", а учение о жизненных формах заметно трансформировалось, что связано с его биологизацией и экологизацией (Серебряков, 1962).

Понятие «жизненная форма» введено одним из основателей экологии, датским ботаником, альгологом и микологом Йоханнесом Эугениусом Вармингом (1841 – 1924). Жизненная форма определялась им как «форма, в которой вегетативное тело растения (индивида) находится в гармонии с внешней средой в течение всей его жизни от колыбели до гроба, от семени до отмирания» (Warming, 1908). В современной понимании, ЖФ — общий облик (габитус) растения, обусловленный своеобразием системы его надземных и подземных органов, формирующихся в результате роста и развития в определенных условиях среды (Миркин, Наумова, 2014).

Поскольку лишайники даже после открытия их «дуалистической природы» чрезвычайно долгое время причислялись к растениям (еще А.Н. Окснер (1974, с. 4) характеризовал их как «своеобразную группу... низших растений»), то и попытки выделения жизненных форм лишайников относятся, примерно, к тому же времени, как складываются представления о жизненных формах растений. В частности, уже Цукал (Zucal, 1891, цит. по Окснер, 1974) различает «полулишайники» — не образующие ясно очерченных слоевищ, не формирующие характерных для лишайников структур, морфологически слабо дифференцированные и

всегда стерильные, — отделяя их тем самым от «настоящих» лишайников. Однако, несмотря на более чем вековую «историю вопроса», общепринятой классификации или системы жизненных форм лишайников на данный момент времени не существует. Наиболее примитивным, утилитарным считается деление всего морфологического разнообразия талломов на накипные, листоватые и кустистые (иногда выделяют еще «слизистые» лишайники, в которых масса фотобионта превышает массу микобионта). Такая система, безусловно, не отражает все многообразие габитуса лишайников и форм их приспособления к условиям среды. Понимание этого факта в разное время привело к разработкам более подробных систем жизненных форм лишайников (подробно см. обзоры: Окснер, 1974; Голубкова и Бязров, 1989; Пристяжнюк, 1996 а, б и др.). Не рассматривая каждую из них в отдельности, можно констатировать несколько принципиально различных «базовых» подходов:

- «Морфолого-таксономический», когда жизненные формы получают название наиболее «типичного» таксона (как правило, рода), например, формы *Parmelia*, *Umbilicaria* etc. (Frey, 1924 цит. по: Голубкова и Бязров, 1989; Klement, 1955 и др.). В настоящее время этот подход следует признать неудобным. Систематика лишайников и грибов бурно развивается (в т.ч., благодаря использованию хемотаксономических и генетических методов), большинство крупных родов «распались», иногда, на десятки более мелких, например, род *Parmelia* (Hale, 1987; Crespo et al., 2010 и др.), имеющих свои особенности жизненных форм.

- Некоторые авторы (Mattick, 1951; Barkman, 1958) различали понятия «форма роста» и «жизненная форма», относя к первому, в основном, «габитуально-физиономические» признаки, а ко второму — способы прикрепления таллома к субстрату, иногда, высоту, а в отдельных случаях, как в одной из двух классификаций жизненных форм, разработанных Баркманом (Barkman, 1958), — влагоемкость талломов, измеряемую в процентах. Что касается последней классификации, то она очень сложна для практического применения, так как требует определения в лабораторных условиях влагоемкости представителей всех родов лишайников изучаемого региона (Окснер, 1971). В отношении понятий «форма роста» и «жизненная форма» отметим, что большинство современных лихенологов не делают между ними различий, что диалектически оправданно: жизненная форма теснейшим образом связана с определенной формой роста и, в полной мере, является ее результатом. В англоязычной лихенологической литературе чаще используется термин «форма роста» — «growth form» (Brodo et al., 2001; Büdel and Scheidegger, 2008 и др.). В российской литературе иногда в описаниях жизненных

форм имеются дополнительные упоминания о типе роста талломов (например, Гимельбрант и Кузнецова, 2014), в некоторых случаях особенности роста становятся объектом специальных исследований (Толпышева, 2008 и др., Абдульманова, 2015), но традиционно используется термин «жизненная форма» или «биоморфа» (Окснер, 1971, 1974; Голубкова, 1974, 1983, 1993; Голубкова и Бязров, 1989; Котлов, 1995; Пристяжнюк, 1996 а, б; Мучник и др., 2011; Гимельбрант и Кузнецова, 2014; и др.).

- «Морфолого-анатомический», разработанный целым рядом исследователей (Еленкин, 1926, 1929; Poelt, 1958, 1973; Окснер, 1971, 1974 и др.), когда внутреннее, анатомическое строение логично рассматривается как основа «внешнего выражения» — морфологии таллома. Высказанные авторами предположения относительно вероятных путей формирования различных жизненных форм и их эволюции являются предпосылкой для следующего, более современного подхода.

- «Эволюционно-экобиоморфологический», рассматривающий анатомо-морфологические признаки как проявление эколого-биологических особенностей (т.е., адаптаций к условиям среды) различных видов лишайников и учитывающий эволюционные отношения разных жизненных форм, что позволило Н.С. Голубковой (1983) разработать иерархическую систему биоморф (или экобиоморф) лишайников. Система включает несколько уровней, самыми крупными, обобщающими, являются Отделы, далее следуют, по «нисходящей»: Типы, Классы, Группы и Подгруппы (табл. 1 на спец. вкладке).

Большинство зарубежных авторов придерживаются позиций неиерархической системы, используя морфолого-анатомический подход (Brodo et al., 2001; Ryan et al., 2002; Büdel and Scheidegger, 2008 и др.). В кратком обзоре Д.Е. Гимельбрант и Е.С. Кузнецова (2014) приводят таблицу сопоставлений наиболее распространенных систем жизненных форм лишайников и для части форм, выделенных в неиерархических системах, не находят аналогов в системе иерархической. Отметим, что иерархическая система была разработана, изначально, для прикладной задачи: анализа лишайнофлоры конкретной территории — Монголии. Следовательно, изначально были описаны и получили свое место в системе только жизненные формы, встреченные автором на обследованной территории. Дальнейшие разработки этой системы, предпринятые, например, в отношении лишайников субарктических тундр (Пристяжнюк, 1996 а, б), показали возможности выделения новых подгрупп внутри групп или групп внутри ранее выделенных классов. Полагаем, что все «формы роста», выделяемые различными зарубежными авторами, могут занять

свое место в иерархической системе (наши предположения в данном отношении выделены в таблице курсивом).

Отделы жизненных форм выделяются по расположению талломов относительно субстрата: отдел Эндогенных лишайников представлен организмами, слоевище которых развивается внутри субстрата (на поверхности формируются только «плодовые тела»); для представителей отдела Эпигенные характерно развитие слоевища на поверхности субстрата.

Типы выделяются в зависимости от того, как таллом ориентирован по отношению к субстрату: Плагиотропные (горизонтально распростертые по субстрату), Плагио-ортотропные (часть таллома горизонтально ориентирована, а часть — вертикально) и Ортотропные (вертикально ориентированные). Классы объединяют биоморфы с близким общим габитусом таллома, а дальнейшее деление на группы и, в некоторых случаях, на подгруппы, зависит от более частных деталей строения талломов.

Отдел Эндогенные включает только один тип Плагиотропные, один класс Накипные, разделенный на две группы. Группа эндофлеоидных характеризуется талломом, развивающимся внутри древесного субстрата (примеры представителей здесь и далее см. в табл. 1, номенклатура приведенных таксонов дана в соответствии со сводкой «Список лишенофлоры России» (2010) с некоторыми современными изменениями по Ру (Roux, 2012) и Сораби (Sohrabi et al., 2013)). У группы эндолитных лишайников таллом развивается под тонким слоем каменистого субстрата, чаще кальцийсодержащего, более мягкого, чем кремнийсодержащие породы.

Отдел Эпигенные включает все типы жизненных форм: Плагиотропные, Плагио-ортотропные, Ортотропные и Свободноживущие. Наиболее многочисленны плагиотропные биоморфы, среди которых выделяют классы накипных, умбиликатных и листоватых жизненных форм. Накипные (или корковые) представляют собой различного вида и цвета «корочки». Достаточно однородные «корочки» объединяют в группу однообразно-накипных. Однообразные не означает одинаковые: внутри группы различают подгруппы лепрозных (порошистых), пленчатых, плотнокорковых, зернисто-бородавчатых, трещиноватых, ареолированных, гониоцистных, аталлических. Кроме однообразно-накипных в ранге группы рассматриваются также диморфные и чешуйчатые биоморфы, каждая из этих групп содержит по несколько подгрупп.

Умбиликатные характеризуются талломом в виде щитовидной пластинки (или нескольких пластинок), прикрепленной к субстрату с помощью специализированной структуры — гомфа — только в

центральной части, по краям свободной. Включает группы умбиликатно-накипных (сравнительно мелкие, с почти плоской формой пластинок) и умбиликатно-листоватых (более крупные, с приподнимающимися или волнистыми краями пластинок).

Листоватые лишайники имеют таллом в виде листовидной пластинки, рассеченной на лопасти различной ширины и формы, с легко различимой верхней и нижней поверхностью. Важными таксономическими признаками являются размеры лопастей, их форма и конфигурация, а также наличие/отсутствие нижнего корового слоя и морфология прикрепляющих структур. Различают группы широколопастных и узколопастных ризоидальных, а также группу вздутолопастных неризоидальных биоморф.

К типу Плагио-орторопных относится только один класс жизненных форм — чешуйчато-кустистые. Этот класс характеризуется наличием чешуйчатого или мелколистоватого горизонтального слоевища с вертикальными простыми или разветвленными выростами. Включает группы шило- или сцифовидных (возможно деление на подгруппы: шиловидные, палочковидные, сцифовидные) и кустисто-разветвленных.

В типе Орторопных лишайников различают два класса. Класс накипных карликово-кустистых включает талломы, образованные вертикально ориентированными простыми или разветвленными выростами от 3 до 15 мм высотой. Включает группы карликово-кустистых, филаментозных (биссоидных) и пульвинатных биоморф. Один из самых малочисленных классов, в отличие от класса кустистых жизненных форм, который подразделяется на группы кустистых повисающих, кустистых прямостоячих и кустистых стелющихся биоморф. Среди этих групп можно различить лишайники с уплощенными (плосколопастные), округлыми (радиально-лопастные) лопастями и различные переходы между этими формами, что отражается в составе выделяемых подгрупп.

Тип Свободноживущие (кочующие) включает классы накипных, листоватых и кустистых с подразделением каждого на несколько подгрупп. Отметим, что часть свободноживущих форм, ранее относящихся к накипным (в современном понимании это часть эгагропильных видов рода *Circinaria*), в настоящее время причисляют к карликово-кустистым или «субфрутикозным» (Кулаков, 2002; Sohrabi et al., 2013).

Иерархическая система получила дальнейшее развитие (Голубкова и Бязров, 1989; Пристяжнюк 1996 а, б и др.), когда при выделении жизненных форм были дополнительно приняты два тезиса, ранее принятых для систем жизненных форм сосудистых растений: один вид может быть представлен разными жизненными формами в различных частях ареала или в разных экологических условиях (Серебряков, 1962), а

индивидуум в процессе онтогенеза может сменить несколько жизненных форм (Хохряков, 1981).

Эти тезисы находят свое подтверждение в результатах популяционно-онтогенетических исследований (Schuster, 1985; Ott, 1987, 2004; Scheidegger, 1995; Суетина и др., 1998, 2007; Суетина и Готов, 2010 и др.). Например, установлено, что вид *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf. представлен на территории Республики Марий Эл как кустистой, так и листоватой жизненной формой (Суетина и др., 2007), т.е., согласно иерархической системе, принадлежит разным классам жизненных форм. Кроме того, в процессе онтогенеза кустистая биоморфа данного вида проходит этапы накипной, листоватой и кустисто-листоватой биоморф. Кустистые виды р. *Usnea* на ранних этапах онтогенеза также формируют накипной таллом, который впоследствии дифференцируется в палочковидный и, затем, различным образом разветвленный кустистый таллом, относящийся, согласно иерархической системе, к подгруппе радиально-лопастных жизненных форм.

Поскольку «филогенез представляет собой преемственный ряд онтогенезов последовательных поколений» (Биологический..., 1989, с. 673), упомянутые исследования вносят существенный вклад в понимание происхождения и эволюции жизненных форм современных лишайников.

Очевидно, что эволюционные процессы у лишайников происходят чрезвычайно медленно, чему способствует высокая экологическая пластичность лишайников, как группы в целом, и особенности размножения (при длительном вегетативном воспроизводстве у лишайников не наблюдается вырождения). По замечанию Л.В. Бардунова (1984, с. 68), "при вегетативном размножении смены поколений не происходит и мы все время имеем дело с серией одних и тех же бесконечно разросшихся в пространстве и едва ли не столь же бесконечных во времени особей". Условия обитания лишайников не способствуют образованию окаменелостей (Hawksworth, 1988; Lichens: Fossil Record). Предположительно, самыми древними считаются находки ископаемых лишайников, датированные докембрием (Hallbauer et al., 1977), в том числе, считались лишайниками эдиакарские (возраст около 600 млн. лет) ископаемые (Retallack, 1994; Yuan et al., 2005). Эти предположения вызывают довольно серьезную критику, и дискуссия по этому вопросу пока остается открытой (Waggoner, 1995; Retallack, 2007). И.В. Каратыгин (1993) датирует происхождение лишайников, как симбиотрофной группы, концом ордовикского — началом силурийского периода палеозоя (между 480 — 440 млн. лет назад). Достоверные сведения относятся к ископаемым лишайникам нижнего девона и имеют возраст около 400 млн. лет (Taylor

et al., 1977, 1995; Юрина и Красилов, 2002), а уже лишайники мезозоя не слишком отличаются от современных (Криштофович, 1957).

Жизненные формы, как системы адаптаций к наиболее полному использованию условий среды, не зависят от степени родства организмов и возникают в результате конвергентной эволюции под действием сходных факторов естественного отбора (Голубкова, 1993). Таким образом, жизненная форма — понятие скорее биоморфологическое, чем генетическое, а понятие «эволюция жизненных форм лишайников», в первую очередь означает эволюцию адаптаций, определяющих общее строение таллома (Котлов, 1995).

В современном понимании, анатомия и морфология лишайников есть наивысшая адаптация мутуалистического симбиоза, состоящего из микобионты и фотобионты, к условиям среды (Büdel, Scheidegger, 2008).

При этом, лишь изредка фотобионт является «определяющим» в формировании габитуса лишайника, в этих случаях возникают «филаментозные» или «биссоидные» жизненные формы, характерные для родов *Coenogonium*, *Cystocoleus*, *Ephebe*, *Racodium*. Фотобионт, стимулируя эволюцию микобионты, сам не эволюционирует или развивается в пределах основных типов, характерных для свободноживущих водорослей или цианобактерий (Голубкова, Бязров, 1989).

В подавляющем большинстве случаев разнообразная форма талломов лишайников обусловлена эволюцией микобионты, что, казалось бы, должно приблизить жизненные формы лишайников к таковым у грибов. Однако, несмотря на принадлежность к Царству Мусота, жизненные формы лишайников проявляют гораздо большую близость к таковым у сосудистых растений. Если у грибов диагностическими признаками жизненных форм, как правило, выступают особенности строения «плодовых тел» (аском, базидиом и т.п.) (Пармасто, 1968; Бондарцева, 1974, и др.), то особенности жизненных форм лишайников проявляются также, как и у сосудистых растений, в вегетативном строении. А.А. Еленкин (1975) отмечал, что существенным отличием лишайников от грибов является строение их вегетативного тела, которое, в противоположность грибному мицелию развивается и полностью живет в воздушной среде.

Однако, главное, что отличает лишайники от грибов и сближает их с растениями — это автотрофное питание. Независимо от жизненной формы, таллом должен функционировать как фотосинтетически активный блок таким образом, чтобы обеспечивать положительный баланс фотосинтеза и, как следствие, достаточную скорость роста. Это означает, что фотобионт должен быть обеспечен нужным количеством света, будь то в глубокой тени дождевых лесов или наиболее открытых условиях пустыни. Диффузия диоксида углерода в клетки фотобионты должна

осуществляться даже при полной гидратации таллома, следовательно, потери воды адаптируются к конкретным условиям среды: минимум потерь в сухих условиях и максимум в наиболее влажных. Тем самым, может быть реализован оптимальный доступ CO<sub>2</sub> к фотобионту (Büdel, Scheidegger, 2008).

Предположительно, основным стимулом для образования различных жизненных форм у лишайников является борьба за свет (Голубкова, Бязров, 1989), в то время как у грибов это борьба за субстрат или хозяина (Пармасто, 1968), а у сосудистых растений — борьба за влагу (Серебряков, 1962). Конечно, нельзя рассматривать жизненные формы лишайников как приспособление лишь к одному, хотя и ведущему, фактору среды. Исторически они возникли, как результаты адаптации к наиболее полному использованию всего комплекса условий местообитания. Однако специфика лишайников, как организмов (симбиотрофия, фактическая независимость питания от субстрата, способность поглощать водяной пар, устойчивость к воздействию экстремально низких или высоких температур, медленный рост и некоторые др.) дает основания предполагать ведущую роль фактора освещенности в эволюции жизненных форм лишайников.

Ю.В. Котлов (1995) выделяет два генеральных направления этой эволюции. Первое — уменьшение площади прикрепления к субстрату (Еленкин, 1975 и др.) — легко прослеживается на уровне даже таких крупных классификационных единиц, как типы жизненных форм. В ряду «Плагитропные – Плагियो-ортотропные – Ортотропные – Свободноживущие» площадь соприкосновения таллома с субстратом падает от практически 100 % (в случае эндогенных талломов) до нуля. Второе направление — оптимизация использования солнечной радиации, что заключается в увеличении отношения площади фотосинтезирующей поверхности к общему объему таллома ( $S_{фп} / V$ ). Это означает увеличение количества продуктов фотосинтеза, производимых фотобионтом, на единицу массы микобионта (Еленкин, 1907, 1975; Голубкова, Бязров, 1989; Голубкова, 1993; Пристяжнюк, 1996 б). Такое направление прослеживается на нескольких уровнях, от классов до групп и подгрупп, что показывают схемы эволюционных связей жизненных форм лишайников, предложенные Н.С. Голубковой (1983) и Ю.В. Котловым (1995) и обобщенные, с некоторыми дополнениями, на рис. 1 (см. спец. вкладку).

Фактически все вышеперечисленные авторы, касающиеся вопроса эволюции жизненных форм лишайников, предполагают, что основная направленность развития шла по пути от плагитропных к ортотропным (накипные – чешуйчатые – листоватые – кустистые). При этом, начальный этап эволюции лишайникового таллома связан с переходом отдельных

таксонов грибов к биотрофному питанию и образованием вокруг свободноживущих водорослей или цианобактерий мицелиальной плектенхимы (Окснер, 1974; Голубкова, 1993 и др.). Это таллом, вероятно, внешне напоминал лепрозный. Его дальнейшая адаптация происходила параллельно в разных таксономических группах различно, формировались плотнокорковые и зонированные (с хорошо различимыми краевыми зонами, отличающимися по структуре и цвету) биоморфы. На наш взгляд, здесь же можно отметить в качестве пути развития и формирование пленчатого таллома. Эти жизненные формы затем могли трансформироваться в зернисто-бородавчатые, трещиноватые и ареолированные. При этом происходило увеличение соотношения  $S_{фп}/V$  при оставшейся почти без изменения площади соприкосновения с субстратом.

Часть трещиноватых и ареолированных эволюционировали в «горизонтальной плоскости» по пути формирования лопастей по краям таллома, что привело к образованию диморфных, а впоследствии чешуйчатых и листоватых биоморф — в таких случаях, кроме увеличения  $S_{фп}/V$ , несколько сокращалась площадь прикрепления к субстрату. Эволюция другой части ареолированных жизненных форм, по-видимому, шла в «вертикальном» направлении, результатом чего стало формирование шаровидных или тониниеобразных биоморф и, возможно, первых плагио-ортотропных и даже ортотропных талломов. Ю.В. Котлов (1995), в частности, предполагает, что этим путем шел процесс образования кустистых талломов с сердцевинной или остатками сердцевинной (*Bryoria*, *Usnea* и т.п.). Отдельной, видимо, тупиковой ветвью эволюции является гониоцистный таллом (скопление округлых мелких гранул менее 50 мкм в диаметре), — его рассматривают как результат вторичного упрощения ареолированного или тониниеобразного таллома (Окснер, 1974; Котлов, 1995). Вероятно, результатом упрощения или редукции следует считать и аталлические биоморфы, формирующие лишь небольшие участки таллома вокруг «плодовых тел».

Величина  $S_{фп}/V$  не зависит от диаметра листоватого и высоты / длины кустистого талломов, она увеличивается лишь при снижении толщины листоватого и уменьшении диаметра «цилиндра» кустистого таллома. В связи с этим, дальнейшими направлениями эволюции у листоватых видов считаются образование очень тонких «кожистых» умбиликатных, с одной стороны, и рассеченно-лопастных биоморф, с другой. Разрастание рассеченно-лопастных не только в горизонтальном, но и в вертикальном направлении также могло привести к образованию чешуйчато-кустистых и, далее, кустистых талломов — через плосколопастные к радиально-лопастным (с постепенным уменьшением диаметра таллома).

На определенном этапе эволюции в группах наиболее «продвинутых» биоморф (тониниеобразных, листоватых, кустистых,) соотношение  $S_{фп}/V$  достигает максимально возможной величины и дальнейшее его увеличение становится возможным только за счет формирования полых талломов. Этот процесс мог осуществляться двумя путями. Первый — постепенное разрушение сердцевины: она становилась рыхлой, паутинистой и у некоторых форм совершенно исчезла, что можно наблюдать у всех основных типов жизненных форм: среди накипных — некоторые виды р. *Toninia*, у листоватых — значительная часть представителей р. *Hypogymnia*, у кустистых — р. *Usnea*. Другой возможный путь формирования полых трубчатых биоморф — срастание боковыми сторонами лопастей листоватого таллома, что тесно связано с переходом от плагитропного типа роста к ортотропному. Возможно, таким путем образовались талломы, подобные части видов р. *Cladonia* (имеющих центральную полость без остатков сердцевины), *Dactylina* и некоторые другие.

Переход к свободноживущим биоморфам, согласно схеме Н.С. Голубковой (1983, с. 36) мог осуществляться на разных этапах эволюции всех типов и классов жизненных форм. Свободноживущие лишайники, как правило, встречаются в экстремально открытых и сухих условиях: сухих степях (равнинных и горных), пустошах, пустынях (как аридных, так и полярных). Можно сказать, что талломы свободноживущих лишайников, в некотором роде, «вершина» эволюционного ряда адаптаций к минимальному увлажнению при максимальной освещенности. Лишайники — пойкилогидридные организмы, не имеющие специальных органов поглощения и испарения влаги. Они получают воду из различных источников, быстрее всего поглощая ее в капельно-жидком виде, но в наиболее сухих местообитаниях особенно важной становится способность талломов поглощать водяные пары (Шапиро, 1991). Процесс фотосинтеза может осуществляться лишь при определенных уровнях влажности (Вайнштейн, 1973; Green et al., 2008 и др.), следовательно, лишайники сухих местообитаний должны более интенсивно использовать то короткое время, когда воздух еще влажный. Иными словами, речь вновь идет об увеличении отношения поверхности таллома (фотосинтезирующей и впитывающей влагу) к общему объему таллома во всех классах свободноживущих жизненных форм: у накипных трансформируются в комковато-шаровидные «эгагропилльные» талломы, у которых формируются различные выросты вплоть до образования карликово-кустистых биоморф, у листоватых и кустистых происходит сильное рассечение, разветвление и сворачивание в трубку лопастей. Кроме того, как отмечено выше, теряется и прикрепление к субстрату, что, с одной стороны, также (хотя и незначительно) увеличивает площадь поверхности при сохране-

нии прежнего объема, с другой — дает возможность распространения целых талломов или их фрагментов с помощью ветра (по типу «перекати-поля»).

Остается неясным вопрос о месте эндогенных биоморф в филогенетических рядах жизненных форм лишайников, поскольку они отсутствуют в «эволюционных схемах», предлагаемых упомянутыми ранее авторами. Рассматривая экологические особенности различных представителей этого отдела жизненных форм, можно предположить, что они находятся на разных ступенях эволюции. Вероятно, часть можно рассматривать, как первую, довольно примитивную ступень лихенизации — среди таких родов как *Leptorhahis*, *Mycomicrothelia*, *Arthonia* и др. встречаются нелихенизированные, факультативно-лихенизированные и облигатно-лихенизированные представители эндогенных жизненных форм. При этом эндогенные талломы некоторых видов *Bagliettoa*, *Polyblastia*, *Verrucaria*, *Sarcogyne* и др. представляют собой, скорее, адаптацию к определенным экологическим условиям: более или менее гладким участкам открытых выходов кальцийсодержащих пород, находящихся под воздействием ветра, прямого попадания дождя и значительной инсоляции.

Подводя некоторые итоги, биоморфологическое разнообразие лишайников нельзя считать достаточно изученным, а проблема происхождения и путей эволюции различных жизненных форм содержит пока больше предположений и вопросов, чем ответов. Возможно, они будут получены в будущем, с развитием в лихенологии эколого-физиологических, молекулярно-генетических и популяционно-онтогенетических методов.

### Литература

1. Абдульманова С.Ю. Закономерности прироста кустистых лишайников в градиентах среды. автореф. канд. дисс. ФГБУН Институт экологии растений и животных УрО РАН, Екатеринбург.
2. Бардунов Л.В. (1984) Древнейшие на суше. Новосибирск: Наука.
3. Биологический энциклопедический словарь (1989) гл. ред. М.С. Гиляров, Сов. энциклопедия, М.
4. Бондарцева М.А. (1974). Жизненные формы базидиальных макромицетов. Нов. сист. низших раст. 11: 29 – 40.
5. Вайнштейн Е.А. (1973) Некоторые вопросы физиологии лишайников. II. Фотосинтез. Бот. журн. 58 (3): 454– 464.
6. Гимельбрант Д.Е. и Кузнецова Е.С. (2014) Таллом и репродуктивные структуры лишайников. В кн. «Флора лишайников России: Биология, экология, разнообразие, распространение и методы изучения лишайников» (Отв. ред. М.П. Андреев, Д.Е. Гимельбрант.) Товарищество научных изданий КМК, М.; СПб., 61 – 123.
7. Голубкова Н.С. (1983) Анализ флоры лишайников Монголии. Наука, Л.

8. Голубкова Н.С. (1974) Жизненные формы лишайников Антарктиды. Нов. сист. низших раст. 11: 55 – 75.
9. Голубкова Н.С. (1993) К вопросу о происхождении и эволюции лишайникового симбиоза. Нов. сист. низших раст. 29: 84 – 104.
10. Голубкова Н.С. и Бязров Л.Г. (1989) Жизненные формы лишайников и лишеносинузии. Бот. журн. 74 (6): 794 – 805.
11. Гумбольдт А. 1936. Идеи о географии растений. В кн. «География растений» (ред. В.Н. Вавилов). ОГИЗ. Сельхозгиз. М.; Л., 49 – 70.
12. Еленкин А.А. (1929) О некоторых теоретических следствиях комбинативного принципа в системе лишайников. Изв. ГБС СССР. 28 (5 – 6): 428 – 445.
13. Еленкин А.А. (1926) О принципах классификации лишайников. Журн. Русск. Бот. о-ва, 11(3 – 4): 245–272.
14. Еленкин А.А. (1907) Орто- и плагитропный рост с биомеханической точки зрения у лишайников и некоторых других низших споровых. Бот. журн. Имп. С.-Петербург. о-ва естествоисп. 2 (2): 19 – 61.
15. Еленкин А.А. (1975) Понятие лишайник и лишайниковый симбиоз. Нов. сист. низших раст. 12: 1 – 81.
16. Каратыгин И.В. Козволюция грибов и растений. СПб.: Гидрометеиздат, 1993.
17. Кирпотин С. Н. (1999) О целесообразности использования физиономического подхода и принципов теории симметрии при выделении и изучении жизненных форм растений. Kylovia. 1 (1): 15 – 25.
18. Котлов Ю.В. (1995) О моделировании эволюции основных жизненных форм лишайников Бот. журн. 80 (3): 26 – 30.
19. Криштофович А.Н. (1957). Палеоботаника. Гостоптехиздат, Л.
20. Кулаков В.Г. (2002) Кустистые и листоватые лишайники Нижнего Поволжья, б.и., Волгоград.
21. Миркин Б.М. и Наумова Л.Г. (2014) Краткий энциклопедический словарь науки о растительности. Гилем, Уфа. 288 с.
22. Мучник Е.Э., Инсарова И.Д., Казакова М.В. (2011) Учебный определитель лишайников Средней России, Ряз. гос. ун-т им. С.А. Есенина, Рязань.
23. Окснер А.Н. (1971) Жизненные формы лишайников. В сб. «Материалы I конф. по споровым растениям Украины», Изд-во АН УССР, Киев, 22 – 24.
24. Окснер А.Н. (1974) Определитель лишайников СССР. Наука, Л. Вып. 2: Морфология, систематика и географическое распространение.
25. Пармасто Э. (1965) Жизненные формы высших базидиальных грибов. В сб. «Проблемы изучения грибов и лишайников», Изд-во Тарт. ун-та, Тарту, 64 – 68.
26. Пристяжнюк С.А. (1996а) Жизненные формы лишайников субарктических тундр полуострова Ямал. I. Система жизненных форм. Бот. журн. 81 (3): 34 – 41.
27. Пристяжнюк С.А. (1996б). Жизненные формы лишайников субарктических тундр полуострова Ямал. II. Связь с экологическими факторами. Бот. журн. 81(4):48 – 55.
28. Серебряков И.Г. (1962) Экологическая морфология растений. Высшая школа, М.

29. Список лихенофлоры России. (2010) (сост. Урбанавичюс Г. П., отв. ред. Андреев М.П.) Наука СПб.
30. Суетина Ю.Г., Глотов Н.В. (2007) Онтогенез и морфогенез кустистого лишайника *Usnea florida* (L.) Weber ex F.H. Wigg. Онтогенез, 41 (1): 32 – 40.
31. Суетина Ю.Г., Жукова Л.А., Санникова Н.А. (1998) Онтогенез и рост *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr. В сб. «Проблемы ботаники на рубеже XX – XXI веков: Тез. докл., представл. II (X) съезду Рус. бот. о-ва (26 – 29 мая 1998 г., Санкт-Петербург)». Том 2, б. и., СПб., 79 – 80.
32. Суетина Ю.Г., Теплых А.А., Богданов Г.А. (2007) Листоватая форма лишайника *Pseudevernia furfuracea* (L.) Zopf. Науч. тр. гос. природ. зап. «Большая Кокшага», МарГТУ, Йошкар-Ола, 2: 230 – 234.
33. Толпышева Т.Ю., Тимофеева А.К. (2008) Влияние субстрата на рост и размножение лишайников *Cladonia rangiferina* и *C. mitis*, Вестн. Моск. ун-та. Сер. Биология 16 (4): 34 – 41.
34. Хохряков А.П. (1981) Эволюция биоморф растений. Наука, М.
35. Шапиро И.А. (1991) Загадки растения-сфинкса, Гидрометеоиздат, Л.
36. Юрина А.Л., Красилов В.А. (2002) Лишайникоподобные остатки из живета Центрального Казахстана. Палеонтол. журн. 5: 100 – 105.
37. Barkman J.J. (1958) Phytosociology and ecology of cryptogamic epiphytes. Van Gorcum, Assen (Netherlands).
38. Brodo I.M. Sharnoff S.D., Sharnoff S. (2001) Lichens of North America, Yale University Press, New Haven; London.
39. Büdel B., Scheidegger C. (2008) Thallus morphology and anatomy. In: “Lichen Biology” (ed. T.H. Nash III), University Press, Cambridge, 40 – 68.
40. Crespo A., Kauff F., Divakar P.K., del Prado R. et al. (2010) Phylogenetic generic classification of parmelioid lichens (Parmeliaceae, Ascomycota) based on molecular, morphological and chemical evidence. Taxon 59 (6): 1735 – 1753.
41. Green T.G.A., Nash III T.H., Lange O.L. Physiological ecology of carbon dioxide exchange. In: “Lichen Biology” (ed. T.H. Nash III), University Press, Cambridge, 152 – 181.
42. Hale M.E.Jr. (1987) A monograph of the lichen genus *Parmelia* Acharius sensu stricto (Ascomycotina: Parmeliaceae). Smithsonian Contr. Bot. 66: 1 – 55.
43. Hawksworth D.L. (1988) The variety of fungal-algal symbioses, their evolutionary significance, and the nature of lichens. Bot. J. Linn. Soc. 96 (1): 3 – 20.
44. Hallbauer D.K., Jahns H.M., Beltmann H.A. (1977) Morphological and anatomical observation on some Precambrian plants from the Witwatersrand, South Africa. Geol. Rundschau. 66 (2): 477 – 491.
45. Klement O. (1955) Prodromus der mitteleuropäeschen Flechtengesellschaften, Feddes Repert Beich. 135: 5 – 194.
46. Lichens: Fossil Record <http://www.ucmp.berkeley.edu/fungi/lichens/lichenfr.html> (дата обращения 10.06.2015).
47. Mattick F. (1951) Wuchs- und Lebensformen, Bestand- und Gesellschaftsbildung der Flechten. Bot. Jahrb. 75: 378 – 424.
48. Ott S. (1987) Differences in the developmental rates of lichens. Ann. Bot. Fennici, 24: 385 – 393.

49. Ott S. (2004) Early stages of development in *Usnea antarctica* Du Rietz in the South Shetland Islands, northern maritime Antarctica. *Lichenologist*, 36 (6): 413 – 423.
50. Poelt J. (1958) Die lobaten Arten der Flechtengattung *Lecanora* Ach. sensu ampl. in der Holarktis. *Mitt. der Bot. Staatssammlung München* 2 (19 – 20): 411 – 573.
51. Poelt J. (1973) Systematic evaluation of morphological characters. In: «The Lichens» (eds. V. Ahmadjian and M. E. Hale), Acad. Press, New York and London, 91 – 115.
52. Retallack G.J. (1994) Were the Ediacaran fossils Lichens? *Paleobiology* 20 (4): 523 – 544.
53. Retallack G.J. (2007) Growth, decay and burial compaction of *Discinonia*, an iconic Ediacaran fossil. *Alcheringa: an Australian Journal of Palaeontology* 31 (3): 215 – 240.
54. Roux C. (2012) Catalogue des lichens et des champignons lichénicoles de France. *Bull. Soc. Linn. Provence*. 16 (special): 1 – 220.
55. Ryan B.D., Bungartz F., Nash III T.H. (2002) Morphology and anatomy of the lichen thallus. In: «Lichen flora of the Greater Sonoran desert region» (eds. T.H. Nash III, B.D. Ryan, C. Gries and F. Bungartz). V. 1, Arizona State University, Tempe, Arizona, 8 – 23.
56. Scheidegger C. (1995) Early development of transplanted isidioid soredia of *Lobaria pulmonaria* in an endangered population. *Lichenologist* 27 (5): 361 – 374.
57. Schuster G. (1985) Die Jugendentwicklung von Flechten ein Indikator für Klimabedingungen und Umweltbelastung. In: *Bibliotheca Lichenologica*, 20, J. Cramer, Vaduz.
58. Sohrabi M., Stenroos S., Myllys L. et al. (2013) Phylogeny and taxonomy of the “manna lichens”. *Mycological Progress*. 12 (2): 231 – 269.
59. Taylor T.N. Hass H., Kerp H. (1977) A cyanolichen from the Lower Devonian Rhynie chert. *Amer. J. Bot.* 7: 992 – 1004.
60. Taylor, T. N., Hass, H., Remy, W., Kerp, H. (1995) The oldest fossil lichen. *Nature*. 378 (6554): 244.
61. Warming E. (1908) Om planterigetets livsformer. Kjobenhavn: Festskr. udg. Univ. Kjobenhavn.
62. Yuan, X.; Xiao, S.; Taylor, T.N. (2005) Lichen-Like Symbiosis 600 Million Years Ago. *Science*. 308 (5724): 1017.

# СВЯЗЬ ОФИОСТОМОВЫХ ГРИБОВ С НАСЕКОМЫМИ-КСИЛОФАГАМИ В ХВОЙНЫХ ЛЕСАХ

Пашенова Н.В., Баранчиков Ю.Н.

Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН  
pasnat@ksc.krasn.ru

Термин «офиостомовые грибы», не несущий таксономического значения, был предложен в прошлом веке для обозначения группы сумчатых грибов, характеризующихся близкой морфологией и экологией. В стадии телеоморфы они формируют микроскопические и полумикроскопические, темноокрашенные перитеции с шейкой, чья длина варьирует у разных видов, но часто превосходит диаметр основания в два и более раза. При созревании плодовых тел оболочка шаровидно-овальных прототуникатных сумок, беспорядочно расположенных в основании, быстро лизируется, и зрелые аскоспоры выдавливаются слизистой массой из остиолярного отверстия на вершине шейки в виде капли или усика. Конидии, продуцируемые простыми (*Thielaviopsis*-, *Hyalorhinoclialiella*-, *Sporothrix*- и *Leptographium*-тип) и коремияльными (*Pesotum*- тип) конидиеносцами, также формируются в слизистых массах. Для большинства видов офиостомовых грибов (ОФГ) характерна приуроченность к древесным субстратам и энтомохория. В этом отношении продуцирование клейких спор обеспечивает хорошее прилипание на поверхности экзоскелета насекомых и рассматривается, как один из результатов коэволюции грибов и насекомых-переносчиков. (Grills and Seifert, 1999; Malloch and Blackwell, 1999; Harrington, 2005).

ОФГ широко распространены в Северном и Южном полушарии, и связаны, преимущественно, с древесными растениями. Это — мезофилы, развивающиеся при температуре 15 – 30°C, влажности субстрата — 60 – 80 % и 3,5 – 6,5 рН. Грибы способны метаболизировать достаточно широкий круг углеводов и азот органических соединений и аммонийных солей (Seifert, 1999).

Научный и практический интерес к ОФГ связан с нерешенными вопросами их систематики и филогении, с экономическим значением (фитопатогены, возбудители синевы древесины) и выяснением экологической роли этих грибов в ассоциациях с насекомыми (Seifert et al., 2013).

## О современной систематике и филогении ОФГ

Согласно современным воззрениями ОФГ относятся к классу *Sordariomycetes* отдела *Ascomycota* (Index Fungorum). Центральными родами в группе являются *Ceratocystis* Ellis & Halst. и *Ophiostoma* Syd. В прошлом веке было предложено объединить все известные виды ОФГ в единственный род *Ceratocystis*, а прочие названия — *Ophiostoma*, *Ceratostomella* и др. — рассматривать, как синонимы (Olchowecki and Reid, 1974). Но позднее многочисленные ревизии с привлечением биохимических, и молекулярно-генетических методов, показали, что ОФГ представляют полифилетическую группу и включают несколько филогенетически отличных друг от друга родов. Общая морфология и экологическое сходство являются результатом гомоплазии (конвергентного развития) в ходе коэволюции с насекомыми. (De Beer et al., 2013 a.).

В настоящее время большинство исследователей этих грибов выделяет самостоятельные роды *Ceratocystis sensu lato* и *Ophiostoma sensu lato*, систематическое положение которых различается уже на уровне подклассов (рис 1). Предполагают, что предки родов *Ceratocystis* и *Ophiostoma*, возникшие, вероятно, вместе с другими пиреномицетами 200 миллионов лет назад, разошлись более 170 миллионов лет назад. Род *Ophiostoma*, возможно, существует более 85 миллионов лет, а более молодой род *Ceratocystis* — меньше 40 миллионов (Harrington, 2005).

Отдел	<i>Ascomycota</i>	
Класс	<i>Sordariomycetes</i>	
Подкласс	<i>Sordariomycetidae</i>	<i>Hypocreomycetidae</i>
Порядок	<i>Ophiostomatales</i> Benny & Kimbr.	<i>Microascales</i> Luttr. ex Benny & Kimbr.
Семейство	<i>Ophiostomataceae</i> Nanf.	<i>Ceratocystidaceae</i> Locq. ex Reblova, W. Games & Seifert = <i>Ceratocystaceae</i> Locq.
Род	<b><i>Ceratocystiopsis</i></b> <b><i>Graphilbum</i></b> <i>Fragosphaeria</i> <b><i>Leptographium</i></b> sensu lato (включ. <b><i>Grosmannia</i></b> ) <b><i>Ophiostoma</i></b> sensu lato (включ. <b><i>Pesotum</i></b> и <b><i>Sporothrix</i></b> ) <i>Raffaelea</i> sensu stricto	<b><i>Ceratocystis</i></b> sensu lato (включ. <b><i>Thielaviopsis</i></b> и <b><i>Ambrosiella</i></b> ) <i>Cornuvesica</i>

**Рис. 1.** Систематическое положение офиостомовых грибов (по de Beer et al., 2013 a).

Полужирным шрифтом отмечены роды, относимые к офиостомовым грибам.

К *Ceratocystis sensu lato* относят *Ceratocystis sensu stricto* (виды с известной телеоморфой), *Thielaviopsis* (грибы известные только в стадии анаморфы, но близкие к роду *Ceratocystis* по данным филогенетического анализа) и некоторые виды грибов рода *Ambrosiella*, чья близость к роду *Ceratocystis* также подтверждается генетическими исследованиями. Аналогично, в *Ophiostoma sensu lato*, кроме видов с известной телеоморфой, включены анаморфные виды *Pesotum* и *Sporothrix*. (Следует отметить, что в современной систематике ОФГ отказались от использования родового названия *Graphium* для обозначения несовершенной стадии развития у коремиобразующих видов *Ophiostoma sensu lato*.) Кроме этого, на основании филогенетического анализа в сем. *Ophiostomataceae* Nanf. предлагается выделить самостоятельные роды *Ceratocystiopsis* Н.Р. Upadhyay & W.B. Kendr., *Graphilbum* Н.Р. Upadhyay & W.B. Kendr. и *Leptographium sensu lato*, причем, в последний включены как анаморфные виды (*Leptographium*), так и виды с известной половой стадией (*Grosmannia* Goid.) (табл. 1, De Beer et al., 2013 a, b).

**Таблица 1.**

*Частота встречаемости офиостомовых грибов в ходах стволовых вредителей хвойных в Красноярском крае и Республике Хакасия, 1993 – 2012 гг. (по Пашенова и др., 2009, 2012)*

Вид насекомого-переносчика	Растение-хозяин	Частота встречаемости, %
Большой листовничный короед, <i>Ips subelongatus</i>	Лиственница сибирская, <i>Larix sibirica</i>	62 – 88
	Сосна обыкновенная, <i>Pinus sylvestris</i>	83 – 96
Короед-типограф, <i>Ips typographus</i>	Ель сибирская, <i>Picea obovata</i>	97 – 100
Черный пихтовый усач, <i>Monochamus urusovi</i>	Пихта сибирская, <i>Abies sibirica</i>	89 – 100
Уссурийский полиграф, <i>Polygraphus proximus</i>	<i>A. sibirica</i>	76 – 100
Большой сосновый лубоед, <i>Tomicus piniperda</i>	<i>P. sylvestris</i>	53
Вершинный короед, <i>Ips acuminatus</i>	<i>P. sylvestris</i>	33 – 73

### **Связь ОФГ с древесными растениями в хвойных лесах**

Начало систематического изучения ОФГ можно отнести к концу XIX века, хотя единичные виды были описаны еще раньше. Уже ранние работы показали, что большинство видов ОФГ обитает в лесных

экосистемах и связано с древесными субстратами и насекомыми-ксилофагами (Hunt, 1956).

В лесах ОФГ обитают в нефотосинтезирующих частях деревьев (стволах, ветвях, корнях). Мицелий ОФГ распространяется в проводящих тканях (флоэме и живой заболони), в камбии и паренхиме сердцевинных лучей, то есть там, где имеются живые клетки с цитоплазматическим содержимым, которое грибы потребляют в процессе питания. Наиболее благоприятными для развития ОФГ являются ткани ослабленного, отмирающего или недавно отмершего растения-хозяина: пока ткани свежие и сохраняется естественная влажность. Для этих грибов не установлено наличие активного комплекса ферментов, способных разрушать основные полимеры растительной клеточной стенки — целлюлозу и лигнин, но обнаружена пектолитическая, гемицеллюлазная и амилолитическая активность. Поэтому гифы ОФГ продвигаются в колонизируемых тканях, главным образом, через клеточные поры, хотя известно, что они в состоянии проделывать небольшие отверстия в клеточных стенках растительных сосудов, а также ограниченно распространяться вдоль ствола через сосуды ксилемы. (Черемисинов, 1973; Рабинович и др., 2001; Gibbs, 1999; Seifert, 1999).

Развитие ОФГ приурочено к периоду перехода организма хозяина из живого в мертвое состояние. Эта экологическая ниша определила их разнонаправленную специализацию по способу питания, и в данной группе можно встретить 1) сапротрофов; 2) «слабых патогенов» (факультативных патогенов) и 3) фитопатогенов (факультативных сапротрофов) (Harrington, 1999; Paine et al., 1997; Seifert, 1999). Существует мнение, что большинство видов рода *Ophiostoma* — сапрофиты на древесине и внутренней коре, часто связанные с короедами на хвойных породах, тогда как большинство видов рода *Ceratocystis* являются патогенами покрытосеменных растений. Однако ограниченное количество видов данного рода обитает и на хвойных (Harrington, 2005).

Слабые патогены и истинные сапротрофы, граница между которыми весьма условна, питаются содержимым клеток в ослабленных и отмирающих, свежесрубленных деревьях. Их развитие продолжается до тех пор, пока влажность в тканях ствола не снизится до уровня 20 – 25 % (Paine et al., 1997; Gibbs, 1999). Именно с сапротрофным способом обитания ОФГ в стволах и лесоматериалах связывают явление «синевы древесины» — темные синевато-серо-черные окраски. Причиной окраски являются темные пигменты грибов, в том числе, меланиновые, которые могут продуцироваться во внешнюю среду или содержаться в гифах, распространяющихся в одревесневших сосудах ксилемы (Рабинович и др., 2001). В наибольшей мере синева поражает хвойную древесину, однако встречается и на лиственной древесине (например, береза). И хотя синева

древесины может быть вызвана любыми темнопигментными грибами, ОФГ в этом отношении имеют наибольшее экономическое значение: они способны достаточно глубоко проникать вглубь стволов, и вызываемые ими окраски не могут быть удалены простым состругиванием (Рабинович и др., 2001; Seifert, 1999).

Сапротрофное развитие на свежих лесоматериалах, вызывающее синеву древесины и, как следствие, экономические потери в лесозаготовительной и деревообрабатывающей промышленности, определило направление интенсивных исследований ОФГ в XIX – XX вв. во многих странах мира. Значительный вклад в эти исследования был внесен российскими и советскими учеными. В XX веке проблемами повреждения древесины ОФГ занимались Ванин С.И., Вакин А.Т., Мейер Е.И., Белякова Л. А., Горшин С.Н., Крапивина И. Г. и другие (Мейер, 1953, Потлайчук и Шекунова, 1985).

ОФГ паразитической ориентации являются некротрофами: распространение их мицелия вызывает локальную некротизацию тканей хозяина, и питание происходит в пределах этих некрозов (Черемисинов, 1973). Первоначально фитопатогенный аспект ОФГ привлек внимание исследователей в связи с серьезными и широко распространившимися в Америке и Европе болезнями лиственных пород – голландской болезнью (графидозом) вяза и трахеомикозом дуба (Минкевич, 1986; Крюкова и Плотникова, 1991). Но, начиная со второй половины прошлого века, все большее значение стали приобретать исследования фитопатогенной активности ОФГ, обитающих в бореальных лесах и связанных в своей жизнедеятельности с агрессивными видами стволовых вредителей хвойных. В настоящее время в этой области активно работают исследователи в странах Северной Америки, Западной и Восточной Европы, в ЮАР, Китае, Южной Корее, Японии, Австралии и Новой Зеландии (Seifert et al., 2013). В России данная проблема изучалась ограниченно: в хвойных лесах Карелии и Центральной Сибири (Пашенова и др., 2009, Linnakoski et al., 2010).

### **Ассоциации ОФГ с насекомыми**

Внешний слой мертвой коры (корки) ствола и корней представляет непреодолимый барьер для ОФГ, и попасть на подходящий для развития субстрат они могут только через свежие механические повреждения или будучи занесенными под корку втачивающимися ксилофильными насекомыми (Six and Wingfield, 2010). Очевидную связь между короedами и сумчатými грибами синевы древесины впервые отметил Р. Гартиг в 1878 году (Harrington, 2005). Насекомым-переносчикам придавали большое значение при изучении причин возникновения синевы лесоматериалов, хотя и считалось, что в данном случае, наряду с энтомохорией, перенос

грибных спор идет с ветром и капельной влагой (дождь, туман). В настоящее время доказано, что распространение ОФГ преимущественно связано с ксилофильными насекомыми (Gibbs, 1999).

Но насекомые связаны не только с офиостомовыми грибами. На поверхности экзоскелета и в желудочно-кишечном тракте они переносят споры многих микроорганизмов, часть которых, будучи занесенными под кору, получает возможность развиваться в тканях растения-хозяина или в ходах насекомых, в последнем случае за счет органики находящейся непосредственно в ходах — буровая мука, экскременты, продукты линьки и погибшие экземпляры насекомых и представителей микрофауны (клещики, нематоды) и т.п. В растительных тканях, прилегающих к ходам, могут развиваться только некоторые грибы, и среди них — офиостомовые. В количественном отношении в ходах ксилофильных насекомых обычно доминируют дрожжевые формы, но могут присутствовать амброзиальные грибы, энтомопатогены, фитопатогены и, конечно, сапротрофы (сумчатые, несовершенные, базидиальные), попавшие с воздуха, с поверхности колонизируемого растения или занесенные самими насекомыми из прежних мест обитания (Густелева и Исаев, 1982; Harrington, 2005). ОФГ, обладая гифальным ростом, распространяются не столько в ходах переносчика, сколько в прилегающих к ходам сосудистых тканях растения-хозяина. Но обильные плодо- и спороношения ОФГ формируют именно в ходах насекомых, превалируя над другими мицелиальными грибами (Malloch and Blackwell, 1999).

Большое количество работ по изучению ОФГ на хвойных касались, в первую очередь, грибов, связанных с агрессивными видами стволовых вредителей, нападающих на живые деревья (Six and Wingfield, 2010). Физиологически опасные вредители, однако, составляют сравнительно небольшую часть насекомых, обитающих в древесных субстратах (Harrington, 2005). Поэтому современные представления о взаимоотношениях ОФГ и насекомых-переносчиков базируются на ограниченном материале, а грибы, связанные с сапротрофными видами ксилофильных насекомых, почти не изучены (Six and Wingfield, 2010).

Согласно данным литературы, ОФГ связаны практически с каждым видом агрессивных стволовых вредителей. Но в конкретных популяциях насекомых частота встречаемости ОФГ (представителей группы, вообще, или их отдельных видов) может значительно варьировать (табл. 1). (Под частотой встречаемости понимают процентное отношение образцов — жуков-переносчиков или ходов из гнезд разных семей, содержащих ОФГ, к общему количеству образцов, отобранных в исследуемой популяции). Имеются сведения о популяциях насекомых, где ОФГ не были обнаружены или частота их встречаемости составляла доли процентов (Six and Wingfield, 2010). Отсюда следует, что ОФГ являются типичным, хотя и не

строго обязательным компонентом микобиоты, связанной с агрессивными видами стволовых вредителей.

**Таблица 2.**

*Офиостомовые грибы\*, обнаруженные в ходах стволовых вредителей хвойных лесах Центральной Сибири (Пашенова и др., 2009, 2012)*

Вид насекомого	Растение-хозяин	Виды грибов
Большой лиственничный короед	Лиственница сибирская, сосна обыкновенная	<i>Ceratocystis laricicola</i> ** Redfern & Minter, <i>Ceratocystiopsis minuta</i> (Siem.) Upadhyay & Kendrick, <i>Ophiostoma bicolor</i> Davids. & Wells, <i>O. ips</i> (Rumb.) Nannf., <i>O. minus</i> (Hedgc.) Syd., <i>O. piliferum</i> (Fr.: Fr.) Syd.
Короед-типограф	Ель сибирская	<i>Ceratocystis polonica</i> (Siem.) C. Moreau, <i>Cer. minuta</i> , <i>Grosmannia europhioides</i> (Wright & Cain) Zipfel, de Beer & Wingfield, <i>G. penicillata</i> (Grosm.) Goid. <i>O. ainoae</i> H. Solheim, <i>O. bicolor</i> ,
Черный пихтовый усач	Пихта сибирская	<i>G. europhioides</i> , <i>Leptographium sibiricum</i> Jacobs & Wingfield, <i>O. nigrum</i> (Davidson) de Hoog and Scheffer, <i>O. picea</i> (Munch) Syd., <i>Ophiostoma sp.</i>
Уссурийский полиграф (инвазийный для Сибири вид)	Пихта сибирская	<i>Graphilbum rectangulosporium</i> (Davidson) de Beer & Wingf., <i>Gr. microcarpum</i> (Yam. & Masuya) de Beer & Wingf., <i>Grosmannia abieticola</i> *** (Yam. & Masuya) Masuya & Yamaoka, <i>G. aoshimae</i> (Ohaka, Masuya & Yamaoka) Masuya & Yamaoka, <i>O. subalpinum</i> *** Ohtaka & Masuya
Большой сосновый лубоед	Сосна обыкновенная	<i>Cer. minuta</i> , <i>O. minus</i> , <i>O. piliferum</i>
Шестизубчатый короед	Сосна кедровая сибирская	<i>O. brunneo-ciliatum</i> Math.-Käärik, <i>O. minus</i> , <i>L. truncatum</i> (Wingf. & Marasas) Wingf.

\*Названия грибов приведены по Z.W. de Beer, K.A. Seifert, M.J. Wingfield (2013b), для *O. nigrum* по Index Fungorum.

\*\*Полужирным шрифтом выделены специфические ассоцианты упомянутых в таблице вредителей.

\*\*\*Идентификация не завершена.

На видовом уровне каждый вредитель хвойных переносит не единственный гриб, а комплекс ОФГ, в котором один или несколько видов грибов являются специфическими ассоциантами именно этого вида насекомого, и не встречаются в популяциях другого вида или встречаются с низкой частотой (табл. 2), (Gibbs, 1999). Кроме того, в комплексах ОФГ просматривается «сукцессионная дифференциация» (Solheim, 1992). Некоторые виды, называемые «первопоселенцами» (primary invaders), попав в растительные ткани, поврежденные переносчиками, первыми начинают активное распространение в них, поскольку в большей мере адаптированы к низкому содержанию кислорода и защитным веществам хозяина (Solheim, 1991a). Изменение условий, по мере ослабления и отмирания дерева, приводят к тому, что первопоселенцы замещаются другими видами офиостомовых, которые в большей степени ориентированы на сапротрофный способ обитания (Bleiker and Six, 2009; Solheim, 1991 b).

### **Негативная деятельность грибов-первопоселенцев в ассоциациях с агрессивными вредителями хвойных**

Фитопатологические исследования офиостомовых грибов, связанных с агрессивными видами вредителей хвойных, прежде всего, касаются видов-первопоселенцев, которые, как и их переносчики, вынуждены преодолевать защитные реакции растения-хозяина. Выявление таких видов и оценка их вирулентности осуществляется при помощи метода искусственного инфицирования, когда мицелий (споры), внесенный во флоэму ствола, вызывает вокруг точки инокуляции образование некроза — так называемую реакцию сверхчувствительности (РСЧ). Эта реакция — универсальный механизм и один из этапов индуцированного защитного ответа у растений при механическом повреждении и / или инфицировании тканей. РСЧ заключается в быстрой гибели клеток флоэмы, инфицированных патогеном, а также, смежных клеток на некотором расстоянии от зараженного участка. На последующих этапах защитного ответа во флоэме реакционной зоны происходит накопление защитных веществ (растительных фенолов, смолы), усиливается лигнификация клеточных стенок (Morel and Dangel, 1997). Способность агрессивных патогенов распространяться в отмирающих участках луба приводит к разрастанию некротической зоны по сравнению с небольшими некрозами, быстро формирующимися вокруг механически поврежденных, но не инфицированных участков. Деятельность ОФГ увеличивает размеры поражения, вызванного собственно насекомыми, и повышает ресурсные траты растения-хозяина на защитный ответ, ослабляя атакующее дерево. Размеры некроза отражают «борьбу» между агрессивностью патогена и активностью индуцированного защитного ответа хозяина. Согласно данным литературы, обширные некрозы флоэмы (40 – 100 мм и более),

развившиеся при искусственном инфицировании здоровых, без признаков ослабления, деревьев, указывают на высокую агрессивность гриба (Rice et al., 2007; Six and Wingfield, 2010).

### **Является ли связь ОФГ и ксилофильных насекомых облигатной?**

Еще недавно было общепринятым, что агрессивные виды ксилофагов и фитопатогенные ОФГ связаны мутуалистическими взаимоотношениями: грибы получают «адресную доставку» в благоприятные для роста и развития условия, а насекомые — помощь для успешного заселения деревьев и развития потомства. В последние десятилетия исследования в данной области исходили из парадигмы, постулирующей, что стволовые вредители нуждаются в грибах для преодоления защитного ответа и успешной колонизации растения-хозяина. Было предложено две гипотезы о роли грибов при колонизации стволов короедо-грибными ассоциациями: 1) именно грибы, распространяясь в проводящих тканях ствола, вызывают гибель хозяина, блокируя перемещение воды по ксилеме и (Kuroda, 2005; Paine et al., 1997); 2) распространение грибов стимулирует индуцированный защитный ответ в лубе хозяина, что приводит к истощению последнего, затуханию защитных реакций и обеспечивает успешное развитие потомства насекомых-переносчиков. (Lieutier et al., 2009).

Однако недавние попытки обобщить данные, накопленные при исследовании ОФГ на хвойных, показали большое варьирование фактического материала и дали основание для критики выдвинутых ранее гипотез.

1. Весомым аргументом является тот факт, что перенос ОФГ насекомыми не является строго обязательным в природе: грибы, в частности виды-первопоселенцы, могут отсутствовать в популяциях своего переносчика, или их встречаемость находится на низком уровне. Но такие популяции, между тем, не только не угасают, но увеличиваются и, заселяют деревья, вызывая их гибель в отсутствии грибных ассоциантов (Six, 2003; Six and Wingfield, 2010).

2. Отмечено неполное соответствие между видовым составом грибов-ассоциантов и агрессивностью их переносчика. Логично предполагать, что вредители, нападающие на живые деревья, должны обязательно переносить фитопатогенов-первопоселенцев, однако, наиболее постоянными ассоциантами некоторых агрессивных короедов являются непатогенные или слабопатогенные ОФГ. Более того, многие виды ксилофильных насекомых, ведущие сапротрофный образ жизни и никогда не нападающие на живые деревья, также переносят ОФГ. Механизмы взаимодействия неагрессивных насекомых и грибов в сапротрофных условиях почти не изучены, поскольку данный тип ассоциаций выпал из

поля зрения исследователей, хотя такая информация может быть полезной для понимания общей картины симбиотических отношений в короедо-грибных ассоциациях (Six and Wingfield, 2010).

3. Ряд исследователей обращает внимание на медленную колонизацию грибами проводящих тканей хозяина и их неспособность существенно ослабить организм растения за те несколько дней, в течение которых длится начальная критическая фаза колонизации дерева короедо-грибной ассоциацией и достигается необратимость патологических изменений хозяина — «точка невозврата» (Solheim, 1992; Paine et al., 1997). Указывается также, что провоцирование грибными ассоциантами активного защитного ответа хозяина, включающего накопление фенольных веществ в зонах некроза, на начальных этапах колонизации может принести только вред потомству переносчика, и в этом отношении в выигрыше могут оказаться особи, переносящие слабопатогенные виды грибов (Raffa and Smalley, 1995; Six and Wingfield, 2010).

4. В последнее время вызывает сомнение и практикуемый метод искусственной инокуляции хвойных. Это в большей мере относится к методу множественной искусственной инокуляции, когда высокая плотность точек инфицирования на стволе имитирует атаку вредителей. Именно по результатам таких опытов было сделано заключение о способности некоторых ОФГ вызывать гибель растения-хозяина в отсутствие переносчика. Но очевидно, что эксперименты по искусственной инокуляции не могут в полной мере повторить происходящие в природе процессы: от глазмерного выбора исследователем деревьев для инокулирования, до вносимой дозы инокулюма, которая, несомненно, завышена по сравнению с количеством пропагул, находящихся на одной особи переносчика в природе (Six and Wingfield, 2010).

Критики выдвинутых ранее гипотез предлагают трактовать взаимоотношения ОФГ и агрессивных вредителей хвойных как случай комменсализма: грибы получают выгоду от ассоциации с насекомыми, с высокой вероятностью попадая в благоприятные для развития условия, тогда как для переносчиков связь с ОФГ не имеет значения и не является обязательной (Harrington, 2005; Six and Wingfield, 2010).

Впрочем, фитопатогенные свойства у некоторых части ОФГ не отрицают и сторонники «комменсальных взаимоотношений», объясняя, что переход к паразитическому обитанию в тканях живого хозяина произошел вследствие конкурентного давления со стороны сапротрофных микроорганизмов, обитающих в ходах насекомых переносчиков (Six and Wingfield, 2010).

В «гипотезу комменсализма», однако, не вписывается относительное постоянство комплексов ОФГ, связанных с разными видами стволовых вредителей (Malloch and Blackwell, 1999). Если насекомые не нуждаются

для своего развития в конкретных видах грибов, то логично предположить, что видовой состав офиостомовых в популяциях переносчиков должен постоянно меняться. Тем не менее, в природе с тем или иным видом насекомого связаны определенные виды грибов. Например, в условиях Сибири гриб *Ceratocystis laricicola* Redfern & Minter связан с большим листовенничным короедом и листовенницей сибирской, *C. polonica* и *Grosmannia penicillata* — с короедом-типографом и елью сибирской, *Leptographium sibirica* Jacobs & Wingf. известен как ассоциант черного пихтового усача на пихте сибирской и т.п. (Пашенова и др., 1995, 2001, 2009). Роль фактора, детерминирующего видовой состав в ассоциациях грибов и ксилофильных насекомых, можно было бы приписать растению-хозяину (условия произрастания, состав клеточного сока в лубе, pH, строение луба, его толщина, особенности индуцированного защитного ответа и т.п.). Однако эксперименты по перекрестному инокулированию показали отсутствие строгой специализации грибов в отношении хозяина. Установлено, что при случайном заносе в ослабленные, переспелые или свежесрубленные деревья ОФГ могут достаточно успешно развиваться в тканях «нехозяев», вызывая при этом некрозы флоэмы меньшего размера, чем специфичный для данной породы ассоциант, но достоверно отличающиеся от контроля (Пашенова и др., 2009; Harrington et al., 2002).

Предположение о том, что определяющую роль может играть специфичность индуцированных защитных реакций в стволах разных видов хвойных, также не согласуется с признаваемой универсальностью защитного ответа во вторичной флоэме, который может быть вызван как механическим поранением (втачиванием насекомых), так и вторжением любого фитопатогена. Кроме того, данный фактор не может влиять на видовой состав сапротрофных ОФГ, развитие которых начинается после затухания защитного ответа растения-хозяина.

### **Микофагия — возможная основа долговременных ассоциаций ОФГ и ксилофильных насекомых**

Индифферентное отношение ксилофильных насекомых к переносимым грибам не может быть универсальным, поскольку известны примеры поедания ОФГ агрессивными короедами, нападающими на живые деревья. В данном случае речь идет о микофагии, как о питании мицелием и грибными спорами, а не растительными тканями, колонизированными грибами.

Среди ксилофильных насекомых выделяют ксилофагов, питающихся древесиной, и флеофагов, питающихся лубом (флоэмой). Ксилофагами являются амброзиевые жуки, переносящие в специальных вместилищах — микангиях (мицетангиях) споры грибов, необходимых в качестве обязательного пищевого компонента для насекомого (Harrington, 2005).

Интересно отметить, что некоторые представители амброзиальных грибов из родов *Ambrosiella* и *Raffaelea* по данным филогенетического анализа тесно связаны с родами *Ceratocystis* и *Ophiostoma*, соответственно (Harrington, 2005; De Beer et al., 2013a).

Опасные вредители стволов хвойных относятся к флеофагам. Они откладывают яйца в луб и их потомство развивается на этом, относительно богатом, в сравнении с древесиной, субстрате, который способен обеспечить полноценную диету для развития. Однако микофагия может дополнить питание флеофагов витаминами и незаменимыми стеролами. Мицелий концентрирует питательные легкоперевариваемые вещества из растительных тканей и снижает в них соотношение С / N. Это ведет к повышению питательности корма, что, соответственно, уменьшает потребление и укорачивает длину личиночных ходов что, в свою очередь, уменьшает внутривидовую конкуренцию с другими видами флеофагов. Есть предположения, что, грибы могут быть вовлечены в продуцирование короедов феромонов, но доказательства этого получены пока только в лаборатории (Harrington, 2005).

Список известных видов короедов-флеофагов (лубоедов), практикующих микофагию, пока относительно короткий. Но можно предположить, что потребность в микофагии возникает от случая к случаю у многих видов короедов. Например, при слишком высокой плотности поселения, часть личинок может вынужденно покинуть оптимальную для питания зону и проложить ходы в ксилеме или слишком близко к внешним омертвевшим слоям коры. В условиях дефицита питательных веществ и пониженной влажности субстрата микофагия способна дать шанс личинкам на полноценное развитие (Harrington, 2005).

В настоящее время микофагия предполагается у представителей 4 родов короедов, и эти виды обитают на хвойных, главным образом, на растениях сем. *Pinacea* (табл. 3). Все короеды способны переносить споры грибов на поверхности экзоскелета, но у видов-микофагов обнаружены специальные вместилища для переноса спор: простые ямкообразные, более глубокие мешкообразной формы и даже кисточки со щетинками. В некоторых микангиях присутствуют железистые секреты, но если у амброзиевых жуков эти секреты необходимы для роста грибов-ассоциантов, то в случае с короедов-флеофагами назначение микангиального секрета еще не выяснено (табл. 3.). Грибы, обнаруженные в микангиях короедов, относятся к *Basidiomycota* и *Ascomycota*, причем последние представлены, главным образом, видами *Ophiostoma sensu lato*. По мнению некоторых исследователей базидиальные ассоцианты — предпочтительный источник питания для короедов, и трофическую роль ОФГ еще предстоит оценить (Harrington, 2005).

**Таблица 3.**

*Характеристика видов короедов — возможных микрофагов (Harrington, 2005).*

Вид короеда	Растение-хозяин	Тип микангия	Сумчатые ассоцианты	Базидиальные ассоцианты
<i>Dendroctonus frontalis</i>	<i>Pinus</i> spp	Переднегрудной, железистый	<i>Ceratocystiopsis ranaculosus</i>	<i>Entomocorticium</i> sp. А
<i>D. brevicomis</i>	<i>P. ponderosae</i> , <i>P. coulteri</i>	Переднегрудной, железистый	<i>C. brevicomis</i>	<i>Entomocorticium</i> sp. В
<i>D. approximatus</i>	<i>Pinus</i> spp.	Переднегрудной, железистый	Неизвестно	<i>Phlebiopsis gigantea</i>
<i>D. adjunctus</i>	<i>Pinus</i> spp.	Переднегрудной, железистый	<i>Leptographium pyrinum</i>	Неизвестно
<i>D. ponderosae</i>	<i>Pinus</i> spp.	Верхнечелюстной	<i>Ophiostoma clavigerum</i> <i>O. montium</i>	<i>Entomocorticium dendroctoni</i> , <i>Entomocorticium</i> spp. D, E, F, G, H <i>P. gigantea</i>
<i>D. jeffreyi</i>	<i>P. jeffreyi</i>	Верхнечелюстной	<i>O. clavigerum</i>	<i>Entomocorticium</i> sp. E
<i>Tomicus minor</i>	<i>Pinus</i> spp.	Неизвестно	<i>O. canum</i> <i>Ambrosiella tingens</i>	Неизвестно
<i>Ips acuminatus</i>	<i>Pinus</i> spp.	Нижнечелюстной	<i>O. clavatum</i> <i>A. macrospora</i>	Неизвестно
<i>I. avulsus</i>	<i>Pinus</i> spp.	Неизвестно	<i>O. ips</i>	<i>Entomocorticium</i> sp. I
<i>Pityoborus comatus</i>	<i>Pinus</i> spp.	Переднегрудной, опушенный	Неизвестно	<i>Entomocorticium</i> sp. С

Особо следует отметить, что еще крайне мало изучена разновидность микрофагии, подразумевающая питание лубом, колонизированным грибами. Немногочисленные известные примеры показывают, что этот тип питания может оказывать на потомство переносчика как положительный (Bleiker and Six, 2007), так и отрицательный (Six and Wingfield, 2010) эффекты.

### **Исследования ОФГ в хвойных лесах России**

В России единственным научным центром, где в течение последних десятилетий последовательно исследуются ОФГ бореальных лесов Сибири, является Институт леса им. В.Н. Сукачева СО РАН (г. Красноярск).

За годы работ был охарактеризован состав доминирующих видов грибов, связанных с наиболее опасными вредителями хвойных в сибирских лесах: короедом-типографом, большим лиственничным короедом, большим сосновым лубоедом, вершинным короедом и черным пихтовым усачом. Было показано, что в условиях Сибири ОФГ являются типичным компонентом микобиоты ходов насекомых-ксилофагов: встречаемость грибов в популяциях разных переносчиков варьирует от 30 до 100 %. Ходы насекомых под корой ослабленных и погибших деревьев представляются основным резерватом ОФГ в исследованных лесах, и именно насекомые-ксилофаги распространяли эти грибы, перенося споры на экзоскелете (Пашенова и др., 2009).

По данным искусственной инокуляции установлены наиболее опасные фитопатогенные виды в Сибири (Пашенова и др., 2009), а также охарактеризованы сукцессии ОФГ в поврежденных насекомыми деревьях (Пашенова и др., 1995, 1998, 2001). Выполняются исследования по межвидовым взаимоотношениям ОФГ между собой и представителями сапротрофной микобиоты на поверхности растений и в ходах переносчиков (Афанасова и Пашенова, 2005; Пашенова и Лихута, 2012). В опытах по перекрестному инфицированию хвойных пород не подтвердилась строгая специфичность связи между определенными видами грибов, насекомых-переносчиков и хвойных растений. Было установлено, что грибы-первопоселенцы успешнее развиваются в тканях природного хозяина, но и в тканях «нехозяев» они могут вызвать достаточно большие некрозы, достоверно превышающие контрольные значения (Пашенова и др., 2009; Harrington et al., 2002).

Сотрудники Института леса изучали гистологические и физиологические аспекты взаимодействия ОФГ и их растений-хозяев в лабораторных и естественных условиях. Установлено, что защитный ответ хозяина может быть вызван введением в ткани растения не только живого мицелия, но и мицелиального экстракта. Это доказывает элиситорный механизм включения защиты у хвойных. Использование экстрактов вместо живого мицелия дает инструмент для изучения защитных реакций хвойных *in vivo*, при этом полностью снимается опасность случайного заноса инфекции в здоровые древостои (Полякова и др., 2008). В экспериментах по инокуляции деревьев *Pinus sylvestris* L. экстрактом гриба *Ceratocystis laricicola* Redfern & Minter было установлено, что метаболиты гриба ингибируют раннюю стадию лигнификации стенок ситовидных клеток во время раневой реакции флоэмы (Polyakova et al., 2011), и, следовательно, ОФГ все-таки участвуют в торможении начальных стадий защитного ответа растения. Данный факт свидетельствует о том, что мутуализм грибов и ксилофагов способен проявляться при колонизации деревьев, хотя, возможно, не является универсальным.

Материалы сибирских ученых по ОФГ дополняют общую базу данных по ксилофагам с трансконтинентальными ареалами и являются уникальными при изучении видов с эндемичными или трансзиатскими ареалами. Примером последнего являются работы по грибам, распространяемым черным пихтовым усачом, сведения о которых, до появления российских публикаций, были крайне скудными, так как ареал переносчика почти полностью находится в пределах России (Ветрова и др., 1992; Пашенова и др., 1994, 1998; Jacobs et al., 2000).

Еще одним примером уникальных исследований сотрудников Института леса является изучение инвазийных ассоциаций «короед-офиостомовые грибы». Обосновавшиеся на новых территориях фитофаги-пришельцы, не имеющие истории взаимных адаптаций с аборигенной биотой и, по этой причине, ею не сдерживаемые, быстро превращаются во вредителей, регулировать которые может лишь человек (Баранчиков, 2012). Исследование механизмов инвазий помимо ясного прикладного выхода, может иметь важное значение для понимания эколого-эволюционных механизмов становления адаптаций между членами вновь формирующейся консорции. Так, практически на глазах современных исследователей, природные леса красного лавра *Persea borbonia* (L.) Spreng. в Джорджии, Южной Каролине и Флориде (США) уничтожаются завезенным из Азии тандемом: короед *Xyleborus glabratus* Eichhoff и его грибной симбионт *Raffaelea lauricola* Harrington & Fraedrich. Инвазия расширяется со скоростью в 30 – 60 км в год, после заселения первым жуком дерево гибнет за 1 – 3 месяца и на вновь оккупированных местобитаниях в течение 18 месяцев погибает более 92 % деревьев рода *Persea*. Тут нелишне отметить, что в районах инвазии выращивают и другой вид этого рода, — авокадо (*P. americana* Mill.) (Koch and Smith, 2008).

Изучаемый нами сходный российский феномен гораздо более масштабен. На огромной территории на юге Сибири, размером 750 на 750 км, почти равной площади Франции, с начала XXI века функционируют многочисленные локальные очаги инвазийного тандема: уссурийский полиграф *Polygraphus proximus* Blandf. и офиостомовый гриб *Grosmannia aoshimae* (Ohtaka, Masuya & Yamaoka) Masuya & Yamaoka (Кривец и др., 2015). Выяснено, что инвазийный комплекс уже завезен и в европейскую часть России: в Москве и Московской области обнаружены локальные очаги полиграфа, а также специфическая микобиота, которая ранее там не отмечалась (Баранчиков и др., 2011, 2014; Керчев, 2013; Пашенова и др., 2012; Чилахсаева, 2008). Помимо «своих» грибных ассоциантов, полиграф в Сибири, возможно, разносит и местный фитопатогенный гриб *Leptographium sibirica*, ранее «состоявший на вооружении» лишь у черного пихтового усача (Пашенова и др., 2012). Если привнесенный

полиграфом в Сибирь грибной инвайдер — *G. aoshimae* — вскоре станет ассоциантом представителей местной фауны ксилофагов (черных хвойных усачей, например), это может привести к непредсказуемо широкому отмиранию пихтовых лесов.

### Заключение

Различия во взглядах на эколого-функциональную роль ОФГ в хвойных лесах, проистекающие из разнородных первичных данных свидетельствуют о недостаточной изученности этих грибов. Причиной этого служит сложность сообществ, обитающих в ходах ксилофильных насекомых и прилегающих к ним растительных тканях. Все компоненты подобных сообществ — микроорганизмы, насекомые-переносчики и их паразиты, представители микрофауны и, наконец, само растение, если речь идет о колонизации живых деревьев, находятся в постоянном взаимодействии и оказывают друг на друга влияние, сила и направленность которого может со временем изменяться. Абиотические факторы (климат, температурные девиации, изменения гидрологического режима и проч.) также вносят свой вклад.

Недавний пересмотр доминирующей ранее парадигмы поставил перед исследователями новые задачи, нацеленные на понимание истинной роли офиостомовых грибов в комплексах разнообразных организмов, формирующих среду обитания ксилофильных насекомых хвойных лесов. В задачи нового этапа предложено включить исследования офиостомовых грибов, которые связаны с неагрессивными видами насекомых, изучение влияния различных биотических и абиотических факторов на распространение, численность и активность грибов, анализ взаимосвязи динамики популяций грибов и их переносчиков (Six and Wingfield, 2010).

Работа частично поддержана грантом РФФИ 14-04-01235.

### Литература

- Баранчиков Ю.Н. (2012) Инвазии дендрофильных насекомых — источник хозяйственных проблем и полигон для эколого-эволюционных исследований, в сб. «Экологические и экономические последствия инвазий дендрофильных насекомых» (ред. Баранчиков Ю.Н.), ИЛ СО РАН, Красноярск, 6 – 11.
- Баранчиков Ю.Н., Пашенова Н.В., Серая Л.Г. (2014) Дальневосточные офиостомовые грибы — ассоцианты уссурийского полиграфа найдены в Европе. [http://forest.akadem.ru/News/Fungi\\_PP\\_Eur.pdf](http://forest.akadem.ru/News/Fungi_PP_Eur.pdf) (дата обращения — 05.06.2015).
- Баранчиков Ю.Н., Петько В.М., Астапенко С.А., Акулов Е.Н., Кривец С.А. (2011) Уссурийский полиграф – новый агрессивный вредитель пихты в Сибири. Лесн. вестн., 80 (4): 78 – 81.

- Ветрова В.П., Пашенова Н.В., Гродницкий Д.Л. (1992) Реакция пихты сибирской на заражение грибами-симбионтами черного пихтового усача. Лесоведение. 3: 24 – 32.
- Густелева Л.А., Исаев А.С. (1982) Микрофлора насекомых-ксилофагов, (ред. А.Б. Гукасян), Наука, Новосибирск.
- Керчев И.А. (2013) Экология уссурийского полиграфа *Polygraphus proximus* Blandford (Coleoptera: Curculionidae, Scolytinae) в Западносибирском регионе инвазии, автореф.канд.дисс. ФГБОУ НИ Томский гос.ун-т, Томск.
- Кривец С.А., Керчев И.А., Бисирова Э.М., Демидко Д.А., Петько В.М., Баранчиков Ю.Н. (2015) Распространение уссурийского полиграфа *Polygraphus proximus* Blandf. (Coleoptera, Curculionidae: Scolytinae) в Сибири. Изв. СПбЛТА. 211: 33 – 45.
- Крюкова Е.А., Плотникова Т.С. (1991) Биологические основы защиты дуба и вяза от инфекционного усыхания, Агропромиздат, М.
- Мейер Е.И. (1953) Определитель деревоокрашивающих грибов, Гослесбумиздат, М.-Л.
- Минкевич И.И. (1986) Эпифитотии грибных болезней древесных пород, Изд. ЛГУ, Л.
- Пашенова Н.В., Ветрова В.П., Константинов М.Ю., Афанасова Е.Н. (2001) Офиостомовые грибы, переносимые короедом-типографом в хвойных лесах Центральной Сибири. Лесоведение. 5: 32 – 37.
- Пашенова Н.В., Ветрова В.П., Матренина Р.М., Сорокина Е.Н. (1995) Офиостомовые грибы в ходах большого лиственничного короеда. Лесоведение. 6: 62 – 68.
- Пашенова Н.В., Вишнякова З.В., Ветрова В.П. (1998) Структурные изменения микобиоты коры и древесины хвойных в связи с их дефолиацией сибирским шелкопрядом и заселением стволовыми вредителями. Лесоведение. 4: 11 – 19.
- Пашенова Н.В., Выдрякова Г.А., Ветрова В.П. (1994) Фитопатогенные микромицеты, ассоциированные с черным пихтовым усачом. Лесоведение. 3: 39 – 47.
- Пашенова Н.В., Лихута Я.И. (2012) Взаимоотношения грибов, распространяемых вредителями пихты сибирской, при лабораторном культивировании, в сб. «Экологические и экономические последствия инвазий дендрофильных насекомых» (ред. Баранчиков Ю.Н.), ИЛ СО РАН, Красноярск, 75 – 81.
- Пашенова Н.В., Петько В.М., Керчев И.А., Бабичев Н.С. (2012) Перенос офиостомовых грибов уссурийским полиграфом *Polygraphus proximus* Blandford (Coleoptera, Scolytidae) в Сибири. Изв. СПбЛТА. 200: 114 – 120.
- Пашенова Н.В., Полякова Г.Г., Афанасова Е.Н. (2009) Изучение грибов синевы древесины в хвойных лесах Центральной Сибири. Хвойн. бор. зоны. 26 (1): 22 – 28.
- Полякова Г.Г., Поляков В.И., Пашенова Н.В., Шейн И.В., Ветрова В.П., Стасова В.В., Зражевская Г.К., Зубарева О.Н. (2008) Иммунная реакция хвойных пород Сибири, (ред. Антонова Г.Ф.), Изд. СО РАН, Новосибирск.
- Потлайчук, В.И., Щекунова Е.Г. (1985) Распространение видов рода *Ceratocystis* Ell. Halst.emend. Bakshi в Советском Союзе. Нов. систем. низш. растен. 22: 148 – 155.

- Рабинович М.Л., Болобова А.В., Кондращенко В.И. (2001) Теоретические основы биотехнологии древесных композитов. Кн. I. Древесина и разрушающие ее грибы, (ред. М.Л. Рабинович), Наука, М.
- Черемисинов Н.А. (1973) Общая фитопатология, Высш. школа, М.
- Чилахсаева Е.А. (2008) Первая находка *Polygraphus proximus* Blandford, 1894 (Coleoptera, Scolytidae) в Московской области. Бюлл. Моск. общ. испыт. природы. Отд. биол. 113 (6): 39 – 42.
- Bleiker K., Six D.L. (2007) Dietary benefits of fungal associates to an eruptive herbivore: potential implications of multiple associates on host population dynamics. *Environ. Entomol.* 36: 1384 – 1396.
- Bleiker K.P., Six D.L. (2009) Effects of water potential and solute on the growth and interactions of two fungal symbionts of the mountain pine beetle. *Mycol. Res.* 113: 3 – 15.
- De Beer Z.W., Seifert K.A., Wingfield M.J. (2013 a) The ophiostomatoid fungi: their dual position in the *Sordariomycetes*, in *The Ophiostomatoid Fungi: Expanding Frontiers*, CBS Biodiversity Series 12 (K.A. Seifert, Z.W. de Beer, M.J. Wingfield eds.), CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, The Netherlands, 1 – 19.
- De Beer Z.W., Seifert K.A., Wingfield M.J. (2013 b) A nomenclator for ophiostomatoid genera and species in the *Ophiostomatales* and *Microascales*, in *The Ophiostomatoid Fungi: Expanding Frontiers*, CBS Biodiversity Series 12 (K.A. Seifert, Z.W. de Beer, M.J. Wingfield eds.), CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, The Netherlands, 245 – 322.
- Gibbs J.N. (1999) The biology of Ophiostomatoid fungi causing sapstain in trees and freshly cut logs, in *Ceratocystis* and *Ophiostoma*. Taxonomy, Ecology and Pathogenicity (M.J. Wingfield, K.A. Seifert, J.F. Webber eds.), APS PRESS, St. Paul, MN, 153 – 160.
- Grills, B.T. and Seifert K.A. (1999) A synoptic key to species of *Ophiostoma*, *Ceratocystis* and *Ceratocystiopsis* // *Ceratocystis* and *Ophiostoma*. Taxonomy, Ecology, and Pathogenicity, in *Ceratocystis* and *Ophiostoma*. Taxonomy, Ecology and Pathogenicity (M.J. Wingfield, K.A. Seifert, J.F. Webber eds.), APS PRESS, St. Paul, MN, 261 – 268.
- Harrington T.C. (1999) Diseases of conifers caused by species of *Ophiostoma* and *Leptographium*, in *Ceratocystis* and *Ophiostoma*. Taxonomy, Ecology and Pathogenicity (M.J. Wingfield, K.A. Seifert, J.F. Webber eds.), APS PRESS, St. Paul, MN, 161 – 172.
- Harrington T.C. (1999) Diseases of conifers caused by species of *Ophiostoma* and *Leptographium*, in *Ceratocystis* and *Ophiostoma*. Taxonomy, Ecology and Pathogenicity (M.J. Wingfield, K.A. Seifert, J.F. Webber eds.), APS PRESS, St. Paul, MN, 161 – 172.
- Harrington T.C. (2005) Ecology and evolution of mycophagous bark beetles and their fungal partners, in *Ecological and Evolutionary Advances in Insect-Fungal Associations* (F.E. Vega and M. Blackwell, eds.), Oxford University Press, 257 – 291.
- Harrington T.C., Pashenova N.V., McNew D.L., Steimel J., and Konstantinov M.Y. (2002) Species delimitation and host specialization of *Ceratocystis laricicola* and *C. polonica* to larch and spruce. *Plant Disease*. 6 (4): 418 – 422.
- Hunt J. (1956) Taxonomy of the genus *Ceratocystis*. *Lloydia*. 19: 1 – 58.

- Index Fungorum: <http://www.indexfungorum.org/> (дата обращения - 09.06.2015).
- Jacobs K.M., Wingfield M.J., Pashenova N.V., and Vetrova V.P. (2000) A new *Leptographium* species from Russia. *Mycol. Res.* 104: 1524 – 1529.
- Koch F. H., Smith W.D. (2008) Spatio-temporal analysis of *Xyloborus glabratus* (Coleoptera: Circulionidae: Scolytinae) invasion in eastern U.S. forests. *Environ. Entomol.* 37: 442 – 452.
- Kuroda K. (2005) Xylem dysfunction in Yezo spruce (*Picea jezoensis*) after inoculation with blue-stain fungus *Ceratocystis polonica*. *For. Pathol.* 35: 346 – 358.
- Lieutier F., Yart A., Salle A. (2009) Stimulation of tree defenses by ophiostomatoid fungi can explain attack success of bark beetles in conifers. *Ann.For.Sci.* 66: 801.
- Linnakoski R., de Beer Z.W., Anttinen J., Sidorov E., Niemela P., Pappinen A., Wingfield M.J. (2010) *Ophiostoma* spp. associated with pine and spruce-infesting bark-beetles in Finland and Russia. *Persoonia.* 25: 72 – 93.
- Malloch D., Blackwell M. (1999) Dispersal biology of the ophiostomatoid fungi, in *Ceratocystis* and *Ophiostoma*. *Taxonomy, Ecology and Pathogenicity* (M.J. Wingfield, K.A. Seifert, J.F. Webber eds.), APS PRESS, St. Paul, MN, 195 – 206.
- Morel J.B. and Dangi, J.L. (1997) The hypersensitive response and the induction of cell death in plants. *Cell Death Differ.* 4: 671 – 683.
- Olchoweki A., Reid J. (1974) Taxonomy of the genus *Ceratocystis* in Manitoba. *Canad.J.Bot.*, 52 (7); 1675 – 1711.
- Paine T.D., Raffa K.F., Harrington T.C. (1997) Interactions among Scolitid bark beetles, their associated fungi and live host conifers. *Annu. Rev. Entomol.* 42: 179 – 206.
- Polyakova G. G., Stasova V. V., and Pashenova N. V. (2011) Defense Response of Pine Stem Phloem to Wounding and Treatment with Mycelial Extracts from *Ceratocystis laricicola*. *Rus. J. of Plant Phys.* 58 (5): 819 – 827.
- Raffa K.F., Smalley E.B. (1995) Interaction of preattack and induced monoterpene concentrations in conifer defense against bark beetle–fungal complexes. *Oecologia.* 102: 285 – 295.
- Rice A., Thormann M.N., Langor D.W. (2007) Virulence of and interactions among mountain pine beetle associated blue stain fungi on two pine species and their hybrids in Alberta. *Can.J.Bot.* 85: 316 – 323.
- Seifert K.A. (1999) Sapstain of commercial lumber by species of *Ophiostoma* and *Ceratocystis*, in *Ceratocystis* and *Ophiostoma*. *Taxonomy, Ecology and Pathogenicity* (M.J. Wingfield, K.A. Seifert, J.F. Webber eds.), APS PRESS, St. Paul, MN, 141 – 151.
- Seifert K.A., de Beer Z.W., Wingfield M.J. (2013) The Ophiostomatoid fungi: Expanding Frontiers. Preface. in *The Ophiostomatoid Fungi: Expanding Frontiers*, CBS Biodiversity Series 12 (K.A. Seifert, Z.W. de Beer, M.J. Wingfield eds.), CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, The Netherlands.
- Six D.L. (2003) Bark beetle–fungus symbioses, in *Insect Symbiosis* (Bourtiz K, Miller T.A. eds.), CRC Press, Boca Raton, FL, 97 – 114.
- Six D.L., Wingfield M.J. (2010) The role of phytopathogenicity in bark beetle – fungus symbiosis: a challenge to the classic paradigm. *Annu. Rev. Entomol.* 56: 255 – 272.
- Solheim H. (1991) Ecological aspects of fungi associated with the spruce bark beetle *Ips typographus*, with special emphasis on fungal invasion of Norway spruce sapwood

- and the role of the primary invader *Ophiostoma polonicum*, Dr. Agric. Thesis. Norweg. For. Res. Inst., As, Norway.
- Solheim H. (1991) Oxygen deficiency and spruce resin inhibition of growth fungi associated with *Ips typographus*. Mycol.Res. 95 (12): 1387 – 1392.
- Solheim H. (1992) Fungal succession in sapwood of Norway spruce infected by the bark beetle *Ips typographus*. Eur. J. For. Path. 22: 136 – 148.
- Solheim H. (1992) The early stage of fungal invasion in Norway spruce infested by the bark beetle *Ips typographus*. Can. J. Bot. 70: 1 – 5.

# АССОЦИАЦИЯ *HYPOCREOPSIS LICHENOIDES* И ГРИБОВ РОДА *HYMENOCHAETE*

Бондарцева М.А.\*, Змитрович И.В.

Ботанический институт им. В.Л. Комарова РАН  
MBondartseva@binran.ru

Об ассоциации представителей рода *Hypocreopsis* (Ascomycota, Hypocreales) с ксилотрофными базидиомицетами рода *Hymenochaete* (Basidiomycota, Hymenochaetales) известно достаточно давно (Cauchon, Ouellette, 1964; Niemelä, Nordin, 1985; Stasińska, 2004), однако интерпретация взаимоотношений между участниками этой ассоциации неоднозначна. По мнению Х. Яна (Jahn, 1990), виды рода *Hypocreopsis* колонизируют древесину, предварительно модифицированную *Hymenochaete*, то есть являются ксилотрофами-сукцессорами. Другая группа авторов (Rossman et al., 1999; Ainsworth, 2003; Zmitrovich et al., 2014) относит *Hypocreopsis* к группе микопаразитов — как по общим соображениям (склонность *Hypocreales* к колонизации насекомых и грибов), так и на основании экспериментальных данных. Стромы *Hypocreopsis lichenoides* и *H. rhododendri* включают в свой состав щетинковидные гифы и щетинки гименохетоидного типа. Это позволило предположить, что изначально грибы колонизируют «мицелиальный мат» *Hymenochaete*, развивающийся на поверхности древесины перед образованием базидиом, а затем распространяется на субстратный мицелий базидиомицета, расположенный внутри древесины (Ainsworth, 2003; Grundy et al., 2012).

До молекулярного тестирования данного предположения следует отметить, что молекулярные аспекты микопаразитизма гипокреиных достаточно подробно изучены на модельных объектах рода *Trichoderma* (Druzhinina et al., 2011). В частности, сродство мицелия представителей *Hypocrea* / *Trichoderma* к покровам насекомых и гифам грибов связано с наличием на поверхности их клеток азот-чувствительных рецепторов, запускающих сигнальный каскад, итогом которого является направленный рост гиф к колонизируемому субстрату, активизация системы внеклеточного протеолиза и формирование интерактивных зон и структур.

Можно также предположить, что у представителей *Hypocreopsis*, помимо микопаразитической, проявляется гидролитическая активность в отношении древесного субстрата. В любом случае, эти грибы не являются истинными ксилотрофами, поскольку не обладают мощными системами окислительных ферментов.

На территории Европейской части России род *Hypocreopsis* представлен единственным видом *Hypocreopsis lichenoides* (Tode) Seaver, распространённым циркумполярно. Нам известно всего несколько находок этого редкого вида — на *Juniperus communis* без видимой ассоциации с *Hymenochaete* (М. А. Бондарцева, 21 VIII 1961, восток Ленинградской обл.), на *Salix* sp. без видимой ассоциации с *Hymenochaete* (Шубин, Крутов, 1979; юг Карелии), на *Populus tremula* и *Salix aurita* в ассоциации с *Hymenochaete tabacina* (М. А. Бондарцева, И. В. Змитрович, 24 – 25 VIII 1999, Нижнесвицкий заповедник), на *Salix* sp. без видимой ассоциации с *Hymenochaete* (В. М. Коткова, Е. С. Попов, IX 2009, заказник «Сестрорецкая низина»), на *Salix* sp. в ассоциации с *Hymenochaete tabacina* (Е. С. Попов, 24 IX 2011, Валдайский нацпарк).

Для составления проработанного «экологического портрета» вида данные на сегодняшний день фрагментарны. Если предположение Эйнсворта об изначальной колонизации грибом рыхлых зачатков базидиом *Hymenochaete* верны (что означает меньшее время экспозиции заселяемого субстрата в сравнении с раневой древесиной), то эффективность колонизации этих «матов» определённым видом микопаразита возростала бы вблизи открытых пространств (берега крупных водоемов, пашни, луга), где поток пропагул не перекрывается лесной растительностью. Это предположение не противоречит имеющимся данным о находках *H. lichenoides*.

## МОНИТОРИНГ ВИДОВОГО СОСТАВА ЭКТОМИКОРИЗНЫХ ГРИБОВ СОСНЯКА СФАГНОВОГО

**Боталов В.С.**

ФГБОУВПО «Пермский государственный национальный  
исследовательский университет»  
vitalywc@yandex.ru

Мониторинг агарикоидных базидиомицетов проводится в Пермском крае стационарным методом с 1975 г. по настоящее время: I период исследований — 1975 – 1977 гг., II период — 1994 – 1996 гг., III период — 2010 – 2012 гг. К настоящему времени в сосняке сфагновом выявлено 87

видов и внутривидовых таксонов агарикоидных базидиомицетов. Эктомикоризные грибы являются преобладающей группой данного биогеоценоза (54 вида, или 62 % всей выявленной биоты агарикоидных базидиомицетов) и относится к 11 родам, 7 семействам и 3 порядкам. В III период исследований отмечено 20 видов микоризных грибов, ранее не встречавшихся на исследуемой территории и один вид, ранее не встречавшийся на территории Пермского края — *Cortinarius vespertinus* (Fr.) Fr.

Ведущими семействами по количеству видов микоризных грибов, как за все время исследований, так и в отдельные периоды, оказались сем. *Cortinariaceae* (33 вида или 61,1 % от общего числа микоризных грибов), *Russulaceae* (10 видов или 18,4 %) и *Boletaceae* (5 видов, или 9,3 %). В сем. *Tricholomataceae* и *Amanitaceae* содержится по 2 вида, или по 3,7 %. Сем. *Paxillaceae* и *Gomphidiaceae* являются одновидовыми. Наибольшее количество видов микоризных грибов содержится в 5 родах: *Cortinarius* (29 видов), *Russula* (6 видов), *Lactarius* (4 вида), *Leccinum* (4 вида). Остальные 6 родов содержат от 1 до 3 видов грибов.

По периодам исследований происходит изменение видового состава эктомикоризных грибов (по образовавшимся плодовым телам), хотя видовой состав высших растений практически не изменяется (индексы общности Жаккара:  $J_{I-II} = 67$ ;  $J_{II-III} = 71$ ;  $J_{I-III} = 53$ ). Так, в I период наблюдений было отмечено 29 видов грибов (53,7 % от суммы микоризных грибов за все время исследований), во II период их количество сократилось до 25 (46,3 %), и в III период было выявлено 38 видов (70,4 %). То есть в каждый период исследований базидиомы формировались не сразу у всех микоризных грибов, а только лишь у некоторой части. Индексы общности по Жаккару ( $J \times 100$ ) по базидиомам:  $J_{I-II} = 59$ ;  $J_{II-III} = 37$ ;  $J_{I-III} = 29$ . Учитывая, что мицелий грибов сохраняется в жизнеспособном состоянии, а плодовые тела появляются не каждый сезон, можно добавить ранее выявленные виды к общему списку видов, тогда ко II периоду  $J_{I-II} = 83$  (I период + новые виды за II период), а к III периоду  $J_{I+II-III} = 62$  (I + II периоды сравнивались с количеством видов, выявленных в III период).

Таким образом, между периодами исследований 1975 по 2012 гг. отмечается довольно значительное сходство видового состава эктомикоризных грибов сосняка сфагнового (особенно с учетом мицелия), прослеживается мицелиальный континуум во времени.

# СИНТЕЗ ПОЛИСАХАРИДОВ ТРАМЕТОИДНЫМИ ТРУТОВИКАМИ В МИЦЕЛИАЛЬНОЙ КУЛЬТУРЕ

Зарипова Г.Ф.\*<sup>1</sup> Широких А.А.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Лаборатория биомониторинга Института биологии Коми НЦ УрО РАН  
и ВятГГУ

<sup>2</sup>ФГБНУ «НИИСХ Северо-Востока»  
*olorinochka@rambler.ru*

Траметоидные трутовики обладают высоким лекарственным потенциалом, в частности, грибы рода *Trametes* проявляют противораковую, антибактериальную, гепатопротекторную активность, благодаря синтезу физиологически активных полисахаридов (Jian Cui, Yusuf Chisti, 2003).

Исследования показывают, что способность грибов продуцировать биологически-активные вещества имеется как у плодовых тел грибов, произрастающих в природных условиях, так и у культивируемого в условиях лаборатории мицелия. Причём количество синтезированных полисахаридов зачастую не уступает их количеству из плодовых тел. Для определения медицинской эффективности того или иного гриба можно провести предварительную оценку по количественному показателю биологической продуктивности: чем больше биологически активных веществ выделяет гриб — тем выше его медицинская эффективность (Теплякова, Косогова, 2014).

Природные изоляты траметоидных трутовиков выращивали в мицелиальной культуре на поверхности агаризованного пивного сусла, разведённого до 4° Баллинга в течение 10 суток. Засевали по 5 блоков диаметром 10 мм на жидкую питательную среду того же состава, культивировали при дополнительном аэрировании (6 л / мин.) в течение 10 суток. Мицелий отделяли от культуральной жидкости, промывали, высушивали при 60 °С. Для экстракции эндополисахаридов навеску сухого мицелия массой 3 г заливали 50 мл дистиллированной воды, нагретой до 70 °С и настаивали в течение суток. Для осаждения полисахаридной фракции к 50 мл экстракта добавляли 100 мл 96 % этанола и полученную взвесь отстаивали при 4 °С в течение суток. Осадок отделяли декантированием и упаривали на водяной бане (85 °С) до сухого остатка, взвешивали.

Выращиваемый мицелий зачастую имел характерную структуру в виде небольших шарообразных агломераций, крупных «ежиков», мелких «перьев». Как показывают наши результаты, синтез полисахаридов большинства исследованных видов находится примерно на одинаковом

уровне, однако вид *T. suaveolens* синтезировал наименьшее, а *T. hirsuta* — наоборот — наибольшее количество полисахаридов.

### Таблица

*Количество эндополисахаридов, продуцируемых различными видами траметоидных трутовиков.*

№ п / п	Вид	Масса эндополисахаридов, г.
1	<i>Trametes versicolor</i>	0,2243 ± 0,03
2	<i>T. suaveolens</i>	0,0881 ± 0,02
3	<i>T. hirsuta</i>	0,4783 ± 0,03
4	<i>T. ochracea</i>	0,2798 ± 0,03
5	<i>Cerrena unicolor</i>	0,2754 ± 0,01

Таким образом, нами предлагается достаточно простой способ предварительной оценки биологической активности грибов, основанный на определении уровня продукции эндополисахаридов мицелия.

## КСИЛОТРОФНЫЕ ГРИБЫ В УСЛОВИЯХ УРБАНИЗАЦИИ, НА ПРИМЕРЕ ТРАКТОРОЗАВОДСКОГО РАЙОНА ГОРОДА ВОЛГОГРАДА

**Курагина Н.С.**

*Волгоградский государственный университет*  
pipenko87@mail.ru

Город Волгоград — один из крупнейших промышленных городов юга России. Как и в любом крупном городе, в Волгограде можно выделить ряд зон в соответствии с хозяйственным использованием территорий. К промышленно-жилой зоне относится Тракторозаводский район (далее ТЗР), на территории которого располагаются ОАО «Тракторная компания «ВГТЗ», ОАО «Волгоградский алюминий», «Волгоградский кислородный завод», «Спецнефтематериалы», «Тракторозаводский хлебокомбинат», «Волгоградская бисквитная фабрика», «PCY ТЗР», завод ВОЛМА-ВТР.

На территории исследуемого района имеются парковые насаждения (парк на территории ВГТЗ, парк Памяти на Спартановке и Комсомоль-

ский парк), представленные в основном широколиственными породами (*Acer, Fraxinus, Populus, Prunus, Robinia* и другие).

Сведения о микобиоте ТЗР в литературе отсутствуют. Это обстоятельство только подчеркивает настоятельную необходимость срочной инвентаризации ксилотрофных грибов исследуемого района, находящегося в городе Волгограде.

Обследования проводились маршрутным методом в 2014 – 2015 гг. В результате мониторинговых исследований ТЗР г. Волгограда было выявлено 29 видов, относящихся к 25 родам, 16 семействам, 7 порядкам ксилотрофных грибов. Наибольшая встречаемость характерна для представителей родов *Auricularia, Coniophora, Fomes, Fuscoporia, Peniophora, Phellinus, Polyporus, Schizophyllum*. Все виды впервые зарегистрированы в городе Волгограде.

Анализа субстратной приуроченности показал, что большинство видов отмечено на валежных ветвях, пнях и сухостое (22 вида, или 76 %), относящихся к группе сапротрофов.

Максимальное число видов ксилотрофных грибов приурочено к *Fraxinus lanceolata* (18 видов) и *Populus sp.* (15 видов).

## **ОЦЕНКА УСТОЙЧИВОСТИ ФАСОЛИ К ФИТОПАТОГЕНАМ ПРИ ИНОКУЛЯЦИИ ЭНДОФИТНЫМИ БАКТЕРИЯМИ В УСЛОВИЯХ ПРЕДУРАЛЬЯ**

**Маркова О.В.<sup>1</sup>, Крымова А.И.<sup>1</sup>, Дмитриева Д.Ф., Арсланова Л. Р.<sup>2</sup>,  
Иргалина Р.Ш.<sup>3</sup>, Гарипова С.Р.\*<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *Башкирский государственный университет*

<sup>2</sup> *Всероссийский НИИ фитопатологии*

<sup>3</sup> *Башкирский государственный аграрный университет*  
garisveta@rambler.ru

Эндофитные бактерии, бессимптомные обитатели внутренних тканей растения, вызывают в последние годы повышенный интерес в связи с возможностью использования их для биоконтроля сельскохозяйственных растений (Максимов и др., 2011; Гарипова, 2012; Dudeja et al., 2012; Lin et al., 2013). Ценная высокобелковая культура фасоль обыкновенная райо-

нирована во многих регионах России и может дополнить зернобобовые севообороты в агроценозах.

Из поверхностно стерилизованных клубеньков растений фасоли были выделены природные ассоциации эндофитных бактерий, проявляющие антагонизм к *Fusarium oxysporum* и нейтрализм к *Rhizobium* (Гарипова и др., 2010). Большинство неризобияльных штаммов в ассоциациях относились к р. *Bacillus* (Маркова, Гарипова, 2010). Отмечены рострегулирующие свойства отдельных штаммов в системе *in vitro* при взаимодействии с растениями редиса, томата, огурца, гороха и трех сортов фасоли (Юсупов и др., 2012). По результатам проводимых на кафедре экологии БашГУ 11 полевых испытаний в течение 4-х лет (2007 – 2010) в разных почвенно-климатических условиях Предуралья проведен скрининг перспективных ассоциаций и отдельных входящих в их состав штаммов, которые по сравнению с необработанным контролем способствовали повышению семенной продуктивности инокулированных растений фасоли и существенному снижению их заболеваемости корневыми гнилями (Маркова и др., 2011; Маркова, Гарипова, 2012).

Дальнейшая оценка комплексной биологической активности селекционных штаммов предполагает сравнение их с эталонными аналогами: эндофитной культурой *Bacillus subtilis* 26D — микробной основой коммерческого биопрепарата фитоспорин и штаммом *Rhizobium leguminosarum* bv. *phaseoli* 2630 из коллекции ВНИИСХМ. При этом необходимо решить ряд задач: оценить воспроизводимость изученных свойств штаммов после их длительного хранения, изучить эффект автономного и совместного антагонистического действия ризобий и бацилл к расширенному спектру специфичных для фасоли фитопатогенов *in vitro* и *in planta* в модельных условиях, а также при инокуляции в полевых условиях. Также следует учесть особенности сорт-штаммовых взаимодействий, выявить восприимчивые и устойчивые сорта фасоли в стрессовых по дефициту влаги условиях вегетационного сезона 2015 г.

# ГРИБЫ РОДА *MELAMPSORA* CASTAGNE. В МИКОЛОГИЧЕСКОМ ГЕРБАРИИ (VOR) КАФЕДРЫ БОТАНИКИ И МИКОЛОГИИ ВОРОНЕЖСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО УНИВЕРСИТЕТА

Мелькумов Г.М.

Воронежский государственный университет  
agaricbim86@mail.ru

В связи с резкими изменениями экологических условий окружающей среды в последние года растения стали менее резистентны к действию ряда биотических стрессоров, в том числе к паразитическим грибам. Среди многочисленных болезней мелампсориоз является весьма распространенным типом поражения вегетативных органов (листьев, побегов) травянистых и древесных растений. Данная болезнь вызывается базидиальными грибами рода *Melampsora* Castagne, относящимися к классу *Pucciniomycetes*, порядку *Pucciniales* и семейству *Melampsoraceae*.

Первые симптомы заболевания проявляются в начале и в течение лета в виде желто-ржавых или золотых пустул, наполненных массой спор под листьями, в результате чего листья начинают вянуть и отмирать. Зараженное растение имеет ненормально высокий уровень дыхания и слабый фотосинтез, который заставляет его использовать свои резервы. Это в свою очередь приводит к замедлению роста побегов, которые легко промерзают и становятся более чувствительными к вторичному патогенезу.

В статье систематизированы результаты последней ревизии микологической коллекции (VOR) кафедры ботаники и микологии Воронежского государственного университета. В результате обработки материала было выявлено 10 видов возбудителей мелампсориоза травянистых и древесных растений. Выявленные виды грибов собраны на территории Белгородской (1 вид; 10 % от общего числа видов), Воронежской (9; 90 %), Крымской (2; 20 %), Курской (1; 10 %), Липецкой (1; 10 %), Московской (3; 30 %) областей и Красноярского края (1; 10 %). Актуальность всех видовых названий грибов выверены с помощью номенклатурной базы данных *Mycobank* ([http:// www.mycobank.org](http://www.mycobank.org)) (по состоянию на 01.06.2015). По два вида патогенов отмечено на *Populus balsamifera* L. (*M. allii-populina* Kleb., *M. larici-populina* Kleb.) и *Salix triandra* L. (*M. amygdalinae* Kleb., *M. salicina* (Moug. & Nestl. ex DC.) Desm.), по одному — на *Euphorbia* sp. (*M. helioscopiae* (Pers.) Castagne), *P. × canescens* (Aiton) Sm. (*M. populina* (Jacq.) Lév.), *P. nigra* L. (*M. larici-populina* Kleb.), *P. tremula* L. (*M. laricis-*

*tremulae* Kleb.), *Pinus* sp. (*M. pinitorqua* Rostr.), *S. acutifolia* Willd. (*M. laricis-daphnoidis* Kleb.), *S. aurita* L. (*M. salicina* (Moug. & Nestl. ex DC.) Desm.) и *S. fragilis* L. (*M. allii-fragilis* Kleb.).

Исследование видового состава *Melampsora* Воронежской и сопредельных областей будет продолжено.

## МЕТОДИЧЕСКИЙ ПОДХОД К ИЗУЧЕНИЮ КЛАССИФИКАЦИОННЫХ СХЕМ ФИТОПАТОГЕНОВ ДЛЯ СТУДЕНТОВ ВУЗОВ АГРОНОМИЧЕСКОГО НАПРАВЛЕНИЯ

Мелькумова Е.А.

*Воронежский государственный аграрный университет  
им. императора Петра I  
agaricbim86@mail.ru*

В начале нового тысячелетия, с использованием современных технологий и методов, при изучении микро- и макроорганизмов произошли изменения в их классификации. На микологических съездах и форумах продемонстрированы подходы для установления видовой идентификации грибов с применением молекулярных кластеров и ПЦР анализа с использованием геносистематики.

Современные классификационные схемы помогут студентам с минимальной затратой труда и времени определить какое место в системе живых организмов занимает тот или иной вредный объект. При этом необходимо учитывать помимо происхождения, родственных связей, также строения, размножения и эколого-биологические особенности фитопатогена. Известно, что границы между видами могут варьировать, а внутри вида для отдельных микроорганизмов установлены биотипы, штаммы, расы, специализированные формы для питающего растения.

Система классификации живых организмов начинается с надцарств, где сделаны попытки в отношении вирусов и вирионов, которые отнесены к внемклеточным прокариотам.

Основной структурной единицей Прокариот и Эукариот является клетка. Первое надцарство имеет два царства — Бактерии (4 отдела: Грам-

положительные, Грам-отрицательные, Фитоплазмы и Актинобактерии) и Дробянки с отделом Оксифотобактерии. В состав второго надцарства входят пять царств: Примитивные животные, Грибоподобные организмы, Собственно грибы, Растения и Животные, каждая из которых включают фитопатогенные виды. В цитоплазме Прокариот не обнаружено четко обособленного ядра, однако имеются участки с высокой концентрацией ДНК, их генетический материал находится непосредственно в цитоплазме и не окружен ядерной мембраной. В клетках Эукариот содержится оформленное ядро, их генетический материал окружен ядерной оболочкой, состоящей из двойной мембраны. Здесь отмечается вполне определенная клеточная структура, включающая митохондрии, пластиды и ряд других органелл; клеточная стенка содержит хитин, целлюлозу и другие полисахариды. Как правило, наблюдается смена ядерных фаз — гаплоидной ( $n$ ), дикариотической ( $n + n$ ) и диплоидной ( $2n$ ).

## **МИКРОМИЦЕТЫ НА ДРЕВЕСНО-КУСТАРНИКОВЫХ РАСТЕНИЯХ В НЕКОТОРЫХ ПРИГОРОДНЫХ ПАРКАХ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА**

**Сидельникова М.В.**

*Санкт-Петербургский Государственный Аграрный Университет  
kapa0505@mail.ru*

Парки пригородов Санкт-Петербурга являются объектами культурного и природного наследия. Некоторые из них входят в состав государственных музеев-заповедников, таких как «Царское село», «Петергоф», «Павловск» и др. Особый вред древесным породам наносят паразитические грибы, которые могут служить причиной заметного ухудшения состояния и даже гибели деревьев. Одной из актуальных задач для сохранения древесной и кустарниковой растительности считается защита парковых насаждений от болезней и вредителей.

Микологические обследования с целью выявления микромицетов на древесных и кустарниковых растениях проводились в пригородных парках Санкт-Петербурга (Павловский парк, Екатерининский парк, Верхний сад и Нижний парк ГМЗ «Петергоф», Нижний сад и Верхний парк

Ораниенбаума) в летне-осенние периоды 2012 – 2014 гг. Обследования осуществлялись маршрутным методом вдоль центральных аллей и дорожек (регулярная часть парков), в дикой (нерегулярной) части.

На древесных и кустарниковых растениях из 26 родов и 31 вида выявлено 130 видов микромицетов, относящихся к 78 родам. К анаморфным грибам было отнесено 80 видов (62 %) (из них 26 видов — гифомицеты и 54 вида — целомицеты). Идентифицированы телеоморфы 46 видов аскомицетов (35 %), а также 4 вида (3 %) ржавчинных грибов (отдел *Basidiomycota*). Большая часть микромицетов выявлена на сухих ветвях — 60 %, тогда как на листьях отмечено 22 % от всех отмеченных видов (на живых листьях — 17 %, на сухих — 5 %). Микромицеты на плодах составили 4 % от общего видового разнообразия выявленных грибов. Анализ соотношения микромицетов по типам питания показал, что 70 % идентифицированных видов относятся к сапротрофам, а 30 % — к паразитам. К наиболее частым находкам можно отнести грибы из следующих анаморфных родов: *Cytospora*, *Bactrodesmium*, *Diplodia*, *Microdiplodia*, *Phomopsis*, *Coryneum*. К редким находкам относятся микромицеты из родов: *Lamproconium*, *Prosthemium*, *Stegonsporiopsis*.

При обследовании парков были выявлены своеобразные микоценозы, формируемые анаморфами и телеоморфами сумчатых микромицетов. Очевидно, формирование таких комплексов происходит на фоне ослабления деревьев под влиянием неблагоприятных факторов среды, в том числе повышенной рекреационной нагрузки.

## МИКСОМИЦЕТЫ БАЙРАЧНЫХ ЛЕСОВ ВОЛГОГРАДА

**Смольнякова Ю.А., Котельникова.Д.А., Землянская И.В.**

Волгоградский государственный медицинский университет,  
кафедра фармакогнозии и ботаники

Научный руководитель: Доцент кафедры фармакогнозии и ботаники к.б.н.  
Землянская Инна Владимировна

Площадь городского лесничества Волгограда составляет 13 839,2 га. экологические условия и социальный климат крупного индустриального центра во многом определяются состоянием городских лесов, выполняющих средозащитную функцию и служащих одним из мест активного

отдыха горожан. Площади городских лесничеств составляют: Тракторозоводское — 1076,4 га, Ворошиловское — 1508,6 га, Кировское — 1451,6 га, Красноармейское — 2145,6 га, Сарпинское — 7657,0 га. Лесонасаждения городских лесов Волгограда в основном созданы искусственным путем. Байрачные леса занимают всего лишь четвертую часть покрытой лесом территории. К ним относятся: балка Отрада, Чапурниковская балка, Мамаев курган, Григорова балка [3].

В степном климате Волгограда балки представляют собой высохшие русла рек с временным водотоком или небольшие овраги с родниками и ручьями на дне. Старые (более древние) балки имеют полого-вогнутое дно, часто без выраженного русла, склоны выпуклые, плавно переходящие в водоразделительные пространства. Склоны и дно покрыты кустарником или лесом. Относительно молодые балки более глубокие, узкие, с почти отвесными краями, на дне таких балок обычно имеется постоянный или временный водоток, дно и склоны покрыты лесом сложной структуры. Видовой состав растительности байрачных лесов г. Волгограда разнообразен, преимущественно дубравы. Сопутствующими древесными породами являются: вяз полевой, вяз шершавый, вяз гладкий, ольха черная, осина, клен татарский, черемуха обыкновенная, боярышник сомнительный и боярышник однопестичный, яблоня ранняя, груша обыкновенная, слива колючая, жостер слабительный и др. Травянистый покров: тюльпан Биберштейна, чистяк весенний, купена лекарственная, ландыш майский, полынь обыкновенная, ежевика, пустырник пятилопастной, пустырник сизый, воробейник обыкновенный, купырь лесной, подмаренник цепкий, крапива двудомная, хвощ полевой, чистотел большой, репешок обыкновенный и др [1, 2, 7, 9, 12].

Миксомицеты изучались на территории г. Волгограда начиная с 1995 года [5, 8, 10, 14, 15] в следующих балках: Отрада, Мамаев курган, Чапурниковская, Григорова. Из них балка Отрада и Григорова балка имеют крутые, обрывистые края, глубокие с временным водотоком, балка по склону юго-восточной экспозиции Мамаева кургана и Чапурниковская балка имеют пологое строение. Некоторые из изучаемых территорий являются памятниками природы и требуют особого внимания, в частности Чапурниковская балка [11]. Изучение таких территорий позволит наиболее полно подходить к разработке мер по их охране [6].

Всего в байрачных лесах г. Волгограда было собрано 169 образцов миксомицетов, относящихся к 73 видам, 8 семействам, 5 порядкам.

Список найденных видов миксомицетов приводится ниже.

## ПОРЯДОК CERATIOMYXALES J. Schröt.

Семейство **Ceratiomycaceae** J. Schröt.

*Ceratiomyxa fruticulosa* (O.F.Mull.) T. Macbr. LE 225050; 225047. Редко. На пнях деревьев, на коре живой и мертвой древесине.

## ПОРЯДОК LICEALES Jahn.

Семейство **Liceaceae** Rostaf.

*Licea belmontiana* Nann.- Bremek. LE 249262; 273944. Иногда. На листовом и травянистом опаде. **Выделен во влажной камере.**

*Licea biforis* Morgan LE 273944. Редко. На коре живых деревьев вяза гладкого *Ulmus laevis*. **Выделен во влажной камере.**

*Licea parasitica* (Zukal) G. W. Martin. LE 226739. Иногда. На коре живых деревьев. **Выделен во влажной камере.**

*Licea tenera* E. Jahn. LE 248794. Редко. На одревесневших частях полыни *Artemisia lerchiana*. **Выделен во влажной камере.**

*Licea nannengae* Pando & Lado. LE 272731; 272742. Редко. На коре живых и мертвых деревьев.

Семейство **Reticulariaceae** Rostaf.

*Lycogala epidendrum* (L.) Fr. LE 227202; 218404. Редко. На пнях и валеже крупных деревьев.

*Lycogala exiguum* Morgan LE 218203. Редко. На пне.

*Reticularia intermedia* Nann.-Bremek. LE 219147. Редко. На гнилушке ольхи *Alnus glutinosa*.

## ПОРЯДОК PHYSARALES Rost.

Семейство **Didymiaceae** Rost.

*Diderma globosum* (Pers.) LE 218529. Редко. На валеже ольхи.

*Diachea subsesilis* Peck. LE 249237. Редко. На листовом опаде дуба, на коре деревьев.

*Didymium anellus* Morgan LE 273943. Редко. На листовом опаде.

*Didymium clavus* (Alb. & Schwein). Rabenh. LE 218537; 218540. Редко. На валеже дуба и его листовом опаде.

*Didymium crustaceum* Fr. LE 220060; 249259. Иногда, на опавших листьях, и гнилушках.

*Didymium difforme* (Pers. Gray). LE 270095; 270097. Редко. На коре живых деревьев, листовом опаде, и валежных деревьях.

*Didymium dubium* Rostaf. LE 218420; 271098; 218560. Редко. На листовом опаде, на опавших веточках и листьях, валежных деревьях.

*Didymium iridis* (Ditmar) Fr. LE 218400. Часто. На коре живых деревьев, на опаде листьев, на гнилушках. **Выделен во влажной камере.**

*Didymium melanospermum* (Pers.) T. Macbr. LE 218530. Иногда. На листовом опаде дуба.

*Didymium minus* (Lister) Morgan LE 218003. Редко. На мхах.

*Didymium nigripes* (Link) Fr., LE 218240. Иногда, на опаде.

*Didymium squamulosum* (Alb. & Schwein.) Fr. LE 273972; 218028; 218030; 218036; 249260; 218463; 274010; 218533; 218539; 218518. Vo 1399. Обычно. На гнилом пне, опаде листьев.

*Didymium trachysporum* G. Lister LE 248741. **Выделен во влажной камере** на коре живых деревьев.

*Mucilago crustacea* (F. H. Wigg). LE 218009; 205803; 218116; 218522; 228178. Vo 1398. Часто. На листовом опаде. На опавших ветках, траве, коре живых деревьев у основания стволов.

#### Семейство **Physaraceae** Chevall.

*Badhamia capsulifera* (Bull.) Berk. LE 273964. Редко, на опавшей коре.

*Badhamia goniospora* Meyl. LE 249385. Редко. На мертвой коре.

*Badhamia foliicola* Lister. LE 249250; 225092; 225058; 218524; 218531. Редко. На валеже крупных деревьев и листовом опаде.

*Badhamia macrocarpa* (Ces.) Rostaf. LE 225092. Редко, на опавшей коре и гнилой древесине.

*Badhamia populina* Lister & G. Lister LE 219955. Редко, на опавшей коре и гнилой древесине.

*Badhamia utricularis* (Bull.) Berk. LE 271126. Редко, на гнилушках. **Выделяется во влажной камере.**

*Crdaterium leucocephalum* (Pers. ex. J. F. Gmel.) Ditmar. LE 224996; 249255; 243256; 249256; 225025; 205775; 225027. Иногда. На коре живых деревьев, листовом опаде дуба, пнях, отмершей коре и древесине.

*Fuligo cinerea* (Schwein.) Morgan. LE 218786; 220041; 220033. Часто. На коре живых деревьев, на отмершей коре и древесине. **Выделен во влажной камере.**

*Fuligo septica* (L.) F. H. Wigg. LE 273936. Иногда. На гниющем пне, валежных деревьях, траве, листовом опаде и пнях.

*Physarum album* (Bull.) Chevall. LE 249264; 270893; 270902; 225047; 270893; 270902; 225047; 270917; 270909; 249239; 249240. Редко. На листовом опаде дуба и его пнях.

*Physarum bivalve* Pers. LE 272589. Редко. На валеже дерева.

*Physarum cinereum* (Batsch). Pers. LE 218027; 227357; 273937. Редко. На гниющем пне, на траве, на коре мертвых деревьев.

*Physarum decipiens* M. A. Curtis LE 271038. Редко. На коре живых деревьев.

*Physarum leucophaeum* Fr. LE 273967; 218589. Редко. На отмершей коре и древесине, на валежных деревьях.

*Physarum leucopus* Link. LE 218546. Редко, на гнилушках.

*Physarum notabile* T. Macbr. LE 272643; 273350. Редко. На коре живых деревьев осины.

*Physarum pezizoideum* (Jungh. ) Pavill. & Lagarde Vo 1397. Редко. На отмершей коре.

*Physarum straminipes* Lister. LE 218041; 218032; 205685. Редко. На коре живых деревьев.

*Physarum vermum* Sommerf. LE 228218. Редко. На листовом опаде, на коре живых деревьев.

*Physarum viride* (Bull.) Pers. LE 205964. Редко. На пнях.

## ПОРЯДОК STEMONITALES T. Macbr.

Семейство **Stemonitadaceae** Fr.

*Amaurochaete atra* (Alb. & Schwein.) Rostaf. LE 272607. Редко, на сосновом пне.

*Comatricha elegans* (Racib.) G. Lister. LE 218384; 225114. Редко. На гнилушках.

*Comatricha laxa* (Rostaf.) LE 272645; 225114; 225147; 218519. Редко. На листовом опаде ольхи, и её сухостоях.

*Comatricha nigra* (Pers. ex. J. F. Gmel.) J. Schrt. LE 273941; 273942; 273343; 225185; 205782; 225126; 218497; 225121. Иногда. На гнилых деревьях и на пнях дуба, на гниющих пнях ольхи, на листовом опаде тополя.

*Comatricha pulchella* (C. Bab.) Rostaf. LE 225102; 225130. Иногда, на опавших листьях и веточках в опаде.

*Enerthenema papillatum* (Pers.) Rostaf. LE 219171. Редко. На листовом опаде ольхи.

*Lamproderma arcyrioides* (Sommerf.) Rostaf. LE 249261. Редко, на гнилой древесине, контактирующей с водой в ручье.

*Stemonitis axifera* (Bull.) T. Macbr. LE 218204; 220160; 273375; 218157; 218112. Редко. На валеже дуба и его листовом опаде.

*Stemonitis flavogenita* E. Jahn. Vo 1400. Редко. На гниющей коре ольшанник.

*Stemonitis fusca* Roth Vo 1396. Редко. На пнях, на гнилушках, на опавших листьях.

*Stemonitis pallida* Wingate LE 273446; 273926. Редко. На пне трухлявого дерева.

*Stemonitis smithii* T. Macbr. LE 273425. Редко. На пне и валежных деревьях.

*Stemonitis splendens* Rostaf. LE 218111. Иногда. На коре деревьев, на пне дуба, на коре живых и мертвых деревьев.

*Stemonitopsis hyperopta* (Meyl.) Nann.- Bremek. LE 205747. Редко. На старом ветровале.

*Stemonitopsis typhina* (F. H. Wigg.) Nann.- Bremek. LE 218071. Редко. На пнях, заливаемых в половодье.

#### ПОРЯДОК TRICHIALES T. Macbr.

Семейство **Arcyriaceae** Rostaf. ex. Cook

*Arcyria cinerea* (Bull.) Pers. LE 249248; 205914; 218398; 271132; 271131; 249236; 218113. Обычно. На коре живых и мертвых деревьев ольхи, на листовом опаде дуба тополя, на коре дуба.

*Arcyria denudata* (L.) Wettst. LE 249249; 272588. Редко. На листовом опаде, коре деревьев, валеже, гниющих веточках, пнях.

*Arcyria incarnata* (Pers. Ex J. F. Gmel.) Pers. LE 249251; 249252; 205776. Иногда. На листовом опаде дуба, на гниющей коре дуба и его пнях.

*Arcyria obvelata* (Oeder) Onsberg LE 249253; 273427; 273428; 274832. Редко. На пне дуба, валежной древесины.

*Arcyria pomiformis* (Leers). Rostaf LE 225151; 225167. Иногда. На коре живых деревьев осины, на коре живых деревьев ольхи и её листовом опаде.

Семейство **Trichaceae** Cheval.

*Hemitrichia karstenii* (Rostaf.) Lister LE 218033; 205684. Иногда, на опавших листьях.

*Metatrichia vesparia* (Batsch) Nann.- Bremek. ex G. W. Martin & Alexop LE 218123; 249263. Редко. На листовом опаде, на гнилой древесине, валеже.

*Oligonema schweinitzii* (Berk.) G. W. Martin. LE 218785. Редко. На пне, коре живых деревьев. Выделен во влажной камере.

*Perichaena chrysosperma* (Curr.) Lister. LE 248797. Часто. На листовом опаде тополя, на коре живых и мертвых деревьев. **Выделен во влажной камере.**

*Perichaena corticalis* (Batsch) Rostaf. LE 220060; 226827; 228259; Vo 1404. Часто. На коре живых деревьев, кустарников и полукустарников.

*Perichaena depressa* Lib. LE 270103; 227325; 219993. Часто. На гнилой коре дуба, на коре живых деревьев ольхи, на его опаде, на гнилой коре и древесине осины и на его опаде, на коре пней дуба, на отмершей коре тополя, на листовом опаде тополя, на гниющей коре дерева. **Выделен во влажной камере.**

*Perichaena liceoides* Rostaf. LE 227337; 227293; 248805. Часто. На коре живых деревьев осины, на отмершей древесине. Выделен во влажной камере.

*Perichaena quadrata* T. Macbr. LE 228259. Часто. На коре живых деревьев осины и груши. **Выделен во влажной камере.**

*Perichaena vermicularis* (Schwein). Rostaf. LE 218062; 228215; 228242; 273945; 228216; 249237. Часто. На коре живых деревьев, на гниющей древесине.

*Trichia decipiens* (Pers.) T. Macbr. Vo 1403. Иногда. На гнилушках.

Наиболее часто встречаемыми видами миксомицетов в байрачных лесах г. Волгограда являются: *Arcyria cinerea* (Bull.) Pers., *Arcyria denudata* (L.) Wettst., *Stemonitis fusca* Roth, *Stemonitis splendens* Rostaf., *Crdaterium leucocephalum* (Pers. ex. J. F. Gmel.) Ditmar., *Physarum album* (Bull.) Chevall., *Didymium iridis* (Ditmar) Fr., *Didymium squamulosum* (Alb. & Schwein.) Fr., *Mucilago crustacea* (F. H. Wigg), *Fuligo cinerea* (Schwein.) Morgan., *Perichaena chrysoesperma* (Curr.) Lister, *Perichaena corticalis* (Batsch) Rostaf., *Perichaena depressa* Lib., *Perichaena liceoides* Rostaf., *Perichaena quadrata* T. Macbr., *Perichaena vermicularis* (Schwein.) Rostaf. Всего редких видов нами найдено 47, обычно и часто встречающихся — 21.

В целом видовой состав городских байрачных лесов имеет видовой состав миксомицетов, характерный для всех байрачных лесов подзоны опустыненных степей и сходен с битой широколиственных лесов, но отличается от нее меньшим биоразнообразием. Здесь часто встречаются виды, характерные для аридных местообитаний, которые видимо заносятся сюда с расположенных рядом степных сообществ. Также следует отметить, что нами не было обнаружено значительного влияния находящихся в зоне прямого воздействия промышленных предприятий на видовой состав миксомицетов, что может свидетельствовать о значительной устойчивости городских экосистем, и в частности сообществ миксомицетов, к загрязнению промышленными выбросами.

## Литература

1. «Волгоградская область: природные условия, ресурсы, хозяйство, население, геоэкологическое состояние» коллективная монография. Из-во., ВГПУ «Перемена» 2011 г. 495 с.
2. А.Ф. Киреев «Родная природа». Нижне-волжское книжное издательство. Волгоград. 1967 г. 270 с.
3. Высоцкий Г.Н. Ергеня: культурно-фитологический очерк // Труды Бюро по прикладной ботанике. 1915 г. № 6. 1436 с.
4. Доклад о состоянии окружающей среды Волгоградской области в 2013 году//Министерство природных ресурсов и экологии Волгоградской области. Волгоград: «СМОТРИ», 2014 – с. 239.
5. Землянская И.В. Миксомицеты интразональных сообществ степной зоны Нижнего Поволжья // "Микология и криптогамная ботаника в России: традиции и современность". Труды международной конференции, посвященной 100-летию организации исследований по микологии и

- криптогамной ботанике в Ботаническом институте им. В.Л. Комарова, Санкт-Петербург, 2000. С. 125 — 128.
6. Землянская И.В. Проблемы изучения и охраны микроорганизмов особо охраняемых территорий на примере миксомицетов. // Заповедное дело: проблемы охраны и экологической реставрации степных экосистем. Материалы международной конференции, посвященной 15-летию государственного заповедника «Оренбургский». Оренбург: ИПК Газпромпечат. 2004. С. 105-106.
  7. Землянская И.В., Манаенков А.С., Караваев А.С. Рациональное использование, охрана и воспроизводство растительного мира. // Доклад о состоянии окружающей среды Волгоградской области в 2004 году. Волгоград: Радуга, 2005. С. 64-69.
  8. Землянская И.В., Яницкая А.В., Комплекс видов миксомицетов, сформировавшийся в ненарушенных фитоценозах г. Волгограда. // Вестник Волгоградской медицинской академии. Т. 55, вып. 5. Волгоград, 1999. С. 71 — 73.
  9. Изучение и рациональное использование биоразнообразия растений Волгограда//Волгоградская государственная Дума, Департамент по охране окружающей среды природных ресурсов г. Волгограда. 2009. с. 26-27.
  10. Новожилов Ю.К., Землянская И.В., Фефелов К.А. Миксомицеты степей и пустынь Нижнего Поволжья // Ботанические исследования в Азиатской России. Материалы 11 съезда Русского ботанического общества «18 — 22 августа 2003 г. — Новосибирск — Барнаул». Т. 1, Барнаул: «АзБука», 2003, С. 48 — 49.
  11. Нормативно-правовой документ «от 25 марта 2010 г. № 381 «О внесении изменений в Постановление Главы Администрации Волгоградской области от 4 июля 2006 г. № 805 «Об утверждении перечней особо охраняемых природных территорий Волгоградской области».
  12. Природные условия и ресурсы. Волгоградской области. Под ред. В.А. Брылева. Учебное пособие для средней школы. Волгоград 1996 г. 263 с.— 2-е изд., перераб. и доп. / авт. кол.; под общ. ред. проф. В. А. Брылева. — Волгоград: Перемена, 2005. — 260 с.
  13. Ing B. The phytosociology of myxomycetes // The New Phytologist, 1994. Vol. 126. P. 175 — 202.
  14. Novozhilov Yu.K., Zemlianskaia I.V., Schnittler M., Fefelov K.F. An annotated checklist of the myxomycetes of the northwestern Caspian Lowland // Микология и фитопатология, 2003. Т. 37. Вып 6. С. 53 — 65.
  15. Zemlianskaia I. Species diversity of Myxomycetes in the Low Volga (Nizhneye Povolzhie) // Fourth international congress on systematics and ecology of Myxomycetes (ICSEM 4), National Botanic Garden of Belgium, Brussels, Scripta Bot. Belg. Vol. 22, 2002. P. 101 — 102.

# ВНУТРИСТЕБЛЕВЫЕ ВРЕДИТЕЛИ САХАРНОЙ СВЁКЛЫ — АГЕНТЫ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МЕЖДУ ЦАРСТВАМИ РАСТЕНИЙ И ГРИБОВ

Стогниенко О.И.\*<sup>1</sup>, Стогниенко Е.С.<sup>2</sup>

1 — Всероссийский НИИ сахарной свёклы и сахара им. А.Л. Мазлумова

2 — Воронежский ГАУ им. императора Петра I

stogniolga@mail.ru

В исследованиях 2011 – 2014 гг. установлено влияние контаминантной и ассоциированной микробиоты внутрестеблевых вредителей свекловичного долгоносика-стеблееда (*Lixus subtilis*) и свекловичной минирующей моли (*Gnorimoschema ocelatella*) на болезни сахарной свеклы: при повреждении черешка происходит переход грибов (*Alternaria alternata*, *Fusarium oxysporum*) и бактерий с покровных тканей вредителей в ткани растения, что вызывает увядание черешков, а впоследствии и всего растения. Комплексы доминирующих патогенов: в обоих ценозах — бактерии, которые попадают с покровных тканей личинок и гусениц, из экскрементов в ткани черешков сахарной свеклы; в ценозе «поврежденные ткани черешка – личинка долгоносика-стеблееда» частые ассоциированные с вредителем виды грибов *A. alternata*, *F. oxysporum*, попадая в ткани растения, становятся доминирующими. В ценозе «поврежденные ткани корнеплода и черешка – гусеница свекловичной минирующей моли» таковыми являются *F. oxysporum* и *F. oxysporum* v. *ortoceras* и способны системно поражать растения, а токсины, выделяемые ими — транспортироваться по сосудам растения и вызывать общее увядание не только надземной части, но и корневой системы. Комплекс бактерий и токсинообразующих грибов, вызывающих поражение сосудов, даёт эффект апоплектической гибели растений сахарной свеклы при засушливых и жарких погодных условиях. Сделанное предположение о том, что внутрестеблевые вредители являются агентами переноса фитопатогенных грибов и бактерий, а массовое увядание сахарной свеклы, поражённой долгоносиком-стеблеедом и свекловичной минирующей молью — следствие комплексного воздействия вредителя и его ассоциированной микробиоты, подтверждено экспериментально – путем инокуляции черешков чистыми культурами грибов. Установлено, что бактерии могут непосредственно проникать из поврежденных черешков в ткани корнеплода, а вот действие грибов опосредуется через токсины, которые они выделяют в поврежденные ткани. Токсины вызывают увядание, способствуют сниже-

нию тургора клеток корнеплода, отмиранию корневых волосков и, как следствие, массовому поражению почвообитающими раневыми патогенами (грибами и бактериями).

## ВЛИЯНИЕ МУЧНИСТОЙ РОСЫ НА ЖИЗНЕННОЕ СОСТОЯНИЕ НЕКОТОРЫХ КУСТАРНИКОВ, ПРИМЕНЯЕМЫХ В ОЗЕЛЕНЕНИИ ГОРОДА КЕМЕРОВО

Филиппова А.В.\*, Захарова О.И.

*Кемеровский государственный университет*  
sasha1977@ngs.ru

Город Кемерово расположен в северной части Кузнецкой котловины по обоим берегам р. Томь. Климат континентальный. Средняя годовая температура воздуха составляет 0,0 °С; среднегодовое количество осадков — 430 мм.

Известно, что в системе «паразит-хозяин» складывается особый тип биотических отношений. Целью настоящей работы являлось изучение влияния мучнисторосяных грибов на жизненное состояние растений. В качестве модельных объектов выбраны барбарис обыкновенный (*Berberis vulgaris* L.) и сирень обыкновенная (*Syringa vulgaris* L.), которые ежегодно поражаются эризифовыми грибами. На барбарисе паразитирует *Erysiphe berberidis* DC., на сирени — *Microsphaera jaczewskii* U. Braun.

Выявлено, что состояние здоровых и поврежденных мучнистой росой растений достоверно различается. Жизненный потенциал растений, пораженных эризифовыми грибами, снижен до 70 – 80 %. Содержание суммы зеленых пигментов в листьях барбариса, пораженного мучнистой росой, выше, чем в здоровых ( $3,29 \pm 0,052$  против  $2,69 \pm 0,083$  мг / г сырого веса). У сирени, наоборот, в пораженных растениях содержание хлорофиллов меньше, чем в здоровых ( $3,02 \pm 0,126$  и  $3,36 \pm 0,191$  мг / г соответственно).

Оводненность листьев и накопление органического вещества у поврежденных растений обоих видов ниже по сравнению со здоровыми, а активность пероксидазы, наоборот, выше (у сирени  $9,54 \pm 0,684$  против  $4,36 \pm 0,239$  единиц активности). Это объясняется формированием ответ-

ных реакций на воздействие патогена, поскольку пероксидаза является одной из важнейших каталитических систем защиты растений, активно участвующих в саморегуляции метаболизма при заражении.

Содержание сульфатной серы у пораженного барбариса составляет  $0,08 \pm 0,020$ , здорового —  $0,14 \pm 0,015$  мг / г сухого веса. У сирени отмечается аналогичная закономерность. Несмотря на то, что сульфатной серы в здоровых листьях накапливается больше, их зольность ниже, чем поврежденных (у барбариса —  $2,5 \pm 0,50$  и  $4,2 \pm 0,50$  %).

Итак, эризифовые грибы по-разному влияют на показатели жизненного состояния растений-хозяев. Вероятно, это связано с разными адаптивными способностями видов по отношению к мучнистой росе. Однако в целом, заболевание угнетает развитие растений, снижает их функциональную роль. Полученные результаты могут быть использованы в практике озеленения для выявления потенциальных источников инфекции, для разработки возможных мер борьбы с мучнисторосянными грибами.

## **ПОЛИМОРФИЗМ ПОПУЛЯЦИЙ ГРИБА *PUSCINIA TRITICINAE* В СЕВЕРО-ЗАПАДНОМ РЕГИОНЕ РФ ПО ВИРУЛЕНТНОСТИ И SSR-МАРКЕРАМ В 2013 – 2014 ГОДАХ**

**Шайдаюк Е.Л.**

*Всероссийский НИИ защиты растений*  
eshaydayuk@bk.ru

Проведен анализ структуры популяций возбудителя бурой ржавчины пшеницы, собранных в Северо-западном регионе РФ (Псковская, Ленинградская и Новгородская области) в 2013 – 2014 гг. с использованием 52 контрольных *Lr*-линий определена эффективность известных генов в фазе проростков. Для обозначения фенотипов использована северо-американская буквенная номенклатура, основанная на определении вирулентности к группам из 5 *Lr*-линий: 1 — *Lr1*, *Lr2a*, *Lr2c*, *Lr3a*; 2 — *Lr9*, *Lr16*, *Lr24*, *Lr26*; 3 — *Lr3ka*, *Lr11*, *Lr17*, *Lr30*; 4 — *Lr19*, *Lr20*, *Lr14a*, *Lr18*; 5 — *Lr2b*, *Lr3bg*, *Lr14b*, *Lr15*. Всего изучено 232 монопустульных изолята (153 в

2013 г. и 79 в 2014 г.). Ограниченная коллекция изолятов проанализирована с использованием 18 SSR-маркеров.

В результате анализа вирулентности показана высокая эффективность генов *Lr9*, *Lr19*, *Lr24*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr38*, *Lr41* (=39), *Lr42*, *Lr45*, *Lr47*, *Lr50* и *Lr51*. Среди использованных двадцати *TcLr*-линий десять показали вариабельность по типу инфекции при инокуляции *P. triticina*. Наибольший полиморфизм по вирулентности наблюдали пяти линиях — *TcLr2a*, *TcLr2b*, *TcLr2c*, *TcLr15* и *TcLr26*. Всего за анализируемый период выявлено 39 фенотипов. Среди них доминирующими были МНТКК (28 %), МНТФК (12 %), РНТКТ (9 %) и ТГТКТ (7 %). Не обнаружено значимых различий по внутривидовому разнообразию между коллекциями гриба 2013 – 2014 гг. (индекс Космана  $KWm = 0,22$  и  $0,2$  соответственно). В целом, в исследуемый период не выявлено значимых изменений в структуре северо-западных популяций по сравнению с предыдущими годами. Ежегодно в них выявлялись единичные оригинальные фенотипы, которые, как и ранее, не закреплялись и не отмечались в последующий период. Полученные результаты свидетельствовали о высокой степени сходства по вирулентности ленинградских, новгородских и псковских изолятов. Более высокую их гетерогенность, как правило, обуславливало доминирование в инфекционном материале образцов с ГСУ. При использовании восемнадцати SSR-маркеров выявлен полиморфизм по шести аллелям Pt61, Pt76, Pt151, Pt158, Pt161 и Pt173.

*«Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № \_а».*

## **ПЕРСПЕКТИВНЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ РАЗРАБОТКИ МИКОИНСЕКТИЦИДОВ**

**Щукина В.Д.\*, Рогожин Е.А., Гришин Е.В.**

*ФГБУН Институт биоорганической химии им. М.М.Шемякина и  
Ю.А.Овчинникова  
vera.tschukina@gmail.com*

Разработка технологий получения и применения биологических средств защиты растений на основе энтомопатогенов является одним из приоритетных направлений в соответствии с дорожной картой развития

биотехнологий и генной инженерии в РФ на период до 2020 года. Проведен анализ литературных данных и патентов по биопестицидам на основе энтомофильных грибов с целью выявления перспективных для разработки микоинсектицидов областей исследования. На основании проведенного анализа рассчитаны затраты на производство различных типов микоинсектицидов нового поколения и сформулированы рекомендации по оптимизации микробиологического контроля насекомых-вредителей с использованием энтомофильных грибов. Повышение биологической эффективности микоинсектицидов сегодня осуществляется путем отбора и генетической селекции наиболее вирулентных и термотолерантных штаммов, обладающих высокой технологичностью наработки биомассы при культивировании и продуцирующих специфические токсины, а также путем усиления уровня их агрессивности на этапе культивирования изменением состава искусственных питательных сред. Использование методов генной инженерии в этих целях пока еще не нашло широкого применения, но может позволить в будущем интенсифицировать разработку высокоэффективных микоинсектицидов сразу по нескольким направлениям. Важным аспектом при разработке микоинсектицидов может являться создание узко-специализированных штаммов энтомофильных грибов. Так, большинство видов рода *Beauveria* не проявляют избирательности при поражении насекомых, что может негативно влиять на опылителей и хищников, уничтожающих вредителей. В то же время известно, что некоторые виды анаморфных грибов высоко вирулентны только для определенных отрядов и родов насекомых, что обусловлено композицией эпикутикулярных соединений, G-белками и ферментами грибов, гидролизующими кутикулу, а также уровнем токсинообразования. Разработка микоинсектицидов сегодня направлена на получение трансгенных штаммов-сверхпродуцентов инсектотоксинов-блокаторов инсекто-специфичных ионных каналов, изначально являющихся компонентами ядов пауков. Комбинация свойств высоковирулентных и трансгенных энтомопатогенов, продуцирующих инсектотоксины ядов пауков, поможет существенно снизить дозы биопрепарата, требуемого для эффективного поражения хозяев и повысить скорость и эффективность действия микоинсектицидов.

Для заметок:



*Научное издание*

Материалы VII всероссийской микологической школы-  
конференции с международным участием  
«БИОТИЧЕСКИЕ СВЯЗИ ГРИБОВ:  
МОСТЫ МЕЖДУ ЦАРСТВАМИ»

Редактор – М. Ю. Дьяков

Дизайн макета – М. Ю. Дьяков

Верстка – М. Ю. Дьяков, И. А. Смирнов

Корректор – М. Ю. Дьяков

Обложка – М. Ю. Дьяков

Подписано в печать 30.07.2015

Формат 60×90/16

Тираж 150 экз.