

ОБЗОРЫ И ДИСКУССИИ

УДК 581.524.1 : 581.557.24 + 631.466.1

© Н. М. Лабутова

**ВЗАИМООТНОШЕНИЯ ЭНДОМИКОРИЗНЫХ ГРИБОВ
С МИКРООРГАНИЗМАМИ РИЗОСФЕРЫ**LABUTOVA N. M. INTERACTIONS BETWEEN ENDOMYCORRHIZAL FUNGI
AND RHIZOSPHERE MICROORGANISMS

Ризосфера является активно изменяющейся средой, где взаимодействуют микроорганизмы, корни растений и абиотические компоненты почвы — минеральные и органические вещества, почвенный раствор и почвенные газы (Azcon-Aguilar, Barea, 1992; Lindermann, 1992; Barea, 1997; Gryndler, Hrselova, 1998; Kennedy, 1998; Bowen, Rovira, 1999; Barea, 2000). Основой для формирования и функционирования ризосферы, с одной стороны, является растение, которое поставляет фотосинтаты и органическое вещество в виде опада и опада, а с другой — прикорневые микроорганизмы, влияющие на состав корневых выделений и снабжающие растение доступными элементами питания (Werner, 1998).

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

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

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

Арбускулярные микоризные грибы (АМГ) и азотфиксирующие бактерии — наиболее значимые мутуалистические симбионты растений (Barea, 1997). Образование

микоризы — важная особенность биологии и экологии большинства наземных растений, так как формирование микоризного симбиоза влияет на их рост, абсорбцию воды и питательных веществ, а также защищает растения от корневых патогенов (Smith, Read, 1997). Особенностью АМГ является их одновременное присутствие во всех компонентах ризосферы. Эти грибы обитают в ризосфере в виде гиф, спор и других форм пропагул; колонизируют ризоплану в процессе своего взаимодействия с корнем (Bianciotto, Bonfante, 1999); образуют интрадикальный мицелий в тканях корня, а арбускулы — в клетках корня. Преобладающей биоморфологической структурой АМГ в ризосфере является мицелий. На пресимбиотической стадии в почве происходит прорастание спор АМГ, в результате которого формируются гифы. Дальнейший рост и ветвление этих гиф приводят к образованию в почве сети ценоцитного мицелия. Длина такого мицелия обычно достигает 200 мм (Giovannetti et al., 1999). Значительно больше в ризосфере экстрарадикального мицелия, который формируется после выхода гиф интрадикального мицелия из корня в почву ризосферы. Экстрарадикальный мицелий образует густую сеть за счет ветвления гиф и формирования многочисленных анастомозов (Giovannetti et al., 2001). Длина экстрарадикального мицелия колеблется от 1.1 до 54 м/г почвы (Giovannetti et al., 2002).

Взаимодействие эндомикоризных грибов с почвообитающей микробиотой имеет несколько аспектов. Формирование микоризы, как известно, изменяет минеральное питание, гормональный баланс, углеродный обмен и другие стороны физиологии растений (Azcon-Aguilar, Vago, 1994; Smith et al., 1994). Помимо этого, распространяющийся в почве экстрарадикальный мицелий АМГ увеличивает объем ризосферы растения (Bethlenfalvay, Schuepp, 1994). Таким образом, арбускулярно-микоризный симбиоз изменяет химический состав корневых выделений, в то время как развитие микоризного мицелия в почве вносит физические изменения в среду, окружающую корни. Действие АМГ на микрофлору может быть связано и с изменением динамики углерода в ризосфере микоризованных растений. Прежде всего мицелий эндомикоризных грибов является источником углерода для почвообитающих микроорганизмов (Fitter et al., 2000).

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

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

Таким образом, функционирование эндомикоризного симбиоза приводит к сдвигам в потоках веществ и энергии в микоризосфере. Вызванные микоризой изменения

количественно и качественно воздействуют на микробные популяции либо в ризосфере, либо в ризоплане (Barea, 1997).

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

Влияние ризосферной микробиоты на АМГ

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

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

Однако ризосферные микроорганизмы не всегда оказывают положительное влияние на АМГ. В экспериментах, где растения инокулировали грибом *Glomus mosseae* совместно с каждым из трех штаммов *Pseudomonas fluorescens*, ни один бактериальный штамм не влиял на развитие гриба в корне. При этом отмечено действие эндомикоризного гриба на эти бактерии, которое выразилось в увеличении общей численности популяции штаммов *P. fluorescens* (Edwards et al., 1998).

Обнаружено, что ризосферные бактерии, которые отрицательно влияют на растения, могут мешать образованию микоризы и ее функционированию (Neal et al., 1996).

Механизмы, ответственные за стимулирующее влияние почвенных микроорганизмов на АМГ, изучены мало; неизвестно, как осуществляется передача сигнала между бактериями и грибами при стимуляции мицелиального развития. Для объяснения эффекта стимуляции были предложены различные механизмы, включающие продуцирование витаминов, аминокислот, фитогормонов и/или гидролитических энзимов клеточной стенки. Некоторые из этих веществ могут непосредственно влиять на развитие и рост грибных структур, тогда как другие оказывают влияние на развитие корня и его восприимчивость к инфекции (Barea et al., 2002). Согласно другой гипотезе, действие ризосферной микробиоты может реализоваться через влияние на растение. По современным представлениям, образование и развитие микоризного симбиоза связано с изменениями в составе корневых выделений и гормональным балансом

растения-хозяина. С другой стороны, известно, что в метаболитах почвенных микроорганизмов присутствуют компоненты, которые увеличивают проницаемость клеток корня, таким образом усиливая корневые выделения. Увеличение поступления экссудатов может стимулировать рост мицелия АМГ в ризосфере и облегчать проникновение гриба в корень. Также известно, что гормоны растений и микроорганизмов могут влиять на приживаемость АМГ на корне (Azcon-Aguilar, Barea, 1992, 1995).

Взаимодействия АМГ и ризосферной микробиоты, влияющие на продуктивность растений

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

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

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

Большой интерес вызывают взаимоотношения эндомикоризных грибов и азотфиксирующих бактерий, поскольку они имеют колоссальное значение для поступления азота в систему «почва—растение» (Barea, 1997). Роль АМГ в улучшении образования клубеньков и усилении фиксации азота при тройном симбиозе признана сейчас повсеместно. В результате исследований с использованием изотопа N^{15} был установлен факт увеличения азотфиксации при тройном симбиозе и определено дополнительное количество фиксированного азота. Такого рода исследования позволили количественно оценить вклад эндомикоризы в процесс фиксации азота (Barea et al., 1996; Tobar et al., 1996; Togo et al., 1998). Причиной увеличения продуктивности растений при формировании тройного симбиоза часто является повышение их устойчивости к водному и солевому стрессу. Установлено, что в результате взаимодействия клубеньковых бактерий и АМГ возрастает продукция растительных гормонов, полиаминов, пролина и активность фотосинтеза, т. е. факторов, которые вовлечены в механизмы защиты от стрессов (Goicoechea et al., 1995, 1997, 1998). Также было показано, что смягчение водного стресса может происходить за счет старения клубеньков, вызван-

ного инокуляцией растений АМГ (Ruiz-Lozano et al., 2001). Аналогичным образом эндомикоризный симбиоз поддерживает функционирование ризобияльного симбиоза в условиях солевого стресса (Azcon, El-Atrash, 1997).

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

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

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

Помимо азотфиксирующих клубеньковых бактерий, эндомикоризные грибы взаимодействуют и с другими ризосферными бактериями, которые влияют на доступность элементов питания для растений. Эксперименты *in vitro* показали, что многие почвенные микроорганизмы способны к высвобождению фосфатных ионов из труднорастворимых неорганических и органических фосфорных соединений (Whitelaw, 2000). Эндомикоризные грибы могут взаимодействовать с фосфатмобилизующей микробиотой, вызывая синергетический эффект (Barea et al., 1997). Так, в опытах с P^{32} было показано, что поступление в растения фосфора при внесении в почву его труднорастворимых соединений (горные породы) является результатом взаимодействия фосфатмобилизующих PGPR и АМГ. При этом PGPR вели себя как МНВ, улучшая выживаемость интродуцированных или аборигенных эндомикоризных грибов. Поскольку бактерии не изменяли вес и длину корня, предполагается, что они стимулировали развитие АМГ в почве до колонизации корня. Двойная инокуляция значительно увеличила биомассу растений, а также накопление азота и фосфора в растительных тканях. Использование изотопа P^{32} показало, что при совместной инокуляции фосфатмобилизующими PGPR и АМГ растения потребляли фосфор из ранее недоступных источников. По-видимому, ризосферные/микоризосферные взаимодействия способствовали биохимическому круговороту фосфора и поддерживали постоянную поставку питательных элементов в растения (Togo et al., 1997).

Известно, что в благоприятных условиях PGPR рода *Azospirillum* улучшают развитие растений и повышают урожай (Bashan, 1999). Было установлено, что эти бактерии, влияя на морфологию, архитектуру и физиологию корневых систем, ускоряют образование микоризы. С другой стороны, показано, что АМГ могут увеличивать выживаемость интродуцированных бактерий рода *Azospirillum* в ризосфере растения (Volpin, Kapulnik, 1994). Эти и другие примеры (Gryndler, Hrselova, 1998; Kim et al., 1998; Belimov et al., 1999; Vosatka, Gryndler, 1999, 2000) показали, что совместная инокуляция растений АМГ и селекционными штаммами бактерий часто вызывает улучшение роста растения и увеличение поглощения им питательных веществ. Однако во многих случаях трудно связать положительное действие микоризы исключительно с изменением физиологии минерального питания или поглощения воды растением.

Взаимодействия при биологическом контроле корневых патогенов

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

Анализ литературы показывает, что АМГ, по-видимому, обладают несколькими механизмами для подавления фитопатогенов. Одна из гипотез предполагает, что защитное действие АМГ опосредовано через растение. При образовании симбиоза происходят изменения в физиологии организма-хозяина, которые влияют на состав корневых выделений (Azcon-Aguilar, Bago, 1994; Smith et al., 1994). Это в свою очередь приводит к качественным и количественным изменениям в микробных популяциях ризосферы, в том числе и микоризосферы. По мнению ряда авторов (Azcon-Aguilar, Barea, 1992; Linderman, 1994; Azcon-Aguilar, Barea, 1996), такие изменения могут влиять на развитие болезней растений.

Согласно другому предположению, защитное действие АМГ опосредовано через микробиоту и связано с увеличением антагонистической активности в ризосфере микоризованных растений. Установлено, что при образовании эндомикоризного симбиоза может происходить стимуляция определенных компонентов автохтонной микробиоты, которые являются антагонистами корневых патогенов. Так, было обнаружено, что количество спорангиев и зооспор, образуемых в культуре *Phytophthora cinnamomi*, было меньше при обработке экстрактами ризосферной почвы микоризованных растений, чем при обработке этого гриба такими же экстрактами из ризосферы немикоризованных растений (Meयर, Linderman, 1986). В других экспериментах наиболее эффективные актиномицеты-антагонисты были выделены из ризосферы микоризованных растений. Более поздние исследования подтвердили эти результаты и показали, что уровень антагонистической активности ризосферной микрофлоры зависит от присутствия АМГ, почвенных условий и растения-хозяина (Linderman, 1994; Azcon-Aguilar, Barea, 1996). Аргументом в пользу последней гипотезы являются результаты исследований защитного действия АМГ в ассоциациях с ризосферными бактериями-антагонистами, которые используются как средство для биологического контроля корневых патогенов (Linderman, 1994; Nemes, 1997; Barea et al., 1998). В случае, когда эффективность защиты такой ассоциации была выше, чем каждого организма в отдельности, микроорганизмы были совместимы друг с другом и проявляли синергетическое действие (Alabouvette, Lemanceau, 1997). Это было показано в экспериментах с АМГ, специфичными штаммами флуоресцентных псевдомонад и грибом *Fusarium oxysporum* (Lemanceau, Alabouvette, 1991; Lemanceau et al., 1995). Аналогичные результаты были получены со штаммами *Paenibacillus* sp., которые действовали синергетически с эндомикоризным грибом и увеличивали устойчивость рас-

тений томата к почвообитающим патогенным грибам, в особенности к *Phytophthora parasitica* (Budi et al., 1999).

Пока что мало известно о молекулярных основах микробного антагонизма и участии селективированных штаммов PGPR в индуцировании системной устойчивости растений. Очевидно только, что АМГ и PGPR могут иметь несколько молекулярных механизмов биоконтроля (Kloepper, 1994; Cook et al., 1995; Chen et al., 1996; Van Loon et al., 1998).

Для создания биопрепаратов защитного действия на основе ассоциаций бактерий-антагонистов и АМГ большое значение имеет совместимость микроорганизмов и влияние бактерий на эндомикоризный гриб. Ряд исследователей (Calvet et al., 1993; Barea et al., 1998; Edwards et al., 1998) считают, что антагонисты, которые входят в состав биопрепаратов, в большинстве случаев не подавляют развитие эндомикоризных грибов. Так, определенные виды АМГ и флуоресцентных псевдомонад, стимулирующие рост растения, могут существовать вместе в пределах одной клетки корня. Такие результаты были получены на растениях томата, инокулированных АМГ и бактериями *Raenibacillus* sp., которые положительно влияли на продуктивность растений и проявляли защитное действие (Barea et al., 2002). В некоторых случаях бактерии-антагонисты грибных патогенов могут даже улучшать развитие микосимбионта и способствовать образованию эндомикоризного симбиоза (Linderman, 1994; Barea et al., 1998; Edwards et al., 1998; Budi et al., 1999).

Микоризосфера

В результате проведенных исследований были обнаружены специфические изменения в среде, окружающей микоризный мицелий. Линдерман (Linderman, 1992) назвал почвенное пространство, на которое воздействуют экстрарадикальные гифы АМГ, «микоризосферой». Основным фактором, обуславливающим «эффект микоризосферы» (Barea, 1997), является поступление высокоэнергетических органических соединений, которые выделяет мицелий эндомикоризных грибов. Однако обогащение этой специфической среды органическими соединениями, вероятно, намного меньше, чем ризосферы (Andrade et al., 1997). Поэтому численность бактерий в микоризосфере гораздо ниже, чем в ризосфере. Обнаружены различия и в качественном составе бактерий микоризосферы и окружающей почвы. Прокариоты, выделенные с поверхности гиф АМГ, являются главным образом грамотрицательными. В то же время в ризосфере и неризосферной почве присутствуют как грамотрицательные, так и грамположительные бактерии (Vosatka, 1996). Наиболее тесные взаимоотношения в микоризосфере складываются между АМГ и бактериями, которые заселяют поверхность гиф гриба. Описаны бактериальные биопленки, которые образовывались вокруг гиф эктомикоризных (Sen et al., 1992) и эндомикоризных грибов (Bianciotto et al., 1996; Filipri et al., 1998). С помощью электронного и лазерного конфокального микроскопирования установлено, что многие PGPR и клубеньковые бактерии могут образовывать толстую оболочку на гифах АМГ (Bianciotto et al., 1996).

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

Исследования, проведенные с мутантами *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium leguminosarum* и *Pseudomonas fluorescens*, обладающими различной способностью к про-

дуцированию внеклеточных полисахаридов, показали, что ВПС играют решающую роль в процессе адгезии и формирования биопленок как на корне, так и на структурах АМГ. Так, у штаммов *Azospirillum brasilense* и *Rhizobium leguminosarum* со сниженной продукцией ВПС происходило уменьшение количества клеток, адгезированных на обеих поверхностях (Bianciotto et al., 2001a). Аналогичные данные были получены в результате исследования штаммов *Pseudomonas fluorescens*, продуцирующих разное количество внеклеточных полисахаридов. Было показано, что дикий штамм *P. fluorescens* с относительно низким содержанием полисахаридов в метаболитах плохо адгезировался к гифам *Gigaspora margarita*. В то же время мутанты *P. fluorescens* (штаммы СНА211 и СНА213Н) с повышенной способностью к продукции ВПС образовывали плотный бактериальный слой на грибных структурах (Bianciotto et al., 2001b). Полученные результаты свидетельствуют о том, что по крайней мере *in vitro* ВПС участвуют в прикреплении бактерий к корням и поверхности АМГ. Можно с большой долей вероятности предполагать, что и в естественных условиях ВПС играют важную роль в создании микоризосферного сообщества.

Пока что имеется немного информации о влиянии микробиоты микоризосферы на эндомикоризные грибы. Изучение бактерий, выделенных с мицелия АМГ, показало, что они не обладали выраженным стимулирующим действием на развитие *Glomus claroideum*. В отличие от них среди бактерий, изолированных из ризосферной почвы, были обнаружены штаммы, которые стимулировали развитие *G. claroideum*. При этом количество бактерий, положительно влияющих на рост гиф *G. claroideum*, было выше в почве агроценоза, чем в почве естественного фитоценоза. Однако штаммы, которые стимулировали рост этого гриба в наибольшей степени, были выделены из почвы естественного фитоценоза (Gryndler et al., 2000). Функцию микоризосферы многие исследователи определяют как своеобразный «мост» для связанных со структурами АМГ бактерий и грибов в процессе колонизации ризосферы (Bianciotto et al., 1996; Filippi et al., 1998; Budi et al., 1999).

Исследование основ взаимоотношений на клеточном уровне между АМГ и PGPR микоризосферы имеет и практическое значение, например для создания эффективного смешанного биопрепарата. Использование штаммов PGPR с хорошими адгезивными свойствами позволит уменьшить стресс микроорганизмов инокулюма, вызванный высушиванием, усилить процесс заселения корня и увеличить на его поверхности плотность бактерий, внесенных с биопрепаратом. Адгезивные свойства бактерий могут быть улучшены путем селекции видов с высокой выработкой внеклеточных полисахаридов. Вероятно, есть и другое направление практического использования штаммов, продуцирующих большое количество ВПС. Исследования *in vitro* показали, что у PGPR с высокой противогрибной активностью в ВПС накапливались вещества, которые ингибировали рост грибов (Schnider et al., 1997). Если антигрибная активность PGPR будет иметь прямую корреляцию с толщиной образуемой ими биопленки на мицелии, то количество продуцируемых ВПС можно использовать как критерий для отбора штаммов при создании биопрепаратов защитного действия.

Эндосимбионты эндомикоризных грибов

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

Поскольку бактерии рода *Burkholderia* были впервые обнаружены в спорах и гифах гриба *G. margarita* ВЕГ 34, выделенного из почвы Новой Зеландии, сразу возник вопрос: будут ли те же самые бактерии присутствовать у других представителей *Glo-males*, обитающих в разных географических зонах. Для решения этого вопроса 11 культур эндомикоризных грибов, изолированных в разных географических областях и принадлежащих к 6 видам родов *Gigaspora* и *Scutellospora*, были исследованы с помощью конфокальной микроскопии и ПЦР амплификации. За исключением четырех изолятов *Gigaspora rosea*, бактерии были отчетливо различимыми в цитоплазме всех тестируемых грибов. После амплификации ДНК этих бактерий и секвенирования стало ясно, что 3 вида грибов, относящихся к родам *Gigaspora* и *Scutellospora*, содержат в своей цитоплазме эндосимбиотические бактерии, которые принадлежат к роду *Burkholderia* (Bianciotto et al., 2000).

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

Другой предполагаемый механизм формирования эндосимбиоза связан с наличием гена *vacB* в геноме бактерий рода *Burkholderia* (van Buuren et al., 1999). Первоначально этот ген был описан у *Shigella flexnei* и *Escherichia coli* (EIEC) как хромосомный, необходимый для экспрессии генов вирулентности и являющийся сильным вирулентным фактором (Tobe et al., 1992). В настоящее время известно, что *vacB* — это экзорибонуклеаза RNase R, участвующая в посттранскрипционном созревании мРНК. При этом RNase R регулирует способность бактерий к прикреплению и проникновению внутрь клеток, а позднее способствует распространению бактерий и полному проявлению вирулентности (Cheng et al., 1998). Использование специфических праймеров, подобранных на основе последовательности гена *vacB*, показало, что эндосимбиотические виды бактерий рода *Burkholderia* обладают молекулярными механизмами, необходимыми для колонизации эукариотических клеток. Предполагается, что ген *vacB* был частью генетической области, когда-то приобретенной ризосферными видами рода *Burkholderia* и обеспечившей возможность этим видам формировать симбиотические взаимоотношения с АМГ (Ruiz-Lozano, Bonfante, 2000).

Возникает вопрос о роли эндосимбиотических видов рода *Burkholderia* в метаболизме эндомикоризных грибов. Несмотря на огромное количество эндобактерий, обнаруженных в цитоплазме АМГ (около 250 000 клеток в одной споре *Gigaspora margarita*), их функциональное значение неясно. Особый интерес вызывает возможность влияния этих бактерий на метаболизм фосфора и азота в ассоциации эндобактерии—эндомикоризный гриб. Известно, что АМГ главным образом обеспечивают растение-хозяина фосфатами (Harrison, 1999). Чтобы исследовать, могут ли бактерии рода *Burkholderia* как-либо влиять на метаболизм фосфора у АМГ, были разработаны дегенеративные по олигонуклеидам праймеры на основе консервативных участков генов, которые кодируют переносчиков фосфатов у бактерий. Из геномной библиотеки АМГ был взят штамм *Gigaspora margarita*, который содержал эндобактерии в цитоплазме, и с помощью полученных праймеров был амплифицирован фрагмент его ДНК. Амплифицированный фрагмент использовали для выделения и характеристики полного бактериального оперона с высоким сродством к переносчику фосфатов (Ruiz-Lozano, Bonfante, 1999). Было установлено, что организация этого оперона у бактерий рода *Burkholderia* (размещение гена, направление транскрипции) аналогична таковому у *Escherichia coli* и схожа со многими другими оперонами бактерий. Это подтверждает предположение, что такой тип переносчика высоко консервативен.

Затем были получены специфичные праймеры, которые использовали для ПЦР ДНК, выделенной из поверхностно простерилизованных спор. Праймеры успешно амплифицировали фрагменты предполагаемого размера в спорах *Gigaspora margarita* и *G. persica*, которые содержали эндобактерии, но не амплифицировали ДНК родственного вида *G. rosea*, который не имел внутриклеточных бактерий (Bianciotto et al., 2000). Таким образом, было установлено, что бактерии рода *Burkholderia* имеют систему транспорта фосфатов.

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

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

Исследование эндосимбиоза помимо теоретического может иметь и практическое значение. Об этом свидетельствуют результаты инокуляции растений таксономически родственными видами АМГ (*Gigaspora margarita* и *G. rosea*) с эндобактериями и без них. Растения салата, зараженные *G. margarita*, имевшего эндобактерии, лучше развивались и имели более высокое содержание азота и фосфора в тканях по сравнению с растениями, колонизированными *G. rosea*, не содержащими эндосимбионтов (Bianciotto et al., 2002). Даже если экспериментальный подход не абсолютно корректен из-за использования двух различных, хотя и родственных, видов АМГ, очевидно, что эндобактерии не оказывали отрицательного влияния на поток фосфора к корню. Напротив, в условиях эксперимента эндосимбионты косвенно проявляли положительное влияние на рост и питание растений.

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

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Alabouvette C., Lemanceau P. Joint action of microbials for disease control // *Biopesticides: use and delivery*. Totowa: Humana Press inc., 1997. P. 117—135.
- Andrade G., Mihara K. L., Linderman R. G., Bethlenfalvay G. J. Bacteria from rhizosphere and hyphosphere soils of different arbuscular mycorrhizal fungi // *Plant Soil*. 1997. Vol. 192. P. 71—79.
- Andrade G., Mihara K. L., Linderman R. G., Bethlenfalvay G. J. Soil aggregation status and rhizobacteria in the mycorrhizosphere // *Plant Soil*. 1998. Vol. 202. P. 89—96.
- Azcon R. Germination and hyphal growth of *Glomus mosseae* in vitro: effect of rhizosphere bacteria and cell-free cultura media // *Soil Biol. Biochem.* 1987. Vol. 19. P. 417—419.
- Azcon R. Selective interaction between free-living rhizosphere bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi // *Soil Biol. Biochem.* 1989. Vol. 21. P. 639—644.
- Azcon R. Growth and nutrition of nodulated mycorrhizal and non-mycorrhizal *Hedysarum coronarium* as a result of treatments with fractions from plant growth-promoting rhizobacteria // *Soil Biol. Biochem.* 1993. Vol. 25. P. 1037—1042.
- Azcon R., El-Atrash F. Influence of arbuscular mycorrhiza and phosphorus fertilization on growth, nodulation and N₂ fixation (¹⁵N) in *Medicago sativa* at four salinity levels // *Biol. Fert. Soil*. 1997. Vol. 24. P. 81—86.
- Azcon R., Rubio R., Barea J. M. Selective interactions between species of mycorrhizal fungi and *Rhizobium meliloti* strains, and their effects on growth, N₂-fixation (¹⁵N) and nutrition of *Medicago sativa* L. // *New Phytol.* 1991. Vol. 117. P. 499—404.
- Azcon-Aguilar C., Bago B. Physiological characteristics of the host plant promoting an undisturbed functioning of the mycorrhizal symbiosis // *Impact of arbuscular mycorrhizas on sustainable agriculture and natural ecosystems*. Basel: ALS Birkhauser Verlag, 1994. P. 47—60.
- Azcon-Aguilar C., Barea J. M. Interaction between mycorrhizal fungi and other rhizosphere microorganisms // *An integrative plant-fungal process*. New York: Routledge, Chapman and Hall Inc., 1992. P. 163—198.
- Azcon-Aguilar C., Barea J. M. Saprotrophic growth of arbuscular-mycorrhizal fungi // *Mycorrhiza structure function, molecular biology and biotechnology*. Heidelberg: Springer-Verlag, 1995. P. 391—407.
- Azcon-Aguilar C., Barea J. M. Arbuscular mycorrhizas and biological control of soil-borne plant pathogens. An overview of the mechanisms involved // *Mycorrhiza*. 1996. Vol. 6. P. 457—464.
- Barea J. M. Mycorrhiza/bacteria interactions on plant growth promotion // *Plant growth-promotion rhizobacteria, present status and future prospects*. Paris: OECD, 1997. P. 150—158.
- Barea J. M. Rhizosphere and mycorrhiza of field crops // *Biological resource management: connecting science and policy*. Paris: INRA, Editions and Springer, 2000. P. 110—125.
- Barea J. M., Andrade G., Bianciotto V., Dowling D. N., Lohrke S., Bonfante P., O' Gara F., Azcon-Aguilar C. Impact of arbuscular mycorrhiza formation of *Pseudomonas* strains used as inoculants for the biocontrol of soil borne plant fungal pathogens // *Appl. Environ. Microbiol.* 1998. Vol. 64. P. 2304—2307.
- Barea J. M., Azcon R., Azcon-Aguilar C. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in nitrogen-fixing systems // *Methods in microbiology*. London: Acad. Press, 1992. P. 391—416.
- Barea J. M., Azcon-Aguilar C., Azcon R. Interaction between mycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms within the context of sustainable soil-plant systems // *Multitrophic interactions in terrestrial systems*. Oxford: Blackwell Science, 1997. P. 65—77.
- Barea J. M., Gryndler M., Lemanceau P., Schupp H., Azcon R. Arbuscular mycorrhizal fungal mycelium: from germlings to hyphal networks // *Mycorrhizal Technology in agriculture*. Basel; Boston; Berlin: Birkhauser Verlag, 2002. P. 1—18.
- Barea J. M., Jeffries P. Arbuscular mycorrhizas in sustainable soil plant systems // *Mycorrhiza structure function, molecular biology and biotechnology*. Heidelberg: Springer-Verlag, 1995. P. 521—559.
- Barea J. M., Tobar R. M., Azcon-Aguilar C. Effect of a genetically-modified *Rhizobium meliloti* inoculant on the development of arbuscular mycorrhizas, root morphology, nutri-

- ent uptake and biomass accumulation in *Medicago sativa* L. // *New Phytol.* 1996. Vol. 134. P. 361—369.
- Bashan Y. Interactions of *Azospirillum* spp. in soils: a review // *Biol. Fertil. Soils.* 1999. Vol. 29. P. 246—256.
- Bashan Y., Holguin G. Proposal for the division of plant growth-promoting rhizobacteria into two classifications: biocontrol-PGPB (plant growth-promoting bacteria) and PGPB // *Soil Biol. Biochem.* 1998. Vol. 30. P. 1225—1228.
- Belimov A. A., Serebrennikova N. V., Stepanok V. V. Interaction of associative bacteria and endomycorrhizal fungus with barley upon dual inoculation // *Microbiology.* 1999. Vol. 68. P. 104—108.
- Bethlenfalvay J., Schuepp H. Arbuscular mycorrhizas and agrosystem stability // *Impact of arbuscular mycorrhizas on sustainable agriculture and natural ecosystems.* Basel: Birkhauser, 1994. P. 117—131.
- Bianciotto V., Andreotti S., Balestrini R., Bonfante P., Perotto S. Extracellular polysaccharides are involved in the attachment of *Azospirillum brasilense* and *Rhizobium leguminosarum* to arbuscular mycorrhizal structures // *EJH.* 2001a. Vol. 45. P. 21—30.
- Bianciotto V., Andreotti S., Balestrini R., Bonfante P., Perotto S. Mucoid mutants of biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* CHAO show increased ability in biofilm formation on mycorrhizal and nonmycorrhizal carrot roots // *MPMI.* 2001b. Vol. 14. P. 255—260.
- Bianciotto V., Bandi C., Minerdi D., Sirini M., Tichy H. V., Bonfante P. An obligately endosymbiotic fungus itself harbors obligately intracellular bacteria // *Appl. Environ. Microbiol.* 1996. Vol. 62. P. 3005—3010.
- Bianciotto V., Bandi C., Norby R. J., Jakson R. B. Root dynamics and global change: seeking an ecosystem perspective // *New Phytol.* 2000. Vol. 147. P. 3—12.
- Bianciotto V., Bonfante P. Presymbiotic versus symbiotic phase in arbuscular endomycorrhizal fungi // *Mycorrhiza.* 1999. P. 229—251.
- Bianciotto V., Lumini E., Bonfante P., Vandamme P. «Candidatus *Glomeribacter Gigasporum*», an endosymbiont of arbuscular mycorrhizal fungi // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 2003. Vol. 53. P. 121—126.
- Bianciotto V., Perotto S., Ruiz-Lozano J. M., Bonfante P. Arbuscular mycorrhizal fungi and soil bacteria: from cellular investigation to biotechnological perspectives // *Mycorrhizal Technology in agriculture.* Basel; Boston; Berlin: Birkhauser Verlag, 2002. P. 1—18.
- Bowen G. D., Rovira A. D. The rhizosphere and its management to improve plant growth // *Adv. Agron.* 1999. Vol. 66. P. 1—102.
- Bowen G. D., Theodorou C. Interactions between bacteria and ectomycorrhizal fungi // *Soil Biol. Biochem.* 1979. Vol. 11. P. 119—126.
- Broek A. V., Vanderleyden J. Genetics of the *Azospirillum*-plant root association // *Crit. Rev. Plant Sci.* 1995. Vol. 14. P. 445—466.
- Budi S. W., Van Tuinen D., Martinotti G., Gianinazzi S. Isolation from *Sorghum* bi-color mycorrhiza—rhizosphere of a bacterium compatible with arbuscular mycorrhiza development and antagonistic towards soilborne fungal pathogens // *Appl. Environ. Microbiol.* 1999. Vol. 65. P. 5148—5150.
- Calvet C., Pera J., Barea J. M. Growth response of marigold (*Tagetes erecta* L.) to inoculation with *Glomus mosseae*, *Trichoderma aureoviride* and *Pythium ultimum* in a peat-perlite mixture // *Plant soil.* 1993. Vol. 148. P. 1—6.
- Chanway C. P. Endophytes: they're not just fungi! // *Can. J. Bot.* 1996. Vol. 74. P. 321—322.
- Chanway C. P., Radley R. A., Holl F. B. Inoculation of conifer seed with plant growth promoting *Bacillus* strains causes increased seedling emergence and biomass // *Soil Biol. Biochem.* 1991. Vol. 23. P. 575—580.
- Chen J., Jacobson L. M., Handelsman J., Goodman R. M. Compatibility of systemic acquired resistance and microbial biocontrol for suppression of plant disease in laboratory assay // *Mol. Ecol.* 1996. Vol. 5. P. 73—80.
- Cheng Z. F., Zuo Y., Li Z., Rudd K. E., Deutscher M. The *vacB* gene required for virulence in *Shigella flexneri* and *Escherichia coli* encodes the exoribonuclease RNase R // *J. Biol. Chem.* 1998. Vol. 273. P. 14 077—14 080.

Christensen H., Jacobsen I. Reduction of bacterial growth by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus in the rhizosphere of cucumber (*Cucumis sativus* L.) // *Biol. Fertil. Soils*. 1993. Vol. 15. P. 253—255.

Cook R. J., Thomashov I. S., Weller D. M., Fudjimoto D., Massola M., Banger G., Kim D. Molecular mechanisms of defense by rhizobacteria against root disease // *Proc. Nalt. Acad. Sci. USA*. 1995. Vol. 92. P. 4197—4201.

Cordier C., Iemoine M. C., Lemanceau P., Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S. The beneficial rhizosphere: a necessary strategy for microplant production // *Acta Horticulturae*. 1999. Vol. 530. P. 259—265.

Costerton J. W., Lewandowski Z., Coldwell D. E., Korber D. R., Lappin-Scott H. M. Microbial biofilms // *Ann. Rev. Microbiol.* 1995. Vol. 49. P. 711—745.

Duijff B. J., Air D., Olivain C., Alabouvette C., Lemanceau P. Implication of systemic induced resistance in the suppression of fusarium wilt tomato by *Pseudomonas fluorescens* WCS417r and nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47 // *Eur. J. Plant Pathol.* 1998. Vol. 104. P. 903—910.

Duijff B. J., Gianinazzi-Pearson V., Lemanceau P. Involvement of the outer membrane lipopolysaccharides in the endophytic root colonization of tomato roots by biocontrol *Pseudomonas fluorescens* strain WCS417r // *New Phytol.* 1997. Vol. 135. P. 325—334.

Edwards S. G., Young J. P., Fitter A. H. Interactions between *Pseudomonas fluorescens* biocontrol agents and *Glomus mosseae*, an arbuscular mycorrhizal fungus, within the rhizosphere // *FEMS Microbiol. Lett.* 1998. Vol. 166, N 2. P. 297—303.

Filippi C., Bagnoli G., Citernes A. S., Giovannetti M. Ultrastructural spatial distribution of bacteria associated with sporocarps of *Glomus mosseae* // *Symbiosis*. 1998. Vol. 24. P. 1—12.

Fitter A. H., Heinemeyer A., Staddon P. L. The impact of elevated CO₂ and global climate change on arbuscular mycorrhizas: a myco-centric approach // *New Phytol.* 2000. Vol. 147. P. 179—187.

Frey-Klett P., Garbaye J., Berge O., Heulm T. Metabolic and genotypic fingerprinting of fluorescent pseudomonads associated with the Douglas Fir—*Laccaria bicolor* mycorrhizosphere // *Appl. Environ. Microbiol.* 1997. Vol. 63. P. 1852—1860.

Galan J. E., Collmer A. Type III secretion machines: bacterial devices for protein delivery into host cells // *Science*. 1999. Vol. 284. P. 1322—1328.

Garbaye J. Helper bacteria: a new dimension to the mycorrhizal symbiosis // *New Phytol.* 1994. Vol. 128. P. 197—210.

Garbaye J., Bowen G. D. Effect of different microflora on the success of ectomycorrhizal inoculation of *Pinus radiata* // *Can. J. Forest. Res.* 1997. Vol. 17. P. 941—943.

Germida J. J., Walley F. L. Plant growth-promoting rhizobacteria alter rooting and arbuscular mycorrhizal fungi colonization of field-growing spring wheat // *Biol. Fertil. Soils*. 1996. Vol. 23. P. 113—120.

Gianinazzi S., Schuepp H. *Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems*. Basel: ALS, Birkhauser Verlag, 1994. 226 p.

Gillis M., Tran Van T., Bardin R., Goor M. P., Hebban A., Willems P., Segers K., Kerster T., Heulin-Fernandez M. P. Polyphasic taxonomy in the genus *Burkholderia* leading to an amended description of the genus and proposition of *Burkholderia vietnamiensis* sp. nov. for N₂-fixing isolates from rice in Vietnam // *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1995. Vol. 45. P. 247—289.

Giovannetti M., Azzolini D., Citemesi A. S. Anastomosis formation and nuclear and protoplasmic exchange in arbuscular mycorrhizal fungi // *Appl. Environ. Microbiol.* 1999. Vol. 65. P. 5571—5575.

Giovannetti M., Fortuna P., Citemesi A. S., Morini S., Nuti M. P. The occurrence of anastomosis formation and nuclear exchange in intact arbuscular mycorrhizal net works // *New Phytol.* 2001. Vol. 151. P. 717—724.

Giovannetti M., Sbrana C., Avio L. *Arbuscular mycorrhizal fungal mycelium: from germ-lings to hyphal networks // Mycorrhizal Technology in agriculture*. Basel; Boston; Berlin: Birkhauser Verlag, 2002. P. 49—58.

- Glick B. R. The enhancement of plant growth by free-living bacteria // *Can. J. Microbiol.* 1995. Vol. 41. P. 109—117.
- Goicoechea N., Antolin M. C., Sanches-Diaz M. Influence of arbuscular mycorrhizae and Rhizobium on nutrient content and water relations in drought stressed alfalfa // *Plant Soil.* 1997. Vol. 192. P. 261—268.
- Goicoechea N., Doleza K., Antolin M. C., Strnad M., Sanches-Diaz M. Influence of mycorrhizae and Rhizobium on cytokinin content in drought-stressed alfalfa // *J. Experiment. Bot.* 1995. Vol. 46. P. 1543—1549.
- Goicoechea N., Szalai G., Antolin M. C., Sanches-Diaz M., Paldi E. Influence of arbuscular mycorrhizae and Rhizobium on polyamines and proline in water-stressed alfalfa // *J. Plant Physiol.* 1998. Vol. 153. P. 706—711.
- Gryndler M., Hrselova H. Effect of diazotrophic bacteria isolated from a mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi on colonization of maize roots by *Glomus fistulosum* // *Biol. Plant.* 1998. Vol. 41. P. 617—621.
- Gryndler M., Hrselova H., Striteska D. Effect of soil bacteria on growth of hyphae of the arbuscular mycorrhizal (AM) fungus *Glomus claroideum* // *Folia Microbiologica.* 2000. Vol. 45. P. 452—461.
- Haas D., Keel C., Laville J., Maurhofer M., Oberliansli T., Schnider U., Voisard C., Wuthrich B., Defago G. Secondary metabolites of *Pseudomonas fluorescens* strain CHAO involved in the suppression of root diseases // *Advances in molecular genetics of plant-microbe interactions.* Dordrecht: Kluwer Acad. publ., 1991. P.450—456.
- Halverson L. J., Handelsman J. Enhancement of soybean nodulation by *Bacillus cereus* UW95 in the field and in a growth chambers // *Appl. Environ. Microbiol.* 1991. Vol. 57. P. 2767—2770.
- Harrison M. J. Molecular and cellular aspects of the arbuscular mycorrhizal symbiosis // *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 1999. Vol. 50. P. 361—389.
- Harrison V. J., Van Buuren M. L. A Phosphate transporter from the mycorrhizal fungus *Glomus versiforme* // *Nature.* 1995. Vol. 378. P. 626—629.
- Hodge A. Microbial ecology of arbuscular mycorrhiza // *FEMS Microbiol. Ecol.* 2000. Vol. 32. P. 91—96.
- Jakobsen I., Rosendahl L. Carbon flow into soil and external hyphae from roots of mycorrhizal cucumber plants // *New Phytol.* 1990. Vol. 115. P. 77—83.
- Jeffries P., Barea J. M., Dodd J. C. Restoration of environmental diversity by effective ecosymbiont monitoring ('REDEEM') // *Mediterranean desertification research results and policy implication.* Luxemburg: Europ. Communities, 2000. P. 487—495.
- Kennedy A. C. The rhizosphere and spermosphere // *Principles and applications of soil microbiology.* New Jersey: Prentice Hall, 1998. P. 389—407.
- Kennedy A. C., Smith K. L. Soil microbial diversity and the sustainability of agricultural soils // *Plant Soil.* 1995. Vol. 170. P. 75—86.
- Kim K. Y., Jordan D., McDonald G. A. Effect of phosphate-solubilizing bacteria and vesicular-arbuscular mycorrhizae on tomato growth and soil microbial activity // *Biol. Fertil. Soils.* 1998. Vol. 26. P. 79—87.
- Klopper J. W. Plant growth-promoting rhizobacteria (other systems) // *Azospirillum plant associations.* Boca Raton: CRC Press, 1994. P. 77—111.
- Klopper J. W., Zablutowick R. M., Tipping E. M., Lifshits R. Plant growth promoting mediated by bacterial rhizosphere colonizers // *The rhizosphere and plant growth.* Dordrecht: Kluwer Acad. Publ., 1991. P. 315—326.
- Lemanceau P., Alabouvette C. Biological control of fusarium diseases by fluorescent *Pseudomonas* and non-pathogenic *Fusarium* // *Crop Protect.* 1991. Vol. 10. P. 279—286.
- Lemanceau P., Alabouvette C. Suppression of fusarium-wilts by fluorescent pseudomonads: mechanisms and applications // *Biocontrol Sci. Technol.* 1993. Vol. 3. P. 219—234.
- Lemanceau P., Corberand T., Cardan L., Latour X., Laguerre G., Boeufgras J. M., Alabouvette C. Effect of two plant species flax (*Linum usitatissimum* L.) and tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) on the diversity of soilborne populations of fluorescent pseudomonads // *Appl. Environ. Microbiol.* 1995. Vol. 61. P. 1004—1012.

- Linderman R. G. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and soil, microbial interactions // Mycorrhizae in sustainable agriculture. Madison, Wisconsin: ASA Spec. Publ., 1992. P. 45—70.
- Linderman R. G. Role of VAM fungi in biocontrol // Mycorrhiza and plant health. St. Paul: APS Press, 1994. P. 1—26.
- Linderman R. G., Pauliz N. C. Mycorrhiza-rhizobacterial interactions. Biological control of soil-borne plant pathogens. Wallingford, UK: CAB International, 1990. P. 261—283.
- Lugtenberg B. J., Weger de L. A., Bennett J. W. Microbial stimulation of plant growth and protection from disease // Curr. Opin. Microbiol. 1991. Vol. 2. P. 457—464.
- Mayo K., Devis R. E., Motta J. Stimulation of germination of spores of *Glomus versiforme* by spore-associated bacteria // Mycologia. 1986. Vol. 78. P. 426—431.
- Meyer J. R., Lindermann R. G. Selective influence on population of rhizosphere or rhizoplane bacteria and actinomycetes by mycorrhiza formed by *Glomus fasciculatum* // Soil Biol. Biochem. 1986. Vol. 18. P. 91—96.
- Miller R. M., Jastrow J. D. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and biogeochemical cycling // Mycorrhizae and plant health. St. Paul: APS Press, 1994. P. 189—212.
- Minerdi D., Fani R., Gallo R., Boarino A., Bonfante P. Nitrogen fixation genes in an endosymbiotic Burkholderia strain // Appl. Environ. Microbiol. 2001. Vol. 82. P. 4998—5011.
- Monzon A., Azcon R. Relevance of mycorrhizal fungal origin and host plant genotype to inducing growth and nutrient uptake in *Medicago* species // Agr. Ecosyst. Environm. 1996. Vol. 60. P. 9—15.
- Mosse B. Honey coloured sessile *Endogone* spores. Changes in fine structure during spore development // Arch. Microbiol. 1970. Vol. 74. P. 146—159.
- Neal D. B., Allen S. J., Brown J. F. Deleterious photosphere bacteria: an integrating perspective // Appl. Soil Ecol. 1996. Vol. 5. P. 1—20.
- Nemec S. Longevity of microbial biocontrol agents in planting mix amended with *Glomus intraradices* // Biocontrol Sci. Technol. 1997. Vol. 7. P. 183—192.
- Norby R. J., Jackson R. B. Root dynamics and global change: seeking an ecosystem perspective // New Phytol. 2000. Vol. 147. P. 3—12.
- Perotto S., Bonfante P. Bacterial associations with mycorrhizal fungi: close and distant friends in the rhizosphere // Trends Microbiol. 1997. Vol. 5. P. 496—501.
- Puppi G., Azcon R., Hoflich G. Management of positive interactions of arbuscular mycorrhizal fungi with essential groups or soil micro organisms // Impact of arbuscular mycorrhizas on sustainable agriculture and natural ecosystems. Basel: ALS Birkhauser Verlag, 1994. P. 201—215.
- Ravnkov S., Nybroe O., Jakobsen I. Influence of an arbuscular mycorrhizal fungus on *Pseudomonas fluorescens* DF57 in rhizosphere and hyphosphere soil // New Phytol. 1999. Vol. 142. P. 113—122.
- Requena N., Jimenez I., Toro M., Barea J. M. Interactions between plant-growth-promoting rhizobacteria (PGPR), arbuscular mycorrhizal fungi and *Rhizobium* spp. in the rhizosphere of *Anthyllis cytisoides*, a model legume for revegetation in mediterranean semi-arid ecosystems // New Phytol. 1991. Vol. 136. P. 667—677.
- Ruiz-Lozano J. M., Azcon R. Specificity and functional compatibility of VA mycorrhizal endophytes in association with *Bradyrhizobium* strains in *Cicer arietinum* // Symbiosis. 1993. Vol. 15. P. 217—226.
- Ruiz-Lozano J. M., Bonfante P. Identification of a putative P-transporter operon in the genome of Burkholderia strain living inside the arbuscular fungus *Gigaspora margarita* // J. Bacteriol. 1999. Vol. 181. P. 4106—4109.
- Ruiz-Lozano J. M., Bonfante M. A. Burkholderia strain living inside the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita* possesses the *vacB* gene, which is involved in host cell colonization by bacteria // Microbial Ecol. 2000. Vol. 39. P. 137—144.
- Ruiz-Lozano J. M., Collados C., Barea J. M., Azcon R. Arbuscular mycorrhizal symbiosis can alleviate drought-induced nodule senescence in soybean plants // New Phytol. 2001. Vol. 15. P. 493—502.
- Scanerrini S., Bonfante P. Bacteria and bacteria like objects in endomycorrhizal fungi (*Glomaceae*) // Symbiosis in a source of evolutionary innovation: speciation and morphogenesis. Cambridge, USA: MIT Press, 1991. P. 273—287.

Schlöter M., Wiehe W., Assmus B., Steindl H., Becke H., Hoftich G., Hartmann A. Root colonization of different plants by plant-growth-promoting *Rhizobium leguminosarum* bv. trifolii R39 studied with monospecific polyclonal antisera // *Appl. Environ. Microbiol.* 1997. Vol. 63. P. 2038—2046.

Schnider U., Keel C., Michaus P., Defago, Haas D. Regulation of micoidity in the biological control agent *Pseudomonas fluorescens* CHAO and construction of an exopolysaccharide-overproducing variant // *Plant growth-promoting rhizobacteria: present status and future prospects.* Paris: OECD, 1997. P. 349—352.

Sen R., Nurmiäho-Lessila E. L., Haathela K., Korhonen T. Attachment of *Pseudomonas fluorescens* strains to the cell walls of ectomycorrhizal fungi // *Mycorrhizas in integrated systems. From genes to plant development.* COST action 821, U. E. 1992. P. 661—664.

Smit G., Swart S., Lugtenberg B. J., Kijne J. W. Molecular mechanisms of attachment of *Rhizobium* bacteria to plant roots // *Mol. Microbiol.* 1992. Vol. 6. P. 2897—2903.

Smith S. E., Gianinazzi-Pearson V., Koide R., Cairney J. W. Nutrient transport in mycorrhizas: structure, physiology and consequences of the symbiosis // *Management of mycorrhizas in agriculture, horticulture and forestry.* Dordrecht: Kluwer Acad. Publ., 1994. P. 103—113.

Smith S. E., Read D. J. *Mycorrhizal symbiosis.* London; San Diego: Acad. Press, 1997. 605 p.

Staley T. W., Lawrence E. G., Nance E. L. Influence of a plant growth-promoting pseudomonad and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus on alfalfa and birdsfoot trefoil growth and nodulation // *Biol. Fertil. Soils.* 1992. Vol. 14 P. 175—180.

Sturz A. V., Nowak J. Endophytic communities of rhizobacteria and the strategies required to create yield enhancing associations with crops // *Appl. Soil Ecol.* 2000. Vol. 15. P. 183—190.

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

Tobar R. M., Azcon-Agular C. Effect of genetically-modified *Rhizobium meliloti* inoculant on the development of arbuscular mycorrhizas, root morphology, nutrient uptake and biomass accumulation in *Medicago sativa* L. // *New Phytol.* 1996. Vol. 134. P. 361—369.

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

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

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

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

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

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

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

Vosatka M. Soil bacteria — a component of plant, soil and arbuscular mycorrhizal fungal interactions // *Mycorrhizas in integrated systems. From genes to plant development.* Brussels; Luxembourg: Europ. Comm. Report EUR, 1996. P. 613—618.

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

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

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

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

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

Санкт-Петербургский государственный университет
Labutovanm@gmail.com

Поступила 6 XII 2007

Р Е З Ю М Е

Обзор посвящен различным аспектам взаимоотношений эндомикоризных грибов с ризосферными микроорганизмами. Рассмотрено влияние функционирующего эндомикоризного симбиоза на численность и разнообразие микрофлоры ризосферы и микоризосферы, а также на минеральное питание и рост растений. Показана возможность совместного использования эндомикоризных грибов и ризосферных микроорганизмов для биологического контроля почвообитающих фитопатогенов. С другой стороны, рассмотрено влияние ризосферной микробиоты на формирование эндомикоризного симбиоза. Затронуты вопросы, касающиеся влияния взаимоотношений микроорганизмов в ризосфере микоризованных растений на продуктивность растений, плодородие почвы, устойчивость агроценозов и функционирование экосистем.

Ключевые слова: эндомикоризные грибы, ризосферная микробиота, взаимоотношения, питание и рост растений.

S U M M A R Y

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

Key-words: endomycorrhizal fungi, rhizosphere microbiota, interactions, nutrient cycling, plant formation.

УДК 582.287.1 + 582.285.2:065

© В. Ф. Малышева

**ГЕТЕРОБАЗИДИОМИЦЕТЫ, ИХ ПОЛОЖЕНИЕ В СИСТЕМЕ
БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ И ПРОБЛЕМЫ СИСТЕМАТИКИ**MALYSHEVA V. F. HETEROBASIDIOMYCETES, ITS POSITION IN THE SYSTEM
OF BASIDIOMYCETES AND THE PROBLEMS OF TAXONOMY

В настоящее время по усредненным оценкам насчитывается 9000 видов гетеробазидиомицетов (в широком смысле этого понятия, т. е. базидиомицетов с плеоморфной гаплофазой и стадией пробазидии в онтогенезе; Змитрович, 2001). Названия «гетеробазидиомицеты», или «дрожалковые грибы», появившиеся в период господства световой микроскопии и описательной морфологии, уже не соответствуют каким-либо монолитным в таксономическом и филогенетическом отношении группам. Нестабильность систематики гетеробазидиомицетов в последние десятилетия обусловлена стремительным накоплением ультраструктурных и молекулярных данных. Целью настоящей работы является ретроспективный обзор систематики гетеробазидиомицетов, рассмотрение вопроса о внешних границах группы, анализ последних систем гетеробазидиальных грибов и выявление наиболее стабильного и пригодного для текущего использования варианта системы этих организмов.

Очерк истории систематики гетеробазидиомицетов

Исследования гетеробазидиальных грибов тесно связаны с исследованием гименомицетов. В качестве четко очерченной группы гименомицетов дрожалковые грибы появляются в трудах Грэя (Gray, 1821) и Фриза (Fries, 1821, 1825, 1849, 1874). В работе Грэя особое внимание уделялось общему облику плодовых тел и на основании данного признака этот автор выделил ряд семейств, среди которых семейство *Sarcothecae* включало дрожалковый род *Tremella*.

Фриз для составления своей системы считал ведущим признаком особенности гимения. Дрожалковые грибы располагались у данного автора в классе *Hymenomycetes* в пределах «порядка» *Tremellinei* (Fries, 1821)¹ и включали роды *Agyrium*, *Dacrymyces*, *Tremella* и *Hygromytra*. В дальнейших своих работах Фриз (Fries, 1822, 1849, 1874) описывает новые роды дрожалковых грибов (*Naematelia*, *Femsjonina*) и расширяет объем «порядка» *Tremellinei*, добавляя роды *Exidia*, *Hirneola*, *Femsjonina*, *Naematelia* и *Guerpinia*.

Гетеробазидиальные грибы как отдельную группу впервые выделил Патуйяр (Pateouillard, 1884), представив ее под названием '*Hétéromycètes*' и включив туда «...обычно желатинозные грибы (реже хрящевой или кожистой консистенции), с многоклеточной базидией, чаще всего согнутыми спорами, прорастающими промицелием,

¹ По рангу соответствует семейству в современном понимании.

образующим вторичные споры...». Позднее Патуйяр (Patonillard, 1887) изменил название группы на *'Hétérobasiidiés'*, которое в 1900 г. было латинизировано (*Heterobasidiaceae*). Кроме того, автор делал акцент на абсолютности такой характеристики гетеробазидиальных грибов, как образование промицелием вторичных спор, отмечая важное, но не решающее, значение такого признака, как септация базидий. [Первые хорошие описания и иллюстрации вторичных базидиоспор были сделаны Тюляном (Tulasne, 1853, 1854) для видов *Tremellaceae* и некоторых видов *Uredinales*. Позднее Брефельд (Brefeld, 1888) описал и зарисовал «повторяющиеся базидиоспоры» многих видов гетеробазидиальных грибов]. Патуйяр признавал 4 таксона в ранге семейств: *Auriculariaceae*, *Tremellaceae*, *Tulasnellaceae* и *Caloceraceae*, однако семейство *Auriculariaceae* в понимании данного автора было неоднородно и содержало чуждые группы.

Наряду с системой Патуйяра существовала классификационная схема, предложенная Брефельдом (Brefeld, 1888). Его *'Protobasidiomycetes'* по большей части совпадали с *Heterobasidiaceae* Патуйяра. Существенное отличие заключалось в том, что *Protobasidiomycetes* ограничивались исключительно грибами, имеющими фрагмобазидию. Таким образом, автор не учитывал *Dacrymycetales* и *Tulasnellales*. Кроме того, Брефельд в отличие от Патуйяра исключал представителей *Ustilaginales*, для которых предложил специальную группу — *'Hemibasidii'*.

Важнейшую роль в формировании филогенетического подхода при изучении гетеробазидиомицетов сыграла работа Мёллера (Möller, 1895), являющаяся революционной для того времени и отличающаяся от иерархических систем филогенетической направленностью. Этот исследователь впервые отметил принципиальные отличия дрожалковых грибов от остальных гименомицетов, применяя к первым термин «протобазидиомицеты». Протобазидиомицеты Мёллера включали также ржавчинники. Дрожалковые грибы в этой системе входили в состав 6 семейств, основными из которых были *Auriculariaceae* (*'Auriculariaceen'*) с родами *Stypinella*, *Platygløea*, *Auricularia* и др., *Tremellaceae* (*'Tremellaceen'*) с родами *Stypella*, *Heterochaete*, *Exidiopsis*, *Exidia*, *Tremella*, *Craterocolla*, *Protomerulius*, *Protohydnum*, *Tremellodon* и *Hyaloriaceae* (*'Hyaloriaceen'*) с родом *Hyaloria*.

Обширный таксономический материал по гетеробазидиальным грибам представлен в работе Бурдо и Гальзена (Bourdot, Galzin, 1927), где гетеробазидиомицеты распределены по 5 семействам [*Auriculariaceae* (*'Auriculariacées'*), *Tremellaceae* (*'Tremellacées'*), *Tulasnellaceae* (*'Tulasnellacées'*), *Caloceraceae* (*'Calocéracées'*) и *Exobasidiaceae* (*'Exobasidiacées'*)] и являются достаточно гомогенными группами.

В середине XX в. систематика гетеробазидиальных грибов интенсивно развивается благодаря работам Мартина и Донка. Донк (Donk, 1931) был первым исследователем, признавшим цератобазидиевые грибы как отдельную таксономическую единицу, рассматривая ее представителей в пределах *Heterobasidiomycetes* (семейство *Tulasnellaceae*).²

Мартин (Martin, 1945) вслед за Патуйяром делит базидиомицеты на 2 класса: *Homobasidiomycetes* и *Heterobasidiomycetes*. Основное значение в систематике гетеробазидиальных грибов Мартин придавал строению базидий и способу прорастания базидиоспор. В класс *Heterobasidiomycetes* он поместил порядок *Tremellales* с семействами *Tulasnellaceae*, *Sirobasidiaceae*, *Tremellaceae*, *Dacrymycetaceae*, *Phleogenaceae*, *Hyaloriaceae* и *Auriculariaceae*, к которым в 1948 г. присоединил также *Ceratobasidiaceae*.

² Характерными признаками рода *Ceratobasidium*, описанного Роджерсом (Rogers, 1935), были споры, прорастающие вторичными спорами (этот важный в систематике гетеробазидиомицетов феномен получил название «повторяющиеся базидиоспоры»), и большие стеригмы, свойственные его представителям. Роджерс считал этот род самым примитивным из голобазидиомицетов и отмечал его близость к роду *Botryobasidium*. Подобный взгляд на положение этого рода имеет в дальнейшем и Э. Пармасто (1968), который считает все подсемейство *Ceratobasidioideae* семейства *Corticaceae* исходным для гетеробазидиальных грибов. Мартином (Martin, 1948) для этого рода было описано отдельное семейство *Ceratobasidiaceae*.

Интенсивное изучение структуры базидий усложнило однозначную интерпретацию базидиальных структур в работах Донка (Donk, 1958, 1966, 1974). Данный автор провел колоссальную работу по номенклатуре и таксономии гетеробазидиальных грибов на родовом и видовом уровне и обобщил информацию по прорастанию спор, структурам базидий и строению септ, изученных с помощью электронного микроскопа. На основании проведенных исследований Донк отметил гетерогенность класса *Heterobasidiomycetes*. Так, признавая, что род *Botryobasidium* включает два элемента — гетеробазидиальный и гомобазидиальный, Донк (Donk, 1956) поместил представителей этого рода, имеющих повторяющиеся базидиоспоры и большие стеригмы, в 2 новых рода — *Thanatephorus* и *Uthatabasidium*. Эти роды наряду с другими представителями вошли в семейство *Ceratobasidiaceae*. К гетеробазидиомицетам в своих последних работах Донк относил порядки *Uredinales*, *Septobasidiales* и *Auriculariales*, но исключал порядок *Dacrymycetales*.

Следует также упомянуть о некоторых системах, вносящих свои коррективы в понимание группы гетеробазидиомицетов. Гетеробазидиальные грибы в работе Тэлбота (Talbot, 1968) группировались в 3 класса: *Teliomycetes* (с порядками *Uredinales* и *Ustilaginales*), *Phragmobasidiomycetes* (*Tremellales*, *Auriculariales*) и *Holobasidiomycetes* (*Dacrymycetales*, *Tulasnellales*). Лоуй (Lowy, 1968) в противоположность Тэлботу предложил 2 подкласса: *Heterobasidiomycetidae*, содержащий порядки *Eutremellales* (= *Auriculariales*), *Septobasidiales*, *Uredinales*, *Ustilaginales*, и *Metabasidiomycetidae*, включающий семейства *Dacrymycetaceae*, *Tulasnellaceae*, *Ceratobasidiaceae*.

Семейство *Ceratobasidiaceae*, имеющее неустойчивое систематическое положение, было возведено до уровня порядка Юлихом (Jülich, 1981). Согласно взглядам данного автора, виды с туласнеллоидными базидиями, которые размещались непостоянно в нескольких порядках в пределах *Holo-* и *Heterobasidiomycetes*, являются независимой группой с типичной только для них уникальной туласнеллоидной базидией и также со специфической ультраструктурой септальной поры (Andersen, 1996).

Конец XX в. характеризуется изучением ультраструктурных особенностей гиф и особенно септальных пор. Становится очевидным, что существуют по крайней мере 2 или 3 крупные естественные группы базидиомицетов, границы которых не совпадают с традиционно выделяемыми *Homo-* или *Heterobasidiomycetes* (Bandoni, 1984; Boehm, McLaughlin, 1989). Уже не обсуждается гетерогенность группы *Heterobasidiomycetes* в понимании Донка (Swann, Taylor, 1993; Gargas et al., 1995; Begerow et al., 1997).

В этот период накопления и анализа новых данных возникают и новые классификационные системы базидиомицетов, гетеробазидиальных грибов в частности. Под влиянием новых методов исследования в систематике группы существенно сместились акценты: решающее значение при разграничении и выделении естественных таксонов стали иметь микроморфологические и ультраструктурные особенности. В этом отношении следует отметить прежде всего систему Уэллса, где на основании данных цитологии производится разделение гетеробазидиальных грибов на 2 большие группы: 1) грибы, имеющие простые (без долипор и парентосом) септы и дисковидные полярные тела веретена (ПТВ) — *Ustomycetes* (*Exobasidiales*) и *Teliomycetes*; 2) грибы, имеющие долипоровые септы и биглобулярные ПТВ, — собственно *Heterobasidiomycetes* (Wells, 1994). Далее приводится краткий конспект этой системы.

Отдел *BASIDIOMYCOTA*

I. *Teliomycotina* (*Platyglaoeales*, *Atractiellales*, *Uredinales*, *Septobasidiales*, *Exobasidiales*...) — характерны простые поры и дисковидные ПТВ, аурикулярноидные фрагмобазидии или голобазидии, базидиоспоры способны образовывать вторичные споры;

II. *Basidiomycotina* — сложные септальные поры, биглобулярные ПТВ:

1. *Heterobasidiomycetes*

a. *Heterobasidiomycetidae* (*Ceratobasidiales*, *Tulasnellales*, *Dacrymycetales*, *Auriculariales*)

b. *Tremellomycetidae* (*Tremellales*)

2. *Homobasidiomycetes*

Еще одна плоскость, в которой стремительно развивается исследование филогенетических отношений различных групп грибов, задана сравнительным изучением нуклеотидных последовательностей различных генов рДНК.

Результаты молекулярного филогенетического анализа были обобщены в работе Вейса и соавторов (Weiss et al., 2004), где была предложена филогенетическая система гетеробазидиальных грибов, основанная на анализе последовательности нуклеотидов в генах большой субъединицы ядерной рДНК (nucLSU — 25—28 rDNA). Все гетеробазидиальные грибы по анализируемым последовательностям распределились между 3 классами: *Urediniomycetes*, *Ustilaginomycetes* и *Hymenomycetes*.

Отдел *BASIDIOMYCOTA*

Класс *Urediniomycetes*

1. *Urediniomycetidae* (*Septobasidiales*, *Platyglloeales*, *Uredinales*)
'*Atractiellales* lineage'
2. *Microbotryomycetidae* (*Cryptomycocolacales*, *Heterogastridiales*, *Sporidiobolales*, *Leucosporidiales*, *Microbotryales*)
'*Classiculales* lineage'
3. *Agaricostilbomycetidae* ('*Mycogloea* group', *Agaricostilbales*)

Класс *Ustilaginomycetes*

Класс *Hymenomycetes*

1. *Tremellomycetidae* (*Cystofilobasidiales*, *Tremellales*)
2. *Hymenomycetidae* (*Sebacinales*, *Auriculariales*, *Dacrymycetales*, *Tulasnellales*, *Ceratobasidiales*)

Проведенный анализ прояснил филогенетические взаимоотношения между *Ustilaginomycetes*, *Urediniomycetes* и *Hymenomycetes*, подтвердив гипотезу (основанную ранее на ультраструктурных данных), что *Ustilaginomycetes* являются сестринской группой *Hymenomycetes*, а *Urediniomycetes* является базальной группой для всех гетеробазидиальных грибов (Swann, Taylor, 1993; Cavalier-Smith, 1998; Змитрович, 2001; Zmitrovich, 2003). Однако в отличие от других молекулярных данных, основанных на изучении последовательностей рДНК (Swann, Taylor, 1995; Bauer et al., 2003), в данной работе *Urediniomycetes* не выглядит как монофилетическая группа и авторам остается лишь надеяться, что прояснение всех сложных филогенетических взаимоотношений в базальной группе базидиомицетов станет возможным при использовании новых подходов в молекулярных исследованиях.

Анализируя предложенную систему на уровне порядков, следует отметить обособление на кладограмме порядка *Sebacinales*. По морфологическим характеристикам представители семейства *Sebacinaceae* обычно рассматривались в порядке *Auriculariales* (Bandoni, 1984), однако остальные *Auriculariales* имеют на гифах пряжки, тогда как виды семейства *Sebacinaceae* их лишены (Wells, Oberwinkler, 1982). Кроме того, последние данные молекулярных исследований показали участие представителей *Sebacinaceae* в образовании различных форм микоризных взаимоотношений с растениями: эктомикоризы (Glen et al., 2002; Selosse et al., 2002; Tedersoo et al., 2003; Urban et al., 2003), орхидной микоризы (McKendrick et al., 2002; Selosse et al., 2002; Taylor et al., 2003) и эрикоидной микоризы (Berch et al., 2002; Allen et al., 2003). Все эти результаты вместе с их обособленным положением на кладограмме стали достаточным основанием для выделения нового порядка.

Самые современные мультигенные исследования *Basidiomycota* (Matheny et al., 2007) показали действительную принадлежность семейств *Ceratobasidiaceae* и *Tulasnellaceae* к порядку *Cantharellales* (Hibbett, Binder, 2002; Binder et al., 2005; Larsson, 2007; Lawrey et al., 2007). Эти семейства включают представителей, характеризующихся повторяющимися спорами, что традиционно ассоциировало их с гетеробазидиальными грибами, хотя морфологическое сходство рода *Thanatephorus* с гомобазидиомицетом *Botryobasidium* отмечалось ранее неоднократно (Oberwinkler, 1972, и др.).

Нельзя не упомянуть и последней работы большого коллектива авторов, посвященной анализу мультигенного филогенетического древа грибов (Hibbett et al., 2007).

Отдел *Basidiomycota* в этой работе включает 3 подотдела: *Pucciniomycotina* (соответствует по объему классу *Urediniomycetes*), *Ustilaginomycotina* (*Ustilaginomyces* + *Exobasidiomycetes*) и *Agaricomycotina* (*Homobasidiomycetes* + *Heterobasidiomycetes caetera*). Подотдел *Agaricomycotina* включает классы *Tremellomycetes*, *Dacrymycetes* и *Agaricomycetes*, причём к последнему в виде аппендикса ('*incertae sedis*') присоединяются порядки *Auriculariales*, *Sebacinales* и *Cantharellales* (incl. *Tulasnellales*). Новизна данной работы заключается в типификации некоторых таксонов и повышении ранга ряда из них. Однако ничего нового в выяснение филогенетических взаимоотношений между крупными группами, за исключением некоторого обособления дакримицетовых грибов, эта работа не внесла.

Таким образом, реконструкция филогенеза гетеробазидиомицетов далека от завершения и корректируется по мере накопления новых как молекулярных, так и морфологических данных. И лишь разумная интерпретация совокупности всех признаков позволит пролить свет на систематическое положение и филогенетические взаимосвязи такого сложного комплекса, как гетеробазидиальные грибы.

Гетеробазидиомицеты и дискуссия об эволюции базидиомицетов

Наличие различных типов базидий в пределах рассматриваемой группы на протяжении всего периода ее изучения вызывало дискуссии. Исходной позицией исследователей было разграничение видов по группам в зависимости от типа базидии.

Так, например, род *Helicobasidium* вначале был помещен в *Auriculariales* вместе с большинством других видов, имеющих трубчатые, поперечно-септированные базидии. Такой подход продержался до начала изучения ультраструктуры септальной поры. Муром (Moore, 1978, 1990) была показана гетерогенность аурикуляриевых грибов, и виды с простыми септальными порами были выделены из *Auriculariales*, имеющих долипоры, и помещены в отдельный порядок *Platyglloeales*. Также многие виды с продольно-септированными базидиями помещались в порядке *Tremellales*, который долгое время служил сборным таксоном для всех базидиомицетов, обладающих такой характеристикой. Представление о том, что *Tremellales* может содержать две вполне обособленные группы — *Tremellales s. str.* (микопаразиты с дрожжеподобными анаморфами) и *Tremellales caeteri* (= *Auriculariales*: сапротрофы без дрожжевой стадии), было впервые высказано Бандони (Bandoni, 1984).

Несомненно, у исследователей возникал вопрос и об исходном типе базидии. Уэллс (Wells, 1994) отмечал: «...кажется, что природа экспериментирует с различными типами базидий у низших базидиомицетов перед тем как стабилизироваться на более существенной и высшей холобазидии *Polyporales s. l.* (= *Aphylllophorales*) и *Agaricales s. l.*». Сложность вопроса заключалась в том, что простота строения холобазидии не может однозначно свидетельствовать о ее примитивности. Данный тезис подтверждается не только наличием холобазидии у эволюционно продвинутых таксонов, но и ее явно вторичным происхождением у *Tilletiaceae* (Linder, 1940). Кроме того, именно септированные (поперечно-септированные) фрагмобазидии обладают наиболее примитивными ультраструктурными особенностями. Наличие переходов между поперечно-септированной и продольно-септированной базидиями, наблюдаемых у представителей *Auriculariales* и *Exidiales*, породило ряд гипотез о происхождении холобазидии и стимулировало поиски предка гомобазидиомицетов.

Все холобазидии гетеробазидиальных грибов представляют собой гетеробазидии, т. е. они имеют расчленение на гипо- и эпибазидиальные части, а в онтогенезе можно наблюдать стадии про- и метабазидии, однако их происхождение представляется полифилетическим (Змитрович, 2001).

Клеточные исследования показали, что с типом септации базидии жестко скоррелирован характер ориентации микротрубочкового веретена в ходе деления ядра перед образованием базидиоспор. Данный признак впервые был замечен Юэлем (Juel, 1898) при исследовании голобазидий и использован Линдером и Донком (Linder, 1940;

Donk, 1964) в филогенетических заключениях. Данный подход вполне возможно распространить и на анализ гетеробазидий, при этом крестовидно-разделенную тремеллоидную базидию можно рассматривать как хиастобазидию, в то время как поперечно-септированную фрагмобазидию (*Uredinales*, *Ustilaginales* s. l., *Septobasidiales* и частично *Auriculariales*) можно интерпретировать как стихобазидию. Двуспоровая базидия *Dacrymycetales* является стихобазидией и представляет собой связующее звено между фрагмобазидией *Uredinales* и гомобазидией *Clavulinaceae*. По мнению И. В. Змитровича (2001), «...ближе всего к архетипу гомобазидиомицетов стоят клавулиновые и систотремовые грибы, а своеобразным мостом, связующим эту группу с анцестральными ржавчинниками, являются гетеробазидиомицеты порядка *Dacrymycetales*».

Гипотезы клавариоидного предка гомобазидиомицетов высказывались и ранее. Корнер (Corner, 1970) — сторонник клавариоидной гипотезы возникновения голобазидиомицетов — предлагал искать связующее звено между *Heterobasidiomycetes* в пределах клавариоидных грибов, особенно в серии *Tremellodendron* (септированные базидии) → *Tremellodendropsis* (частично септированные базидии) → *Arhelaria* (несептированные базидии).

Вторая группа гипотез посвящена поиску связующего звена между анцестральными *Heterobasidiomycetes* и типичными *Holobasidiomycetes*. Одним из ключевых представителей данного подхода является Роджерс (Rogers, 1935). Данный исследователь постулировал, что виды рода *Ceratobasidium* обладают типом базидии, которая является филетическим переходом от гетеробазидиальных форм (возможно *Tulasnella*-типа) к типичным голобазидиомицетам. Филогенетическая модель, основанная на этой гипотезе, предлагает эволюционное развитие от примитивных аурикулярноидных гетеробазидиомицетов к более сложным тремеллоидным гетеробазидиомицетам и от них к голобазидиомицетам (через *Tulasnellales* и *Ceratobasidiales*) по схеме: поперечно-септированная аурикулярноидная базидия (подобная *Cystobasidium sebaceum*) → продольно-септированная тремеллоидная базидия (подобная *Exidiopsis effusa*) → туласнеллоидная базидия с базальной септой и вздутыми стеригмами (подобная *Tulasnella subglobispora*) → голобазидия *Ceratobasidium*-типа с длинными стеригмами → голобазидия *Thanatephorus*-типа с почти не удлинненными стеригмами → голобазидия *Botryobasidium*-типа с короткими компактными стеригмами. Данная гипотеза делает *Holobasidiomycetes* монофилетической группой — все в конечном счете возникли из *Ceratobasidium*-подобного предка.

Взгляды Роджерса были поддержаны Мартином (Martin, 1945), который также рассматривал *Ceratobasidium* как анцестральную группу голобазидиомицетов, отмечая, что неплотное сплетение гиф, короткие толстые базидии с их вздутыми эпibasидиями и вторичное прорастание базидиоспор — все это примитивные признаки. Сценарий филогенеза гетеробазидиомицетов, по Мартину, выглядит следующим образом: *Uredinales* → *Auricularia/Platyglöea* → *Sebacina/Tremella* → *Tulasnella* → *Ceratobasidium* → *Botryobasidium*, *Dacrymyces*, *Sirobasidium*.

В целом эволюционная линия *Exidiales* → *Tulasnellales* → *Ceratobasidiales* → *Botryobasidiales* признавалась многими авторами (Talbot, 1965; Lowy, 1971; Rogers, 1971; Jülich, 1981).

Как еще один вариант подобных гипотез следует упомянуть гипотезу Линдера (Linder, 1940), который предположил возникновение родов *Ceratobasidium*, *Tulasnella* и кортициоидного рода *Sistotrema* как отдельных эволюционных линий от *Sebacina*-подобного предка. Такой подход предполагает рассматривать кортициоидные грибы (и голобазидиомицеты в целом) в качестве полифилетической группы. Согласно Линдеру, *Ceratobasidium* является идеальным связующим родом между *Sebacina*-подобным предком и родом *Botryobasidium*. Эта гипотеза была принята Оливом и Робертсом (Olive, 1957; Roberts, 1998).

Следует отметить также оригинальный подход Савиля (Savile, 1955, 1968), постулирующий возникновение *Holobasidiomycetes* непосредственно от примитивных парзитических аурикулярноидных базидиомицетов через *Exobasidiales* и *Ceratobasidi-*

ales (при этом для более сложных гетеробазидиомицетов полагался отдельный эволюционный путь). Особенность этих взглядов определяется тем, что данные эволюционные модели основывались не только на морфологии базидии, но также на наличии или отсутствии пряжек и, кроме того, трофическом статусе таксонов (паразитическом или сапротрофном).

В противовес обозначенным выше взглядам существовала другая группа гипотез, рассматривающих возникновение *Heterobasidiomycetes* из *Holobasidiomycetes* (Gäumann, 1964; Райтвийр, 1964; Пармасто, 1968; Kreisel, 1969). Основоположником данных взглядов можно считать Бесси (Bessey, 1950), который предположил, что *Heterobasidiomycetes* развились из распростертых, кортиционидных *Holobasidiomycetes* посредством модификации базидии. В основе его рассуждений лежало предположение, что если холобазидия была первым шагом в эволюции от *Ascomycetes*, то мы можем заключить, что в некоторых случаях нормальная тонкая стеригма (как у *Corticium*) стала более крупной, достигнув в конце концов состояния, благоприятного для разделения (на уровне рода *Tulasnella*). Подобным образом допускалась возможность трансформации тремеллоидной базидии в аурикулярноидную. Филогенетическая модель, построенная на подобных допущениях, содержала в качестве анцестральной для многих гетеробазидиомицетов (*Tulasnella*, *Ceratobasidium*, *Tremellales*, *Dacrymycetales* и, возможно, *Auriculariales*) группы голобазидиомицетных представителей *Thelephoraceae*.

Более современная версия возникновения гетеробазидиомицетов из голобазидиомицетов была предложена Муром (Moore, 1978, 1985) и основана на интерпретации ультраструктуры септальной поры. Однако поздние ультраструктурные и молекулярные исследования (McLaughlin et al., 1995; Swann, Taylor, 1995) показали ненадежность подобных гипотез.

К сожалению, вопрос о предковых формах гетеробазидиомицетов, как, впрочем, и гомобазидиомицетов, сегодня так же далек от окончательного решения, как и столетия назад. Каждая группа гипотез реализуется в конкретной познавательной ситуации и обеспечивает преемственность знаний, служа своего рода «стартовой позицией» для вновь проводимого исследования. Таким образом, дальнейшее накопление новых данных, полученных с помощью современных методов исследования, позволит верифицировать ту или иную гипотезу и определить эволюционную значимость такого признака как морфология базидий.

Конспект системы гетеробазидиомицетов

Далее приводится согласованный с современными данными и, на наш взгляд, наиболее пригодный для текущего использования вариант системы гетеробазидиальных грибов.

Отдел *BASIDIOMYCOTA*

Класс I. *Urediniomycetes* Brogniart sensu Swann et Taylor — в клеточной стенке присутствуют маннаны, простые септальные поры без парентосом, дисковидные ПТВ.

1. Подкласс *Urediniomycetidae* sensu Swann, Frieders et McLaughlin — поры, окруженные микротельцами, ПТВ располагаются в порах ядерной оболочки, гифы без пряжек.

Порядок *Septobasidiales* Couch ex Donk — паразиты на покровах насекомых; ПТВ ассоциированы с эндоплазматической сетью или свободны; грибы имеют соматогамный микроцикл.

Семейство *Septobasidiaceae* Maire (*Auriculoscypha* Reid and Manimohan; *Coccidio-dictyon* Oberw.; *Ordonia* Racib.; *Septobasidium* Pat.; *Uredinella* Couch).

Порядок *Platyglloeales* R. T. Moore — паразиты на растениях; ПТВ окружены эндоплазматической сетью; грибы имеют соматогамный микроцикл.

Семейство *Platyglloeaceae* Racib. — на голосеменных (*Platyglloea* J. Schröt. s. str.; *Insolibasidium* Oberw. et Bandoni).

Семейство *Eocronartiaceae* Jülich — на мхах и папоротниках (*Eocronartium* Atkinson; *Herpobasidium* Lind emend. Oberw. et Bandoni; *Jola* A. Möller; *Platycarpa* Couch emend. Oberw. et Bandoni; *Ptechetelium* Oberw. et Bandoni).

Порядок *Uredinales* Arthur — паразиты на растениях; ПТВ не окружены эндоплазматической сетью; грибы имеют сложный жизненный цикл со сперматизацией (13 семейств; 115 родов).

2. Подкласс *Microbotryomycetidae* Swann — микопаразиты, реже паразиты на растениях, формирующие колакосомы и вторично лишённые колакосом; гифы с пряжками; поры не окружены микротельцами; ПТВ располагаются различно.

Порядок *Cryptomycocolacales* Oberw. et Bauer — микопаразиты, формируют колакосомы; септальные поры с микротельцами; ПТВ располагаются в порах ядерной оболочки; грибы не формируют телиоспор.

Семейство *Cryptomycocolaceae* Oberw. et Bauer (*Cryptomycocolax* Oberw. et R. Bauer; *Colacosiphon* R. Kirshner, R. Bauer et Oberw.).

Порядок *Heterogastridiales* Oberw. et R. Bauer — микопаразиты, формируют колакосомы; септальные поры без микротелец; ПТВ внутриядерные; грибы не формируют телиоспор.

Семейство *Heterogastridiaceae* Oberw. et R. Bauer (*Atractocolax* R. Kirshner, R. Bauer et Oberw.; *Colacogloea* Oberw. et R. Bauer; *Heterogastridium* Oberw. et R. Bauer; *Kriegsteinera* Pouzar).

Порядок *Sporidiobolales* J. P. Samp., M. Weiss et R. Bauer — формируют колакосомы; септальные поры без микротелец; ПТВ внутриядерные; в жизненном цикле формируют телиоспоры; культуры окрашены в розовый цвет.

Семейство *Sporidiobolaceae* R. T. Moore emend. J. P. Samp., M. Weiss et R. Bauer (*Sporidiobolus* Nyland; *Sporibolomyces* Kluyver et C. B. Niel; *Rhodospodium* I. Banno; *Rhodotorula* F. C. Harrison).

Порядок *Leucosporidiales* J. P. Samp., M. Weiss et R. Bauer — формируют колакосомы; септальные поры без микротелец; ПТВ внутриядерные; в жизненном цикле формируют телиоспоры; культуры имеют белый или кремовый цвет.

Семейство *Leucosporidiaceae* J. P. Samp., M. Weiss et R. Bauer (*Leucosporidium* Fell, Statzell, I. L. Hunter et Phaff; *Leucosporidiella* J. P. Samp.; *Mastigobasidium* Golubev).

Порядок *Microbotryales* R. Bauer et Oberw. — паразиты на растениях; не формируют колакосом; ПТВ внутриядерные; в жизненном цикле формируют телиоспоры.

Семейство *Ustilentylomataceae* R. Bauer et Oberw. — с септальной порой (*Aurantiopodium* M. Piepenbr., Vánky et Oberw.; *Fulvisporium* Vánky; *Ustilentyloma* Savile).

Семейство *Microbotryaceae* R. T. Moore — без септальной поры (*Bauerago* Vánky; *Liroa* Cif.; *Microbotryum* Lév.; *Sphacelotheca* de Bary; *Zundeliomyces* Vánky).

3. Подкласс *Agaricostilbomycetidae* sensu Swann, Frieders et McLaughlin — септальные поры без микротелец; ПТВ внутриядерные, во время деления перемещаются от ядерной оболочки в нуклеоплазму.

Порядок *Agaricostilbales* Oberw. et R. Bauer — базидиомы гаустероидные; гаустерии не тремеллоидные; освобождение спор неактивное.

Семейство *Agaricostilbaceae* Oberw. et R. Bauer — фрагмобазидия (*Agaricostilbum* J. E. Wright emend. J. E. Wright, Bandoni et Oberw.; *Kondoa* Y. Yamada, Nakagawa et I. Banno emend. Á. Fonseca, J. P. Samp., Inácio et Fell; *Stilbum* Tode ex Mérat).

Семейство *Chionosphaeraceae* Oberw. et Bandoni — голобазидия (*Chionosphaera* D. E. Cox).

UREDINIOMYCETES incertae sedis.

Семейство *Pachnocybaceae* Oberw. et Bauer (*Pachnocybe* Berk.).

Семейство *Saccoblastiaceae* Jülich (*Saccoblastia* A. Møller s. str.).

Семейство *Phleogenaceae* Weese (*Helicogloea* Pat., *Phleogena* Link).

Семейство *Classiculaceae* R. Bauer, Begerow, Oberw. et Marvanová (*Classicula* R. Bauer, Begerow, Oberw. et Marvanová; *Jaculispora* H. J. Huds. et Ingold).

Семейство *Cystobasidiaceae* Gäum. [*Cystobasidium* (Lagerh.) Neuhoff; *Occultifur* Oberw.; *Phacellula* H. Syd.].

Семейство *Mixiaceae* C. L. Kramer (*Mixia* C. L. Kramer).

Мусоглоа-группа (*Mycogloea* L. S. Olive; *Spiculogloea* P. Roberts).

Класс II. *USTILAGINOMYCETES* R. Bauer, Oberw. et Vánky — в клеточной стенке доминируют глюканы и отсутствуют ксиланы; ПТВ полусферические; паразиты растений (10 порядков, 22 семейства).

Класс III. *HYMENOMYCETES* Fr. sensu Swann et Taylor — в клеточной стенке доминируют глюканы и присутствуют ксиланы; септальные поры с долипорами; ПТВ глобулярные без внутренней слоистости.

1. Подкласс *Tremellomycetidae* Locq. sensu Swann et Taylor — долипоры без парентосом или с мешковидными парентосомами.

Порядок *Cystofilobasidiales* Boekhout et Fell — долипоры без парентосом; грибы формируют телиоспоры.

Семейство *Cystofilobasidiaceae* K. Wells et Bandoni (*Cystofilobasidium* Oberw. et Bandoni; *Itersonilia* Derx; *Mrakia* Y. Yamada et Komagata; *Tausonia* Babeva; *Udeniomyces* Nakase et Takem.; *Xanthophyllomyces* Golubev).

Порядок *Tremellales* Rea emend. Bandoni s. l. — долипоры с мешковидными парентосомами; не формируют телиоспор.

Семейство *Tremellaceae* Fr. (*Holtermannia* Sacc. et Traverso; *Sirotrema* Bandoni; *Tremella* Pers.; *Trimorphomyces* Bandoni et Oberw.; *Xenolachne* D. P. Rogers).

Семейство *Sirobasidiaceae* A. Möller (*Fibulobasidium* Bandoni; *Sirobasidium* Lagerh. et Pat.).

Семейство *Phragmoxenidiaceae* Oberw. et R. Bauer (*Phragmoxenidium* Oberw.).

Семейство *Tetragonomycetaceae* Oberw. et Bandoni (*Tetragonomycetes* Oberw. et Bandoni).

Семейство *Filobasidiaceae* L. S. Olive (*Cystofilobasidium* Oberw. et Bandoni; *Filobasidiella* Kwon-Chung; *Filobasidium* L. S. Olive).

Семейство *Syzygosporaceae* Jülich (*Carcinomyces* Oberw. et Bandoni; *Christiansenia* Hauerslev; *Syzygospora* G. W. Martin).

Семейство *Rhynchogastremaceae* Oberw. et Bandoni (*Rhynchogastrema* B. Metzler et Oberw.).

2. Подкласс *Hymenomycetidae* Alexop. sensu Swann et Taylor — долипоры с невздутыми парентосомами.

Порядок *Sebacinales* M. Weiss, Selosse, Rexer, A. Urban et Oberw. — парентосомы неперфорированы; фрагмобазидия продольно-септированная; гифы без пряжек; цистид нет; большинство видов микоризообразователи.

Семейство *Sebacinaceae* Oberw. et K. Wells (*Craterocolla* Bref.; *Efibulobasidium* K. Wells; *Sebacina* Tul., *Tremellodendron* G. F. Atk., *Tremelloscypha* D. A. Reid; *Tremellostereum* Ryvarden).

Порядок *Auriculariales* J. Schröt. emend. M. Weiss, Selosse, Rexer, A. Urban et Oberw. — парентосомы неперфорированы; фрагмобазидии поперечно- или продольно-септированные; гифы с пряжками или без пряжек; сапротрофы, главным образом на разрушенной древесине.

Семейство *Exidiaceae* R. T. Moore [*Basiodendron* Rick; *Bourdodia* (Bres.) Trotter; *Craterocolla* Bref.; *Ductifera* Lloyd; *Efibulobasidium* K. Wells; *Eichleriella* Bres.; *Exidia*

Fr.; *Exidiopsis* (Johan-Olsen in Bref.) A. Møller; *Fibulosebacea* K. Wells et Rairv.; *Heterochaete* Pat.; *Pseudostypella* McNabb].

Семейство *Auriculariaceae* Fr. (*Auricularia* Bull. ex Juss.; *Myliopsis* Pat.).

Семейство *Hyaloriaceae* A. Møller [*Elmerina* Bres.; *Heterochaetella* (Bourdot) Bourdot et Galzin; *Heteroscypha* Oberw. et Agerer; *Hyaloria* A. Møller; *Myxarium* Wallr.; *Phlogiotis* Quél.; *Protodaedalea* Imazeki; *Protodontia* Höhn.; *Protohydnum* A. Møller; *Protomerulius* A. Møller; *Pseudohydnum* P. Karst.; *Stypella* A. Møller].

Семейство *Patouillardinaceae* Jülich (*Patouillardina* Bres.).

Семейство *Tremellodendropsidaceae* Jülich [*Tremellodendropsis* (Corner) D. A. Crawford].

Порядок *Dacrymycetales* Henn. — парентосомы неперфорированы; вильчато-разветвленная голобазидия (стихобазидия); сапротрофы главным образом на разрушенной древесине.

Семейство *Dacrymycetaceae* Bref. [*Calocera* (Fr.) Fr.; *Cerinomyces* G. W. Martin; *Dacrymyces* Nees: Fr.; *Dacryonaema* Nannf.; *Dacryopinax* G. W. Martin; *Ditiola* Fr.; *Guepiniopsis* Pat.].

Порядок *Cantharellales* Gäum. — парентосомы неперфорированные либо перфорированные; стихобазидии — 2—6-споровые голобазидии либо 1—8-споровые голобазидии с полуотгороженными метабазидами. Из гетеробазидиальных грибов к этому порядку относятся 2 семейства.

Семейство *Tulasnellaceae* Juel (*Tulasnella* J. Schröt.; *Gloeotulasnella* Höhn. et Litsch.; *Pseudotulasnella* Lowy; *Stilbotulasnella* Oberw. et Bandoni).

Семейство *Ceratobasidiaceae* Jülich (*Ceratobasidium* D. P. Rogers; *Marchandiomyces* Dieder. et D. Hawksw.; *Oliveonia* Donk; *Oncobasidium* P. H. B. Talbot et Keane; *Tha-natephorus* Donk; *Waitea* Warcup et P. H. B. Talbot).

Исследования выполнены при финансовой поддержке РФФИ (проект № 07-04-01408).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Змитрович И. В. Макросистема и филогения Basidiomycetes: вариант красноводорослевого предка // Мусена. 2001. Т. 1, № 1. С. 3—58.

Пармасто Э. Конспект системы кортициевых грибов. Тарту, 1968. 261 с. (Parmasto E. Conspectus systematis Corticiacearum. Tartu: Inst. Zool. Bot. 1968. 261 p.).

Райтвийр А. Г. Обзор гетеробазидиальных грибов СССР (в связи с некоторыми проблемами филогенеза базидиальных и микogeографии): Автореф. ... канд. биол. наук. Тарту, 1964. 22 с.

Allen T. R., Millar T., Berch S. M., Berbee M. L. Culturing and direct DNA extraction find different fungi from the same ericoid mycorrhizal roots // *New Phytologist*. 2003. Vol. 160. P. 255—272.

Andersen T. B. A comparative taxonomic study of Rhizoctonia sensu lato employing morphological, ultrastructural and molecular methods // *Mycological Research*. 1996. Vol. 100. P. 1117—1128.

Bandoni R. J. The Tremellales and Auriculariales: an alternative classification // *Trans. Mycol. Soc. Japan*. 1984. Vol. 25. P. 489—530.

Bauer R., Begerow D., Oberwinkler F., Marvanová L. *Classicula*: the teleomorph of *Naiadella fluitans* // *Mycologia*. 2003. Vol. 95. P. 756—764.

Begerow D., Bauer R., Oberwinkler F. Phylogenetic studies on large subunit ribosomal DNA sequences of smut fungi and related taxa // *Can. J. Bot.* 1997. Vol. 75. P. 2045—2056.

Berch S. M., Allen T. R., Berbee M. L. Molecular detection, community structure and phylogeny of ericoid mycorrhizal fungi // *Plant and Soil*. 2002. Vol. 244. P. 55—66.

Bessey E. A. *Morphology and taxonomy of fungi*. N. Y., 1950. 791 p.

Binder M., Hibbett D. S., Larsson K.-H. et al. The phylogenetic distribution of resupinate forms across the major clades of mushroom-forming fungi (Homobasidiomycetes) // *Systematics Biodiv.* 2005. Vol. 3. P. 113—157.

- Boehm E. W. A., McLaughlin D. J. Mitosis and ultrastructure in *Eocronartium muscicola*: meiosis and basidial development // *Mycologia*. 1989. Vol. 81. P. 98—114.
- Bourdot H., Galzin A. Hyménomycètes de France. Hétérobasidiés—Homobasidiés gymnocarpes. Sceaux, 1927. 758 p.
- Brefeld O. Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie 7. Leipzig, 1888. 178 S.
- Cavalier-Smith T. A revised six-kingdom system of life // *Biol. Rev.* 1998. Vol. 73, N 3. P. 203—266.
- Corner E. J. H. Supplement to «A monograph of *Clavaria* and allied genera» // *Beih. Nova Hedwigia*. 1970. H. 33. 299 p.; 4 pl.
- Donk M. A. Revision der Niederländischen Homobasidiomycetae—Aphylophoraceae. I // *Med. Ned. mycol. Ver.* 1931. N 18—20. S. 65—200.
- Donk M. A. Notes on resupinate Hymenomycetes. II. The tulasnelloid fungi // *Reinwardtia*. 1956. Vol. 3. P. 363—379.
- Donk M. A. The generic names proposed for Hymenomycetes. IX. «Meruliaceae» and *Cantharellus* s. str. // *Fungus*. 1958. Vol. 28. P. 7—15.
- Donk M. A. A conspectus of the families of Aphylophorales // *Persoonia*. 1964. Vol. 3, pt 2. P. 199—324.
- Donk M. A. Check list of European hymenomycetous Heterobasidiaceae // *Persoonia*. 1966. Vol. 4, pt 2. P. 145—244.
- Donk M. A. Check list of European hymenomycetous Heterobasidiaceae. Supplement and corrections // *Persoonia*. 1974. Vol. 8, pt 1. P. 33—50.
- Fries E. *Systema mycologicum, sistens fungorum ordines, genera et species, huc usque cognitae, quas ad normam methodi naturalis determinavit, disposuisti atque descripsit*. Vol. 1. Gryphiswald, 1821. 520 p.
- Fries E. *Systema mycologicum, sistens fungorum ordines, genera et species, huc usque cognitae, quas ad normam methodi naturalis determinavit, disposuisti atque descripsit*. Vol. 2. Gryphiswald, 1822. 274 p.
- Fries E. *Systema orbis vegetabilis*. Pt 1. *Plantae homonemae*. Lund, 1825. 374 p.
- Fries E. *Summa vegetabilium Scandinaviae, seu enumeratio systematica et critica plantarum quum cotyledoniarum, tum nemearum inter mare occidentale et album, eidorum et nordkap, hactenus lectarum, indicata simul distributione geographica*. Uppsala, 1849. 572 p.
- Fries E. *Hymenomycetes Europaei sive epicriseos systematis mycologici*. Uppsala, 1874. 755 p.
- Gargas A., DePriest P. T., Grube M., Tehler A. Multiple origins of lichen symbioses in fungi suggested by SSU rDNA phylogeny // *Science*. 1995. Vol. 268. P. 1492—1495.
- Gäumann E. *Die Pilze*. Basel; Stuttgart, 1964. 541 S.
- Glen M., Tommerup I. C., Bougher N. L., O'Brien P. A. Are Sebacinaceae common and widespread ectomycorrhizal associates of *Eucalyptus* species in Australian forests? // *Mycorrhiza*. 2002. Vol. 12. P. 243—247.
- Gray S. F. *A natural arrangement of British plants according to their relations to each other as pointed out by Jussieu, De Candolle, Brown and C.* Vol. 1. London, 1821. 824 p.
- Hibbett D. S., Binder M. Evolution of complex fruiting-body morphologies in homobasidiomycetes // *Proc. Roy. Soc. London*. 2002. Vol. 269. P. 1963—1969.
- Hibbett D. S., Binder M., Bischoff J. F. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi // *Mycological Research*. 2007. Vol. 111, N 5. P. 509—547.
- Juel H. O. Die Kernteilung in den Basidien und die Phylogenie der Basidiomyceten // *Jahrb. Wiss. Bot.* 1898. H. 32. S. 361—388.
- Jülich W. Higher taxa of Basidiomycetes. J. Cramer, Vaduz, Liechtenstein, 1981. 485 p.
- Kreisel H. *Grundzüge eines natürlichen Systems der Pilze*. Jena: Gustav Fischer, 1969. 245 S.; 8 taf.
- Larsson K.-H. Molecular phylogeny of *Hyphoderma* and the reinstatement of *Peniophorella* // *Mycological Research*. 2007. Vol. 111. P. 186—195.
- Lawrey J. D., Binder M., Diederich P. et al. Phylogenetic diversity of lichen-associated homobasidiomycetes // *Molec. Phylog. Evol.* 2007. Vol. 44. P. 778—789.

- Linder D. H. Evolution of the Basidiomycetes and its relation to the terminology of the basidium // *Mycologia*. 1940. Vol. 32. P. 419—447.
- Lowy B. Taxonomic problems in the Heterobasidiomycetes // *Taxon*. 1968. Vol. 17. P. 118—127.
- Lowy B. Tremellales // *Flora Neotropica*. 1971. Vol. 6. P. 1—153.
- Martin G. W. The classification of the Tremellales // *Mycologia*. 1945. Vol. 37. P. 527—542.
- Martin G. W. New or noteworthy tropical fungi IV // *Lloydia*. 1948. Vol. 11. P. 111—122.
- Matheny P. B., Wang Z., Binder M. et al. Contributions of rpb2 and tef1 to the phylogeny of mushrooms and allies (Basidiomycota, Fungi) // *Molec. Phylog. Evol.* 2007. Vol. 43. P. 430—451.
- McKendrick S. L., Leake J. R., Taylor D. L., Read D. J. Symbiotic germination and development of the mycoheterotrophic orchid *Neottia nidus-avis* in nature and its requirement for locally distributed *Sebacina* spp. // *New Phytologist*. 2002. Vol. 154. P. 233—247.
- McLaughlin D. J., Berres M. E., Szabo L. J. Molecules and morphology in basidiomycete phylogeny // *Can. J. Bot. (Suppl. 1)*. 1995. Vol. 73. P. S684—S692.
- Moore R. T. Taxonomic significance of septal ultrastructure with particular reference to the jelly fungi // *Mycologia*. 1978. Vol. 70, N 5. P. 1007—1024.
- Moore R. T. The challenge of the dolipore / parenthesesome septum / Eds D. Moore et al. // *Developmental biology of higher fungi*. Cambridge, 1985. P. 175—212.
- Moore R. T. Order *Platyglomales* ord. nov. // *Mycotaxon*. 1990. Vol. 39. P. 245—248.
- Möller A. *Protobasidiomyceten* // *Botanische Mittheilungen aus den Tropen*. H. 8. Jena, 1895. 174 S.
- Oberwinkler F. The relationships between the Tremellales and the Aphyllorphales // *Persoonia*. 1972. Vol. 7. P. 1—16.
- Olive L. S. Two new genera of the Ceratobasidiaceae and their phylogenetic significance // *Amer. J. Bot.* 1957. Vol. 44. P. 429—435.
- Patouillard N. T. *Des Hyménomycètes au point de vue de leur structure et de leur classification*. Thèse Ecole sup. Pharm. Paris, 1884. 51 p.
- Patouillard N. *Les Hyménomycètes d'Europe. Anatomie générale et classification des Champignons supérieurs*. Paris: P. Klincksieck, 1887. 166 p.
- Roberts P. Morphological and molecular systematics of the Ceratobasidiales. King's College, University of London (PhD Thesis). L., 1998. 281 p.
- Rogers D. P. Notes on the lower Basidiomycetes // *Univ. Iowa Studies Nat. Hist.* 1935. Vol. 17. P. 3—43.
- Rogers D. P. Patterns of evolution to the homobasidium / Ed. R. H. Petersen. *Evolution in the higher Basidiomycetes*. Knoxville, 1971. P. 241—257.
- Savile D. B. O. A phylogeny of the Basidiomycetes // *Can. J. Bot.* 1955. Vol. 33. P. 60—104.
- Savile D. B. O. Possible interrelationships between fungal groups / Eds G. C. Ainsworth, A. S. Sussman // *The fungi, an advanced treatise*. Vol. 3. N. Y., 1968. P. 649—675.
- Selosse M. A., Bauer R., Moyersoen B. Basal hymenomycetes belonging to the Sebacinaceae are ectomycorrhizal on temperate deciduous trees // *New Phytologist*. 2002. Vol. 155. P. 183—195.
- Swann E. C., Taylor J. W. Higher taxa of Basidiomycetes: an 18S rDNA gene perspective // *Mycologia*. 1993. Vol. 85. P. 923—936.
- Swann E. C., Taylor J. W. Phylogenetic diversity of yeast-producing basidiomycetes // *Mycological Research*. 1995. Vol. 99. P. 1205—1210.
- Talbot P. H. B. Studies of 'Pellicularia' and associated genera of Hymenomycetes // *Persoonia*. 1965. Vol. 3. P. 371—406.
- Talbot P. H. B. Fossilized pre-Patouillardian taxonomy? // *Taxon*. 1968. Vol. 17. P. 620—628.
- Taylor D. L., Bruns T. D., Szaro T. M., Hodges S. A. Divergence in mycorrhizal specialization within *Hexalectris spicata* (Orchidaceae), a non-photosynthetic desert orchid // *Amer. J. Bot.* 2003. Vol. 90. P. 1168—1179.
- Tedersoo L., Kõljalg U., Hallenberg N., Larsson K.-H. Fine scale distribution of ectomycorrhizal fungi and roots across substrate layers including coarse woody debris in a mixed forest // *New Phytologist*. 2003. Vol. 159. P. 153—165.

Tulasne L. R. Observations sur l'organisation des Trémellinées // Ann. Sci. Nat. Bot. Biol. Vegetale. Sér. 3. 1853. T. 19. P. 193—231.

Tulasne L. R. Seconde mémoire sur les Urédinées et les Ustilaginées // Ann. Sci. Nat. (Bot.). 1854. T. 2. P. 77—196.

Urban A., Weiss M., Bauer R. Ectomycorrhizae involving sebacinoid mycobionts // Mycological Research. 2003. Vol. 107. P. 3—14.

Weiss M., Bauer R., Begerow D. Spotlights on heterobasidiomycetes / Eds R. Agerer, M. Piepenbring, P. Blanz Frontiers in Basidiomycote mycology. Munich, 2004. P. 7—48.

Wells K. Jelly fungi, then and now! // Mycologia. 1994. Vol. 86, N 1. P. 18—48.

Wells K., Oberwinkler F. Tremelloscypha gelatinosa, a species of a new family Sebacinaceae // Mycologia. 1982. Vol. 74. P. 325—331.

Zmitrovich I. V. A revised eukaryote tree: the case for a euglenozoan root // Intern. J. Algae. 2003. Vol. 5, N 2. P. 1—38.

Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН
Санкт-Петербург

Поступила 4 V 2008

Р Е З Ю М Е

Выполнен обзор таксономии гетеробазидиальных грибов и рассмотрена проблема внешних границ группы. Дан анализ современных систем гетеробазидиомицетов. Приведен наиболее стабильный и пригодный для текущего использования вариант системы гетеробазидиомицетов.

Ключевые слова: дрожалковые грибы, *Heterobasidiomycetes*, морфология базидий, таксономия.

SUMMARY

The review of taxonomy of heterobasidiomycetes is carried out and the problem of external borders of the group is considered. The analysis of recent systems of *Heterobasidiomycetes* is given. The most stable and suitable variant of system of *Heterobasidiomycetes* for current use is proposed.

Key words: jelly fungi, *Heterobasidiomycetes*, basidial morphology, taxonomy.

ФИЗИОЛОГИЯ, БИОХИМИЯ, БИОТЕХНОЛОГИЯ

УДК 632.938 : 632.4

© А. К. Никонова, Ц. А. Егоров, Т. Г. Галкина,
Е. В. Гришин, А. В. Бабаков

**АНТИГРИБНАЯ АКТИВНОСТЬ ФЕНОЛЬНОГО ГЛИКОЗИДА
ВЕРБАСКОЗИДА, ВЫДЕЛЕННОГО ИЗ СЕМЯН ПОДРОЖНИКА**

NIKONOROVA A. K., EGOROV S. A., GALKINA T. G., GRISHIN E. V., BABAKOV A. V.
ANTIFUNGAL ACTIVITY OF PHENOLIC GLICOZIDE VERBASCOSIDE
FROM PLANTAGO MAJOR SEEDS

Для своей защиты растения продуцируют множество различных веществ, среди которых имеются как высокомолекулярные соединения (белки, пептиды) (Tossi, Sandri, 2002), так и низкомолекулярные (фитоантисипины и фитоалексины) (Morrissey, Osbourn, 1999; Дьяков и др., 2001). Они присутствуют в здоровых растениях конститутивно или синтезируются в ответ на атаку фитопатогенных микроорганизмов, стресс или воздействие некоторыми природными, а также синтетическими соединениями (Hutcheson, 1998; Тарчевский и др., 2002).

Цель настоящей работы состояла в выделении из семян подорожника (*Plantago major* L.) соединений, обладающих антигрибной активностью, и в изучении их свойств по отношению к разным видам фитопатогенных грибов.

Материал и методы

Семена подорожника собирали в 2002 г. в Московской обл. В экспериментах использовали фитопатогенные грибы: *Alternaria solani*, *Botrytis cinerea*, *Bipolaris sorokiniana*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium culmorum*, *F. oxysporum*.

Семена подорожника (1 г) измельчали в ступке и экстрагировали 1 мл 10%-й уксусной кислоты при перемешивании в течение 1 ч при комнатной температуре. Осадок удаляли центрифугированием, супернатант лиофилизovali. Остаток растворяли в 0.5 мл растворителя (10%-й водный раствор ацетонитрила в 0.1%-й трифторуксусной кислоте), центрифугировали. Супернатант наносили на колонку Sephacryl S-100 (1.6 × 80 см) и элюировали этим же растворителем со скоростью 16 мл/ч, собирая фракции объемом 4 мл. Полученные фракции упаривали на вакуумном концентраторе SpeedVac (Savant, США) и тестировали на антифунгальную активность по отношению к грибу *Bipolaris sorokiniana*. Далее активную фракцию разделяли обращенно-фазовой ВЭЖХ на колонке Nucleosil-100 (4.6 × 250 mm) градиентом ацетонитрила от 10 до 40 % в течение 60 мин при скорости потока 1 мл/мин и температуре 40 °С; растворитель А — 0.1%-я трифторуксусная кислота, растворитель В — 80%-й ацетонитрил в воде. На данной колонке активное соединение элюируется на 37 мин. Структура выделенного соединения была установлена методом ЯМР спектроскопии.

Антигрибную активность изучали модифицированным методом лунок. Грибы выращивали 2 суток на смеси Nestle — 5 злаков, (20 г/л) при 26 °С, затем тестируемые

образцы (50 мкл) помещали в лунки, вырезанные в агаре на расстоянии 3 см от центра чашки Петри. Через 2 суток оценивали ингибирующую активность образцов и влияние их на морфологические изменения в развитии гриба.

Для оценки способности изучаемого соединения защищать проростки ячменя от поражения обыкновенной корневой гнилью использовали семена ячменя сорта Пирка, чувствительного к данному заболеванию. Стерильные наклонившиеся семена помещали в чашки Петри с 2%-м водным агаром рядом с мембранным фильтром, смоченным суспензией конидий гриба *B. sorokiniana* (10^6 спор/мл) и 25 мкл раствора изучаемого соединения. Чашки Петри выдерживали в термостате в горизонтальном положении 24 ч, столько же в вертикальном положении и затем 3 суток на свету при комнатной температуре в вертикальном положении. Измеряли длину корней, высоту и массу проростков, оценивали поражаемость корней грибом *B. sorokiniana* по степени некротизации ткани.

Интенсивность спороношения гриба на корнях определяли флотационным методом (Duczek, 1990). Отрезки корней растирали в ступке с 40 мл 5%-го раствора NaCl. Смесь фильтровали через два слоя стеклоткани в пробирку и в фильтрат добавляли 5 мл минерального масла. Пробирки встряхивали горизонтально в течение 10 мин. После 5 мин отстаивания слой масла (0.1 мл) переносили на предметное стекло и подсчитывали количество конидий гриба. Данные выражали как количество конидий на растении. Повторность 5-кратная.

Результаты и обсуждение

С помощью спектроскопии ядерного магнитного резонанса ранее нами была установлена структура соединения, выделенного из семян *Plantago major* (Егоров и др., 2004). Этим соединением оказался фенольный гликозид (2-(3,4-дигидроксифенил)этил- β -D-3-O- β -D-рамнопиранозил)-4-O-(3,4-дигидроксициннамоил)- β -D-глюкопиранозид) с молекулярной формулой $C_{29}H_{36}O_{15}$ и с молекулярной массой 624.60, известный под названием вербаскозид.

Биологические испытания показали, что вербаскозид в опытах *in vitro* в разной степени ингибирует рост почвообитающих фитопатогенных грибов: *Fusarium culmorum*, *Bipolaris sorokiniana*, *Botrytis cinerea* (табл. 1). Отметим, что степень ингибирования вербаскозидом разных видов грибов варьировала. Так, *Bipolaris sorokiniana* оказался наименее устойчивым, а *Fusarium culmorum* — наиболее устойчивым к вер-

Таблица 1

Антигрибная активность вербаскозида

Концентрация, мкг/мл	<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Bipolaris sorokiniana</i>	<i>Fusarium culmorum</i>	<i>Alternaria solani</i>	<i>Botrytis cinerea</i>
1000.00	–	++++	++	–	++
330.00	–	++++	+	–	+
110.00	–	+++	–	–	–
37.00	–	++	–	–	–
12.30	–	++	–	–	–
4.10	–	+	–	–	–
1.37	–	+	–	–	–
0.45	–	+	–	–	–
0.15	–	–	–	–	–

Примечание. «–» — отсутствие, «+» — наличие антигрибной активности.

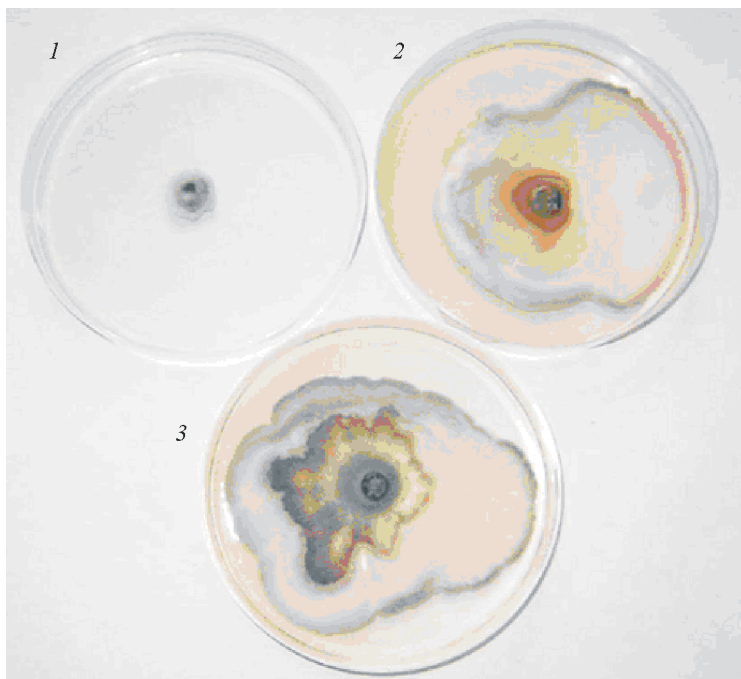


Рис. 1. Морфологические изменения *Bipolaris sorokiniana* при росте на среде с вербаскозидом. Концентрация в агаровой среде: 1 — 33,0, 2 — 1,2, 3 — 0,4 мкг/мл.

баскозиду. На *Rhizoctonia solani* и *Alternaria solani* вербаскозид не оказывал фунгистатического действия. Интересной особенностью вербаскозида оказалось его влияние в малых концентрациях на морфологию гриба: вторичный рост, интенсивное образование покоящихся структур — конидий и микросклероциев, нарушение меланиногенеза и т. д. Наиболее чувствительным к вербаскозиду оказался гриб *A. solani*.

Эта особенность вербаскозида была проверена нами в экспериментах по его действию на линейную скорость роста *Bipolaris sorokiniana*. В концентрации 33 мкг/мл вербаскозид полностью подавлял рост гриба на твердой среде на протяжении 11 суток. В контрольном варианте гриб вырос равномерно по всему диаметру чашки Петри на 5-е сутки культивирования. При меньших концентрациях вербаскозида (1,2—0,4 мкг/мл) наблюдается нарушение радиального роста гриба, особенностей субстратного и воздушного мицелия: край колонии образует валик воздушного, войлочного мицелия. Изменение морфологии развития и ингибирования роста фитопатогена *B. sorokiniana* при внесении в среду разных концентраций вербаскозида показано на рис. 1. Морфологические изменения в развитии гриба сохранялись и после двукратного посева культуры.

В опытах *in vitro* вербаскозид защищал проростки ячменя от поражения *B. sorokiniana*, значительно снижая интенсивность спорообразования гриба в тканях корня и заболеваемость проростков корневой гнилью (рис. 2; табл. 2).

Таким образом, в ходе поиска соединений антигрибной природы мы использовали семена сорного растения подорожника, повсеместно распространенного в России. Изолированный из семян подорожника фенольный гликозид соответствует по своей структуре известному соединению, называемому вербаскозидом, которое впервые было выделено из корней *Leucoseptrum japonicum* (Miyase et al., 1982) и листьев тайландского дерева *Barnetti a cerri* (Kanchanaroom et al., 2002). Вербаскозид является природным антиоксидантом, обладающим положительным кардиоактивным (Pennaschio et al., 1999) и антимиастазным действием (Ohno et al., 2002). Отмечена также его

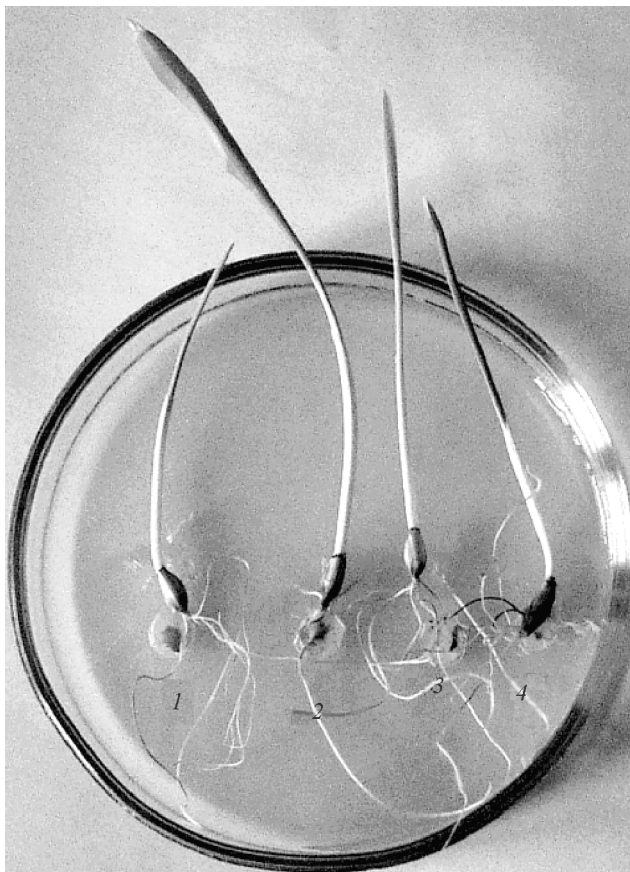


Рис. 2. Влияние вербаскозида на поражение проростков ячменя *Bipolaris sorokiniana*.
 1 — *B. sorokiniana* (10^6 конидий/мл) + 25 мкл H_2O ; 2, 3, 4 — *B. sorokiniana* + 25 мкл раствора вербаскозида в концентрации 37,0, 4,1 и 0,2 мкг/мл соответственно.

Таблица 2

Влияние вербаскозида на развитие проростков ячменя и поражение корней *Bipolaris sorokiniana* (средние данные 7-кратной повторности)

Концентрация, мкг/мл	Длина корня		Высота проростков		Масса проростков		Поражение корня, %	Количество конидий в тканях корня, штук/г
	мм	% по отношению к контролю	мм	% по отношению к контролю	мг	% по отношению к контролю		
Контроль	85	—	102	—	189	—	81	400
37.0	92	8	145	42	210	11	22	120
4.1	97	14	123	20	201	7	25	120
0.2	85	0	109	7	190	1	60	288
P < 0.05 (НСР)	4	—	6	—	5	—	—	13

антибактериальная активность против грамположительных *Staphylococcus aureus* и грамотрицательных *Proteus mirabilis* бактерий (Didry et al., 1999), однако его антигрибная активность не установлена.

Наши исследования биологической активности показали, что вербаскозид обладает фунгистатическим действием по отношению к фитопатогенам *Fusarium culmorum*, *Bipolaris sorokiniana* и *Botrytis cinerea*. При этом низкие концентрации соединения вызывают морфологические изменения у грибов *Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium culmorum*, *Alternaria solani* и *Rhizoctonia solani*. Ингибирование роста *R. solani* и *Alternaria solani* на твердых средах не отмечено.

Помимо непосредственного влияния вербаскозида на развитие грибов на твердых средах нами была обнаружена его способность защищать проростки ячменя от грибной инфекции. Она проявлялась в снижении поражаемости корней грибом *Bipolaris sorokiniana*, а также в уменьшении интенсивности споруляции фитопатогена в тканях корня.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 02-04-48578) и Министерства промышленности, науки и технологий (грант 43.050.11.2561).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Дьяков Ю. Т., Озерецковская О. Л., Джавахия В. Г., Багирова С. Ф. Общая и молекулярная фитопатология. М.: Общ-во фитопатологов, 2001. 302 с.

Егоров Ц. А., Галкина Т. Г., Балашова Т. А., Арсеньев А. С., Никонорова А. К., Бабаков А. В., Гришин Е. В. Фенольный гликозид, выделенный из семян подорожника (*Plantago major* L.) // Докл. РАН. 2004. Т. 396, № 1. С. 1—4.

Тарчевский Н. И., Зиновьева С. В., Ильинская Л. И. и др. Сигнальные системы клеток растений. М.: Наука, 2002. 294 с.

Didry N., Seidel V., Dubreul L., Tilleguin T., Bailleul F. Isolation and antibacterial activity phenylpropanoid derivatives from *Ballota nigra* // J. Ethnopharmacol. 1999. Vol. 67(2). P. 197—202.

Duczek L. J. Sporulation of *Cochliobolus sativus* on crown and underground parts of spring cereals in relation to weather and host species, cultivar, and phenology // Can. J. Plant Pathol. 1990. Vol. 12. P. 273—278.

Hutcheson S. W. Current concepts of active defense in plants // Annu. Rev. Phytopathol. 1998. Vol. 36. P. 59—90.

Kanchanaroom T., Kasai R., Yamasaki K. Phenolic glycosides from *Barnettia kerri* // Phytochemistry. 2002. Vol. 59. P. 565—570.

Miyase T., Koizumi A., Ueno A. et al. Studies on the acyl glycosides from *Leucoseptum japonicum* (Miq.) Kitamura et Murata // Chem. Pharm. Bull. 1982. Vol. 30(8). P. 2732—2737.

Morrissey J. P., Osbourn A. E. Fungal resistance to plant antibiotics as a mechanism of pathogenesis // Microbiol. Mol. Biol. Rev. 1999. Vol. 63(3). P. 708—724.

Ohno T., Inoue M., Ogihara Y., Saracoglu I. Antimetastatic activity of acteoside, phenylethanoid glycoside // Biol. Pharm. Bull. 2002. Vol. 25(5). P. 666—668.

Pennacchio M., Syah Y. M., Alexander E., Ghisalberti E. L. Mechanism of action of verbascoside on the isolated rat heart increases in level of prostacyclin // Phytother. Res. 1999. Vol. 13(3). P. 254—255.

Tossi A., Sandri L. Molecular diversity in gene-encoded, cationic antimicrobial polypeptides // Curr. Pharm. Des. 2002 Vol. 8(9). P. 743—761.

ГНУ Всероссийский институт сельскохозяйственной биотехнологии

Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина

и Ю. А. Овчинникова РАН, Москва

anikon@iab.ac.ru

Поступила 15 IV 2008

Р Е З Ю М Е

Фенольный гликозид вербаскозид с молекулярной массой 624.6 Да был изолирован из семян *Plantago major*. Оценивали биологическую активность вербаскозида по отношению к различным видам почвенных фитопатогенных грибов. Вербаскозид ингибировал *in vitro* рост таких видов, как *Fusarium culmorum*, *Bipolaris sorokiniana* и *Botrytis cinerea*, но не влиял на рост *Rhizoctonia solani* и *Alternaria solani*. В низких концентрациях вербаскозид влияет на морфологическое развитие патогенных грибов. Было показано, что вербаскозид защищает проростки ячменя от поражения обыкновенной корневой гнилью и снижает интенсивность споруляции грибов в ткани корня.

Ключевые слова: антигрибная активность, вербаскозид, *Plantago major*.

S U M M A R Y

Phenylpropanoid glycoside verbascoside with molecular mass 624.6 Da was isolated from the seeds of *Plantago major*. We assessed the biological activity of verbascoside with different soil-borne pathogenic fungi. Verbascoside inhibited *in vitro* the growth of *Fusarium culmorum*, *Bipolaris sorokiniana* and *Botrytis cinerea* but not *Rhizoctonia solani* and *Alternaria solani*. At low concentrations the verbascoside influences the morphological development of pathogenic fungi. It was shown that verbascoside protects barley seedlings against common root rot disease and it decreases the intensity of fungus sporulation in root tissue.

Key words: antifungal activity, verbascoside, *Plantago major*.

УДК 582.28 : 581.184.4 : 546.56

© *S. V. Olishkevskya, N. N. Zhdanova*

CHEMOTROPISM OF SOIL FILAMENTOUS FUNGI TOWARDS COPPER IONS

ОЛИШЕВСКАЯ С. В., ЖДАНОВА Н. Н. ХЕМОТРОПИЗМ ПОЧВЕННЫХ
МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ К ИОНАМ МЕДИ

In the past several decades terrestrial ecosystems have been severe impacted by anthropogenic activities. High concentrations of heavy metals are present in effluents from ferrous and non-ferrous metallurgy industries, electroplating mining, electric and petroleum industries that have negative effect on soil microorganisms including microfungi (Wainwright, Gadd, 1997).

There are two major strategies fungal organisms can adopt to protect themselves against heavy metal toxicity. The first, avoidance, restricts metal entry into the cell, either by formation of chelates outside the cell due to extracellular organic acids or proteins, reduced uptake/active efflux, increased metal-binding capacity of fungal cell wall compounds (chitin, pigments and polysaccharides) (Tomsett, 1995). The second, sequestration, reduces levels of free ions in the cytosol, either by synthesis of ligands to achieve intracellular chelation or by compartmentalization into vacuoles. All of these mechanisms are highly dependent on the metabolic and nutritional status of the fungal organism since will affect expression of energy-dependent resistance mechanisms (synthesis of wall structural components, pigments and metabolites) which affect metal availability and organism response (Gadd, 1992; 1993).

Copper is an essential micronutrient for most living organisms including fungi since it is the constituent of many metalloenzymes and proteins involved in electron transport, redox, and other important reactions. Copper is also required as a cofactor in a variety of proteins. Copper requirements by microorganisms are usually satisfied with low concentrations of the metal (1 to 10 μM). However, copper ions in threshold concentrations as other heavy metal ions become toxic (Gadd, 1993). Despite its importance, relatively little is understood about the molecular details of how organisms acquire this trace metal from environment. It is often assumed that fungal hyphae grow chemotropically towards nutrients or gradient of chemical substances in their environments. There are four well-known types of fungal chemotropism, which have been described: responses to extrinsic nutrients sources, responses of parasites to their hosts, negative autotropism, responses involving very specific sexual attractions (Gooday, 1975). There is a little information about fungal chemotropism towards heavy metals (Fomina et al., 2000; Fomina et al., 2003). The aim of this study was to investigate the growth responses of several soil fungi towards domains containing copper ions in order to increase our knowledge about their behavior in ecosystem.

Material and methods

Thirty four strains of mycelial fungi belonging to 22 species from 12 genera were used (Table). All strains of fungi were isolated from different heavy metal polluted and unpolluted Ukrainian soils in 2002 (Olishevskaya et al., 2006). Concentration of copper ions in polluted soils was 2-fold—30-fold higher than maximum permissible concentration.

Copper ion concentrations in soils were determined using flame atomic absorption spectrometry (AA — 8500 F, Japan), according to (Obukhov, Plekhanova, 1991).

The cultures of filamentous fungi are stored in the Department of Physiology and Taxonomy of Micromycetes of D. K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine.

To investigate radial growth rate of microfungi towards copper ions tessellated agar tile system (Fomina et al., 2000) was used in our modification. In brief, sterile 9-cm diam. Petri dishes were poured with cooled to approximately 45 °C Czapek agar medium comprising (g/l): NaNO₃ — 2.0, KH₂PO₄ — 1.0, MgSO₄ — 0.5, KCl — 0.5, FeSO₄ × 7H₂O — 0.01, sucrose — 30.0, agar — 20.0 (pH after sterilization — 5.0 ± 0.5). In the Petri dishes with solidified nutrient medium four agar squares (12 × 12 mm) were cut out on the

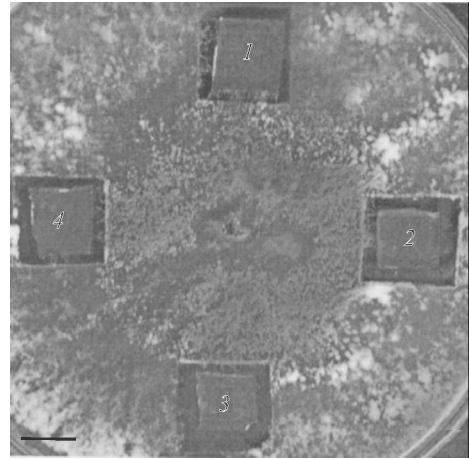
Characteristic of studied soil fungal strains

Species of fungi	Strain's number	Place and year of isolation	Concentration of copper ions, mg/kg
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl.	37	Chestnut soil, ancient smelting furnaces of reserve «Olviya» (village Parutino of Mykolayiv region), 2002	640.0
	72	Chernozem, factory of ferrous metallurgy «Zaporizhstal» (Zaporizhzhya town of Zaporizhzhya region), 2002	67.8
<i>Aspergillus niger</i> Tiegh.	42	Chestnut soil, ancient smelting furnaces of reserve «Olviya» (village Parutino of Mykolayiv region), 2002	640.0
	51	Chernozem, factory of ferrous metallurgy «Zaporizhstal» (Zaporizhzhya town of Zaporizhzhya region), 2002	67.8
<i>A. ochraceus</i> G. Wilh.	48	Chernozem, factory of ferrous metallurgy «Zaporizhstal» (Zaporizhzhya town of Zaporizhzhya region), 2002	67.8
	278	Chernozem, reserve «Mikhaylivska tsilina» (village Ketyrivka of Sumy region), 2002	13.1
<i>A. ustus</i> (Bainier) Thom et Church	64	Chernozem, factory of ferrous metallurgy «Zaporizhstal» (Zaporizhzhya town of Zaporizhzhya region), 2002	67.8
	135	Chernozem, copper field (village Kartamysh of Lugansk region), 2002	1572.0
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) G. A. de Vries	77	Chernozem, factory of ferrous metallurgy «Zaporizhstal» (Zaporizhzhya town of Zaporizhzhya region), 2002	67.8
	201	716	Chestnut soil, ancient smelting furnaces of reserve «Olviya» (village Parutino of Mykolayiv region), 2002
<i>Curvularia clavata</i> B. L. Jain	627	Chernozem, factory of ferrous metallurgy «Zaporizhstal» (Zaporizhzhya town of Zaporizhzhya region), 2002	67.8

Species of fungi	Strain's number	Place and year of isolation	Concentration of copper ions, mg/kg
<i>Fusarium oxysporum</i> Schldtl.	137	Chernozem, copper field (village Kartamysh of Lugansk region), 2002	1572.0
	385	Chernozem, factory of non-ferrous metals (Artemivsk town of Donetsk region), 2002	506.0
<i>F. sambucinum</i> Fuckel	40	Chestnut soil, ancient smelting furnaces of reserve «Olviya» (village Parutino of Mykolayiv region), 2002	640.0
<i>F. sambucinum</i> var. <i>coeruleum</i> Wollen	123	Chernozem, factory of ferrous metallurgy «Zaporizhstal» (Zaporizhzhya town of Zaporizhzhya region), 2002	67.8
<i>Humicola fuscoatra</i> Traaen	36	Chestnut soil, ancient smelting furnaces of reserve «Olviya» (village Parutino of Mykolayiv region), 2002	640.0
<i>H. grisea</i> Traaen	413	Chernozem, factory of non-ferrous metals (Artemivsk town of Donetsk region), 2002	506.0
<i>Oidiodendron cerealis</i> (Thüm.) G. L. Barron	189	Chernozem, copper field (village Kartamysh of Lugansk region), 2002	1572.0
<i>Paecilomyces lilacinus</i> (Thom) Samson	146	Chernozem, copper field (village Kartamysh of Lugansk region), 2002	1572.0
	284	Chernozem, reserve «Mikhaylivska tsilina» (village Ketyrnivka of Sumy region) 2002	13.1
<i>P. marquandii</i> (Masse) S. Hughes	153	Chernozem, copper field (village Kartamysh of Lugansk region), 2002	1572.0
<i>Penicillium funiculosum</i> Thom	94	Chernozem, factory of ferrous metallurgy «Zaporizhstal» (Zaporizhzhya town of Zaporizhzhya region), 2002	67.8
<i>P. thomii</i> Maire	332	Chernozem, reserve «Mikhaylivska tsilina» (village Ketyrnivka of Sumy region) 2002	13.1
	707	Chestnut soil, 25 m away from reserve «Olviya» (village Parutino of Mykolayiv region), 2002	53.6
<i>P. velutinum</i> J. F. H. Beyma	17	Chestnut soil, 25 m away from reserve «Olviya» (village Parutino of Mykolayiv region), 2002	53.6
	465	Chernozem, factory of non-ferrous metals (Artemivsk town of Donetsk region), 2002	506.0
<i>Stachybotrys chartarum</i> (Ehrenb.) S. Hughes	357	Chernozem, reserve «Mikhaylivska tsilina» (village Ketyrnivka of Sumy region) 2002	13.1
	424	Chernozem, factory of non-ferrous metals (Artemivsk town of Donetsk region), 2002	506.0
<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai	23	Chernozem, reserve «Mamay gora» (Zaporizhzhya town of Zaporizhzhya region), 2002	24.5
	141	Chernozem, copper field (village Kartamysh of Lugansk region), 2002	1572.0
<i>T. viride</i> Pers.	614	Chestnut soil, ancient smelting furnaces of reserve «Olviya» (village Parutino of Mykolayiv region), 2002	640.0
<i>Ulocladium alternariae</i> (Cooke) E. G. Simmons	218	Chernozem, copper field (village Kartamysh of Lugansk region), 2002	1572.0
<i>U. botrytis</i> Preuss	719	Chestnut soil, 25 m away from reserve «Olviya» (village Parutino of Mykolayiv region), 2002	53.6

Fig. 1. *Trichoderma harzianum* 23 growth on the Czapek medium towards «Target» domains with different concentration of copper ions: 1 — 4, 2 — 6, 3 — 8, 4 — 10 mM Cu^{2+} .

The air-gap between the nutrient medium and agar tiles is approximately 2 mm. Scale bar is 10 mm.



20 mm distance from the centre (Fig.1). Then in these holes we put agar tiles ($10 \times 10 \times 3$ mm) — «Target» domains consisted with agar (30 g/l distilled water) containing different concentrations of copper ions (2, 4, 6, 8 and 10 mM) that were added as sulphate. The air-gap between the «Target» domains and the nutrient medium was a 2-mm. As a control, we used agar tiles with Czapek medium (control 1) and distilled water agar tiles (control 2). Fungal spores were centrally inoculated into agar medium in the Petri dishes and incubated for 2 wk at 25 ± 2 °C. All procedures were carried out in sterile conditions. Three replicates of modified tessellated agar tile system of each design were used. Light microscopic observations were periodically made on fungal development during incubation period. The same experiments were performed using distilled water agar in return for Czapek medium.

Radial growth rate (Kr) was defined as $Kr = (R_1 - R_0)/(t_1 - t_0)$ (Trinci, 1971; Panikov, 1991), where R_0 and R_1 are the colony radii at time t_0 and t_1 , respectively. The Kr was calculated by linear regression of colony radius versus time during the phase of linear growth of fungi towards different concentration of copper ions. This index was evaluated every 24 h during 14 days.

All data were obtained from at least three independent experiments and 3-fold replicates.

Statistical analyses were performed by the use of *Microsoft Excel_2003* and *Graph-PadInstat*.

Results and discussion

Although mycelial growth towards different concentration of copper ions in this study showed some intra- and interspecies variations, certain basic features were common to all investigated fungi. So, radial growth rate of all investigated fungi decreased with increasing

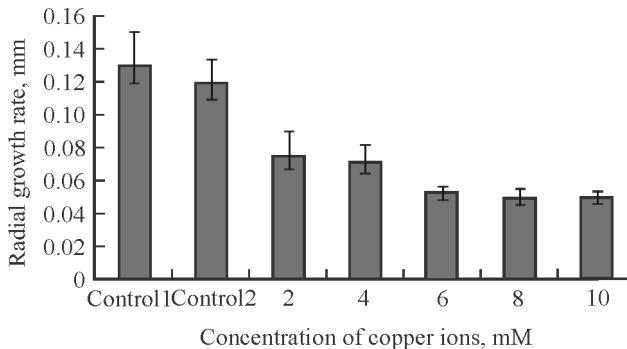


Fig. 2. Radial growth rate of *Aspergillus ustus* 64 growing on the Czapek medium towards agar tiles with different concentration of copper ions.

copper ion concentrations in the agar tiles. For example, radial growth rate of *Aspergillus ustus* 64 towards 2 and 4 mM copper ions was approximately in 1.6-folds lesser than towards control tiles (Czapek medium and distilled water agar). When *A. ustus* 64 grew towards 6, 8 and 10 mM copper ions this index was in 2,3-folds lesser than in control (Fig. 2).

It was found that fungal chemotropic reactions have intra- and interspecies variations and depended on nutrient resources and concentration of copper ions in agar tiles. At the end of experiment all micromycetes colonized control agar tiles completely and growth towards agar tiles with 2 mM Cu^{2+} , but colonized them partly as was demonstrated in *Paecilomyces lilacinus* 146 (Fig. 3, a, b).

Only *P. lilacinus* 146 (Fig. 3, a, c) and *Curvularia clavata* 627 (Fig. 4) both exhibited negative chemotropism towards 4 mM copper ions. They turned away their apices from metal-containing agar tiles while other strains of fungi continued growth towards agar tiles with 4 mM Cu^{2+} (data not shown).

Alternaria alternata strains 37 and 72, *Aspergillus ochraceus* 48, *A. niger* strains 42 and 51, *Humicola fuscoatra* 36, *H. grisea* 413, *Fusarium oxysporum* 137 (Fig. 5), *F. oxysporum* 385, *F. sambucinum* 40, *F. sambucinum* var. *coeruleum* 123, *Penicillium funiculosum* 94, *Trichoderma harzianum* 23, *T. viride* 614, *Ulocladium botrytis* 719 directly grew to agar tiles with 6—10 mM Cu^{2+} , but colonized them partly. This concentration of copper ions led to cessation of growth of other 17 strains of fungi at 3rd—4th days after inoculation as was demonstrated in *Penicillium thomii* 332 (Fig. 6).

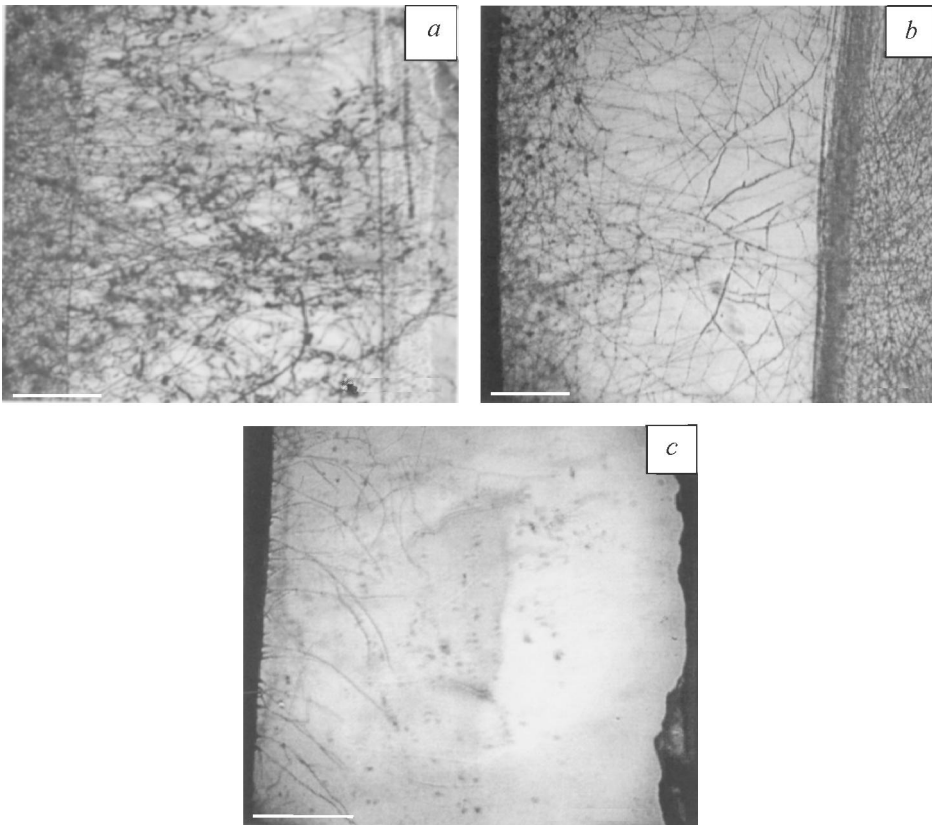


Fig. 3. Chemotropic responses to copper ions of *Paecilomyces lilacinus* 146 growing towards metal-containing agar tiles on the right-hand side of the images.

a — metal-free control, b — 2, c — 4 mM Cu^{2+} . The air-gap between the tiles is approximately 2 mm. Scale bar is 0.5 mm.

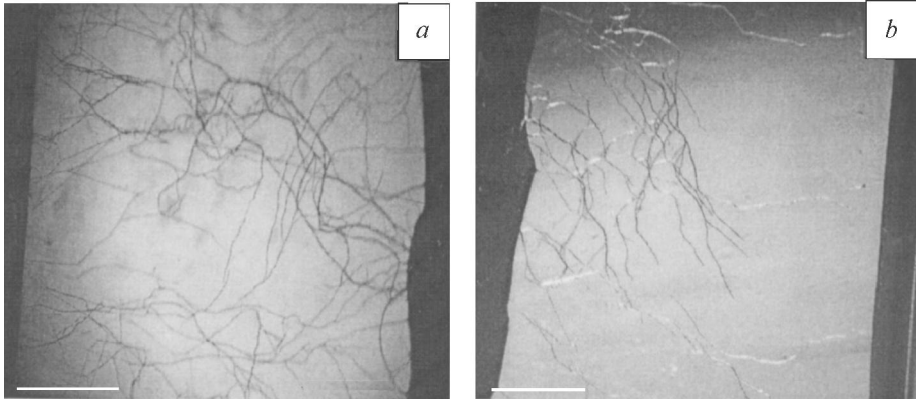


Fig. 4. Negative chemotropic responses to copper ions by hyphae of *Curvularia clavata* 627 growing towards metal-containing tiles of agar medium on the right-hand side of the images. *a* — metal-free control, *b* — 4 mM Cu²⁺. The air-gap between the nutrient medium and agar tiles is approximately 2 mm. Scale bar is 0.5 mm.

Moreover, we observed morphological changes in fungal mycelium in the presence of copper ions. *Aspergillus ochraceus* 278 (Fig. 7, *a*), *Trichoderma harzianum* 141 and *Alternaria alternata* 72 formed dense mycelial cords in the air-gap between nutrient medium and «Target» tiles. Also, *Aspergillus ochraceus* 278 and *A. ochraceus* 48 (Fig. 7, *b*) formed bushes in the air-gap between nutrient medium and «Target» tiles. *Fusarium oxysporum* 137 formed bushes on the agar tiles with 4 mM Cu²⁺ (data not shown). These morphological changes were named as strands (synnemata) and phalanx strategies respectively (Fomina et al., 2003). Fungal mycelium did not change in the control agar tiles. The same fungal responses to different concentration of copper ions have been observed when we used distilled water agar in return for Czapek medium but in this case the density of mycelium was smaller in all fungal cultures. The higher density of hyphae is commensurate with exploitative growth (Ritz, Crawford, 1990) but it was not possible to measure this parameter rigorously in this experimental system. The place of fungi isolation (heavy metals polluted or unpolluted soils) did not play a significant role in chemotropic responses of fungi towards copper ions.

The results of our study showed that direction of fungal mycelial growth was considerably altered by concentration of copper ions in agar tiles. Strategies of fungal mycelial be-

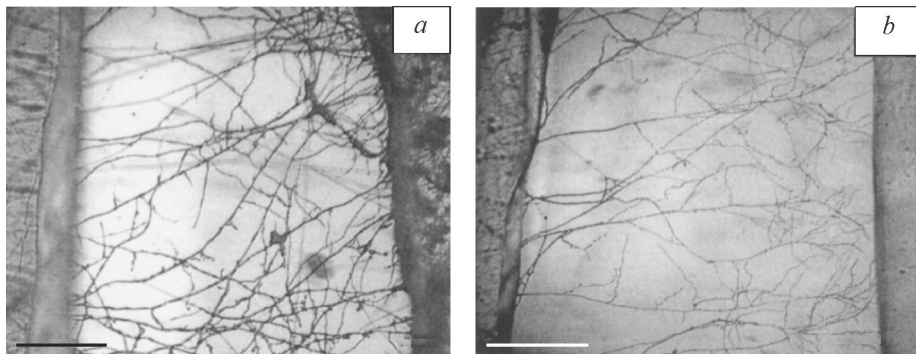


Fig. 5. Chemotropic responses to copper ions by hyphae of *Fusarium oxysporum* 137 growing towards metal-containing tiles of agar medium on the right-hand side of the images. *a* — metal-free control, *b* — 6 mM Cu²⁺. The air-gap between the nutrient medium and agar tiles is approximately 2 mm. Scale bar is 0.5 mm.

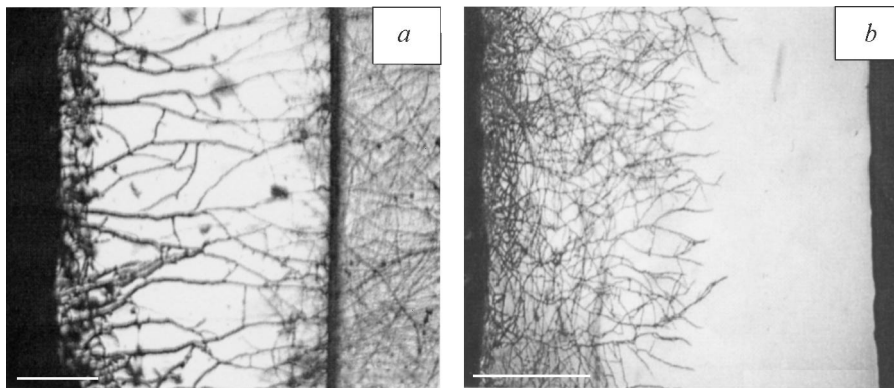


Fig. 6. Chemotropic responses to copper ions by hyphae of *Penicillium thomii* 332 growing towards metal-containing tiles of agar medium on the right-hand side of the images. *a* — metal-free control, *b* — 8 mM Cu²⁺. The air-gap between the nutrient medium and agar tiles is approximately 2 mm. Scale bar is 0.5 mm.

behaviors in a toxic metal-containing environment can be divided into two groups: retreat (negative chemotropism and growth cessation) and attack (phalanx, guerilla, reallocation cords) (Fomina et al., 2005). Most of these groups of fungal strategies we have observed in our experiments also. It has been shown that fungi were able to exhibit multiple repeated phase shifts or phalanx-guerilla-phalanx transitions, e. g., when *Trichoderma virens* and *Cladosporium cladosporioides* growing on copper at low sucrose concentrations first formed bordering mycelial bushes, then long branchless explorative hyphae, and then bushes on the tips of these exploring hyphae (Fomina et al., 2003). In our case it has been found 15 strains of microfungi which grew to 2—10 mM copper ions in agar tiles but colonized them partly, 2 negative chemotropic fungal strains and 17 strains of fungi which stopped their growth towards copper ions.

The protective role of hyphal aggregation depends on the ability of mycelial systems to shift between assimilative and nonassimilative states, which enable mycelia to penetrate or grow across physicochemically hostile regions, and in some cases to ameliorate conditions for superseding exploitative phases (Rayner et al., 1995). Any hyphal aggregation could be an example of the phalanx growth form, with profusely branching hyphae facilitating the colonization of a substrate, and the production of high local concentrations of extracellular

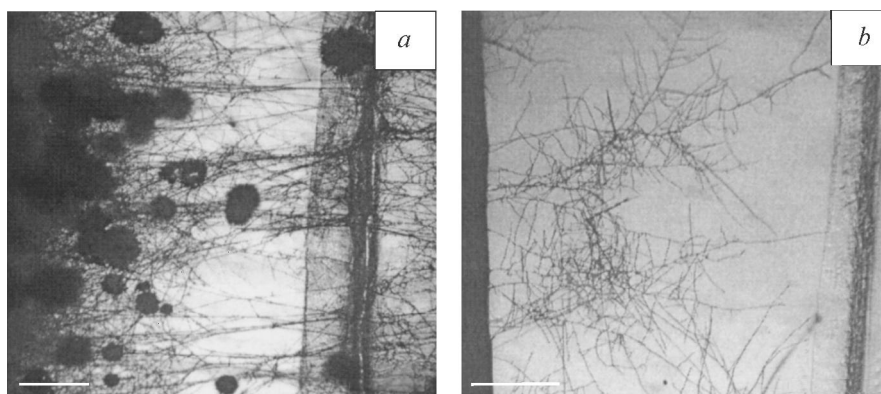


Fig. 7. Morphological responses of mycelium *Aspergillus ochraceus* 278 (*a*) and *A. ochraceus* 48 (*b*) growing towards agar tiles with 8 mM Cu²⁺ on the right-hand side of the images.

The air-gap between the nutrient medium and agar tiles is approximately 2 mm. Scale bar is 0.5 mm.

enzymes, antibiotics, and other metabolites. In the case of a toxic metal-containing domain, aggregated mycelia could produce high local concentrations of many extracellular products, such as chelating and sequestering agents (e. g., organic acids, siderophores, polyphenolic compounds), metal precipitating agents (e. g. oxalate), and polysaccharides and pigments with metal-binding abilities (Gadd, 1993; Dutton, Evans, 1996; Morley et al., 1996; Baldrian, 2003).

Hyphal networks influence on soil structure by binding aggregates together (Tisdall, 1994). The spatial architecture of mycelia will thus affect the scale and degree of such binding and hence the genesis and stability of soil structural characteristics. Thus, fungi can themselves create some of the structural heterogeneity in their environments. Hyphae can overcome a great distances in order to locate new food bases and to assimilate nutrients there. Ritz (1995) has studied the growth responses of *Alternaria alternata*, *Mucor* sp., *Phoma foveata*, *Rhizoctonia solani* and *Trichoderma viride* to heterogeneously distributed nutrient resources using tessellated agar tile microcosm. It has been shown that all species, apart from *Mucor* sp., were capable of limited growth in the systems comprising exclusively low nutrient tiles. *Trichoderma viride* colonized such tiles faster than high nutrient tiles, which is indicative of a foraging to an exploration/exploitation strategy depending upon the relative abundance of nutrients (Ritz, Crawford, 1990). In our case *Aspergillus niger* 42, *A. niger* 51 and *Fusarium oxysporum* 137 colonized Czapek agar tiles faster than distilled water agar when they grew on the Czapek medium. When the fungal cultures grew on the distilled water agar only *F. oxysporum* 385, *Aspergillus ustus* 135, *Humicola fuscoatra* 36, *Stachybotrys chartarum* 357 and *Ulocladium alternariae* 218 colonized Czapek agar tiles faster than distilled water agar tiles. Finally, degree of metal-containing agar tiles fungal colonization was substantially reduced with increasing of copper ions concentration.

It is well known that exponential growth cannot proceed indefinitely and growth at the colony centre eventually becomes restricted. This is due to factors such as accumulation of inhibitory metabolic end-products or staling compounds, unfavorable pH, reduced oxygen supply, space limitation and exhaustion of nutrients (Prosser, 1993). In our experiments investigated strains of fungi delayed and later stopped their growth under negative effect of copper ions. It is important to note that the effects of copper ions on fungal growth have shown intra- and interspecies variability and dependence on metal concentration. Also, it has been observed that a decrease of metal toxicity correlated with an increase in the concentration of available carbon source (Fomina et al., 2003).

In microquantities copper is essential biogenic element for fungal cells. Therefore all fungal cultures described in our study grew directly towards 2 mM Cu²⁺ and several of them to 6—10 mM Cu²⁺. Since fungal hyphae did not turn away from metal-containing agar tiles with these concentrations of copper ions we may suppose that used concentrations were not threshold but it must be established in further investigations.

The mechanisms of many fungal tropic responses especially to heavy metal ions remain obscure. Some chemotropic reactions have been described (Gooday, 1975). The mechanisms of fungal chemotropism should be considered in relation to apical growth of the hyphae where growth stimulation on one side of the apex may cause a bending towards the stimulator. It follows that growth inhibition will cause a bending away from the inhibitor. A chemotropic response must therefore involve recognition of an asymmetric distribution of the chemical at the growing apex that results in the observed growth effects (Gooday, 1975).

In conclusion, tessellated agar tile system in our modification permitted to investigate radial growth rate of filamentous fungi towards heavy metal ions that can be used as complementary index in the different chemotropic responses studies. Also, our findings allow us to understand the processes of fungi behavior in the presence of toxic heavy metals in the environment.

The authors gratefully acknowledge Dr. Fomina M. A. (Zabolotny Institute of Microbiology and Virology of NAS of Ukraine) for helpful discussions and Ms. Ivanova T. P. (Taras Shevchenko Kyiv National University) for technical assistance.

REFERENCES

- Baldrian P. Interaction of heavy metals with white-rot fungi // *Enzyme and Microbial Technology*. 2003. Vol. 32. P. 78—91.
- Dutton M. V., Evans C. S. Oxalate production by fungi — its role in pathogenicity and ecology in the soil environment // *Can. J. Microbiol.* 1996. Vol. 42. P. 881—895.
- Fomina M., Burford E. P., Gadd G. M. Toxic metals and fungal community / Eds J. Dighton, J. F. White, P. Oudemans // *The Fungal Community. Its organization and Role in the Ecosystem*. London; New York; Singapore: Boca Raton; Taylor and Francis, 2005. P. 733—758.
- Fomina M., Ritz K., Gadd G. M. Negative fungal chemotropism to toxic metals // *FEMS Microbiol. Lett.* 2000. Vol. 19. P. 207—211.
- Fomina M., Ritz K., Gadd G. M. Nutritional influence on the ability of fungal mycelia to penetrate toxic metal-containing domains // *Mycol. Res.* 2003. Vol. 107. P. 861—871.
- Gadd G. M. Metals and microorganisms: a problem of definition // *FEMS Microbiol. Lett.* 1992. Vol. 100. P. 197—204.
- Gadd G. M. Interaction of fungi with toxic metals // *New Phytol.* 1993. Vol. 124. P. 25—60.
- Gooday G. W. Chemotaxis and chemotropism in fungi and algae / Ed. M. J. Carlile // *Primitive Sensory and Communication Systems* / London: Acad. Press, 1975. P. 155—204.
- Morley G. F., Sayer J. A., Wilkinson S. C., Gharieb M. M., Gadd G. M. Fungal sequestration, mobilization and transformation of metals and metalloids / Eds J. C. Frankland, N. Magan, G. M. Gadd // *Fungi and Environment Change*. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 1996. P. 235—256.
- Obukhov A. I., Plekhanova I. O. Atomic absorption analysis in soil-biological studies. M.: MSU, 1991. 183 p. (in Russ.).
- Olishevskaya S. V., Manichev V. I., Zakharchenko V. A., Artyshkova L. V., Nakonechnaya L. T., Zhdanova N. N. The influence of heavy metals on soil mycobiota of several industrial regions of Ukraine // *Mycol. Phytopathol.* 2006. 40 (2). P. 133—141 (in Russ.).
- Panikov N. S. Kinetics of microorganisms growth. Moscow: Nauka, 1991. 309 p. (in Russ.).
- Prosser J. I. Growth kinetics of mycelial colonies and aggregates of ascomycetes // *Mycol. Res.* 1993. Vol. 97, N 5. 513—528.
- Rayner A. D. M., Griffith G. S., Ainsworth A. M. Mycelial interconnectedness / Eds N. A. R. Gow, G. M. Gadd // *The Growing Fungus*. London: Chapman and Hall, 1995. P. 21—40.
- Ritz K. Growth responses of some soil fungi to spatially heterogenous nutrients // *FEMS Microbiol. Lett.* 1995. Vol. 16. P. 269—280.
- Ritz K., Crawford J. W. Quantification of the fractal nature of colonies of *Trichoderma viride* // *Mycol. Res.* 1990. Vol. 94. P. 1138—1141.
- Tomsett A. B. Genetics and molecular biology of metal tolerance in fungi / Ed. D. H. Jennings // *Stress tolerance of fung.* England: University of Liverpool, 1995. P. 69—79.
- Trinci A. P. J. Influence of the width of the peripheral growth zone of the radial growth rate of fungal colonies on solid media // *J. Gen. Microbiol.* 1971. Vol. 67. P. 325—344.
- Wainwright M., Gadd G. M. Industrial pollutants / Eds D. T. Wicklow, B. Soderstrom // *Environmental and Microbial Relationships*. Berlin: Springer-Verlag, 1997. P. 86—97.

D. K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology National
Academy of Sciences of Ukraine Kyiv, Ukraine
snezhanaolsh@rambler.ru

Received 12 XI 2007

Р Е З Ю М Е

Хемотропизм мицелиальных почвенных грибов к ионам меди был изучен у 34 штаммов, 22 видов, 12 родов. Модифицированный нами метод агаровых блоков позволил наблюдать за направленностью роста грибных гиф к ионам меди, а также измерять скорость их радиального роста, которая у всех грибов уменьшалась с увеличением концентрации ионов меди. Хемотро-

пические реакции мицелиальных грибов проявлялись на видовом и штаммовом уровне и зависели от состава питательной среды и концентрации ионов меди. Выявлено 15 штаммов грибов, которые направленно росли к агаровым блокам с 2—10 мМ Cu^{2+} , но колонизировали их лишь частично. Только *Paecilomyces lilacinus* 146 и *Curvularia clavata* 627 проявили негативный хемотропизм к 4 мМ Cu^{2+} . Остальные 17 штаммов останавливали рост в направлении к 6—10 мМ Cu^{2+} на 3-и—4-е сутки. Кроме того, под воздействием ионов меди наблюдали морфологические изменения грибного мицелия, которые проявлялись в основном в формировании мицелиальных тяжей и «ведьминых метел».

Ключевые слова: почвенные микромицеты, хемотропизм, ионы меди.

S U M M A R Y

Hyphal growth responses of 34 strains 22 species 12 genera microfungi to copper ions were studied using tessellated agar tile system in our modification. Radial growth rate of all investigated fungi decreased with increasing copper ion concentration. Chemotropism of filamentous fungi towards copper ions showed intra- and interspecies variations and depended on nutrient composition and concentration of metal in agar tiles. It has been found 15 strains of fungi which grew to 2—10 mM copper ions in agar tiles but colonized them partly. Only *Paecilomyces lilacinus* 146 and *Curvularia clavata* 627 exhibited negative chemotropic responses to 4 mM Cu^{2+} , which included curling and growth away from metal-containing domains. Seventeen fungal strains demonstrated growth cessation towards 6—10 mM Cu^{2+} . Moreover, it has been observed morphological changes in fungal mycelium in the presence of copper ions that consist in formation of dense mycelial cords and bushes.

Key words: soil filamentous fungi, chemotropism, copper ions.

БИОРАЗНООБРАЗИЕ, СИСТЕМАТИКА, ЭКОЛОГИЯ

УДК 582.241 : 551.510.04(234.853)

© Б. С. Плотников, К. А. Фефелов

МИКСОМИЦЕТЫ ЮЖНОЙ ТАЙГИ СРЕДНЕГО УРАЛА В ГРАДИЕНТЕ ПРОМЫШЛЕННОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ ВЫБРОСАМИ МЕДЕПЛАВИЛЬНОГО КОМБИНАТА

PLOTNIKOV B. S., FEFELOV K. A. MYXOMYCETES UNDER THE POLLUTION GRADIENT
OF A COPPER PLANT IN SOUTHERN TAIGA, THE MIDDLE URALS

В условиях роста промышленного загрязнения в локальном и глобальном масштабах актуально изучение реакции на него всех компонентов биоты. Воздействие загрязнения на миксомицеты изучено очень слабо. Имеются данные о сборах миксомицетов в ряде крупных городов: Хельсинки (Härkönen, 1977; Härkönen, Ukkola, 2000), Краков (Drozdowicz, 2002), Мадрид (Wrigley de Basanta, 2000), Москва (Барсукова и др., 2006), Санкт-Петербург (Новожилов, 1999), Екатеринбург (Плотников, Фефелов, 2004). Лишь в некоторых из перечисленных работ имеются данные о связи структуры сообществ миксомицетов с величиной антропогенного загрязнения среды. Так, Харконен (Härkönen, 1977) сравнивает три местообитания: девственный лес, разрабатываемый лес и центр г. Хельсинки. Оказалось, что продуктивность образцов из города во влажных камерах была заметно выше, чем в ненарушенном лесу, но видовое разнообразие в ненарушенном лесу было выше, чем в городе.

Имеются данные об особенностях аккумуляции миксомицетами поллютантов в городской среде (Setälä, Nuorteva, 1989). Исследовано содержание металлов в сухих музейных образцах *Fuligo septica* (L.) F. H. Wigg. и *Lycogala epidendrum* (L.) Fr., при этом отмечено аномально высокое содержание цинка у *F. septica* и высокое содержание металлов в целом. Кроме того, проведено сравнение образцов из ряда местообитаний в Финляндии по содержанию тяжелых металлов в плодовых телах этих видов. Так, содержание кадмия в миксомицетах, собранных в сельских районах, было выше, чем в субстратах и микоризообразующих грибах из тех же районов, и сравнимо с содержанием этого элемента в грибах, собранных в центре города.

Кислотные воздействия на кортикулоидные миксомицеты, обитающие на коре живых деревьев, изучали в Мадриде (Wrigley de Basanta, 2000). Были рассмотрены четыре зоны Мадрида и его окрестности с разным уровнем загрязнения воздуха. Загрязнение SO_2 и NO_x увеличивалось с запада (наветренная сторона) на восток (подветренная сторона). В двух западных зонах отмечен наиболее типичный видовой состав миксомицетов для рассматриваемого вида форофита — дуба. Исследования проводили методом влажных камер, используя относительно небольшое количество — 45 культур из наиболее загрязненной, восточной зоны, расположенной за пределами мегаполиса. Культуры содержали почти исключительно крупные миксомицеты из рода *Badhamia*, а также миксомицеты неопределенного вида из рода *Physarum*, при этом во многих плодовых телах отмечен недостаток извести. По мнению автора (Wrigley de Basanta, 2000), это оппортунистичные виды, занявшие нишу, освобожденную более чувствительными к загрязнению видами. Обнаружена также обратная связь между

количеством образцов миксомицетов и степенью загрязнения. Из наименее загрязненной зоны было получено в четыре раза больше образцов миксомицетов, чем из наиболее загрязненной. Количество отдельных плодовых тел, образованных наиболее обильными видами, также находилось в обратной зависимости от степени загрязнения. Кроме того, по мнению автора, некоторые кортикулоидные миксомицеты более восприимчивы к загрязнению, чем другие. Наиболее часто встречающиеся роды *Macbrideola* и *Licea* обильны в самой западной зоне и почти отсутствуют в загрязненной восточной зоне. Автор (Wrigley de Basanta, 2000), отбирая толерантные виды, пришел к заключению, что кислотность может играть значительную роль в распространении кортикулоидных миксомицетов.

Предварительные результаты исследования таксономического состава и субстратных предпочтений миксомицетов в районе действия Среднеуральского медеплавильного завода представлены ранее (Фефелов, 1997; Плотников, 2005). Задача данной работы — показать количественные и качественные изменения видового состава миксомицетов при приближении к источнику загрязнения. Впервые исследовано воздействие выбросов медеплавильного комбината на миксомицеты. Следует отметить, что выбросы медеплавильных комбинатов по сравнению с другими предприятиями оказывают наиболее сильное воздействие на биоту. Это связано с тем, что выбросы включают тяжелые металлы, а также сернистый ангидрид, который приводит к закислению среды и повышению подвижности (соответственно токсического воздействия) тяжелых металлов.

Материал и методы

Исследования проводили в окрестностях Среднеуральского медеплавильного завода (СУМЗ, г. Ревда Свердловской обл.). Завод функционирует с 1940 г. Ингредиенты выбросов — сернистый ангидрид (более 130 тыс. т в год на конец 1980-х годов) и полиметаллическая пыль с абсорбированными токсичными элементами, основные из которых — Cu, Cd, Pb, Zn, As (Воробейчик, 2003). Сбор материала проводили на территориях, примыкающих к заводу с запада (направление против господствующих ветров) в четырех зонах нагрузки, существенно различающихся как по уровню загрязнения, так и по фитоценоотическим параметрам. Пробные площади заложены в ельниках-пихтарниках на дерново-подзолистых почвах.

Фоновая зона располагается в 20—30 км от СУМЗа. Мощность подстилки минимальная, порядка 1 см. Отмечены высокая численность населения почвенной мезофауны с доминированием дождевых червей, высокая скорость протекания деструкционных процессов и быстрая утилизация опада (Воробейчик и др., 1994). Условно коренной древостой на 80 % образован пихтой, на 20 % — елью и единично — березой. Подлесок развит слабо. Растительная ассоциация неморально-кисличная. Для травяно-кустарничкового покрова характерно высокое содержание биомассы и многоярусное сложение (Воробейчик, Хантемирова, 1994).

Зона буферная-2 расположена в 7 км от СУМЗа. Основные параметры древостоя, подстилки и почвенной мезофауны близки к фоновым. Структура растительной ассоциации не меняется по сравнению с фоном, хотя общее количество видов травяно-кустарничкового яруса уменьшается, снижается обилие неморальных видов. Характерной особенностью этой зоны можно считать то, что здесь наблюдается более сильное выпадение кадмия и цинка (из-за особенностей ландшафта), а также их накопление в субстратах по сравнению с участками, расположенными несколько ближе к источнику выбросов. Это связано с невысокой кислотностью, из-за которой снижена подвижность металлов (Кайгородова, Воробейчик, 1996).

Зона буферная-1 расположена на расстоянии 3—4 км от СУМЗа. Здесь резко возрастает содержание тяжелых металлов в почве и ее кислотность. В древесном ярусе возрастает доля сухостоя по запасу, ухудшается жизненное состояние деревьев, уменьшается запас древесины и плотность всходов пихты. Растительная ассоциация сменя-

ется на хвощево-разнотравную, изменяется структура травостоя. В травяно-кустарничковом ярусе доминирует хвощ лесной. Увеличивается биомасса мхов. Снижается обилие и доля в биомассе мелкотравья, выпадают неморальные виды, возрастает доля видов бедных кислых почв, увеличивается доля гемикриптофитов и бореальных голарктических видов. Сокращается общее видовое богатство травяно-кустарничкового яруса. Резко уменьшается биомасса почвенной мезофауны (в особенности дождевых червей). Процессы деструкции замедляются и, как следствие, возрастает мощность подстилки. Характерная особенность ландшафта исследуемой территории — наличие горного хребта Шайтанский увал (максимальная высота на исследуемой трансекте 430 м), расположенного на расстоянии 3 км от завода, между импактной и буферной-1 зонами. Наличие хребта ведет к экранированию второй буферной зоны от выбросов завода и обеспечивает перенос легких загрязняющих частиц через буферную-1 зону к буферной-2 (Кайгородова, Воробейчик, 1996).

Импактная зона расположена в 1—2 км от СУМЗа. Повышенная кислотность почвы и подстилки ведет к декарбонизации, в ельниках-пихтарниках практически отсутствует травянистая растительность, в живом напочвенном покрове доминирует мох *Pohlia nutans*, скорость деструкции снижается почти до нуля, что приводит к еще большему увеличению мощности подстилки. Почвенная мезофауна крайне угнетена, дождевые черви отсутствуют (Воробейчик, Хантемирова, 1994; Воробейчик и др., 1994; Кайгородова, Воробейчик, 1996).

Сбор миксомицетов проводили преимущественно с древесины и коры упавших разлагающихся стволов деревьев, а также мхов, трутовых грибов на этих стволах и опада. Стволы выбирали маршрутным методом (в 1997 и 2004—2005 гг.) либо учитывали все, находящиеся на заранее заложённых пробных площадях размером 10 × 10 м (2006 г., по одной пробной площадке в фоновой, буферной-1 и импактной зонах). На каждом стволе отмечали присутствие видов миксомицетов. Если один и тот же вид встречался на стволе несколько раз, эти находки учитывали при обработке как один образец. В общей сложности было осмотрено 374 ствола (44 — в фоновой, 44 — в буферной-2, 126 — в буферной-1 и 160 — в импактной зоне).

Часть образцов была получена методом влажных камер с корой и лесной подстилкой (по методике, описанной в работах: Harkonen, 1977; Novozhilov et al., 2000). Образцом в данном случае считали один вид, появившийся в одной влажной камере. Было подготовлено порядка 300 влажных камер, однако их продуктивность оказалась невелика (только в 5 % камер были обнаружены плодовые тела миксомицетов).

Плодовые тела миксомицетов фиксировали клеем в картонных контейнерах (1.5 × 3.5 × 5 см). Видовую принадлежность образцов определяли с использованием бинокулярной лупы МБС-10 и световых микроскопов серии «Биолам» по современным систематическим сводкам (Новожилов, 1993; Neubert et al., 1993, 1995, 2000; Mitchell, 2001). Номенклатура приведена в соответствии с работой Ладо (Lado, 2001).

Результаты и обсуждение

Всего на изученной территории выявлено 120 видов миксомицетов из 1091 образца: в фоновой зоне — 78, в буферной-2 — 56, в буферной-1 — 92, в импактной — 66 (см. таблицу).

Из представленных видов 47 не были выявлены ранее для Свердловской обл. (Novozhilov, Fefelov, 2001): *Arcyria minuta* Buchet, *A. occidentalis* (T. Macbr.) G. Lister, *A. oerstedii* Rostaf., *A. stipata* (Schwein.) Lister, *A. versicolor* W. Phillips, *Badhamia panicacea* (Fr.) Rostaf., *B. papaveracea* Berk. et Ravenel, *Barbeyella minutissima* Meyl., *Collaria lurida* (Lister) Nann.-Bremek., *Comatricha ellae* Härk., *C. suksdorfii* Ellis et Everh., *Cribraria atrofusca* G. W. Martin et Lovejoy, *C. macrocarpa* Schrad., *C. mirabilis* (Rostaf.) Masee, *C. purpurea* Schrad., *Diacheopsis metallica* Meyl., *Didymium dubium* Rostaf., *Didymium floriforme* (Bull.) Pers., *Fuligo laevis* Pers., *F. leviderma* H. Neubert, Nowotny et

Видовой состав миксомицетов окрестностей Среднеуральского медеплавильного завода

Таксон	Зона нагрузки					Доля образцов вида для зоны, %			
	fon	buf2	buf1	imp	итого	fon	buf2	buf1	imp
Echinosteliales									
Clastodermataceae									
<i>Barbeyella minutissima</i> Meyl.	2	—	5	—	7	1.00	0.00	1.02	0.00
<i>Clastoderma debaryanum</i> A. Blytt	4	1	9	3	17	1.99	0.61	1.84	1.27
Echinosteliaceae									
<i>Echinostelium minutum</i> de Bary	1	1	5	1	8	0.50	0.61	1.02	0.42
Liceales									
Cribrariaceae									
<i>Cribraria atrofusca</i> G. W. Martin et Lovejoy	—	—	5	3	8	0.00	0.00	1.02	1.27
<i>C. argilaceae</i> (Pers. ex J. F. Gmel.) Pers.	—	1	—	2	3	0.00	0.61	0.00	0.84
<i>C. aurantiaca</i> Schrad.	1	3	3	3	10	0.50	1.82	0.61	1.27
<i>C. cancellata</i> (Batsch) Nann.-Bremek.	5	6	7	5	23	2.49	3.64	1.43	2.11
<i>C. intricata</i> Schrad.	—	—	—	1	1	0.00	0.00	0.00	0.42
<i>C. macrocarpa</i> Schrad.	—	—	1	—	1	0.00	0.00	0.20	0.00
<i>C. microcarpa</i> (Schrad.) Pers.	2	—	1	1	4	1.00	0.00	0.20	0.42
<i>C. mirabilis</i> (Rostaf.) Massee	—	2	1	1	4	0.00	1.21	0.20	0.42
<i>C. piriformis</i> Schrad.	—	—	—	2	2	0.00	0.00	0.00	0.84
<i>C. purpurea</i> Schrad.	—	1	8	2	11	0.00	0.61	1.64	0.84
<i>C. rufa</i> (Roth) Rostaf.	2	5	8	—	15	1.00	3.03	1.64	0.00
<i>C. splendens</i> (Schrad.) Pres.	—	1	1	—	2	0.00	0.61	0.20	0.00
<i>C. tenella</i> Schrad.	2	6	11	3	22	1.00	3.64	2.25	1.27
<i>C. violaceae</i> Rex	4	—	3	1	8	1.99	0.00	0.61	0.42
<i>C. vulgaris</i> Schrad.	2	5	9	3	19	1.00	3.03	1.84	1.27
Liceaceae									
<i>Licea belmontiana</i> Nann.-Bremek.	1	—	—	—	1	0.50	0.00	0.00	0.00
<i>L. chelonoides</i> Nann.-Bremek.	3	—	2	—	5	1.49	0.00	0.41	0.00
<i>L. minima</i> Fr.	7	7	16	3	33	3.48	4.24	3.28	1.27
<i>L. pusilla</i> Schrad.	—	—	1	—	1	0.00	0.00	0.20	0.00
<i>L. pygmaea</i> (Meyl.) Ing	—	2	1	—	3	0.00	1.21	0.20	0.00
<i>L. variabilis</i> Schrad.	1	—	8	7	16	0.50	0.00	1.64	2.95
Reticulariaceae									
<i>Lycogala epidendrum</i> (L.) Fr.	2	4	16	15	37	1.00	2.42	3.28	6.33
<i>L. exiguum</i> Morgan	2	2	8	9	21	1.00	1.21	1.64	3.80
<i>L. flavofuscum</i> (Ehrenb.) Rostaf.	—	—	1	—	1	0.00	0.00	0.20	0.00
<i>Reticularia lycoperdon</i> Bull.	1	—	—	1	2	0.50	0.00	0.00	0.42
<i>Tubulifera arachnoidea</i> Jacq.	2	—	3	5	10	1.00	0.00	0.61	2.11
<i>T. dictyoderma</i> (Nann.-Bremek. et Loer.) Lado	—	—	2	—	2	0.00	0.00	0.41	0.00

Таксон	Зона нагрузки					Доля образцов вида для зоны, %			
	fon	buf2	buf1	imp	итого	fon	buf2	buf1	imp
Stemonitales									
Stemonitidaceae									
<i>Collaria arcyronema</i> (Rostaf.) Nann.-Bremek. ex Lado	2	2	7	3	14	1.00	1.21	1.43	1.27
<i>C. lurida</i> (Lister) Nann.-Bremek.	1	—	1	—	2	0.50	0.00	0.20	0.00
<i>Comatricha elegans</i> (Racib.) G. Lister	1	—	2	4	7	0.50	0.00	0.41	1.69
<i>C. ellae</i> Härk.	1	—	1	1	3	0.50	0.00	0.20	0.42
<i>C. laxa</i> Rostaf.	3	—	4	—	7	1.49	0.00	0.82	0.00
<i>C. nigra</i> (Pers. ex J. F. Gmel.) J. Schröt.	10	7	41	31	89	4.98	4.24	8.40	13.0
<i>C. pulchella</i> (C. Bab.) Rostaf.	1	3	3	2	9	0.50	1.82	0.61	0.84
<i>C. suksdorfii</i> Ellis et Everh.	—	—	—	1	1	0.00	0.00	0.00	0.42
<i>Diacheopsis metallica</i> Meyl.	—	1	2	—	3	0.00	0.61	0.41	0.00
<i>Enerthenema papillatum</i> (Pers.) Rostaf.	5	4	12	7	28	2.49	2.42	2.46	2.95
<i>Lamproderma columbinum</i> (Pers.) Rostaf.	—	—	1	—	1	0.00	0.00	0.20	0.00
<i>L. laxum</i> H. Neubert	—	—	1	—	1	0.00	0.00	0.20	0.00
<i>Paradiacheopsis fimbriata</i> (G. Lister et Cran) Hertel ex Nann.-Bremek.	2	4	11	2	19	1.00	2.42	2.25	0.84
<i>Stemonaria irregularis</i> (Rex) Nann.- Bremek., R. Sharma et Y. Yamam.	1	—	2	—	3	0.50	0.00	0.41	0.00
<i>Stemonitis axifera</i> (Bull.) T. Macbr.	4	3	8	4	19	1.99	1.82	1.64	1.69
<i>S. fusca</i> Roth	4	1	3	—	8	1.99	0.61	0.61	0.00
<i>S. marjana</i> Y. Yamam.	—	—	1	—	1	0.00	0.00	0.20	0.00
<i>S. pallida</i> Wingate	—	—	1	—	1	0.00	0.00	0.20	0.00
<i>S. smithii</i> T. Macbr.	1	2	—	1	4	0.50	1.21	0.00	0.42
<i>S. virginensis</i> Rex	—	—	1	—	1	0.00	0.00	0.20	0.00
<i>Stemonitopsis aequalis</i> (Peck) Y. Ya- mam.	2	1	7	2	12	1.00	0.61	1.43	0.84
<i>S. hyperopta</i> (Meyl.) Nann.-Bremek.	2	—	2	1	5	1.00	0.00	0.41	0.42
<i>S. typhina</i> (F. H. Wigg.) Nann.-Bre- mek.	3	—	6	3	12	1.49	0.00	1.23	1.27
Physarales									
Didymyaceae									
<i>Didymium clavus</i> (Alb. et Schwein.) Rabenh.	1	—	1	—	2	0.50	0.00	0.20	0.00
<i>D. dubium</i> Rostaf.	1	—	—	—	1	0.50	0.00	0.00	0.00
<i>D. melanospermum</i> (Pers.) T. Macbr.	2	—	1	—	3	1.00	0.00	0.20	0.00
<i>D. minus</i> (Lister) Morgan	1	—	—	—	1	0.50	0.00	0.00	0.00
<i>D. nigripes</i> (Link) Fr.	3	—	—	—	3	1.49	0.00	0.00	0.00
<i>Diderma floriforme</i> (Bull.) Pers.	1	1	—	—	2	0.50	0.61	0.00	0.00
<i>D. radiatum</i> (L.) Morgan	3	8	15	6	32	1.49	4.85	3.07	2.53
Physaraceae									
<i>Badhamia panicea</i> (Fr.) Rostaf.	1	—	1	—	2	0.50	0.00	0.20	0.00
<i>B. papaveracea</i> Berk. et Ravenel	—	—	1	—	1	0.00	0.00	0.20	0.00
<i>B. utricularis</i> (Bull.) Berk.	—	1	1	1	3	0.00	0.61	0.20	0.42

Таксон	Зона нагрузки					Доля образцов вида для зоны, %			
	<i>fon</i>	<i>buf2</i>	<i>buf1</i>	<i>imp</i>	итого	<i>fon</i>	<i>buf2</i>	<i>buf1</i>	<i>imp</i>
<i>Craterium aureum</i> (Schumach.) Rostaf.	1	—	—	—	1	0.50	0.00	0.00	0.00
<i>C. leucocephalum</i> (Pers. ex J. F. Gmel.) Ditmar	1	—	—	—	1	0.50	0.00	0.00	0.00
<i>Fuligo laevis</i> Pers.	—	—	3	1	4	0.00	0.00	0.61	0.42
<i>F. leviderma</i> H. Neubert, Nowotny et K. Baumann	—	—	—	1	1	0.00	0.00	0.00	0.42
<i>F. septica</i> (L.) F. H. Wigg.	2	—	5	4	11	1.00	0.00	1.02	1.69
<i>Physarum album</i> (Bull.) Chevall.	22	11	41	8	82	10.95	6.67	8.40	3.38
<i>P. aurantiacum</i> Y. Yamam. et Nann.-Bremek.	1	—	—	—	1	0.50	0.00	0.00	0.00
<i>P. bethelii</i> T. Macbr. ex G. Lister	—	1	—	—	1	0.00	0.61	0.00	0.00
<i>P. cinereum</i> (Batsch) Pers.	1	1	1	2	5	0.50	0.61	0.20	0.84
<i>P. citrinum</i> Schumach.	—	1	1	—	2	0.00	0.61	0.20	0.00
<i>P. confertum</i> T. Macbr.	1	—	—	—	1	0.50	0.00	0.00	0.00
<i>P. diderma</i> Rostaf.	—	—	2	—	2	0.00	0.00	0.41	0.00
<i>P. dubium</i> Nann.-Bremek. et Y. Yamam.	—	1	—	—	1	0.00	0.61	0.00	0.00
<i>P. flavicomum</i> Berk.	2	—	3	—	5	1.00	0.00	0.61	0.00
<i>P. globuliferum</i> (Bull.) Pers.	—	—	2	—	2	0.00	0.00	0.41	0.00
<i>P. leucopus</i> Link	3	2	2	1	8	1.49	1.21	0.41	0.42
<i>P. leucophaeum</i> Fr.	1	—	2	2	5	0.50	0.00	0.41	0.84
<i>P. notabile</i> T. Macbr.	—	1	4	2	7	0.00	0.61	0.82	0.84
<i>P. psittacinum</i> Ditmar	1	2	3	2	8	0.50	1.12	0.61	0.84
<i>P. pulcherripes</i> Peck	1	1	—	—	2	0.50	0.61	0.00	0.00
<i>P. straminipes</i> Lister	1	—	—	—	1	0.50	0.00	0.00	0.00
<i>P. sulphureum</i> Alb. et Schwein.	1	—	1	—	2	0.50	0.00	0.20	0.00
<i>P. viride</i> (Bull.) Pers.	4	4	7	1	16	1.99	2.42	1.43	0.42

Trichiales**Dianematace**

<i>Calomyxa metallica</i> (Berk.) Nieuwl.	—	1	4	—	5	0.00	0.61	0.82	0.00
---	---	---	---	---	---	------	------	------	------

Trichiaceae

<i>A. cinerea</i> (Bull.) Pers.	10	8	10	6	34	4.98	4.85	2.04	2.53
<i>A. ferruginea</i> Saut.	3	—	3	1	7	1.49	0.00	0.61	0.42
<i>A. helvetica</i> (Meyl.) H. Neubert, Nowotny et K. Baumann	1	—	—	—	1	0.50	0.00	0.00	0.00
<i>A. incarnata</i> (Pers. ex J. F. Gmel.) Pers.	5	1	8	—	14	2.49	0.61	1.64	0.00
<i>A. insignis</i> Kalchbr. et Cooke	1	1	1	1	4	0.50	0.61	0.20	0.42
<i>A. minuta</i> Buchet	—	—	—	1	1	0.00	0.00	0.00	0.42
<i>A. obvelata</i> (Oeder) Onsberg	2	2	5	3	12	1.00	1.21	1.02	1.27
<i>A. occidentalis</i> (T. Macbr.) G. Lister	—	—	—	1	1	0.00	0.00	0.00	0.42
<i>A. oerstedii</i> Rostaf.	1	—	2	—	3	0.50	0.00	0.41	0.00

Таксон	Зона нагрузки					Доля образцов вида для зоны, %			
	<i>fon</i>	<i>buf2</i>	<i>buf1</i>	<i>imp</i>	итого	<i>fon</i>	<i>buf2</i>	<i>buf1</i>	<i>imp</i>
<i>A. pomiformis</i> (Leers) Rostaf.	2	4	11	20	37	1.00	2.42	2.25	8.44
<i>A. stipata</i> (Schwein.) Lister	—	—	1	—	1	0.00	0.00	0.20	0.00
<i>A. versicolor</i> W. Phillips	—	—	1	—	1	0.00	0.00	0.20	0.00
<i>Hyporhamma abietina</i> (Wigand) Lado	1	—	1	—	2	0.50	0.00	0.20	0.00
<i>H. clavata</i> (Pers.) Lado	3	4	2	1	10	1.49	2.42	0.41	0.42
<i>H. leiotricha</i> (Lister) Lado	—	—	—	1	1	0.00	0.00	0.00	0.42
<i>H. serpula</i> (Scop.) Lado	1	—	—	—	1	0.50	0.00	0.00	0.00
<i>Leocarpus fragilis</i> (Dicks.)	1	1	2	—	4	0.50	0.61	0.41	0.00
<i>Metatrichia floriformis</i> (Schwein.) Nann.-Bremek.	—	—	1	—	1	0.00	0.00	0.20	0.00
<i>M. rosea</i> (Flatau et Nann.-Bremek.) Nann.-Bremek.	—	1	1	1	3	0.00	0.61	0.20	0.42
<i>M. vesparia</i> (Batsch) Nann.-Bremek. ex G. W. Martin et Alexop.	2	4	8	4	18	1.00	2.42	1.64	1.69
<i>Perichaena corticalis</i> (Batsch) Rostaf.	1	—	1	3	5	0.50	0.00	0.20	1.27
<i>P. pedata</i> (Lister et G. Lister) Lister ex E. Jahn	—	1	—	—	1	0.00	0.61	0.00	0.00
<i>Trichia alpina</i> (R. E. Fr.) Meyl.	—	—	1	—	1	0.00	0.00	0.20	0.00
<i>T. botrytis</i> (J. F. Gel.) Pers.	3	4	5	—	12	1.49	2.42	1.02	0.00
<i>T. contorta</i> (Ditmar) Rostaf.	—	1	1	4	6	0.00	0.61	0.20	1.69
<i>T. decipiens</i> (Pers.) T. Macbr.	8	7	36	5	56	3.98	4.24	7.38	2.11
<i>T. erecta</i> Rex	3	1	2	1	7	1.49	0.61	0.41	0.42
<i>T. favoginea</i> (Batsch) Pers.	4	8	16	4	32	1.99	4.85	3.28	1.69
<i>T. flavicoma</i> (Lister) Ing	—	—	—	1	1	0.00	0.00	0.00	0.42
<i>T. lutescens</i> (Lister) Lister	—	—	—	1	1	0.00	0.00	0.00	0.42
<i>T. scabra</i> Rostaf.	2	1	2	3	8	1.00	0.61	0.41	1.27
<i>T. subfusca</i> Rex	1	—	3	2	6	0.50	0.00	0.61	0.84
<i>T. varia</i> (Pers. ex J. F. Gmel.) Pers.	3	5	11	9	28	1.49	3.03	2.25	3.80
Количество образцов	201	165	488	237	1091	100	100	100	100
Количество видов	78	56	92	66	120				

Примечание. *fon* — фоновая, *buf2* — буферная-2, *buf1* — буферная-1, *imp* — импактная зона. Прочерк — отсутствие вида.

K. Baumann, *Hyporhamma abietina* (Wigand) Lado, *Lamproderma columbinum* (Pers.) Rostaf., *L. laxum* H. Neubert, *Licea belmontiana* Nann.-Bremek., *L. chelonoides* Nann.-Bremek., *L. pusilla* Schrad., *L. pygmaea* (Meyl.) Ing, *Lycogala flavofuscum* (Ehrenb.) Rostaf., *Metatrichia floriformis* (Schwein.) Nann.-Bremek., *M. rosea* (Flatau et Nann.-Bremek.) Nann.-Bremek., *Perichaena pedata* (Lister et G. Lister) Lister ex E. Jahn, *Physarum aurantiacum* Shuang L. Chen, Yu Li et H. Z. Li, *P. bethelii* T. Macbr. ex G. Lister, *P. cinereum* (Batsch) Pers., *P. confertum* T. Macbr., *P. diderma* Rostaf., *P. dubium* Nann.-Bremek. et Y. Yamam., *P. flavicomum* Berk., *P. sulphureum* Alb. et Schwein., *Stemonaria irregularis* (Rex) Nann.-Bremek., R. Sharma et Y. Yamam., *Stemonitis marjana* Y. Yamam., *S. virginensis* Rex, *Stemonitopsis aequalis* (Peck) Y. Yamam., *Trichia alpina*

(R. E. Fr.) Meyl., *T. erecta* Rex, *T. flavicoma* (Lister) Ing, *Tubulifera dictyoderma* (Nann.-Bremek. et Loer.) Lado.

Обнаружено 33 вида миксомицетов во всех зонах нагрузки. Рассмотрим наиболее обильные из них, принимая за границу отсчета 3 % от общего количества образцов. В фоновой зоне обильны *Physarum album* (Bull.) Chevall., *Arcyria cinerea* (Bull.) Pers., *Comatricha nigra* (Pers. ex J. F. Gmel.) J. Schrot., *Trichia decipiens* (Pers.) T. Macbr., *Licea minima* Fr. В зоне буферной-2 — *P. album*, *T. favoginea* (Batsch) Pers., *Diderma radiatum* (L.) Morgan, *A. cinerea*, *C. nigra*, *T. decipiens*, *L. minima*, *Cribraria tenella* Schrad., *C. cancellata* (Batsch) Nann.-Bremek. В зоне буферной-1 — *C. nigra*, *P. album*, *T. decipiens*, *Lycogala epidendrum* (L.) Fr., *T. favoginea*, *Licea minima*, *D. radiatum*. В импактной зоне — *C. nigra*, *A. pomiformis* (Leers) Rostaf., *Lycogala epidendrum*, *T. varia* (Pers. ex J. F. Gmel.) Pers., *L. exiguum* Morgan, *P. album*. Только два вида (*C. nigra* и *P. album*) обильны во всех без исключения зонах. Относительное обилие *L. epidendrum*, *L. exiguum* и *C. nigra*, *A. cinerea* увеличивается при приближении к заводу, а *P. album* и *A. pomiformis* — уменьшается.

Одиннадцать видов были обнаружены только в фоновой зоне и отсутствуют в других: *Arcyria helvetica* (Meyl.) H. Neubert, Nowotny et K. Baumann, *Craterium aureum* (Schumach.) Rostaf., *C. leucocephalum* (Pers. ex J. F. Gmel.) Ditmar, *Didymium nigripes* (Link) Fr., *D. dubium*, *D. minus* (Lister) Morgan, *Hyporhamma serpula* (Scop.) Lado, *Licea belmontiana* Nann.-Bremek., *Physarum aurantiacum*, *P. confertum*, *P. straminipes* Lister. Для зоны буферной-2 уникальны только три вида: *Perichaena pedata*, *Physarum thelii*, *P. dubium*. Для зоны буферной-1 — 16 видов: *A. stipata*, *A. versicolor*, *Badhamia papaveracea*, *Cribraria macrocarpa*, *Lamproderma columbinum*, *L. laxum*, *Licea pusilla*, *Lycogala flavofuscum*, *Metatrichia floriformis*, *Stemonitis marjana*, *S. pallida* Wingate, *S. virginensis*, *Trichia alpina*, *Physarum diderma*, *P. globuliferum* (Bull.) Pers., *Tubulifera dictyoderma*. Для импактной зоны уникальны 9 видов: *Arcyria minuta*, *A. occidentalis*, *Comatricha suksdorfii*, *Cribraria intricata* Schrad., *C. piriformis* Schrad., *Fuligo leviderma*, *Hyporhamma leiotricha* (Lister) Lado, *Trichia flavicoma*, *T. lutescens* (Lister) Lister.

Представленные в таблице виды принадлежат к 30 родам миксомицетов, из которых 26 отмечены в фоновой зоне, 22 — в буферной-2, 28 — в буферной-1, 22 — в импактной. Во всех зонах наиболее обильны представители родов *Trichia*, *Physarum*, *Cribraria* и *Comatricha* (рис. 1). Относительное обилие (отношение количества образцов представителей рода к общему количеству образцов в зоне) рода *Physarum* закономерно уменьшается при приближении к заводу, а рода *Comatricha* — увеличивается.

Представители всех пяти порядков, описанных к настоящему времени, обнаружены во всех зонах. В буферной-1 и буферной-2 зонах обнаружены представители всех 10 семейств, описанных к настоящему времени. В импактной и фоновой зонах отсутствуют представители только семейства *Dianemataceae*, так как они редки в умеренной зоне и их сборы единичны.

При рассмотрении спектра порядков по количеству видов и относительному обилию видно, что доля видов порядка *Physarales* уменьшается при приближении к заводу (прежде всего за счет рода *Physarum*), а порядков *Trichiales* и *Liceales*, напротив, увеличивается (рис. 2). По количеству образцов картина сходна: относительное обилие порядка *Physarales* уменьшается, а порядка *Liceales* увеличивается. Также увеличивается относительное обилие порядка *Stemonitales*.

Анализ представленных материалов свидетельствует об определенных изменениях видового состава миксомицетов по мере приближения к источнику загрязнения. Они не очень велики, особенно по сравнению с изменениями других компонентов экосистем: высших растений (Воробейчик, Хантемирова, 1994), эпифитных лишайников (Михайлова, Воробейчик, 1995) и почвенной мезофауны (Воробейчик и др., 2007). Следует отметить, что общее количество видов для района исследования площадью около 150 км² превысило отмеченное ранее для всей Свердловской обл. — 101 вид (Novozhilov, Fefelov, 2001) для района площадью 195 тыс. км². Это связано с крайне низкой изученностью миксомицетов в Уральском регионе, как и в других регионах России, и малым количеством специалистов. По видовой насыщенности наш резуль-

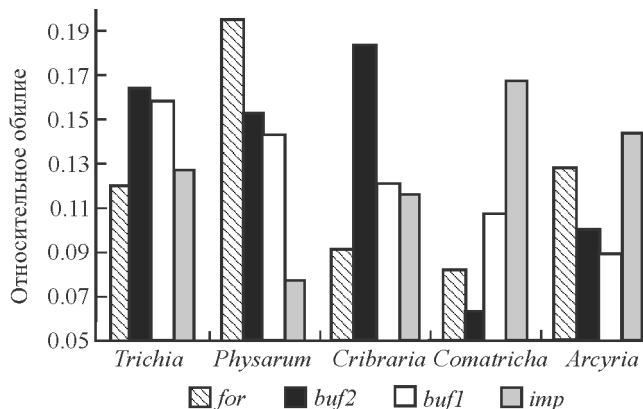


Рис. 1. Соотношение наиболее обильных родов.
fon — фоновая, *buf2* — буферная-2, *buf1* — буферная-1, *imp* — импактная зоны.

тат сравним с исследованиями других районов. Так, в Карелии зарегистрировано 93 вида представленных 348 образцами (Shnittler, Novozhilov, 1996). В Национальном парке Грейт-Смоки-Маунтинс (Great-Smokey-Mountains) в США на площади 2080 км² выявлено 167 видов миксомицетов (Stephenson et al., 2001).

На встречаемость миксомицетов и их видовой состав может оказывать влияние значительное число факторов: непосредственное воздействие промышленных выбросов и отдельных компонентов этих выбросов, косвенное — через изменения других компонентов экосистем. Большое значение могут иметь ландшафт, а также иные факторы, в том числе и случайные.

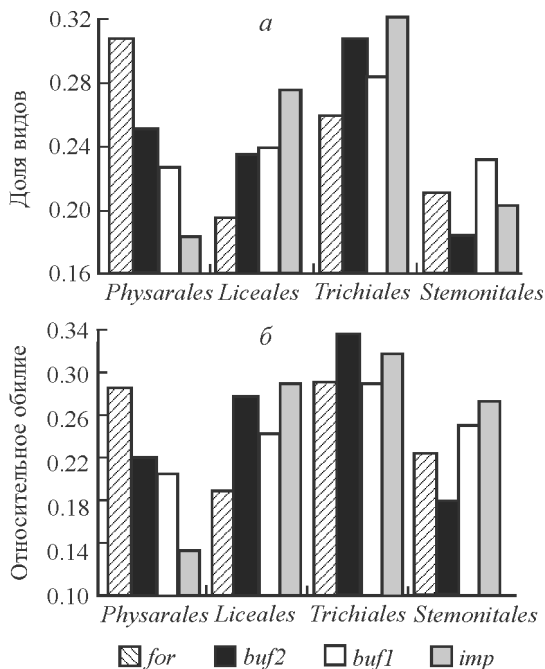


Рис. 2. Соотношение порядков по количеству видов (а) и относительному обилию (б).
 Порядок *Echinosteliales* не показан из-за его малой доли в количестве видов и относительном обилии. *fon* — фоновая, *buf2* — буферная-2, *buf1* — буферная-1, *imp* — импактная зоны.

По нашему мнению, наибольшее влияние на изменение видового состава миксомицетов оказывает увеличение кислотности субстратов. Можно предположить, что повышение кислотности субстрата угнетает миксомицеты только при превышении определенного порога концентрации, который достигается в импактной зоне. Исключение составляют миксомицеты порядка *Physarales*, которые снижают свое присутствие при приближении к источнику загрязнения равномерно, а не скачкообразно. Это, вероятно, связано с тем, что у всех представителей порядка в структурах плодового тела откладывается известь, а при наличии подкисления среды происходит вымывание кальция из субстрата и соответственно затруднено формирование плодовых тел. Увеличение роли остальных порядков, прежде всего порядка *Liceales*, можно объяснить тем, что они занимают освободившуюся нишу.

Исследования видового состава миксомицетов г. Екатеринбурга (Плотников, Феллов, 2004) показывают высокий уровень видового разнообразия миксомицетов на территориях, загрязненных свинцом и цинком (Карта..., 1993). Можно предположить, что прямое действие тяжелых металлов в данных концентрациях вызывает незначительное подавление жизнедеятельности миксомицетов. Интересна корреляция снижения видового разнообразия миксомицетов в буферной-2 зоне с повышением концентрации кадмия и цинка в этой зоне по сравнению с буферной-1. Возможно, именно поэтому общее видовое разнообразие в буферной-2 зоне не укладывается в общую схему равномерного убывания количества видов при приближении к источнику загрязнения, тогда как соотношение порядков *Physarales* и *Liceales*, связанное с кислотностью, общей картине соответствует. Необходимо при этом отметить, что промышленное усилие в буферной-2 зоне было несколько слабее, чем в других зонах. Однако, как показали оценки кумулятивных кривых (Плотников, 2007), видовое разнообразие в зоне буферной-2 все-таки ниже, чем в буферной-1, но на это могут влиять и еще некоторые факторы, описанные далее.

Косвенно загрязнения могут влиять на видовое разнообразие миксомицетов посредством изменения других биогенных компонентов экосистем. Уменьшение количества микроорганизмов в субстрате при приближении к источнику загрязнения может приводить к подрыву пищевой базы миксомицетов (Воробейчик и др., 1994). Увеличение количества мертвых стволов деревьев благоприятно для миксомицетов, однако уменьшение скорости их разложения действует противоположным образом. В буферной-2 зоне наблюдается изменение субстратной приуроченности дождевых червей, полностью отсутствующих в импактной и имеющих низкую численность в буферной-1 зоне. Они населяют не только лесную подстилку (как в фоновой зоне), но и обитают под корой разлагающихся стволов (Воробейчик и др., 2007). Возможно, что они могут оказывать негативное влияние на миксомицеты, поедая их вместе с субстратом. Следовательно, косвенные факторы могут оказывать разнонаправленное влияние на разнообразие видового состава миксомицетов при приближении к источнику загрязнения.

Таким образом, в целом наблюдается тенденция к уменьшению видового богатства и изменению таксономического спектра миксомицетов при приближении к металлургическому комбинату. Однако реакция комплексов миксомицетов выражена достаточно слабо: только в непосредственной близости от завода наблюдается значительное уменьшение количества видов и их встречаемости. Ведущим фактором, скорее всего, служит изменение кислотности субстратов.

Авторы выражают благодарность заведующему Лабораторией популяционной экотоксикологии Института растений и животных УрО РАН д. б. н. Е. Л. Воробейчику за научное руководство и помощь в работе над текстом.

Работа завершена при финансовой поддержке РФФИ (грант № 08-04-91766), программы развития ведущих научных школ (НШ-1022.2008.4) и программы президиума РАН «Биоразнообразие и динамика генофондов».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Барсукова Т. Н., Виноградская Е. Н., Акимова М. Ф. Миксомицеты в лесопарках г. Москвы // Микология и фитопатология. 2006. Т. 40, вып. 3. С. 186—189.
- Воробейчик Е. Л. К методике измерения мощности лесной подстилки для целей диагностики техногенных нарушений экосистем // Экология. 1995. № 4. С. 263—267.
- Воробейчик Е. Л. Реакция лесной подстилки и ее связь с почвенной биотой при токсическом загрязнении // Лесоведение. 2003. № 2. С. 32—42.
- Воробейчик Е. Л., Ермаков А. И., Гребенников М. Е., Голованова Е. В., Кузнецов А. В., Пищулин П. Г. Реакция почвенной мезофауны на выбросы Среднеуральского медеплавильного комбината // Биологическая рекультивация и мониторинг нарушенных земель: Матер. Междунар. науч. конф. Екатеринбург, 2007. С. 128—148.
- Воробейчик Е. Л., Садыков О. Ф., Фарафонов М. Г. Экологическое нормирование техногенных загрязнений наземных экосистем (локальный уровень). Екатеринбург: Наука, 1994. 280 с.
- Воробейчик Е. Л., Хантемирова Е. В. Реакция лесных фитоценозов на техногенное загрязнение: зависимость доза—эффект // Экология. 1994. № 3. С. 31—43.
- Кайгородова С. Ю., Воробейчик Е. Л. Трансформация некоторых свойств серых лесных почв под действием выбросов медеплавильного комбината // Экология. 1996. № 3. С. 187—193.
- Карта экологической ситуации промышленных районов Свердловской области. Федеральная служба геодезии и картографии России. М.: Роскартография, 1993. 1 л.
- Михайлова И. Н., Воробейчик Е. Л. Эпифитные лишайсинузии в условиях химического загрязнения: зависимость доза—эффект // Экология. 1995. № 6. С. 455—460.
- Новожилов Ю. К. Определитель грибов России. Отдел Мухомycota. Вып. 1: Класс Мухомycetes. СПб.: Наука, 1993. 287 с.
- Новожилов Ю. К. Миксомицеты Ленинградской области // Биоразнообразии Ленинградской области: Водоросли. Грибы. Лишайники. Мохообразные. Беспозвоночные животные. Рыбы и рыбообразные. СПб., 1999. С. 197—204.
- Новожилов Ю. К., Фефелов К. А. Аннотированный чек-лист миксомицетов Свердловской области // Микология и фитопатология. 2001. Т. 35, вып. 4. С. 41—52 (на англ. яз.).
- Плотников Б. С. Систематическая структура сообществ миксомицетов в градиенте техногенного загрязнения // Экология: от генов до экосистем: Матер. конф. молодых ученых. Екатеринбург, 2005. С. 206—211.
- Плотников Б. С. Биоразнообразии миксомицетов в зоне действия выбросов медеплавильного комбината // Экология: от Арктики до Антарктики: Матер. конф. молодых ученых. Екатеринбург, 2007. С. 222—245.
- Плотников Б. С., Фефелов К. А. Географический и экологический анализ миксомицетов города // Экологические механизмы динамики и устойчивости биоты: Матер. конф. молодых ученых. Екатеринбург, 2004. С. 180—183.
- Фефелов К. А. Влияние азротехногенного загрязнения тяжелыми металлами и SO₂ на миксомицеты // Безопасность биосферы. Екатеринбург, 1997. С. 221.
- Drozdowicz A. Mухomycetes in the Botanic Garden of the Jagillonian University in Cracow // Scripta Bot. Belg. 2002. Vol. 22. P. 20.
- Härkönen M. Corticolous Mухomycetes in three different habitats in southern Finland // Karsenia. 1977. Vol. 17. P. 19—32.
- Härkönen M., Ukkola T. Conclusions on Mухomycetes over Twenty-Five Years from 4793 Moist Camber Culture // Stapfia. 2000. Vol. 73, N 155. P. 105—112.
- Lado C. Nomenmyx. A nomenclature taxabase of Mухomycetes // Cuadernos de trabajo de Flora Micologica Iberica. Iberica, Madrid: CSIC, 2001. Vol. 16. 221 p.
- Mitchell D. W. Mухomycetes, 2001. CD.
- Neubert H., Nowotny W., Baumann K. Die Mухomyceten Deutschlands und des angrenzenden Alpenraumes unter besonderer Berücksichtigung Osterreichs. Gomaringen: Baumann. 1993. Bd 1; 1995. Bd 2; 2000. Bd 3.

Novozhilov Yu. K., Schnittler M., Zemlianskaia I. V., Fefelov K. A. Biodiversity of plasmodial slime moulds (Myxogastria): measurement and interpretation // *Protistology*. 2000. Vol. 1 (4). P. 161—178.

Schnittler M., Novozhilov Yu. The myxomycetes of boreal woodland in Russian northern Karelia: a preliminary report // *Karstenia*. 1996. Vol. 36. P. 19—40.

Setälä A., Nuorteva P. High metal contents found in *Fuligo septica* (L.) Wiggers and some other slime molds (Myxomycetes) // *Karstenia*. 1989. Vol. 29. P. 37—44.

Stephenson S. L., Schnittler M., Mitchell D. W., Novozhilov Yu. K. Myxomycetes of the Great Smoky Mountains National Park // *Mycotaxon*. 2001. Vol. 78. P. 1—15.

Wrigley de Basanta D. Acid deposition in Madrid and corticolous Myxomycetes // *Stapfia*. 2000. Vol. 155. P. 113—120.

Институт экологии растений и животных УрО РАН
Екатеринбург
Pbs@front.ru

Поступила 16 IV 2008

Р Е З Ю М Е

Район исследования расположен в окрестностях Среднеуральского медеплавильного завода (г. Ревда Свердловской обл., подзона южной тайги). Сбор материала проводили на территориях в четырех зонах нагрузки: импактной (1—2 км к западу от комбината), буферной-1 (4 км), буферной-2 (7 км) и фоновой (20—30 км) в ельниках-пихтарниках на дерново-подзолистых почвах. Большинство плодовых тел было собрано с разлагающихся стволов деревьев. Всего было обнаружено 120 видов миксомицетов. Все 5 известных порядков были представлены в каждой зоне. Только одно семейство не было обнаружено в импактной и буферной-2 зонах. Относительное обилие и численность видов значительно снижались только в импактной зоне. Было обнаружено, что относительное обилие и число видов порядка *Physarales* снижалось вблизи завода, тогда как эти же параметры порядка *Liceales* повышались.

Ключевые слова: комплексы миксомицетов, Средний Урал, промышленное загрязнение, медеплавильный комбинат.

S U M M A R Y

The study area situated in the vicinity of a copper smelter (Revda town, Sverdlovsk Region) (southern taiga subzone). Sample plots were laid down in impact (1—2 km to the west of the smelter), buffer 1 (4 km), buffer 2 (7 km), and background (20—30 km) zones in spruce-fir forests of different associations on grey forest soil. Most fruiting bodies were collected from decaying logs. Totally 120 species of myxomycetes were found. All the five known orders were presented in every zone. Only one family was not found in impact and buffer 2 zones. The abundance and number of species noticeably decreased only in impact zone. It was found that abundance and species number of the order *Physarales* lessened close to the plant, while those parameters of the order *Liceales* increased.

Key words: myxomycete complexes, Middle Urals, industrial pollution, copper plant.

УДК 581.524.1 : 635.8

© Д. Н. Савельева, О. В. Камзолкина

**СОВМЕСТНОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ
РОДА *PLEUROTUS* С ЭПИФИТНЫМИ ДРОЖЖАМИ**SAVELIEVA D. N., KAMZOLKINA O. V. CULTIVATION OF SOME SPECIES
FROM GENUS *PLEUROTUS* WITH EPIPHYTIC YEASTS

Эпифитные дрожжи широко распространены в природе на поверхности стеблей, листьев, плодов и ягод травянистых и древесных растений. Они не участвуют непосредственно в процессе разложения древесины, так как не имеют необходимых гидролитических ферментов, однако могут стимулировать рост мицелиальных грибов-ксилотрофов и служить для них дополнительным источником питания (Hutchison, Barron, 1996). Паразитизм грибов на дрожжевых клетках, а также на бактериях и одноклеточных водорослях подробно описан на примере устричной вешенки *Pleurotus ostreatus* (Barron, 1988; Hutchison, Barron, 1996, 1997). Главным лимитирующим фактором для развития ксилотрофных грибов является недостаток азота в древесине, поэтому считается, что клетки микроорганизмов служат для гриба дополнительным источником в первую очередь азота (Barron, 1988).

Все виды рода *Pleurotus* — ксилотрофные грибы. Они обитают на мертвой или живой ослабленной древесине хвойных и лиственных пород деревьев, вызывая белую гниль, т. е. разрушают как целлюлозу, так и лигнин древесины. Большинство видов вешенки обладает высокой скоростью роста и успешно культивируются на различных питательных средах в лабораторных условиях, что делает эти виды удобным объектом для изучения макро- и микроморфологических признаков гриба в условиях чистых культур.

Грибы рода *Pleurotus* широко распространены в природе, они являются ценным объектом для пищевой и парфюмерной промышленности, медицины и фармакологии. Как виды-космополиты — легочная и устричная, так и экзотические — розовая и лимонношляпковая вешенки культивируются в искусственных условиях в промышленных масштабах. Плодовые тела грибов ценятся не только по вкусовым качествам, но и за содержание биологически активных веществ, обладающих противомикробным, противоопухолевым, гиполипидемическим и другими свойствами (Lindequist et al., 2005). В связи с этим виды рода *Pleurotus* культивируются не только в пищевых целях, но и как объекты для медицинских исследований.

Вешенка лимонношляпковая — *P. citrinopileatus* Singer — субтропический вид, распространен в странах Юго-Восточной Азии, на юге Японии, в Китае, а также в Дальневосточном регионе России. Гриб произрастает на валеже широколиственных деревьев, таких как дуб, вяз, бук. Плодовые тела «золотого устричного гриба» ценятся не только за эффектную лимонную окраску и приятный ореховый запах, но и за свои медицинские свойства (например, экстракты из плодовых тел обладают гиполипидемическим действием).

Розовая вешенка — *P. djamor* (Rumph. ex Fr.) Boedijn — распространена в зоне тропиков и субтропиков, встречается на древесине пальмы, гевеи и бамбука (Sta-

mets, 2000). Гриб уступает по вкусовым качествам другим видам рода, но высоко ценится в кулинарии за необычный ярко-розовый цвет плодовых тел.

Королевская вешенка, или степной белый гриб, — *Pleurotus eryngii* (DC.) Gillet — растет на погребенных корнях и в основании отмерших стеблей зонтичных растений в степной зоне России, а также на юге Европы, в Северной Африке и в Центральной Азии. Название вида происходит от родового названия одного из «хозяев» гриба — синеголовника (род *Eryngium*). Королевская вешенка съедобна и широко культивируется в искусственных условиях, а также является продуцентом биологически активных веществ (например, гемолизина, ловастатина и др.).

Вешенка легочная — *P. pulmonarius* (Fr.) Quél. — космополит, один из самых распространенных видов рода. Гриб обитает на мертвой древесине хвойных и лиственных пород деревьев; в искусственных условиях неприхотлив, широко культивируется по всему миру. Экстракты из мицелия и плодовых тел вешенки легочной содержат различные биологически активные вещества, обладающие антиоксидантным, противовоспалительным и онкостатическим свойствами (Joes et al., 2002).

Свойство грибов вступать в ассоциации с микроорганизмами открывает перспективу использования совместных культур грибов и микроорганизмов в промышленном грибоводстве, а также в процессе получения биологически активных веществ. Изучение ассоциаций грибов с микроорганизмами, таким образом, представляет как научный, так и практический интерес.

Ранее были описаны механизмы взаимодействия мицелия *P. ostreatus* и *P. pulmonarius* и клеток дрожжей (Камзолкина и др., 2006). Целью настоящей работы было исследование морфолого-культуральных признаков совместных культур *P. citrinopileatus*, *P. djamor*, *P. eryngii*, *P. pulmonarius* и нескольких видов эпифитных дрожжей из разных систематических групп в лабораторных условиях и в процессе плодообразования.

Материал и методы

В опытах использовали штаммы четырех видов рода *Pleurotus*: 1) *P. citrinopileatus* Singer, сортовой штамм Santana 304P; 2) *P. djamor* (Rumph. ex Fr.) Boedijn, сортовой штамм Santana RP; 3) *P. eryngii* (DC.) Gillet, сортовой штамм CP; 4) *P. pulmonarius* (Fr.) Quél. БФ-32, природный изолят.

Проведено совместное культивирование вешенки с тремя видами базидиальных эпифитных дрожжей: *Cryptococcus albidus* (Saito) C. E. Skinner, *Cystofilobasidium capitatum* (Fell, I. L. Hunter et Tallman) Oberw. et Bandoni, *Rhodotorula minuta* (Saito) F. C. Harrison, — и тремя видами сумчатых эпифитных дрожжей: *Hanseniасpora uvarum* (Niehaus) Shehata, Mrak et Phaff, *Metschnikowia pulcherrima* Pitt. et M. W. Mill., *Saccharomyces cerevisiae* Meyen ex E. C. Hansen (штаммы 3785 и 3809).

Микроорганизмы культивировали в чашках Петри отдельно и совместно на 1.5%-м голодном агаре. Чашки Петри инкубировали в термостате при 25 ± 1 °С. Мицелий гриба инокулировали в центр чашки Петри на поверхность среды. Через 7 суток роста на поверхность среды наносили каплю (50 мкл) водной суспензии дрожжей (концентрация клеток 10^6 в 1 мл), выращенных на скошенном сусло-агаре (2.4 °Б), в трех местах на расстоянии 1.5—2 см от края колонии гриба. Совместные культуры вешенки и дрожжей инкубировали в термостате еще 3—4 суток. Все эксперименты проводили в трех повторностях.

Морфологию совместных культур исследовали визуально, а также при помощи светового микроскопа Axioskop 40FL. Наблюдение за микроморфологией монокультур и совместных культур микроорганизмов проводили на 3-и—4-е сутки совместного роста. Для приготовления препаратов в зоне контакта мицелия и колонии дрожжей вырезали блок агара и помещали его в каплю воды на предметное стекло. Препараты микроскопировали при увеличениях 40 и 100; микрофотографии были получены с помощью цифровой камеры AxioCam MRc (Zeiss).

В опытах по выгонке плодовых тел грибов использовали два вида вешенки: *Pleurotus citrinopileatus* и *P. djamor* — и два вида дрожжей: *Hanseniaspora uvarum* и *Saccharomyces cerevisiae*. Посевной мицелий грибов выращивали на пшеничном зерне. Зерно отваривали, смешивали с мелом (3 %), помещали в колбы Эрленмейера и автоклавировали в режиме 1 атм./30 мин. Блок агара с мицелием гриба переносили в колбу с помощью посевной иглы. Колбы инкубировали в термостате при температуре 24 ± 1 °С. В качестве субстрата для культивирования использовали подсолнечную лузгу, которую замачивали в кипятке на 1 ч, затем помещали в стеклянные банки объемом 450 мл и автоклавировали дважды в режиме 1 атм./30 мин. Заращивание субстрата производили в термостате при температуре 24 ± 1 °С. Выгонку плодовых тел осуществляли во влажной камере при температуре 22.5 °С и относительной влажности воздуха 95 %.

Водную суспензию дрожжей (концентрация клеток 10^6 в 1 мл), выращенных на скошенном сусло-агаре (2.4 °Б), вносили в субстрат на 4-е сутки после его инокуляции мицелием в количестве 5 мл на одну банку. В качестве контроля использовали субстрат без добавления суспензии. Все эксперименты проводили в трех повторностях. В работе приведены данные первой волны плодоношения.

Результаты и обсуждение

На 3-и—4-е сутки совместного роста на голодном агаре мицелий гриба полностью зарастал микроколонии дрожжей на поверхности среды. Присутствие дрожжей не ингибировало и не ускоряло роста мицелия четырех исследованных видов вешенки.

В монокультурах вешенки на голодной среде воздушный мицелий был развит слабо и основная масса гиф была погружена в субстрат. В совместных культурах в зонах контакта с дрожжевыми колониями был хорошо развит воздушный мицелий.

Гифы мицелия были частично инкрустированы различной формы кристаллами как в монокультурах, так и в совместных культурах. Мицелий грибов в монокультурах был инкрустирован преимущественно мелкими шаровидными кристаллами; в совместных культурах гифы были инкрустированы мелкими шаровидными, игольчатыми и палочковидными, а также крупными прямоугольными кристаллами.

В монокультурах четырех видов вешенки на поверхности среды были обнаружены единичные крупные кристаллы прямоугольной или октаэдрической формы. В совместных культурах наблюдалась тенденция к увеличению количества кристаллов на поверхности среды. Наибольшее количество кристаллов было обнаружено в совместных культурах грибов с *Metschnikowia pulcherrima* и *Saccharomyces cerevisiae*. По-видимому, присутствие дрожжей влияет на метаболизм клеток мицелия и вызывает усиленное образование кристаллов.

Было отмечено, что в совместных культурах частота ветвления гиф мицелия в зоне контакта с колониями дрожжей увеличивалась в среднем в 2—4 раза, о чем свидетельствовало уменьшение расстояния между соседними боковыми веточками одной гифы вблизи апикального кончика (в среднем от 40—80 до 15—40 мкм). Учащение ветвления гиф мицелия может свидетельствовать об увеличении поверхности контакта мицелия с дрожжевыми колониями.

Наиболее характерным признаком изменения микроморфологии мицелия в присутствии микроорганизмов считается наличие на гифах сосочковидных выростов, образующихся для формирования контакта и проникновения внутрь дрожжевых клеток (Камзолкина и др., 2006). Это короткие выросты гиф: 0.5—5 мкм в дл., 1—2 мкм в шир. в основании, — расположенные по одному или несколько на одну клетку гифы (рис. 1). Было обнаружено появление сосочковидных выростов у всех четырех видов грибов в присутствии всех исследованных видов дрожжей. В монокультуре грибов выростов не обнаружено.

Коралловидные структуры наблюдали в следующих совместных культурах: *Pleurotus citrinopileatus* с *Cryptococcus albidus* и *Metschnikowia pulcherrima*; *Pleurotus dja-*

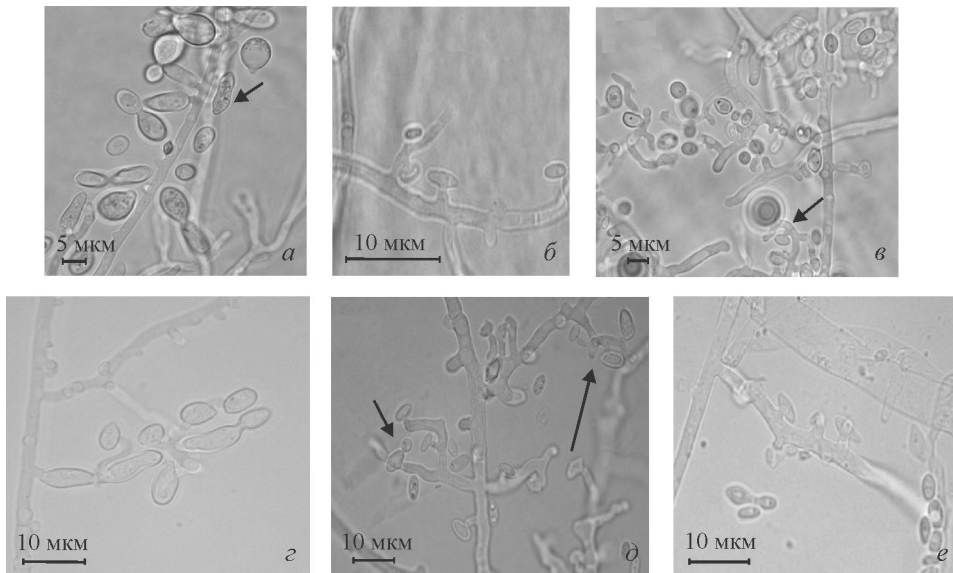


Рис. 1. Коралловидные структуры и сосочковидные выросты на гифах.

Совместные культуры: а — *Pleurotus citrinopileatus* и *Cryptococcus albidus*, б — *P. pulmonarius* и *Hanseniaspora uvarum*, в — *P. djamor* и *Metschnikowia pulcherrima*, г — *P. djamor* и *C. albidus*, д — *P. djamor* и *Rhodotorula minuta*, е — *P. eryngii* и *H. uvarum* (стрелками указаны контакты мицелия грибов и дрожжевых клеток).

mor с *Cryptococcus albidus*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Rhodotorula minuta* и *Saccharomyces cerevisiae*; *Pleurotus eryngii* с *Hanseniaspora uvarum* (рис. 1). Коралловидные структуры представляли собой систему часто расположенных сосочковидных выростов и коротких (5—15 мкм) разветвленных веточек гиф, увеличивающих поверхность контакта мицелия с микроколониями дрожжей. В литературе коралловидные структуры описаны как специализированные приспособления для захвата клеток дрожжей, состоящие из абсорбционных гиф, которые переваривают содержимое дрожжевых клеток и транспортируют питательные вещества к основному мицелию (Варгон, 1988).

Контакты сосочковидных выростов и дрожжевых клеток были обнаружены в следующих совместных культурах: *Pleurotus citrinopileatus* и *P. djamor* со всеми исследованными видами дрожжей; *P. eryngii* с *Cryptococcus albidus*, *Hanseniaspora uvarum* и *Saccharomyces cerevisiae*; *Pleurotus pulmonarius* с *Cystofilobasidium capitatum*, *Cryptococcus albidus*, *Hanseniaspora uvarum*, *Rhodotorula minuta* и *Saccharomyces cerevisiae* (табл. 1).

Таблица 1

Наличие контактов между гифами видов рода *Pleurotus* и дрожжевыми клетками

Виды	<i>P. citrinopileatus</i>	<i>P. djamor</i>	<i>P. eryngii</i>	<i>P. pulmonarius</i>
<i>Cystofilobasidium capitatum</i>	+	+	–	+
<i>Cryptococcus albidus</i>	+	+	+	+
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	+	–	+	+
<i>Metschnikowia pulcherrima</i>	–	+	–	–
<i>Phodotorula minuta</i>	+	+	–	+
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> 3785	+	+	+	+
<i>S. cerevisiae</i> 3809	+	+	+	+

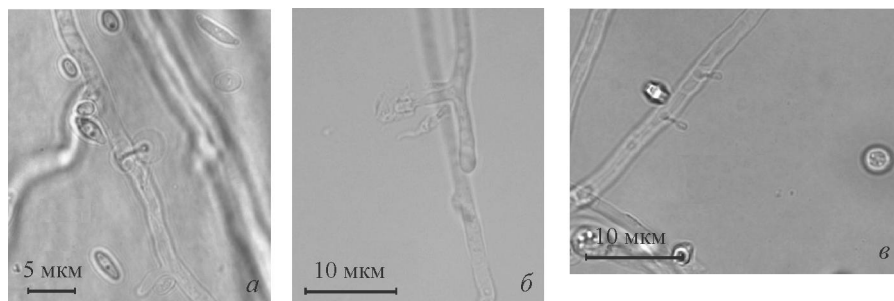


Рис. 2. Головчатые выросты на гифах.

а — совместная культура *Pleurotus pulmonarius* и *Hanseniaspora uvarum*, *б* — монокультура *P. djamor*, *в* — совместная культура *P. eryngii* и *Saccharomyces cerevisiae*.

Наибольшее количество контактов наблюдали в совместных культурах *Pleurotus citrinopileatus* с *Cryptococcus albidus*; *Pleurotus djamor* с *Cryptococcus albidus* и *Rhodotorula minuta*; *Pleurotus eryngii* и *P. pulmonarius* с *Hanseniaspora uvarum*.

Головчатые выросты наблюдали в монокультурах *Pleurotus djamor* и *P. pulmonarius*, а также в совместных культурах всех четырех видов вешенки (рис. 2). Эти выросты дифференцированы на ножку 3—6 мкм дл. и расширенную апикальную часть 2—3 мкм дл. На апикальной части выроста выделяется сферическая капля прозрачного секрета диам. 5 мкм (для *P. pulmonarius*), который быстро растворяется при соприкосновении с водой. Головчатые выросты зависимы от материнской клетки гифы и не являются структурами размножения, так как не содержат ядер (Камзолкина и др., 2006). По некоторым данным (Ваггон, 2003) они выделяют токсины, парализующие нематод. Предположительно головчатые выросты несут и ряд других функций, не связанных с образованием нематотоксинов.

В совместной культуре *Pleurotus citrinopileatus* с *Metschnikowia pulcherrima* дважды наблюдали образование ловчих петель: гифы гриба закручивались, образуя два витка спирали, внутренний диаметр петли составлял 10—12 мкм, внешний — 17 мкм (рис. 3). Ловчие петли являются характерным образованием для мицелия хищных почвенных грибов, а также были отмечены у *Pleurotus ostreatus* в присутствии нематод (Ваггон, 2003).

Кроме того, наличие взаимодействия всех видов вешенки с промышленно ценным видом дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* позволяет предполагать, что добавление

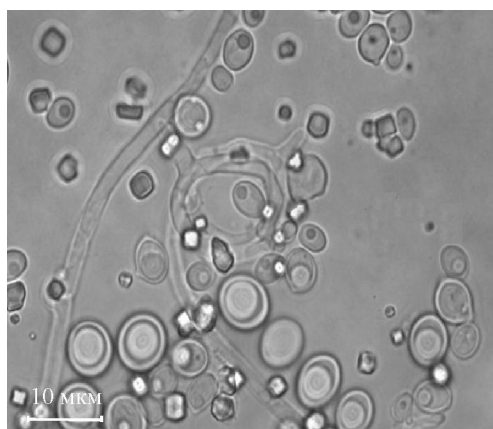


Рис. 3. Ловчая петля, образованная гифами мицелия *Pleurotus citrinopileatus* в совместной культуре с *Metschnikowia pulcherrima*.

Параметры плодовых тел рода *Pleurotus* в эксперименте по выгонке

Параметры	Контроль		<i>Hanseniaspora uvarum</i>		<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	
	<i>Pleurotus citrinopileatus</i>	<i>P. djamor</i>	<i>Pleurotus citrinopileatus</i>	<i>P. djamor</i>	<i>Pleurotus citrinopileatus</i>	<i>P. djamor</i>
Время развития плодового тела, сутки	5.0	6.3 ± 1.2	5.0	6.0 ± 1.2	5.7 ± 1.2	6.8 ± 1.0
Исходное количество примордиев, штуки	22 ± 10	39 ± 7	23 ± 15	29 ± 4	22 ± 5	33 ± 3
Конечное количество плодовых тел в урожае, штуки	8 ± 2	8 ± 2	4 ± 1	6 ± 2	7 ± 3	9 ± 1
Масса урожая с одной банки, г	14.5 ± 1.3	17.7 ± 4.4	12.1 ± 9.2	16.3 ± 2.2	16.0 ± 2.8	14.8 ± 2.4

этих дрожжей в субстрат культивирования будет способствовать росту мицелия и образованию плодовых тел грибов.

Внесение суспензии дрожжей в субстрат культивирования не оказывало значительного влияния на скорость зарастания субстрата мицелием. Все образцы, как контрольные, так и содержащие суспензию дрожжей, были помещены во влажную камеру для выгонки одновременно, на 14-е сутки после инокуляции субстрата. В присутствии дрожжей *Hanseniaspora uvarum* для *Pleurotus djamor* было отмечено, что время созревания плодовых тел от момента появления примордиев до сбора урожая сократилось по сравнению с контролем на 0.3 суток в среднем. Вес урожая и количество плодовых тел с одной банки были незначительно больше, чем в контроле, в присутствии суспензии *Saccharomyces cerevisiae* только для *Pleurotus citrinopileatus* (табл. 2). Плодовые тела, полученные на субстрате с добавлением суспензии дрожжей, по морфологии, окраске, запаху не отличались от плодовых тел в контроле.

Полученные результаты демонстрируют способность мицелия четырех видов вешенки переходить от сапротрофного питания к паразитизму и использовать дрожжевые клетки в качестве источника питания в условиях дефицита азота и углерода в лабораторных условиях на голодном агаре. Для видов *P. citrinopileatus*, *P. djamor* и *P. eryngii* это свойство отмечено впервые.

По результатам первой волны плодоношения показано слабopоложительное влияние дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* на накопление биомассы *Pleurotus citrinopileatus* в процессе культивирования при данных условиях плодоношения в камере.

Авторы благодарят сотрудника кафедры биологии почв факультета почвоведения МГУ им. М. В. Ломоносова чл.-кор. РАН И. Ю. Чернова за предоставленные штаммы дрожжей.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 07-04-00274-а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Камзолкина О. В., Гришанина А. Н., Панчева Е. В., Волкова В. Н., Козлова М. В. Микроморфологические особенности штаммов *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quél. и *P. ostreatus* (Jacq.) P. Kumm., культивируемых отдельно и совместно с дрожжами // Цитология. 2006. Т. 48(2). С. 153—160.

Barron G. L. Microcolonies of bacteria as a nutrient source for lignicolous and other fungi // Can. J. Bot. 1988. Vol. 66. P. 2505—2510.

Barron G. L. Predatory fungi, wood decay, and the carbon cycle // Biodiversity. 2003. Vol. 4. P. 3—9.

Hutchison L. J., Barron G. L. Parasitism of yeasts by lignicolous Basidiomycota and other fungi // Can. J. Bot. 1996. Vol. 74. P. —742.

Hutchison L. J., Barron G. L. Parasitism of algae by lignicolous Basidiomycota and other fungi // Can. J. Bot. 1997. Vol. 75. P. 1006—1011.

Jose N., Ajith T. A., Jananrdhanan K. K. Antioxidant, anti-inflammatory and antitumor activities of culinary-medicinal mushroom *Pleurotus pulmonarius* (Fr.) Quéf. (Agaricomycetidae) // Int. J. Med. Mushrooms. 2002. Vol. 4. P. 329—335.

Lindequist U., Niedermeyer T. H. J., Jülich W.-D. The pharmacological potential of mushrooms. Review // eCAM. 2005. Vol. 2 (3). P. 285—299.

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова
dandyion.ds@gmail.com

Поступила 20 V 2008

РЕЗЮМЕ

Исследовалась микроморфология мицелия *Pleurotus citrinopileatus*, *P. djamor*, *P. eryngii* и *P. pulmonarius* в совместных культурах с базидиомицетными (*Cryptococcus albidus*, *Cystofilobasidium capitatum*, *Rhodotorula minuta*) и аскомицетными (*Hanseniaspora uvarum*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Saccharomyces cerevisiae* 3785, 3809) дрожжами на голодном агаре. В совместной культуре описаны различные изменения морфологии мицелия: повышение частоты ветвления гиф, образование особых коротких сосочковидных выростов гиф, ловчих петель, коралловидных структур. Эти структуры обеспечивают контакт между мицелием и дрожжевыми клетками. На голодном агаре некоторые виды *Pleurotus* могут паразитировать на дрожжевых клетках. На лузге подсолнечника биомасса плодовых тел *P. citrinopileatus* увеличивалась, если к субстрату добавляли суспензию клеток *S. cerevisiae*.

Ключевые слова: вешенка, совместное культивирование, эпифитные дрожжи.

SUMMARY

Micromorphology of the mycelium of *Pleurotus citrinopileatus*, *P. djamor*, *P. eryngii* and *P. pulmonarius* was observed in mixed cultures with basidiomycetous (*Cryptococcus albidus*, *Cystofilobasidium capitatum*, *Rhodotorula minuta*) and ascomycetous (*Hanseniaspora uvarum*, *Metschnikowia pulcherrima*, *Saccharomyces cerevisiae* 3785, 3809) yeasts on water agar. Various changes in the mycelial morphology were described in mixed cultures: increase of the frequency of hyphal branching, special short nipple-like branches on hyphae, rings, coralloid hyphae. These structures provide the contact between the fungal mycelium and the yeast cells. On water agar some *Pleurotus*-species can be parasites on the yeast cells. On sunflower seed's peel the crop biomass of the fruiting bodies of *P. citrinopileatus* increased when *S. cerevisiae* cell suspension was added in the substrate.

Key words: *Pleurotus*, mixed culture, epiphytic yeasts.

ГРИБЫ — ВОЗБУДИТЕЛИ БОЛЕЗНЕЙ РАСТЕНИЙ

УДК 632.938 : 582.288 : 633.51

© Ж. Ж. Таштулатов, Т. Г. Гулямова, Д. М. Рузиева,
С. М. Насметова, А. М. Кербалаева, С. М. Ходжибаева

ФЕРМЕНТАТИВНЫЙ ОТВЕТ РАСТЕНИЙ ХЛОПЧАТНИКА НА ДЕЙСТВИЕ ПАТОГЕНА *VERTICILLIUM DAHLIAE*

TASHPULATOV J. J., GULYAMOVA T. G., RUZIEVA D. M., NASMETOVA S. M.,
KERBALAEVA A. M., KHODZHIBAEVA S. M. ENZYMATIC RESPONSE
OF COTTON PLANTS ON ACTION OF PATHOGEN *VERTICILLIUM DAHLIAE*

Инфицирование вирусами, бактериями или грибами вызывает местные и системные ответы при несовместимых взаимодействиях между растениями и патогенами. Эти ответы включают локальный окислительный взрыв, который может привести к гибели инфицированных клеток, к изменению состава клеточных стенок в прилегающих тканях, препятствующему проникновению патогена, к синтезу *de novo* антимикробных веществ — фитоалексинов и PR-белков. Распространяясь далее по растению, местные ответы индуцируют изменения в еще неинфицированных частях растения, вызывая, таким образом, системный ответ (Heil, Bostock, 2002; Gozzo, 2003).

В последнее время особое внимание уделяется исследованию растительных ферментов как индикаторов защитного ответа растения, учитывая, что некоторые PR-белки обладают ферментативной активностью. Так, например, белки PR-3, PR-4, PR-8, PR-11 классифицируются как эндохитиназы, их активность на коллоидном хитине варьирует более чем в 100 раз. PR-2 включает эндо-β-1,3-глюканазы, PR-9 — пероксидазы, PR-7 — эндопротеиназы. Структурно близки к рибонуклеазам PR-10 (Van Loon, Van Strien, 1999; Whipps, 2001).

Существуют данные о коррелятивном изменении активности ряда гидролитических ферментов, в том числе целлюлаз, протеаз, амилаз и ксиланаз, принадлежность которых к PR-белкам пока не установлена (Whipps, 2001). Например, показано, что этилен-индуцирующая ксиланаза, помимо деградации ксилана, выполняет заметную элиситорную роль в защитных реакциях в определенных сортах табака и томатов (Ron, Avni, 2004).

Вместе с тем приводятся данные об изменении активности целлюлазы, ксиланазы, амилазы, оксидоредуктазы, каталазы и других ферментов при заражении растений патогенами (Whipps, 2001), свидетельствующие о том, что в формирование защитных реакций растений может быть вовлечен довольно широкий спектр гидролитических ферментов. В этой связи представляет несомненный интерес выявление ферментов, способных служить молекулярными маркерами устойчивости хлопчатника к патогенам.

Целью настоящего исследования был сравнительный анализ ферментативного ответа растений хлопчатника на действие патогенного гриба *Verticillium dahliae* Kleban.

Материал и методы

Для экспериментов использовали растения двух сортов хлопчатника: устойчивого к вилту С-5621 и восприимчивого Ак-курган-2. Растения хлопчатника в возрасте одного месяца собирали, корни отмывали от почвы. Проростки помещали в сосуды с водой (контроль) и в культуральную жидкость патогена в разведении 1 : 50. Растения выдерживали в течение 20—24 ч при комнатной температуре. По истечении времени инкубации растения вынимали и использовали для приготовления экстрактов листьев, стеблей и корней.

Бесклеточные экстракты частей растений получали путем гомогенизации на льду в 0.01 М Трис-НСl буфере, рН 7.2. Гомогенаты центрифугировали в течение 40 мин при 12 000 об./мин, осадок удаляли, а супернатанты использовали для определения активности ферментов.

В опытах использовали свежевыделенный из больных растений фитопатогенный гриб *V. dahliae*, высоковирулентный к хлопчатнику. Культуру хранили на среде Чапека—Докса при 4 °С и пересевали для экспериментов в чашки Петри на ту же питательную среду. Для приготовления инокулюма жидкую среду Чапека засеивали суспензией из клеток патогена (10^6 КОЕ/мл) и выращивали при температуре 27—30 °С на качалке при 120 об./мин в течение 5—6 суток.

Амилолитическую активность в бесклеточных растительных экстрактах определяли согласно ГОСТа 20264.64—89 с использованием 1 % крахмала в качестве субстрата; β -1,3-глюканазную и ксиланазную активность — по методу, описанному А. П. Синицыным и соавторами (1990), с использованием соответствующих субстратов — ламинарина и ксилана; хитиназную активность — по методу А. И. Мелентьева и Г. Э. Актуганова (1999), используя в качестве субстрата коллоидный хитин; пероксидазную активность — по методу А. И. Ермакова и соавторов (Методы..., 1972); содержание белка в экстрактах — по методу Лоури и соавторов (Lowry et al., 1951).

Результаты и обсуждение

Известно, что фитопатогенный гриб *V. dahliae* вызывает широко распространенное заболевание хлопчатника, известное как вертициллезное увядание, которое в отдельные годы приносит едва ли не самые разорительные последствия для урожая почти во всех хлопководящих государствах (Korolev et al., 2001).

Согласно имеющимся данным (Whipps et al., 2001), при инвазии этого патогена в различных частях растения появляется защитный ответ, представляющий собой комбинацию конститутивных и индуцированных защитных механизмов. Наряду с несколькими ферментами фенилпропаноидного метаболизма, вовлеченными в укрепление клеточных стенок, жизненно важное значение имеют PR-белки (Van Loon, Van Strien, 1999).

Несмотря на то что проблема вертициллезного вилта исследуется на протяжении многих лет, в настоящее время четкой картины защитного ответа хлопчатника на это заболевание пока еще нет. В частности, хотя существенные отличия в интенсивности защитного ответа наблюдали у устойчивых и восприимчивых к заболеванию сортов хлопчатника, различия в интенсивности ферментативного ответа не исследованы.

В этой связи был изучен ферментативный ответ устойчивого сорта С-5621 и восприимчивого сорта Ак-курган-2 на воздействие патогенного гриба *V. dahliae*. При сравнительном анализе распределения удельной ферментативной активности в отдельных исследуемых органах здоровых растений обоих сортов нами получены данные, свидетельствующие о преимущественной локализации активности большинства ферментов (кроме хитиназы и пероксидазы) в корнях здоровых растений по сравнению со стеблем и листьями.

Было установлено, что хитиназная активность в контрольных растениях устойчивого сорта С-5621 возрастает от корней к листьям (0.7 ± 0.08 , 2.2 ± 0.12 и 3.2 ± 0.3 Е/мг белка

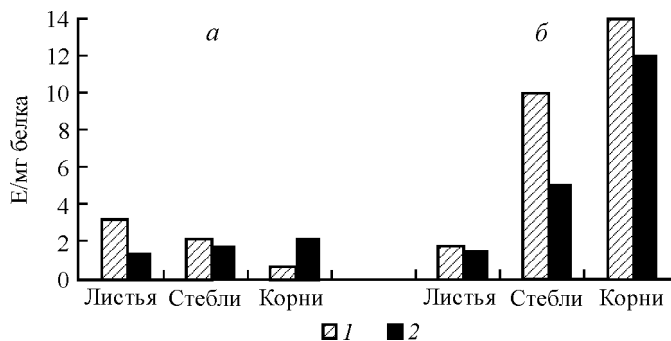


Рис. 1. Изменение хитиназной активности устойчивого С-5621 (1) и неустойчивого Ак-курган-2 (2) сортов хлопчатника при обработке патогеном.
а — контроль, б — патоген. То же для рис. 2—5.

в корнях, стеблях и листьях соответственно). В то же время у восприимчивого сорта Ак-курган-2 наибольшая хитиназная активность наблюдалась в корнях (2.0 ± 0.1 , 1.8 ± 0.15 и 1.0 ± 0.16 Е/мг белка в корнях, стеблях и листьях соответственно). При обработке корневой системы культуральной жидкостью патогена у обоих сортов наблюдается значительное повышение ферментативной активности во всех органах растений, но наибольшее повышение характерно для корней (рис. 1). Следует также отметить, что уровень активации фермента заметно выше в устойчивом сорте: 1.8 ± 0.15 , 10 ± 1.1 и 14 ± 1.5 Е/мг белка в листьях, стеблях и корнях соответственно.

При изучении β -1,3-глюканазной активности установлено, что распределение ферментативной активности в растениях обоих сортов происходит одинаково, наиболее высокая глюканазная активность отмечена в корнях контрольных растений. Однако при обработке культуральной жидкостью патогена ферментативный ответ в корнях растений устойчивого сорта (12.5 ± 1.7 Е/мг белка) значительно выше, чем у неустойчивого (9.5 ± 0.14 Е/мг белка; рис. 2).

Полученные данные свидетельствуют о том, что и хитиназная, и глюканазная активность проявляют защитную реакцию, возрастая при обработке патогеном растений обоих сортов. Вместе с тем, как видно из представленных данных, в растениях сорта С-5621 защитный ответ проявляется в более высокой активации обоих ферментов по сравнению с сортом Ак-курган-2. Следует также отметить, что наибольший защитный ответ был отмечен локально в корнях — месте контакта патогена с растением.

Согласно литературным данным (Hill et al., 1999; Wu et al., 2004), при исследовании хитиназы, β -1,3-глюканазы и пероксидазы хлопчатника получены наиболее убедительные

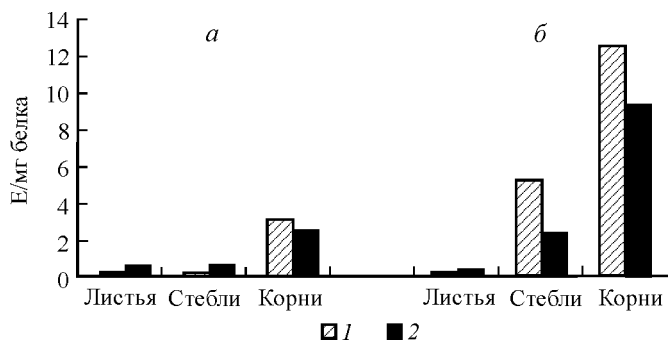


Рис. 2. Изменение β -1,3-глюканазной активности устойчивого С-5621 (1) и неустойчивого Ак-курган-2 (2) сортов хлопчатника при обработке патогеном.

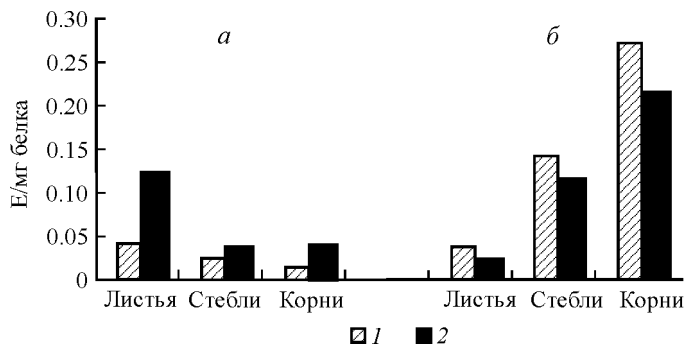


Рис. 3. Изменение пероксидазной активности устойчивого С-5621 (1) и неустойчивого Ак-курган-2 (2) сортов хлопчатника при обработке патогеном.

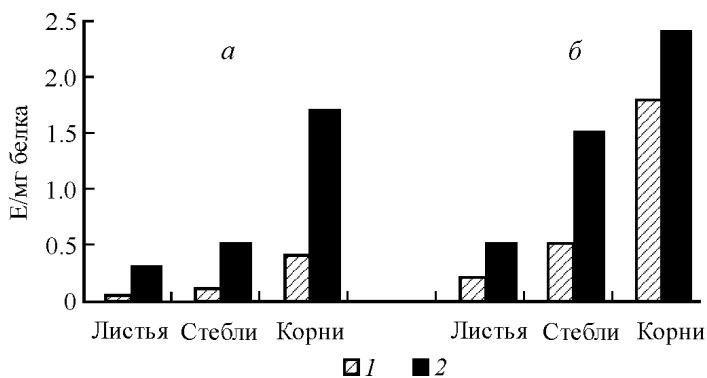


Рис. 4. Изменение амилазной активности устойчивого С-5621 (1) и неустойчивого Ак-курган-2 (2) сортов хлопчатника при обработке патогеном.

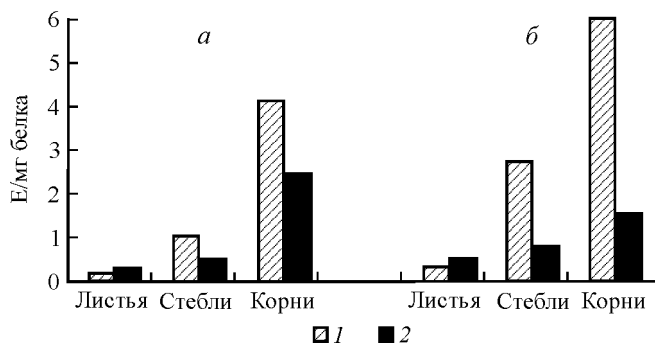


Рис. 5. Изменение ксиланазной активности устойчивого С-5621 (1) и неустойчивого Ак-курган-2 (2) сортов хлопчатника при обработке патогеном.

тельные данные о защитной роли ферментов. Так, например, о значении хитиназы и глюканазы в защитном ответе хлопчатника свидетельствуют данные, полученные при введении генов этих ферментов в геном хлопчатника с помощью *Agrobacterium tumefaciens* (Wu et al., 2004). Авторами было показано, что все семь полученных рекомбинантных линий хлопчатника и в полевых условиях, и в оранжевое устойчивы или толерантны к *Verticillium dahliae*.

О роли пероксидаз в защитном ответе свидетельствуют данные по корреляции пероксидазной активности с окислением гемигоссипола при образовании госсипола в экстрактах хлопчатника (Benedict et al., 2006). Ранняя аккумуляция пероксидаз в межклеточной жидкости рассматривается как часть реакции гиперчувствительности после обработки растений бактериями рода *Xanthomonas*. Более того, в клетках, проявляющих гиперчувствительность, высокая активация гваякол-пероксидазы сохраняется в течение 12 ч после обработки патогеном (Delannoy et al., 2003).

Было установлено, что в отличие от хитиназной и глюканазной активности наибольшая пероксидазная активность наблюдается в листьях растений обоих сортов, причем ферментативная активность восприимчивого сорта заметно выше (0.12 ± 0.03 Е/мг белка), чем устойчивого (0.04 ± 0.012 Е/мг белка). При обработке патогеном наблюдается преимущественно локальное возрастание ферментативной активности обоих сортов, при этом уровень защитного ответа устойчивого сорта заметно выше (0.27 ± 0.024 против 0.22 ± 0.018 Е/мг белка; рис. 3).

В противоположность этому при изучении амилазной активности выявлено, что ферментативная активность неустойчивого сорта, имея одинаковый характер распределения между органами независимо от сорта, значительно выше (1.7 ± 0.16 Е/мг белка), чем устойчивого (0.4 ± 0.11 Е/мг белка) и в контрольных, а также в обработанных патогеном растениях (2.4 ± 0.13 и 1.8 ± 0.15 Е/мг белка соответственно; рис. 4). При этом наибольший ответ на действие патогена также регистрируется в корнях.

Наиболее выраженная количественная разница между устойчивым и неустойчивым сортом обнаружена нами при изучении ксиланазной активности (рис. 5). Так, установлено, что у неустойчивого сорта Ак-курган-2 ксиланазная активность невысокая по сравнению с устойчивым сортом С-5621. При обработке патогеном ферментативная активность неустойчивого сорта почти не изменяется в листьях и стебле и двукратно снижается в корнях, в то время как у устойчивого наблюдается значительное возрастание во всех органах растения, причем наибольший ферментативный ответ также наблюдается в корнях (6.0 ± 0.12 Е/мг белка).

Совокупность полученных данных показывает, что, хотя характер изменения ферментативной активности в растениях устойчивого и неустойчивого сортов хлопчатника 30-суточного возраста совпадает, между ними наблюдается существенная количественная разница. В частности, устойчивый сорт С-5621 заметно превосходит восприимчивый Ак-курган-2 по продукции всех исследованных ферментов, за исключением амилазы. При этом наибольшая ферментативная активность в контрольных растениях обоих сортов, кроме пероксидазной, отмечена в корнях, а высокая пероксидазная активность — в листьях. Увеличение ферментативной активности в ответ на действие патогена во всех исследованных органах растений свидетельствует, на наш взгляд, о наличии защитных реакций в растениях обоих сортов. Вместе с тем в наших экспериментах наиболее выраженный ферментативный ответ проявляется в корнях — в месте непосредственного контакта растений с патогеном, распространяясь затем системно по стеблю и листьям.

Таким образом, на основании полученных данных системное возрастание хитиназной, пероксидазной, глюканазной, амилазной и ксиланазной активности можно рассматривать как часть защитной реакции хлопчатника на действие патогенного гриба *V. dahliae*.

Работа была выполнена в рамках гранта УНТЦ Р-226 «Биоконтроль вертициллезного вилта хлопчатника».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Мелентьев А. И., Актуганов Г. Э. Выделение, очистка и характеристика хитиназы *Bacillus* sp. 739 // Прикл. биохимия и микробиология. 1999. Т. 35. С. 624—628.
- Методы биохимического исследования растений / Под ред. А. И. Ермакова. Л.: Агропромиздат, 1987. 429 с.
- Методы определения амилолитической активности // Препараты ферментные. ГОСТ 20264.4—89. М., 1989. 18 с.
- Синицын А. П., Черноглазов В. М., Гусаков А. В. Методы изучения и свойства целлюлолитических ферментов // Итоги науки и техники. Т. 25. М.: ВИНТИ, 1990. С. 38—60.
- Benedict C. R., Liu J., Stipanovic B. Peroxidative coupling of hemigossypol to (+) and (-)-gossypol in cottonseeds extracts // *Phytochemistry*. 2006. Vol. 67. P. 356—361.
- Delannoy E., Jalloul A., Assigbetse K., Marmey P., Geiger J. P., Lherminier J., Daniel J. F., Martinez C., Nicole M. Activity class III peroxidases in the defense of cotton to bacterial blight // *Molecular plant-microbe interactions*. 2003. Vol. 16. P. 1030—1038.
- Gozzo F. Systemic acquired resistance in crop protection: from nature to a chemical approach // *J. Agr. Food Chem*. 2003. Vol. 51. P. 4487—4503.
- Heil M., Bostock R. M. Induced systemic resistance (ISR) against pathogens in the content of induced plant defences // *Ann. Bot.* 2002. Vol. 89. P. 503—512.
- Hill M. K., Lyon K. J., Lyon S. R. Identification of disease response genes expressed in *Gossypium hirsutum* upon infection with the wilt pathogen *Verticillium dahliae* // *Plant Molecul. Biol*. 1999. Vol. 40. P. 289—296.
- Korolev N., Perez-Artes E., Bejarano-Alcazar J., Rodriguez-Jurado D., Katan J., Katan T., Jimenez-Diaz R. M. Comparative study of genetic diversity and pathogenicity among populations of *Verticillium dahliae* from cotton in Spain and Israel // *Europ. J. plant pathol*. 2001. Vol. 107. P. 443—456.
- Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with Folin phenol reagent // *J. Biol. Chem*. 1951. Vol. 191. P. 265—275.
- Ron M., Avni A. The receptor for the fungal elicitor ethylene-inducing xylanase is a member of a resistance-like gene family in tomato // *Plant cell*. 2004. Vol. 16. P. 1604—1615.
- Van Loon L. G., Van Strien E. A. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins // *Physiolog. molecul. plant pathol*. 1999. Vol. 55. P. 85—97.
- Whipps J. M. Microbial interactions and biological control in the rhizosphere // *J. Exper. Bot*. 2001. Vol. 52. P. 487—511.
- Wu J. Y., Zhang H. L., Luo X. L., Tian Y. C., Chen Z. H. Transgenic cotton plants of chitinase and glucanase genes and their performance of resistance to *Verticillium dahliae* // *Yi Chuan Xue Bao*. 2004. Vol. 31. P. 183—188.

Институт микробиологии АН РУз
Ташкент
imbasru@uzsci.net

Поступила 18 III 2008

Р Е З Ю М Е

Изучен ферментативный ответ растений хлопчатника устойчивого сорта С-5621 и восприимчивого сорта Ак-курган-2 на воздействие патогенного гриба *Verticillium dahliae*. Показано, что сорт С-5621 заметно превосходит Ак-курган-2 по всем исследованным ферментам, за исключением амилазы. При сравнительном анализе распределения удельной ферментативной активности в отдельных исследуемых органах здоровых и больных растениях обоих сортов получены данные, свидетельствующие о преимущественной локализации активности большинства ферментов в корнях растений по сравнению со стеблем и листьями. Возрастание хитиназной, пел-

роксидазной, глюканиазной, амилазной и ксиланазной активности можно рассматривать как часть защитной реакции хлопчатника на действие патогенного гриба *V. dahliae*.

Ключевые слова: хлопчатник, ферментативный ответ на воздействие патогена, ферментативная активность, *Verticillium dahliae*.

S U M M A R Y

Enzymatic response of cotton resistant variety C-5621 and susceptible variety Ak-kurgan-2 on action of pathogenic fungus *Verticillium dahliae* was studied. It was established that resistant variety C-5621 considerably exceeds susceptible variety Ak-kurgan-2 by all studied enzymes except amylase. Comparative analysis of distribution of specific enzymatic activities in separate studied parts of healthy and infected plants of both varieties revealed prevailing localization of majority of enzymatic activity in roots of plants compared to stalks and leaves. Increase of chitinase, peroxidase, glucanase, amylase and xylanase activities may be considered as part of defensive reaction of cotton plants on action of pathogenic fungus *V. dahliae*.

Key words: cotton plants, enzymatic response on pathogen action, enzymatic activity, *Verticillium dahliae*.

УДК 632.938 : 582.284.21

© Л. Г. Тырышкин, П. М. Курбанова

**ИНДУКЦИЯ ЭКСПРЕССИИ ГЕНОВ УСТОЙЧИВОСТИ
ВЗРОСЛЫХ РАСТЕНИЙ К ЛИСТОВОЙ РЖАВЧИНЕ
У ПРОРОСТКОВ ПШЕНИЦЫ**TYRYSHKIN L. G., KURBANOVA P. M. INDUCTION OF EXPRESSION OF GENES
FOR ADULT RESISTANCE TO LEAF RUST IN WHEAT SEEDLINGS

Запас генов ювенильной устойчивости мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. к листовой ржавчине (возбудитель *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* Roberge ex Desm.), эффективных против современных популяций возбудителя из России, крайне мал (Тырышкин, 2006; Тырышкин и др., 2006), в связи с чем особое внимание необходимо уделить генам возрастной устойчивости. В настоящее время известно не менее 10 локализованных в хромосомах генов возрастной устойчивости пшеницы к листовой ржавчине (McIntosh et al., 2003).

Идентификация известных генов, экспрессирующихся только у взрослых растений, у вновь выделенных устойчивых форм с помощью классического гибридологического анализа требует длительного времени (не менее двух лет при проведении только полевых опытов), больших площадей посевов (около 40 м² гибридов F₂ одного изучаемого образца) и большого количества инокулюма *P. recondita*. Значительно облегчить задачу идентификации генов возрастной устойчивости могло бы применение молекулярных маркеров, однако такие маркеры созданы не для всех известных генов. Кроме того разработанные ДНК-маркеры часто не тесно сцеплены с генами устойчивости (Chelkovski et al., 2003; Stepien et al., 2003; Blaszczyk et al., 2004; Гайнуллин и др., 2007; Nocente, Gazza, 2007), что может приводить к ошибочному определению наличия конкретного гена у изучаемого образца.

В предыдущей работе (Тырышкин и др., 2005) была показана генотипспецифическая индукция устойчивости мягкой пшеницы к листовой ржавчине под действием бензимидазола, причем, скорее всего, индуцировалась экспрессия конкретных «главных» генов устойчивости, а не других генетических факторов (Tyryshkin, 2001).

Цель настоящей работы — проверить гипотезу о возможности индукции экспрессии генов возрастной устойчивости пшеницы *P. recondita* у ювенильных растений хозяина.

Материал и методы

В 2005—2007 гг. оценивали возрастную устойчивость к листовой ржавчине почти изогенных линий серии Thatcher с Lr-генами: 1, 2a, 2b, 2c, 3, 3ka, 3bg, 10, 11, 12, 13, 14a, 14b, 16, 20, 34, 52, а также сортов Gatcher (Lr27 + Lr31) и Pavon F76 (Lr46 + Lr1 + Lr10 + Lr13). Образцы получали с поля Пушкинского филиала Всероссийского института растениеводства им. Н. И. Вавилова. Растения в фазе трубка-

ния опрыскивали суспензией уредопор сборной популяции *P. recondita* и на сутки закрывали пленкой «Спанбонд». Развитие болезни на флаг-листьях учитывали через 15 суток после инокуляции.

В лабораторных опытах семена перечисленных линий и сортов раскладывали в металлические кюветы на вату, смоченную водой. После прорастания семян кюветы переносили в климатическую камеру с постоянным освещением 2500 лк и температурой 22 °С. Проростки в стадии 1—2 листьев опрыскивали водной суспензией спор патогена той же популяции, кюветы заворачивали в полиэтилен, который через сутки снимали. Тип реакции определяли на 12-е сутки после заражения по шкале Майнса и Джексона (Mains, Jackson, 1926).

Для изучения эффективности генов у ювенильных растений семена образцов высевали на ватные валики, которые вместе с растениями в стадии 1—2 листьев помещали на вату, смоченную водой, таким образом, чтобы первые листья приняли горизонтальное положение. Единичные растения каждой линии заражали 13 монопустульными изолятами возбудителя ржавчины, кюветы оборачивали полиэтиленом. Через сутки пленку снимали, растения возвращали в вертикальное положение. Тип реакции учитывали на 12-е сутки после заражения.

Сегменты листьев каждой линии раскладывали в чашки Петри на вату, смоченную водным раствором бензимидазола (концентрации — 40, 80 и 100 ppm), в строку, в конце каждой строки помещали листья восприимчивого сорта Ленинградка. Каждую строку инокулировали одним монопустульным изолятом патогена. Чашки с идентичным расположением линий инкубировали в климатических камерах при температуре 15, 22, 25 °С. Учет типов реакций проводили в момент формирования крупных пустул патогена на отрезках листьев восприимчивого сорта. Аналогично проводили эксперимент с инокуляцией сегментов листьев сортов — носителей конкретных генов устойчивости.

Все лабораторные опыты были проведены не менее чем в трех независимых повторностях.

Результаты и обсуждение

На линиях с генами устойчивости Lr10, Lr11, Lr12, Lr13, Lr34, Lr52, а также сортах Gatcher (Lr27 + Lr31) и Pavon F76 (Lr46 + Lr1 + Lr10 + Lr13) развитие болезни в полевых условиях в течение трех лет изучения было слабее, чем на сорте Thatcher (L.) флаг-листья этих образцов были поражены на 20—80 %, остальные формы — на 100 %. При этом на листьях всех образцов наблюдали восприимчивый тип реакции. В лабораторных условиях при инокуляции проростков этих линий популяцией *P. recondita* наблюдали типичную реакцию восприимчивости (типы реакции 3).

Все монопустульные изоляты патогена были вирулентны к проросткам этих линий при инокуляции интактных растений. Полученные данные позволяют утверждать, что перечисленные гены являются возрастными по отношению к популяции *P. recondita* из Северо-Западного региона России.

При инкубации зараженных листьев в бензимидазоле с концентрацией 100 ppm и температуре 15 °С в двух экспериментах из трех развитие ржавчины не наблюдали даже на восприимчивом сорте, поэтому данный вариант опыта в дальнейшем не рассматривался.

Девятнадцать изолятов гриба были вирулентны к шести линиям и двум сортам, сегменты листьев которых инкубировали в бензимидазоле при трех температурных режимах.

Для 11 изолятов в разных комбинациях концентраций бензимидазола и температуры наблюдали индукцию устойчивости. При концентрации бензимидазола 40 ppm и всех температурных режимах (15, 22 и 25 °С) на изучаемых образцах пшеницы наблюдали реакцию восприимчивости. При температурном режиме 22 °С независимо от концентрации химиката сегменты листьев всех образцов были восприимчивы.

**Типы реакции отрезков листьев линий серии Thatcher и сортов с Lr-генами
на инокуляцию изолятами *P. recondita* f. sp. *tritici* при различных концентрациях
бензимидазола и температурах**

Номер изолята	Температура, °С	Концентрация ppm	Тип реакции							
			Lr10	Lr11	Lr12	Lr13	Lr27 +Lr31	Lr34	Lr46 + Lr10 + Lr13	Lr52
1	15	80	3	3	3	3	0	3	3	3
	25	80	3	3	3	3	3	3	3	0
		100	3	0	3	3	0	3	3	0
2	15	80	3	3	3	3	3	3	0	3
	25	80	3	3	3	3	3	3	3	0
		100	3	3	3	3	3	3	3	0
3	15	80	3	3	3	3	3	3	0	3
	25	80	3	3	3	3	3	3	0	3
		100	3	3	3	3	3	3	0	3
4	15	80	3	3	3	3	0	3	3	3
	25	80	3	3	3	0	3	3	0	3
		100	3	3	0	0	3	3	0	3
5	15	80	3	3	3	3	3	3	0	3
	25	80	3	3	3	3	3	3	3	0
		100	3	3	3	3	0	3	3	0
6	15	80	3	3	3	3	3	3	0	3
	25	80	3	3	3	3	3	3	0	3
		100	3	3	3	3	3	3	0	3
7	15	80	3	3	3	3	3	3	0	3
	25	80	3	3	3	3	3	3	0	3
		100	3	3	3	3	3	3	0	3
8	25	80	3	3	3	3	3	3	0	3
		100	0	0	3	3	3	3	0	3
9	15	80	3	3	3	3	0	3	3	3
	25	100	3	3	3	3	0	3	3	3
10	15	80	3	3	3	3	3	3	0	3
	25	100	3	3	3	3	3	0	3	3
11	25	80	3	3	3	3	3	3	0	3
		100	0	3	3	3	3	0	0	3

Индукция устойчивости к отдельным клонам патогена у линии ThLr10, ThLr11, ThLr12, ThLr13, ThLr34 наблюдалась при инкубации инокулированных сегментов листьев в бензимидазоле с концентрацией 100 ppm и температуре 25 °С (табл. 1).

У сорта Gatcher индукция устойчивости к трем изолятам гриба выявлена также и при концентрации бензимидазола 80 ppm и температуре 15 °С.

У сорта Ravon F76 и линии ThLr52 устойчивость индуцируется при концентрации бензимидазола 80 и 100 ppm и повышенной температуре, а у первого образца также при пониженной температуре (табл. 1).

Поскольку шесть из восьми изучаемых образцов пшеницы являются почти изо-генными линиями одного сорта, можно предположить, что конкретные комбинации абиготических факторов индуцируют экспрессию именно «главных» генов возрастной

устойчивости пшеницы к болезни, а не других генетических факторов, присутствующих в геномах изучаемых форм.

Для проверки данного предположения несколько выделенных клонов *P. recondita*, авирулентных в конкретных условиях, были использованы для инокуляции отрезков листьев сортов яровой пшеницы, имеющих «индуцибельные» гены устойчивости (McIntosh et al., 2003). Наблюдали строго специфическую индукцию устойчивости у сортов именно к тем клонам, которые были выделены как авирулентные к линии серии Thatcher (табл. 2). Таким образом, индукция устойчивости под действием абиотических факторов не зависит от целостного генотипа растения-хозяина, а обусловлена присутствием определенного «главного» гена возрастной устойчивости.

Таблица 2

Типы реакции образцов пшеницы с Lr-генами на заражение клонами *P. recondita* f. sp. *tritici*

Образец	Тип реакции на заражение клонами										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Образцы с геном Lr10*											
ThLr10	3	3	3	3	3	3	3	0	3	3	0
Mayo 52	3	3	3	3	3	3	3	0	3	3	0
Mayo 54	3	3	3	3	3	3	3	0	3	3	0
Образцы с геном Lr12*											
ThLr12	3	3	3	0	3	3	3	3	3	3	3
Opal	3	3	3	0	3	3	3	3	3	3	3
Образцы с геном Lr13*											
ThLr13	3	3	3	0	3	3	3	3	3	3	3
Chris (+34)	3	3	3	0	3	3	3	3	3	0	0
Neepawa	3	3	3	0	3	3	3	3	3	3	3
Образцы с геном Lr27 + Lr31*											
Gatcher	0	3	3	3	0	3	3	3	0	3	3
Ocoroni F86	0	3	3	3	0	3	3	3	0	3	3
Образцы с геном Lr27 + Lr31**											
Gatcher	0	3	3	0	3	3	3	3	0	3	3
Ocoroni F86	0	3	3	0	3	3	3	3	0	3	3
Образцы с геном Lr34*											
ThLr34	3	3	3	3	3	3	3	3	3	0	0
Glenlea	3	3	3	3	3	3	3	3	3	0	0
Образцы с геном Lr46*											
Pavon F76 (+10 + 13)	3	3	0	0	3	0	0	0	3	3	0
Lalbahadur	3	3	0	3	3	0	0	3	3	3	3

Примечание. Номера клонов (1—11) соответствуют номерам изолятов в табл. 1. Одна звездочка — заражение отрезков листьев в бензимидазоле (100 ppm) при температуре 25 °С, две — в бензимидазоле (80 ppm) при температуре 15 °С.

Разработанный метод инокуляции отрезков листьев при повышенных концентрациях бензимидазола и пониженных/повышенных температурах может быть рекомендован для быстрого предварительного постулирования генов устойчивости взрослых растений у восприимчивых образцов мягкой пшеницы в стадии проростков.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (гранты № 02-04-48948 и 06-04-49039).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Гайнуллин Н. Р., Лапочкина И. Ф., Жемчужина А. И., Киселева М. И., Коломиец Т. М., Коваленко Е. Д. Использование фитопатологического и молекулярно-генетических методов для идентификации генов устойчивости к бурой ржавчине у образцов мягкой пшеницы с чужеродным генетическим материалом // Генетика. 2007. Т. 43. С. 1058—1064.

Тырышкин Л. Г. Генетический контроль эффективной ювенильной устойчивости коллекционных образцов пшеницы *Triticum aestivum* L. к бурой ржавчине // Генетика. 2006. Т. 42. С. 377—384.

Тырышкин Л. Г., Гультяева Е. И., Алпатъева Н. В., Крамер И. Идентификация эффективных генов устойчивости пшеницы *Triticum aestivum* L. к бурой ржавчине с помощью STS-маркеров // Генетика. 2006. Т. 42. С. 812—817.

Тырышкин Л. Г., Ершова М. А., Тырышкина Н. А. Влияние бензимидазола на поражаемость пшеницы болезнями // Микология и фитопатология. 2005. Т. 39. С. 93—98.

Blaszczyk L., Chelkovski J., Korzun V., Kraič J., Ordon F., Ovesna J., Purnhauser L., Tar M., Vida G. Verification of STS markers for leaf rust resistance genes of wheat by seven European laboratories // Cell. Mol. Biol. Lett. 2004. Vol. 9. P. 805—817.

Chelkovski J., Golka L., Stepień L. Application of STS markers for leaf rust resistance genes in near-isogenic lines of spring wheat cv. Thatcher // J. Appl. Genet. 2003. Vol. 44. P. 323—338.

Mains E. B., Jackson H. S. Physiological specialization in leaf rust of wheat, *Puccinia triticina* Erikss. // Phytopathology. 1926. Vol. 16. P. 89—120.

McIntosh R. A., Yamazaki Y., Devos K. M., Dubcovsky J., Rogers W. J., Appels R. Catalogue of gene symbols for wheat. MACGENE2003 (CD Version). User Manual.

Nocente F., Gazza L. Evaluation of leaf rust resistance genes Lr1, Lr9, Lr24, Lr47 and their introgression into common wheat cultivars by marker-assisted selection // Euphytica. 2007. Vol. 155. P. 329—336.

Stepień L., Golka L., Chelkovski J. Leaf rust resistance genes of wheat: identification in cultivars and resistance sources // J. Appl. Genet. 2003. Vol. 44. P. 139—149.

Тырышкин Л. Г. Effect of benzimidazole to compatibility in the system wheat — leaf rust // Acta Phytopathol. Entomol. Hungarica. 2001. Vol. 36. P. 275—279.

ГНЦ Всероссийский институт растениеводства им. Н. И. Вавилова
Санкт-Петербург

Поступила 21 III 2008

Р Е З Ю М Е

Почти изогенные линии сорта Thatcher с генами устойчивости к листовой ржавчине Lr10, Lr11, Lr12, Lr13, Lr34, Lr52 и сортов Gatcher (Lr27 + Lr31) и Pavon F 76 (Lr46 + Lr1 + Lr10 + Lr13) имели определенный уровень устойчивости взрослых растений к *P. recondita*, но были восприимчивы к 30 случайно отобраным монопустьным изолятам в ювенильной стадии. Таким образом, эти гены могут рассматриваться как гены возрастной устойчивости к популяции патогена. Устойчивость к нескольким изолятам была обнаружена в сегментах листьев, помещенных в раствор бензимидазола при высокой (25 °C) и низкой (15 °C) температуре. Строгая геноспецифичная индукция устойчивости свидетельствует о том,

что под влиянием абиотических факторов она не вызвана влиянием генотипов в целом, а является результатом функционирования определенных «главных» генов возрастной устойчивости. Метод инокуляции листовых сегментов изолятами *P. recondita* может быть рекомендован для быстрого предварительного выявления генов возрастной устойчивости образцов пшеницы, восприимчивых к листовой ржавчине в ювенильной стадии.

Ключевые слова: пшеница, листовая ржавчина, гены устойчивости взрослых растений.

S U M M A R Y

Near-isogenic lines of cv. Thatcher with genes for wheat leaf rust resistance Lr10, Lr11, Lr12, Lr13, Lr34, Lr52 and varieties Gatcher (Lr27 + Lr31) and Pavon F 76 (Lr46 + Lr1 + Lr10 + Lr13) possessed some level of adult resistance to *P. recondita* but were susceptible to 30 randomly selected monopustule isolates in juvenile stage; so, these genes could be considered as adult ones against the pathogen population. Resistance to several isolates was found in leaf segments placed in benzimidazole solution at high (25 °C) and low (15 °C) temperatures. Strong gene-specific induction of the resistance indicated that this induction under abiotic factors is not affected by the whole genotypes but by certain «major» gene for adult resistance. The method of leaf segments inoculation with isolates of *P. recondita* can be recommended for rapid preliminary postulation of genes for adult resistance in wheat samples susceptible to the rust in juvenile stage.

Key words: wheat, leaf rust, adult resistance genes.