

ХРОНИКА

УДК 620.193.82 : 582.28

**КРАТКОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДОКЛАДОВ В КОМИССИИ
ПО БИОПОВРЕЖДЕНИЯМ (РУССКОЕ БОТАНИЧЕСКОЕ ОБЩЕСТВО)**ABSTRACTS OF THE REPORTS HELD AT THE COMMISSION
ON BIODETERIORATION (RUSSIAN BOTANICAL SOCIETY)

© Е. Г. Абрамов, Е. В. Богомолова, Л. К. Панина, В. И. Кобякова, В. Э. Первак. Формализация категорий факторов, определяющих микологическую безопасность помещений (Санкт-Петербургский государственный университет, Российский этнографический музей, Военно-исторический музей артиллерии, инженерных войск и войск связи)

В настоящее время при проведении микологической экспертизы критерием состояния помещений служит показатель КОЕ — число колониеобразующих единиц грибов в воздухе, для которого установлена норма < 500 ед./м³. Выход показателя за этот предел сигнализирует о возможных отклонениях состояния внутренней среды помещения от нормы, требующих немедленного вмешательства. Такая оценка микологического статуса помещений общепринята, объективно отражает текущую ситуацию, но не дает никаких прогнозов относительно риска возникновения неблагоприятных сценариев в будущем. Поэтому при принятии решений относительно микологической безопасности помещений необходимо использовать системный подход и принимать во внимание целый комплекс признаков, которые предлагается анализировать методами многомерной статистики (например, методом главных компонент). Первым шагом к применению такого подхода служит формализация категорий факторов, определяющих микологическую безопасность помещений. Нами предложено выделить несколько основных групп факторов, таких как внутримузеевый климат, общая характеристика здания (год постройки или капремонта, наличие систем вентиляции и кондиционирования, состояние инженерных коммуникаций, гидроизоляции и т. п.), посещаемость, сезон, характеристика экспонатов (материал, плотность размещения и др.), микологические показатели (КОЕ в воздухе, концентрация жизнеспособных грибных спор на поверхностях стеллажей) и некоторые другие. Каждому внутригрупповому признаку присваивается свой ранг и пределы допустимых значений, согласно которым проводится экспертная оценка. При составлении шкалы рейтинга помещений по микологической безопасности учитывается не просто сумма баллов по каждому показателю независимо от других, а принимаются во внимание их взаимные корреляции (иначе это может приводить к ошибочным решениям — ложным тревогам и т. п.). Этот подход позволяет выделить главную компоненту — ось, дисперсия оценок вдоль которой максимальна. Обработка данных и их графическое представление может реализовываться с помощью стандартных статистических пакетов (например, программы Unscrambler®).

Получены предварительные результаты обработки данных с применением предлагаемого метода. Классифицирован ряд помещений, обследованных на предмет микологической безопасности: Военно-исторического музея артиллерии, инженерных войск и войск связи, Российского этнографического музея, Псковского государственного историко-ар-

хитектурного и художественного музея-заповедника (фонд масляной живописи, хранилище икон, здание Фан-дер-Флита, музейный комплекс «Приказная палата»; фондохранилищ Научной библиотеки им. М. Горького СПбГУ и некоторых аудиторий, расположенных в здании Двенадцати коллегий в Санкт-Петербурге. Фактически, по имеющимся данным, помещения составили два кластера, один из которых соответствовал благоприятному состоянию с низким прогнозируемым риском, а другой включал помещения с высоким потенциальным риском микологических повреждений.

23 12 2008

© С. С. Хазова, Т. Д. Великова. Микрофлора кожи, хранящейся в неблагоприятных условиях в течение длительного времени (Федеральный центр консервации библиотечных фондов при Российской национальной библиотеке, Санкт-Петербург)

Исследовано повреждение кожи, хранящейся длительное время в неблагоприятных условиях. Образцы кожи помещали в эксикатор с условиями повышенной влажности (RH = 94 % при температуре 21.6 °С). В процессе хранения происходило естественное заражение кожи микрофлорой, присутствующей в воздухе, а также на поверхности и в толще кожи. В ходе эксперимента через 3 и 12 месяцев визуальным осмотром определяли поврежденность образцов и путем взвешивания — потерю массы. Для этого образцы кожи промывали 5 мл стерильной дистиллированной воды и полученную таким образом суспензию спор, кусочков мицелия и кожи высевали на агаризованную среду Чапека—Докса в чашки Петри. Затем подсчитывали количество КОЕ на единице поверхности кожи и их видовую принадлежность. Кожу высушивали в течение нескольких дней в комнатных условиях, определяли потерю массы образцов в результате роста грибов и содержание микроорганизмов в воздухе эксикатора. Получены следующие результаты.

Через 3 месяца хранения визуально отмечено 5%-е поражение поверхности кожи. На образцах обнаружено в среднем около 61 тыс. КОЕ. Всего выделено 15 микромицетов, среди которых 10 определены до вида: *Penicillium oxalicum*, *P. herquei*, *P. brevicompactum*, *P. funiculosum*, *Aspergillus flavus*, *A. sydowi*, *A. versicolor*, *A. flavipes*, *A. ustus*, *A. niger*; четыре до рода: *Paecilomyces* sp. и *Penicillium* sp. и один микромицет не идентифицирован. Более 90 % выделенных грибов были представлены двумя микромицетами — *Penicillium oxalicum* (67 %) и *P. herquei* (22 %). На долю остальных грибов пришлось всего 9 % от общего числа КОЕ. С контрольных образцов кожи, содержащихся в нормальных условиях, выделено 150 КОЕ, представленных только двумя видами — *Penicillium oxalicum* и *Aspergillus niger*.

Потеря массы образцов составила в среднем около 0.03 г, в процентном отношении к исходной массе образца — 5.2 %. Содержание микроорганизмов в воздухе эксикатора 20 КОЕ/ч. Выделены грибы трех видов: *Aspergillus niger*, *Penicillium funiculosum*, *P. oxalicum*, а также *Paecilomyces* sp. и *Aspergillus* sp.

Через 12 месяцев визуально отмечено 50%-е поражение кожи, на образцах количество КОЕ в среднем достигало 880 тыс. Видовой состав изменился: выделено 4 микромицета, из которых *Penicillium oxalicum* составил 97.8 %, *P. herquei* — 2 %, *P. funiculosum* и *Aspergillus ustus* — по 0.1 %. На контрольных образцах кожи через год увеличилось количество грибов до 230 КОЕ и изменился видовой состав — выделено еще 3 гриба кроме *Penicillium oxalicum*, *Aspergillus niger* и *P. funiculosum*. Через год потеря массы образцов увеличилась незначительно: в среднем составила 0.044 г, в процентном отношении к исходной массе образца — 7.1 %. Максимальная потеря массы достигала 8.6 %. Содержание микроорганизмов в воздухе эксикатора более 500 КОЕ/ч.

Таким образом, кожа, находясь в условиях повышенной влажности, интенсивно поражается грибами, из которых в качестве наиболее активного можно отметить *P. oxalicum*.

23 12 2008

ФИЗИОЛОГИЯ, БИОХИМИЯ, БИОТЕХНОЛОГИЯ

УДК 579.26

© *Е. В. Федосеева, С. В. Пацаева, В. А. Терехова***ВЛИЯНИЕ ГУМАТА КАЛИЯ НА НЕКОТОРЫЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ
ХАРАКТЕРИСТИКИ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ГРИБОВ
РАЗНОЙ ПИГМЕНТАЦИИ**FEDOSEEVA E. V., PATSAEVA S. V., TEREKHOVA V. A. EFFECT OF POTASSIUM HUMATE
ON SOME OF THE PHYSIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF MICROSCOPIC FUNGI WITH
DIFFERENT PIGMENTS

Темноокрашенные и беспигментные формы грибов во многом обладают различными физиологическими и биохимическими характеристиками, что определяет их реакции на природные экологические факторы и техногенное воздействие. Беспигментные формы грибов часто являются более конкурентоспособными, быстро растут и осваивают субстрат, обладают большим набором ферментов и антибиотиков по сравнению с пигментированными грибами (Мирчинк, 1988). При этом темнопигментированные виды являются более стрессоустойчивыми (Жданова и др., 1988; Zhdanova et al., 2003, и др.). Возрастание доли темнопигментированных микромицетов в комплексе микроорганизмов в некоторых случаях является одним из индикаторов присутствия в среде загрязняющих веществ, таких, например, как тяжелые металлы (Левин и др., 1987; Терехова, 2007, и др.).

Гуминовые вещества нередко играют роль смягчающего фактора при неблагоприятных воздействиях на биоту, участвуя не только в детоксикации и химическом превращении загрязняющих веществ, но и оказывая прямое и опосредованное воздействие на живые клетки (Kulikova et al., 2005; Feifcova et al., 2005; Steinberg et al., 2006).

Окраску грибам придают пигменты разной природы: каротиноиды, хинонные компоненты и меланины. Среди меланинов выделяют две группы соединений: эумеланины (нерастворимые, черные и темно-коричневые пигменты) и феомеланины (растворимые в щелочах пигменты желто-красно-коричневого цвета). Показано, что пигменты феомеланины наиболее близки по ряду характеристик к гуминовым веществам (Мирчинк, 1988; Королева и др., 2007). Анализу сходства физико-химических и структурных характеристик грибных пигментов и гуминовых веществ уделяется большое внимание. Это связано с недостаточной изученностью вопроса о вкладе грибов в формирование запасов почвенного гумуса. Ранее отмечалось, что некоторые виды грибов активно разлагают гуминовые вещества различного происхождения (Burger, Latter, 1960; Blondeau, 1989; Grams et al., 1999). Образование меланиноподобных пигментов у грибов связывают с их активностью в деструкции ряда фенольных соединений, которые микромицеты используют как субстрат в процессе окислительной полимеризации (Yurlova, 2007). В биосинтезе меланинов и гуминоподобных веществ (ГПВ) участвуют фенолоксидазы (лактаза, о-дифенолксидаза), способствующие утилизации лигнинсодержащих субстратов. При этом регуляцией активности фенолоксидаз следует считать важным фактором в рекультивации техногенно нарушенных сред (Королева и др., 2007; Yurlova, 2007).

Если химические аспекты, результаты анализа сходств и различий грибных пигментов и гуминовых веществ хорошо отражены в литературе, то особенности взаимодействия гуминовых веществ с живыми культурами и метаболитами грибов, содержащих разные пигменты, изучены явно недостаточно. Мы полагаем, что результаты исследований влияния гуминовых веществ на грибы, различающиеся по пигментации мицелия, могут быть полезны для понимания различий в адапционном потенциале темно- и светлоокрашенных видов.

В связи с этим цель данной работы заключалась в сравнительном анализе ростовых и спектральных характеристик грибов разной пигментации в присутствии препарата гумата калия и без него.

Материал и методы

Объектами для исследований послужили 6 видов почвообитающих грибов с различающейся окраской мицелия, которые мы условно разделили на 3 группы. Группа темноокрашенных грибов была представлена *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl. (штамм ЧП-1), *Cladosporium cladosporioides* (Fresen.) de Vries (штамм ЧП-2) с сильнопигментированным мицелием черного цвета и *Phoma glomerata* (Corda) Wollenw. et Hochapfel (штамм ЧП-3) с темно-коричневым мицелием. Ко второй группе отнесены штаммы с коричневыми пигментами: светло-коричневый *Geomyces pannorum* (Link) Hughes (штамм КП-1) и штамм *Mycelia sterilia* (КП-2) с пигментом оранжево-коричневого оттенка. К третьей группе грибов, мицелий которых характеризуется отсутствием пигментов-меланинов, отнесена культура *Fusarium moniliforme* Sheldl. (анаморфа *Gibberella fujikuroi* (Sawada) Wollenw.) (штамм АП).

Физиологические (ростовые и спектральные) характеристики грибов разной пигментации исследовали при воздействии гумата калия (из леонардита «Powhumus» производства Humintech Ltd.) в концентрации 0.02 и 0.1 % в лабораторных условиях. При выборе рабочих концентраций коммерческого препарата гумата в среде роста (0.02 и 0.1 %) опирались на известные из литературы данные и наши оценки экотоксичности разных концентраций препарата в стандартных тест-системах (Наумова и др., 2007; Fedoseeva et al., 2007).

Ростовые характеристики грибов получали путем измерения радиальной скорости роста колоний на агаризованной среде Чапека в чашках Петри с добавлением гумата калия и без него. Измерения осуществляли каждые 2-е сутки после посева культуры в течение одной или четырех недель в зависимости от скорости роста колоний штаммов. Рассчитывали среднее для трех колоний в 3 чашках Петри. Эксперимент проводили в 3-кратной повторности.

Физиологическую активность исследуемых видов грибов по отношению к гуминовым соединениям характеризовали по спектрам поглощения культуральной жидкости и мицелия, выросшего в течение 3 недель в колбах на жидкой среде Чапека при внесении гумата (0.02 %). Контролем служили колбы со средой и грибами, но без гумата калия. Культуральную жидкость для измерения спектров поглощения исследовали после фильтрования среды, на которой росли грибы, через стандартный бумажный фильтр (сорт «белая лента»). Спектральные характеристики культуральной жидкости микромицетов в возрасте одной и трех недель измеряли на спектрофотометре Perkin Elmer Lambda 35. Аналитические и биологические повторности при измерении спектральных характеристик микромицетов 2-кратные.

Результаты и обсуждение

Проведенные в лабораторных условиях эксперименты позволили выявить ряд особенностей в реакции исследуемых видов грибов на присутствие в среде роста гуминового препарата.

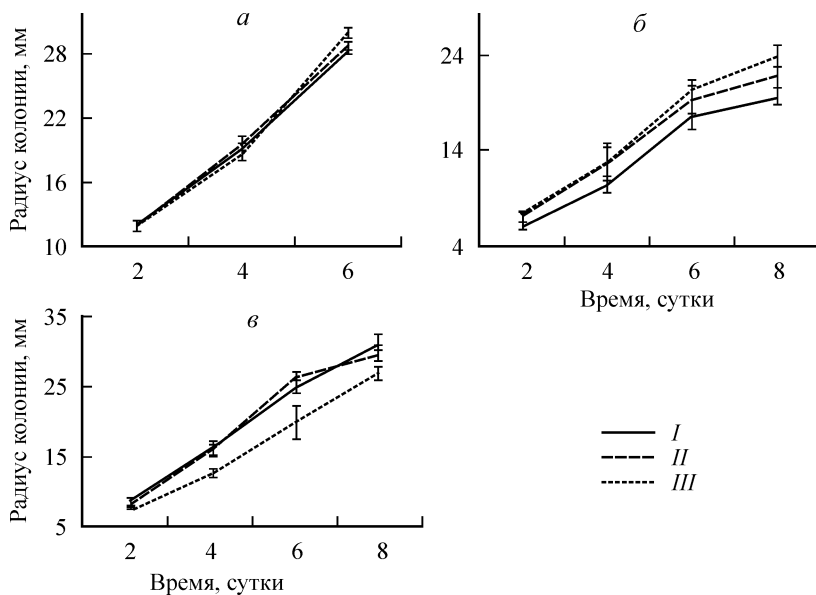


Рис. 1. Скорость роста колоний микромицетов различной пигментации на среде без гумата и с добавлением гумата калия.
 а — *Fusarium moniliforme* АП, б — *Mucelia sterilia* КП-2, в — *Alternaria alternata* ЧП-1. I — без гумата, II — 0.02 %, III — 0.1 % гумата.

Результаты показали, что добавление гумата калия в питательную среду неодинаково влияет на ростовые характеристики грибов различной пигментации. Культура неокрашенного *F. moniliforme* не реагировала на внесение гумата: не выявлено достоверных отклонений от контроля при содержании в среде Чапека 0.02 и 0.1 % гумата калия (рис. 1, а). На 8-е сутки роста колонии *F. moniliforme* во всех вариантах опыта заполняли всю поверхность питательной среды в чашках Петри. Штамм с коричневым пигментом *Mucelia sterilia* КП-2 при содержании 0.02 и 0.1 % гумата калия менял кинетические характеристики в сторону увеличения (рис. 1, б). Стимулирование гуминовым препаратом радиального роста штамма *G. pannorum* КП-1 проявлялось только на 28-е сутки эксперимента (радиус колоний увеличивался на среде с 0.02 % гумата на 12.0 ± 3.2 %, с 0.1 % гумата — на 6.2 ± 2.2 % по сравнению с контролем). Рост колоний темноокрашенных культур под влиянием гумата скорее замедлялся. Это наиболее четко заметно при наблюдении за развитием колоний *A. alternata* на среде с 0.1%-м гуминовым препаратом. На 8-е сутки роста на средах с добавлением 0.02%-го гуминового препарата значения радиуса колоний *A. alternata* были меньше на 6.0 ± 2.8 %, чем в контроле. С повышением концентрации гумата до 0.1 % на 8-е сутки эксперимента рост данной темнопигментированной культуры замедляется на 14.4 ± 3.4 % (рис. 1, в). При внесении 0.02 % гумата радиальный рост колоний *P. glomerata* ЧП-3 замедлялся на 10.9 ± 3.0 и 10.2 ± 2.5 % на 6-е и 8-е сутки соответственно, а при внесении 0.1 % гумата снижение роста составило 12.3 ± 3.6 % на 8-е сутки по сравнению с контролем. Темноокрашенная культура *C. cladosporioides* менее всего реагировала на внесение гуминового препарата, радиальный рост колоний замедлялся в пределах статистической ошибки.

При анализе структурно-функциональной организации микобиоты в природных средах достаточно широко используется экспресс-метод оценки разнообразия микробных сообществ по радиальной скорости роста. На основе этого показателя предложено группировать микроорганизмы, выделяемые при посеве образцов на питательные среды, по разным классам с определенным диапазоном значений коэффициента радиальной скорости роста колоний (*K_r*) и кинетическим типам (Полянская и др., 1989).

**Кинетические градации микромицетов
по радиальной скорости роста колоний**

Кинетический тип	Классы <i>Kr</i>	Скорость роста, мм/ч
Медленнорастущие	1	0.00—0.05
	2	0.06—0.10
	3	0.11—0.15
	4	0.16—0.20
Быстрорастущие	5	0.21—0.25
	6	0.26—0.30
	7	0.31—0.35
	8	0.36—0.40
	9	0.41—0.45
	10	0.46—0.50
	11	0.51—0.55
	12	0.56—0.60

В данной работе было проведено ранжирование исследуемых видов грибов по характеру роста на среде без добавления гумата. На основе изменения диаметра колоний в единицу времени нами были рассчитаны коэффициенты радиальной скорости роста представленных микромицетов (*Kr*, мм/ч). Ранжирование принадлежности колоний к определенному классу *Kr* (см. таблицу) проводили на основе рассчитанных коэффициентов радиальной скорости роста в соответствии с градациями, используемыми в ранее опубликованных работах (Терехова и др., 1998; Головченко и др., 2000; Терехова, 2007). В группу медленнорастущих были выделены *G. pannorum* КП-1, *Mucelia sterilia* КП-2, *A. alternata* ЧП-1, *C. cladosporioides* ЧП-2 и *P. glomerata* ЧП-3, к быстрорастущим отнесен *F. moniliforme* АП.

Следует отметить общую для всех штаммов тенденцию: по мере увеличения возраста культуры и диаметра колоний происходит снижение скорости роста микромицетов, что обусловлено, очевидно, истощением питательной среды, а также действием грибных метаболитов. Замедление скорости роста наблюдалось как на среде без добавления гумата калия, так и на среде в его присутствии. Гуминовый препарат не менял кинетического типа исследованных штаммов, однако способствовал переходу некоторых культур микромицетов в другие классы *Kr*.

Скорость роста культуры *Mucelia sterilia* КП-2 на среде Чапека без внесения гуминового препарата, соответствующую 3-му классу *Kr*, отмечали на 2-е и 6-е сутки; на 4-е и 8-е сутки эксперимента фиксировали снижение скорости до 2-го класса *Kr*. Скорость роста данного штамма на среде с гуматом соответствовала более высокому уровню класса *Kr*. Так, на 4-е сутки эксперимента отмечали следующие значения радиальной скорости роста *Mucelia sterilia*: 0.108 ± 0.018 мм/ч — на среде Чапека, 0.132 ± 0.009 мм/ч — на среде Чапека с 0.02 % гумата, 0.135 ± 0.019 мм/ч — на среде Чапека с 0.1 % гумата (рис. 2, а). Темноокрашенная культура *A. alternata* ЧП-1 в присутствии 0.1 % гуминового препарата в течение эксперимента росла со скоростью 3-го класса *Kr*, тогда как на средах без гумата и при 0.02%-й концентрации гумата данный штамм рос в течение 8 суток со скоростью 4-го класса *Kr*. На 6-е сутки эксперимента скорость роста *A. alternata* на среде без гумата составляла 0.173 ± 0.017 мм/ч, при 0.02 % гумата — 0.164 ± 0.07 мм/ч, при 0.1 % гумата — 0.123 ± 0.004 мм/ч (рис. 2, б). Культуры *G. pannorum* КП-1, *C. cladosporioides* ЧП-2 и *P. glomerata* ЧП-3 не реагировали на присутствие гуминового препарата в среде. Скорость роста штаммов *G. pannorum* и *C. cladosporioides* во всех случаях соответствовала 1-му классу *Kr*, *P. glomerata* — 4-му классу. Скорость роста непигментированной культуры *F. moniliforme* АП также оставалась в пределах одних и тех же классов *Kr* независимо от наличия в среде гумата калия (рис. 2, в).

Таким образом, ростовые характеристики исследованных микромицетов при разном уровне гуминовых веществ в среде меняются в неодинаковой степени. Из этого

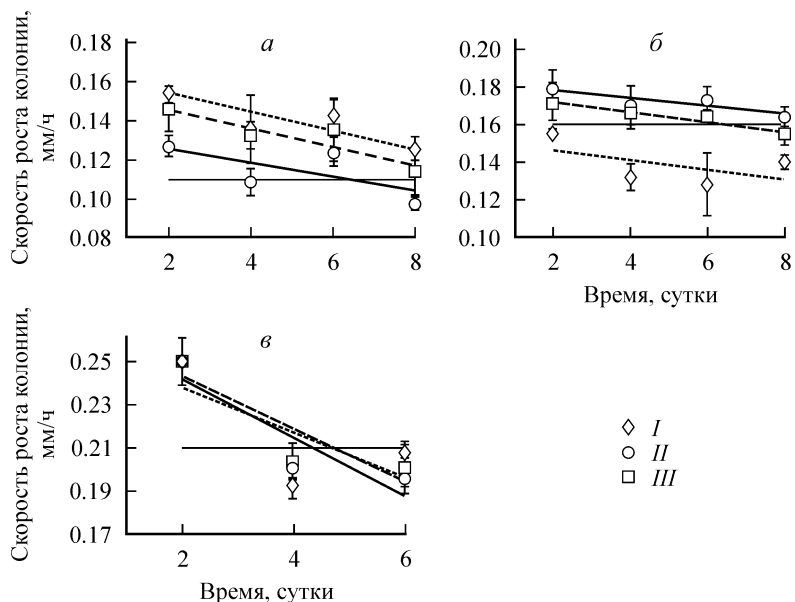


Рис. 2. Динамика скорости роста колонии микромицетов различной пигментации на среде без гумата и с добавлением гумата калия.

a – *Mycelia sterilia* КП-2, *б* – *Alternaria alternata* ЧП-1, *в* – *Fusarium moniliforme* АП. Черта — граница между 2-м и 3-м (*a*), 3-м и 4-м (*б*), 4-м и 5-м (*в*) классом *Kr*. I — без гумата, II — 0.02 %, III — 0.1 % гумата.

следует, что при оценке функционального разнообразия грибов на основе рангового распределения выделяемых колоний соответственно классам *Kr* одни и те же сообщества, имеющие в своем составе пигментированные микромицеты, в природных средах разной гумусированности будут иметь различающиеся показатели разнообразия. Гуминовые вещества, влияя на скорость роста мицелия пигментированных грибов, вероятно, могут влиять на частоту их выделения и соответственно на долю меланизированного мицелия в почве.

Исследование спектральных характеристик пяти штаммов (*C. cladosporioides*, *A. alternata*, *Mycelia sterilia*, *G. pannorum* и *F. moniliforme*) выявило отличия в спектрах поглощения микромицетов разной пигментации.

Спектры поглощения культуральной жидкости всех культур показали уменьшающиеся значения оптической плотности при увеличении длины волны от 200 до 700 нм. В спектрах поглощения культуральной жидкости на фоне убывающих значений оптической плотности выделяются отдельные пики поглощения специфических соединений грибов: полоса в УФ-области с максимумом 290—300 нм, обусловленная присутствием простых фенольных соединений, обнаружена у *A. alternata* и *G. pannorum* (рис. 3, *a*, *в*); широкая полоса в области 400—500 нм, которую предположительно можно объяснить наличием пигментов-каротиноидов, характерна для *Mycelia sterilia* (рис. 3, *a*).

В ходе исследований показана неодинаковая реакция грибов на добавление гумата. Так, пик поглощения 290 нм, характерный для *A. alternata* и *G. pannorum*, при выращивании штаммов на среде Чапека с гуматом (рис. 3, *б*, *г*), выражен слабее, чем без гумата (рис. 3, *a*, *в*). То же касается и широкой полосы в области 400—500 нм, характерной для *Mycelia sterilia* (рис. 3, *a*, *б*).

В спектрах поглощения *C. cladosporioides* и *F. moniliforme* не выявлено специфических для них пиков (рис. 3, *в*). При этом оптическая плотность культуральной жидкости темноокрашенного штамма была более высокой по сравнению с неокрашенным *F. moniliforme*, что может свидетельствовать о присутствии в среде роста пигментов-меланинов *C. cladosporioides*. Поскольку спектры поглощения меланинов похожи по форме на типичные спектры поглощения гуминовых соединений, спектральные

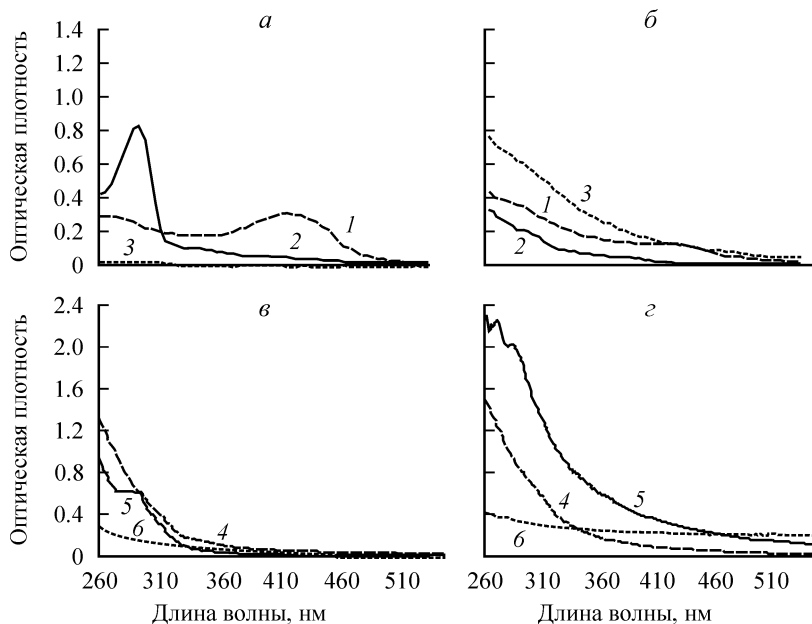


Рис. 3. Спектры поглощения среды Чапека и культуральной жидкости микромицетов различной пигментации на среде без гумата (а, в) и с добавлением гумата калия (б, г).
а, б: 1 — *Mycelia sterilia*, 2 — *Alternaria alternata*, 3 — среда Чапека; в, г: 4 — *Cladosporium cladosporioides*, 5 — *Geomyces pannorum*, 6 — *Fusarium moniliforme*.

характеристики этих грибов при выращивании штамма на среде с внесением гуминового препарата и без него не различались (рис. 3, г).

Таким образом, гумат калия по-разному влиял на физиологические характеристики исследуемых штаммов грибов. Присутствие гуминового вещества снижало кинетические показатели некоторых темноокрашенных штаммов *A. alternata* ЧП-1 и *P. glomerata* ЧП-3, стимулировало рост штамма *Mycelia sterilia* КП-2 с мицелием коричневого цвета и практически не влияло на скорость роста непигментированного штамма *F. moniliforme* АП. Влияние гумата калия на спектральные характеристики некоторых окрашенных культур (*A. alternata*, *G. pannorum* КП-1 и *Mycelia sterilia*) проявлялось в сглаживании в спектрах поглощения пиков, характерных при выращивании в отсутствие гумата. Гумат калия не оказывал влияния на характер спектра поглощения культуральной жидкости гиаиновой культуры *F. moniliforme*. Выявленные различия ростовых и спектральных характеристик у окрашенных и неокрашенных культур грибов, видимо, обусловлены взаимодействием гуминовых веществ с грибными метаболитами пигментированных видов. Мы полагаем, что продемонстрированные особенности физиологических реакций исследуемых штаммов грибов на присутствие в среде роста гуминовых веществ могут влиять на их экологические функции. Это влияние может в первую очередь сказываться на различии в адаптационных возможностях грибов в биотопах с разным содержанием гумуса.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Головченко А. В., Добровольская Т. Г., Максимова И. А., Терехова В. А., Звягинцев Д. Г., Трофимов С. Я. Структура и функции микробных сообществ почв южной тайги // Микробиология. 2000. Т. 69, № 4. С. 1—12.

Жданова Н. Н., Василевская А. И. Меланинсодержащие грибы в экстремальных условиях. Киев: Наук. думка, 1988. 196 с.

Королева О. В., Куликова Н. А., Алексеева Т. Н., Степанова Е. В., Давидчик В. Н., Беляева Е. Ю., Цветкова Е. А. Сравнительная характеристика грибного меланина и гуминоподобных веществ, синтезируемых *Serpema maxima* 0275 // Прикл. биохимия и микробиология. 2007. Т. 43, № 1. С. 69—76.

Левин С. В., Гузев В. С., Асеева И. В., Бабьева И. П., Марфенина О. Е., Умаров М. М. Тяжелые металлы как фактор антропогенного воздействия на почвенную микробиоту // Микроорганизмы и охрана почв. М.: МГУ, 1989. С. 5—46.

Мирчинк Т. Г. Почвенная микология. М.: МГУ, 1988. 220 с.

Наумова Г. В., Жмакова Н. А., Овчинникова Т. Ф., Макарова Н. Л. Новые гуминовые препараты фунгицидного и бактерицидного действия на основе торфа // Гуминовые вещества в биосфере / Тр. IV Всерос. конф. (Москва, 19—21 декабря 2007). СПб: Санкт-Петербург, 2007. С. 66—71.

Полянская Л. М., Кочкина Г. Н., Кожевин Д. Г., Звягинцев Д. Г. Кинетическое описание структуры комплексов почвенных актиномицетов // Микробиология. 1989. Т. 57, № 5. С. 854—859.

Терехова В. А. Микромитцы в экологической оценке водных и наземных экосистем. М.: Наука, 2007. 215 с.

Терехова В. А., Семенова Т. А., Трофимов С. Я. Структура комплексов микромитцетов в подстилке заповедных ельников Тверской области // Микология и фитопатология. 1998. Т. 32, вып. 3. С. 18—24.

Blondeau R. Biodegradation of natural and synthetic humic acids by the white rot fungus *Phanerochaete chrysosporium* // Appl. Environ. Microbiol. 1989. N 55. P. 1282—1285.

Burger A., Latter V. Decomposition of humic acid by fungi // Nature. 1960. Vol. 186, N 4722. P. 404—405.

Feifcova D., Snajdr J., Siglova M., Cejkova A., Masak J., Jirku V. Influence of humic acids on the growth of the microorganisms utilizing toxic compounds (comparison between yeast and bacteria) // Chimia. 2005. N 59. P. 749—752.

Fedoseeva E. V., Menshenina A. O., Patsaeva S. V., Terekhova V. A. Spectral characterization of micromycetes in the presence of humate and without it // The XV Congr. of Europ. Mycologists, Russia (Saint Petersburg, 16—17 Sept., 2007). Abstracts. St. Petersburg: TREEART LLC, 2007. P. 165—167.

Gramss G., Ziegenhagen D., Sorge S. Degradation of soil humic extract by wood- and soil-associated fungi, bacteria, and commercial enzymes // Microbiol. Ecol. 1999. N 37. P. 140—151.

Kulikova N. A., Stepanova E. V., Koroleva O. V. Mitigating activity of humic substances: direct influence on biota // Use of humic substances to remediate polluted environments: from theory to practice / Eds I. V. Perminova et al. Netherlands, 2005. P. 285—309.

Steinberg C. E. W., Kamara S., Prokhotskaya V. Y., Manusadzianas L., Karasyova T. A., Timofeyev M. A. Dissolved humic substances — ecological driving forces from the individual to the ecosystem level? // Freshwater Biology. 2006. N 51. P. 1189—1210.

Yurlova N. A. Extremotolerant black yeast fungi as agent of diseases and objects of biotechnology // The XV Congr. of Europ. Mycologists (Russia, Saint Petersburg, 16—17 Sept., 2007). Abstracts. St. Petersburg: TREEART LLC, 2007. P. 209.

Zhdanova N. N., Redchits T. I., Tugay T. I., Zheltonozhsky V. A., Sadovnikov L. V., Dighton J. Biological activity of fungi isolated from localities of high radioactive pollution // The XIV Congr. of Europ. Mycologists (Katsiveli, Yalta, Crimea, Ukraine, 22—27 Sept., 2003). Abstracts. Yalta, 2003. P. 27.

Институт проблем экологии и эволюции им. А. Н. Северцова РАН
Москва

Поступила 21 XII 2007

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова
vterekhova@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Влияние гумата калия на некоторые физиологические характеристики микроскопических грибов исследовали на 6 штаммах с разной пигментацией мицелия. Показано, что скорость роста колоний на среде Чапека, содержащей 0.1 или 0.02 % гумата калия, по сравнению с контролем на среде без гумата снижалась у темноокрашенных колоний (*Alternaria alternata*, *Phoma glomerata*, в меньшей степени — у *Cladosporium cladosporioides*) и в основном повышалась у светлоокрашенных колоний изученных микромицетов (*Mycelia sterilia*, в меньшей степени — у *Geomyces pannorum*). Скорость роста непигментированного штамма *Fusarium moniliforme* заметно не изменилась. Специфические особенности спектров поглощения культуральных сред, как показано, зависели от пигментации мицелия. Исчезновение пиков поглощения при 290 и 400—500 нм, типичное для контрольных вариантов опыта (без гумата калия), наблюдалось на культуральных средах пигментированных грибов *Alternaria alternata*, *Geomyces pannorum* и *Mycelia sterilia*, выращенных в присутствии гумата. Не выявлены изменения спектров поглощения у непигментированного *Fusarium moniliforme*. Полученные данные свидетельствуют о специфическом взаимодействии между гуматом и метаболитами пигментированных грибов. Это может влиять на экологическую стратегию исследованных пигментированных грибов и их устойчивость к различным факторам окружающей среды с разным содержанием гуминовых веществ.

Ключевые слова: гумат калия, микроскопические грибы, пигментация мицелия, спектры поглощения.

SUMMARY

The effect of potassium humate on some physiological characteristics of microscopic fungi has been studied on 6 strains with different-pigmented mycelium. It was shown that growth rate of the colony grown on Chapek agar medium containing 0.1 or 0.02 % of potassium humate in relation to that of the control colony grown on medium without humate decreased for black and deep-brown colonies (*Alternaria alternata*, *Phoma glomerata* and in a less extent *Cladosporium cladosporioides*) and predominantly for light-colored colonies of studied micromycetes (*Mycelia sterilia* and in a less extent *Geomyces pannorum*). Growth rate of non-pigmented strain of *Fusarium moniliforme* did not show noticeable changes. The specific features in absorption spectra of fungal cultural medium were found corresponding to mycelium pigmentation. The elimination of the absorption peaks at 290 and 400—500 nm typical for control variants (grown without potassium humate) was observed for the cultural media of pigmented fungi *Alternaria alternata*, *Geomyces pannorum*, and *Mycelia sterilia* grown in presence of humate. The change in the absorption spectra of non-pigmented *Fusarium moniliforme* wasn't revealed. The data suggest specific interaction between humate and metabolites of pigmented fungi. It can affect the ecological strategy of investigated pigmented fungi and their tolerance to adverse factors of environment with different content of humic substances.

Key words: potassium humate, microscopic fungi, mycelium pigmentation, absorption spectra.

**БИОРАЗНООБРАЗИЕ, СИСТЕМАТИКА,
ЭКОЛОГИЯ**

УДК 641.46 : 582.23.017.64

© А. М. Глушакова, И. Ю. Чернов

**ДИНАМИКА ДРОЖЖЕВЫХ СООБЩЕСТВ
В ПЛОДАХ ШИПОВНИКА (ROSA CANINA L.)**GLUSHAKOVA A. M., CHERNOV I. Yu. YEAST COMMUNITIES DYNAMICS
IN FRUITS OF HEDGE ROSE (ROSA CANINA L.)

Долгое время считалось, что ассоциированные с растениями сапротрофные микроорганизмы обитают только на их поверхности. Ткани здорового растения, особенно меристематические, абсолютно стерильны, и размножение микроорганизмов внутри растения представляет собой патологический процесс. Исключением являются специализированные симбионты, такие как клубеньковые бактерии или грибы эндотрофной микоризы. В последние годы появляется все больше сведений о способности многих бактерий и грибов размножаться в растительных тканях под кутикулярным покровом (Cao et al., 2002; Muller, Krauss, 2005; Santamaria, Bayman, 2005; Jordaanb et al., 2006). При этом эндофитное развитие микроорганизмов расценивается как реализация стратегии избегания неблагоприятных факторов, таких как солнечная радиация и иссушение. До сих пор не вполне понятно, можно ли считать эндофитный рост мутуалистическим или проявлением скрытого (латентного) паразитизма (Schulz, Boyle, 2005; Kogel et al., 2006). Наиболее детально исследованы эндофитные грибы злаков, имеющие практическое значение в связи со снижением кормовой ценности зараженных растений (Благовещенская, 2006).

К числу наиболее характерных эпифитных эккрисотрофных микроорганизмов, активно размножающихся на поверхности листьев растений, относятся дрожжевые грибы. Однако сведения о существовании эндофитных дрожжей практически отсутствуют. Имеются лишь единичные работы, посвященные выделению дрожжевых клеток из ксилемы и других внутренних тканей растений, но результаты этих исследований сомнительны и требуют подтверждения (Zhao et al., 2002). Многие виды эпифитных дрожжей обладают липолитическими и пектинолитическими ферментами, что может позволить им проникнуть во внутренние ткани с поверхности, в результате локального разрушения кутикулы. В отличие от мицелиальных грибов одноклеточные дрожжи не способны распространяться за счет апикального роста по межклеточному пространству. Кроме того, дрожжи относятся к типичным копиотрофам, для роста и размножения которых требуется относительно высокая концентрация легкодоступных соединений. Учитывая эти особенности, можно предположить, что эндофитно дрожжи могут достаточно активно развиваться лишь в тех частях растений, которые характеризуются неплотным сложением и высокой концентрацией простых сахаров. Проведенные авторами статьи предварительные исследования показали, что внутри неповрежденных плодов многих растений действительно встречаются дрожжи, численность которых особенно велика в созревших высокосахаристых плодах. Знание масштабов распространения и закономерностей развития таких эндокарпных дрож-

жей может быть полезным не только для более детальных представлений об особенностях экологии этих микроорганизмов, но и иметь практический аспект, связанный с разработкой методов хранения и контроля качества сельскохозяйственной продукции. Эндокарпные дрожжи в съедобных плодах могут также служить источником аллергических реакций.

Одним из видов растений, в плодах которого в ходе предварительных исследований дрожжи обнаруживались постоянно и в высоком обилии, был шиповник (*Rosa canina* L.). В настоящей работе представлены результаты более детальных исследований динамики численности и таксономического состава группировок дрожжей в плодах шиповника.

Материал и методы

Образцы плодов шиповника отбирали в двух пунктах: на территории заповедника Лосинный остров и в окрестностях станции Лобня. Целые неповрежденные плоды отбирали каждые 1—2 недели, начиная с момента формирования плодов в июне 2005 г. и заканчивая почти полным их разложением в марте 2006 г. В каждый срок анализировали по 10—20 плодов. Всего было проанализировано 934 плода. Для анализа численности и видового состава дрожжей каждый плод помещали в пробирку, заливали 5 мл стерильной воды, обрабатывали на вортексе 2 мин. Смыв высевали на глюкозо-пептонную среду, подкисленную молочной кислотой до pH 4—4.5. Далее поверхность отмытых плодов стерилизовали 96%-м спиртом, снимали экзокарпий, измельчали оставшуюся часть плода, помещали ее в пробирки, заливали стерильной водой так, чтобы получить разведение 1 : 50. После обработки суспензии на вортексе в течение 2 мин ее также высевали на подкисленную глюкозо-пептонную среду. Посевы инкубировали при комнатной температуре 5—7 суток. Выросшие колонии дрожжей с помощью бинокулярной лупы разделяли на морфологические типы, и подсчитывали число колоний каждого типа. Представителей каждого типа колоний выделяли в чистую культуру и идентифицировали по морфологическим и физиологическим признакам с использованием определителя (*The Yeasts...*, 1998) и дополнительных ключей и определительных таблиц (*Fonseca et al.*, 2000). Для каждого плода определяли общую численность дрожжей и численность каждого вида внутри и снаружи плода в КОЕ/плод (масса одного плода в среднем около 0.7 г).

Результаты и обсуждение

Дрожжи присутствовали практически во всех исследованных плодах. Максимальная численность их была зафиксирована в середине сентября и составила 7.6×10^7 КОЕ/плод. При этом в 94 % случаев дрожжи были обнаружены не только на поверхности, но и внутри плода, т. е. после удаления экзокарпия. Однако в среднем численность дрожжей внутри плодов была меньше (8.1×10^5 КОЕ/плод), чем на поверхности (6.2×10^6 КОЕ/плод).

В ходе онтогенеза плодов количество дрожжей существенно изменялось (рис. 1). Численность дрожжей на поверхности молодых только что сформировавшихся плодов достигала 10^6 КОЕ/плод, затем в течение лета снизилась до 10^5 и снова возросла до 10^6 КОЕ/плод осенью. Далее, в течение всей зимы количество дрожжей на поверхности плодов существенно не изменялось и оставалось на уровне 10^5 — 10^6 КОЕ/плод до их полного разрушения в марте. Динамика численности дрожжей внутри плода носила иной характер. В молодых плодах количество дрожжей не превышало 10^3 КОЕ/плод и затем в течение всего онтогенеза закономерно увеличивалось, достигнув максимума в конце зимы и весной, к моменту разрушения плодов.

Всего на плодах шиповника было обнаружено 20 видов дрожжевых грибов (см. таблицу). Однако большинство из них было выделено лишь в отдельные сроки

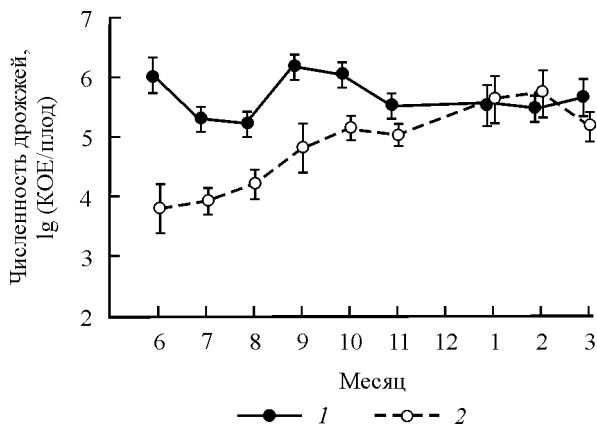


Рис. 1. Динамика общей численности дрожжей на поверхности (1) и внутри (2) плодов шиповника. Точки — среднемесячные значения, вертикальные отрезки — ошибки среднего. То же для рис. 2.

проведения анализа и только в одном из пунктов. Только 4 вида встречались постоянно, в обоих исследованных пунктах и во все сроки анализа. Это широко распространенные виды дрожжей, часто обнаруживаемые на различных растительных субстратах. Среди них *Cryptococcus albidus* — один из наиболее часто встречающихся эврибионтных анаморфных видов из порядка *Filobasidiales*, характеризующийся высокой изменчивостью и экологической пластичностью, представляющий комплекс множества близких форм, некоторые из которых были недавно описаны как самостоятельные виды на основании различий в последовательностях рДНК (Fonseca et al., 2000). Они также могут быть диагностированы на основании расширенного физиологического спектра, включающего тесты на ассимиляцию ароматических соединений и альдаровых кислот (Fonseca et al., 2000). Среди выделенных нами штаммов филобазидиевых криптококков подавляющее большинство соответствовало описанию *C. al-*

Среднее относительное обилие видов дрожжей на поверхности и внутри плодов шиповника

Вид	На поверхности	Внутри
<i>Hanseniaspora guilliermondii</i> Pijper	26.5	32.7
<i>Cystofilobasidium capitatum</i> (Fell et al.) Hamamoto et al.	20.6	19.4
<i>Metschnikowia pulcherrima</i> Pitt et Miller	17.0	14.6
<i>Cryptococcus albidus</i> (Saito) Skinner	15.3	6.3
<i>Candida kunwiensis</i> Hong Soon Gyu et al.	5.1	6.7
<i>Candida oleophila</i> Montrocher	3.6	5.5
<i>Rhodotorula glutinis</i> (Fresen.) Harrison	3.6	5.0
<i>Cryptococcus magnus</i> (Lodder et Kreger) Baptist et Kurtzman	3.7	2.8
<i>Debaryomyces hansenii</i> (Zopf) Lodder et Kreger	0	4.3
<i>Rhodotorula</i> sp. 1	2.3	0
<i>Tremella encephala</i> Pers.	1.2	0
<i>Rhodotorula</i> sp. 2	0	1.1
<i>Rhodotorula</i> sp. 3	0.8	0
<i>Rhodotorula vanillica</i> Sampaio	0	0.7
<i>Cryptococcus wieringae</i> Fonseca et al.	0	0.7
<i>Candida</i> sp. 1	0	0.1
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i> (Jorgensen) Harrison	0.1	0
<i>Sporobolomyces</i> sp.	0.1	0
<i>Rhodotorula fujisanensis</i> (Soneda) Johnson et Phaff	0	0.1
<i>Cryptococcus diffluens</i> (Zach) Lodder et Kreger	0.1	0

bidus sensu stricto, однако несколько однократно выделенных штаммов были более сходны с описанием близкого вида *C. wieringae*. Кроме того, достаточно регулярно встречались представители другого близкородственного вида — *C. magnus*. Все эти виды филогенетически достаточно близкие, их трудно различить на основании морфологии колоний, поэтому при дальнейшем анализе мы их рассматриваем в качестве единой группы филобазидиевых криптококков.

Еще один доминирующий на плодах шиповника вид дрожжевых грибов — *Cystofilobasidium capitatum* — представитель диморфных телиоспоровых базидиомицетов, один из наиболее обычных видов обитателей свежих и особенно разлагающихся растительных остатков в лесной полосе умеренной зоны (Максимова, Чернов, 2004).

Два других доминанта представлены аскомицетовыми видами *Hanseniaspora guilhermondii* и *Metschnikowia pulcherrima*, широко распространенными в природных местообитаниях. Представители рода *Hanseniaspora* встречаются на растениях, в почве, причем особенно часто обнаруживаются на различных высокосахаристых сочных плодах (Rossini et al., 1982); *M. pulcherrima* — один из наиболее типичных обитателей цветочного нектара (Бабьева, Горин, 1973).

В дрожжевых сообществах, формирующихся на плодах шиповника, эти виды составили круг потенциальных доминантов. Как правило, на отдельном плоде на долю одного из них приходилось более 50—60 % от общей численности дрожжей. В редких случаях на отдельных плодах преобладали другие виды дрожжей: анаморфные аскомицеты (*Candida* spp.) и краснопигментированные базидиомицеты *Rhodotorula glutinis*.

Все перечисленные виды были обнаружены как на поверхности, так и внутри плодов, причем средние за весь срок наблюдений показатели их обилия различались достоверно, но незначительно. Исключением являются филобазидиевые криптококки *Cryptococcus albidus/magnus*, среднее относительное и абсолютное обилие которых на поверхности существенно выше. Все виды, которые были обнаружены только на поверхности или только в мякоти плода, являются минорными, их среднее относительное обилие не превышало 5 %.

Численность доминирующих видов дрожжей изменялась в течение онтогенеза плодов, причем характер динамики был различным для разных видов (рис. 2). Филобазидиевые криптококки были наиболее обильны на поверхности молодых плодов в середине лета, затем их численность сокращалась и в течение зимы они находились редко. Численность криптококков внутри плодов была существенно ниже, причем обнаруживали их здесь почти исключительно в летний период. Динамика численности *Cystofilobasidium capitatum* характеризовалась наличием максимума в начале осени и особенно сильным подъемом весной, перед разрушением плодов. При этом характер динамики на поверхности и внутри плодов был одинаковым. Доминирующие аскомицетовые виды имели максимумы численности в разные периоды: численность *Metschnikowia pulcherrima* была наиболее высокой на поверхности молодых плодов в июне, а внутри плодов — в конце лета и в сентябре. Зимой этот вид находили очень редко. Напротив, апикулятные дрожжи рода *Hanseniaspora* отсутствовали на только что сформировавшихся плодах и имели максимальную численность в сентябре—октябре на поверхности и в середине зимы внутри плодов.

Полученные данные показывают, что дрожжевые грибы могут активно размножаться как на поверхности, так и внутри растительных тканей, по крайней мере в сахаросодержащих плодах. При этом численность дрожжей постепенно возрастает по мере созревания и дальнейшего старения плода. Так как видимых повреждений плода при этом не возникает, остается предположить, что внутри плода дрожжи также выполняют функцию подбора простых сахаров и не образуют активных гидролитических ферментов, разрушающих ткани плода.

Возникает вопрос о механизме попадания дрожжей внутрь плода. Здесь возможны два варианта. Во-первых, дрожжевые клетки могут сохраняться в плоде в процессе его формирования из цветка. Хорошо известно, что в цветочном нектаре развиваются разнообразные дрожжевые группировки, которые могут оставаться в разрастающемся плоде и в дальнейшем размножаться после накопления достаточного количества

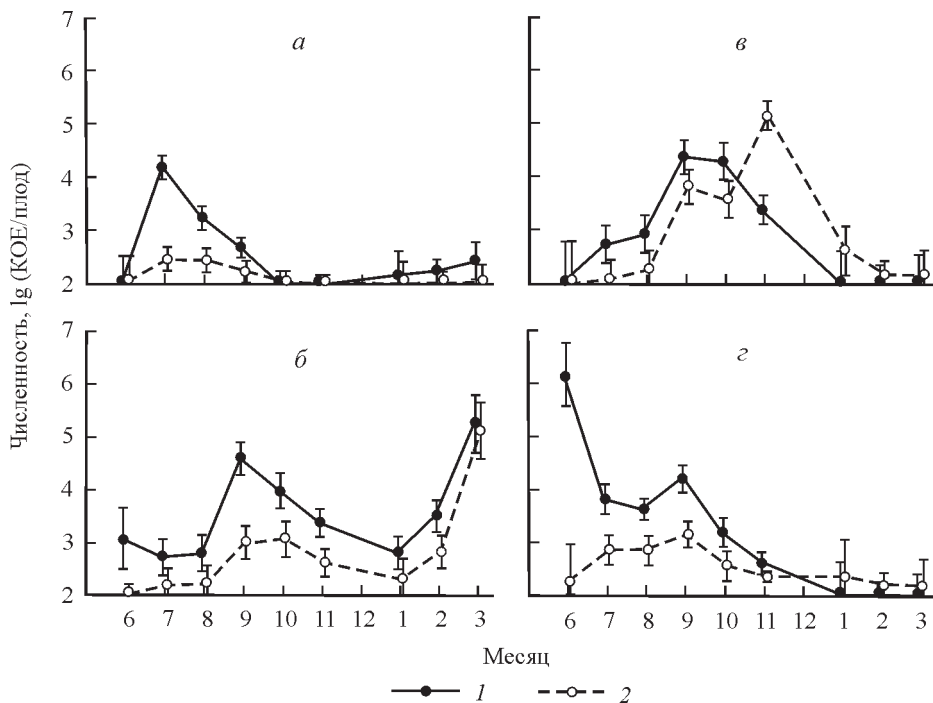


Рис. 2. Динамика численности доминирующих видов дрожжей на плодах шиповника.
 а — *Cryptococcus albidus/magnus*, б — *Cystofilobasidium capitatum*, в — *Hanseniaspora guilliermondii*, г — *Metschnikowia pulcherrima*.

свободных сахаров. Во-вторых, дрожжевые клетки могут попадать в плод через микроразрывы покровных тканей.

Ранее нами было обнаружено (неопубликованные данные), что в некоторых плодах, обладающих плотными покровами, исключая случайное попадание микробных клеток внутрь, в частности в плодах дуба и конского каштана, также присутствуют дрожжи. При этом видовой состав дрожжевого населения экзокарпия и внутренних тканей, окружающих семена, существенно различался. По-видимому, в этих случаях дрожжи попадают в плод из нектара, сохраняются в семядолях и размножаются при активизации процесса развития зародыша, который сопровождается гидролизом крахмала и образованием легкодоступных сахаров.

Таксономический состав сообществ внутри плодов шиповника не специфичен и представлен теми же видами, что и на их поверхности. Поэтому более вероятным представляется частое попадание дрожжевых клеток внутрь плода с поверхности. Плоды шиповника (цинарродии) представляют собой многоорешки, у которых суккулентизация подверглась гипантий (сросшиеся основания лепестков, чашелистиков и тычинок). Попадание дрожжевых клеток внутрь гипантия возможно в результате нарушения целостности его покровных тканей. Это регулярно происходит по мере созревания и старения непадающих плодов, начиная с середины лета (конец июня—июль). Кроме того, в верхней части гипантия элементы цветка часто остаются практически свободными, и по мере созревания плода связь между ними постепенно ослабевает, что также создает возможность попадания эпифитных дрожжей во внутренние ткани гипантия. Как следствие этого, наблюдался сходный таксономический состав и особенности временной динамики дрожжевых группировок на поверхности и внутри плода.

Тем не менее имеются определенные различия в характере дрожжевых сообществ внутри и на поверхности плодов. На поверхности плода на протяжении всего онтогенеза выше значимость базидиомицетовых дрожжей. Как уже отмечалось, в первую

очередь это касается филобазидиевых криптококков, которые были особенно многочисленны на молодых плодах. Численность пигментированных диморфных базидиомицетов, среди которых доминирует *Cystofilobasidium capitatum*, также несколько выше на поверхности на протяжении всего онтогенеза. Относительное обилие аскомицетовых дрожжей в среднем приблизительно одинаковое как внутри, так и на поверхности плода. Однако, как видно из данных, приведенных на рис. 2, увеличение численности доминирующих аскомицетов *Metschnikowia pulcherrima* и *Hanseniaspora guilliermondii* внутри плода начинается несколько позже того периода, когда наблюдается максимум их численности на поверхности. В незначительной численности эти виды сохранялись в тканях плодов до их полного разрушения в марте, тогда как на поверхности они перестали встречаться, начиная с января. Это наводит на мысль о том, что эндокарпное развитие аскомицетовых дрожжей можно рассматривать как стратегию избегания неблагоприятных факторов. Считается, что возникновение истинного эндофитного образа жизни у некоторых бактерий и мицелиальных грибов связано именно с избеганием негативного влияния факторов, лимитирующих рост эпифитных микроорганизмов, прежде всего солнечной инсоляции (Lindow, Brandl, 2003). В отличие от аскомицетовых дрожжей диморфные базидиомицеты обладают комплексом морфологических признаков, в частности каротиноидной пигментацией, полисахаридными капсулами, которые, судя по их распространению, являются адаптациями именно к эпифитному образу жизни. С другой стороны, диморфные базидиомицеты — в основном строгие аэробы, в отличие от способных к брожению аскомицетовых дрожжей должны хуже развиваться в микроаэрофильных условиях в тканях плода.

На основании имеющихся в настоящее время данных рано говорить о распространенности и ценотической роли эндофитных дрожжей. Однако на примере плодов шиповника нами был, вероятно, обнаружен один из возможных вариантов, а именно неспецифическое псевдоэндофитное сообщество, возникающее в результате достаточно легкого попадания клеток эпифитных дрожжей внутрь плода. Явление массового размножения дрожжей внутри сахаросодержащих плодов, по-видимому, распространено достаточно широко и, несомненно, требует более детальных исследований.

Работа выполнена при финансовом содействии РФФИ (грант № 07-04-00481) и программы Президента Российской Федерации для поддержки ведущих научных школ РФ (грант № НШ-8797.2006.4).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Бабьева И. П., Горин С. Е. О спорообразовании и жизненном цикле *Metschnikowia pulcherrima* и *M. teukaufii* в природе // Вест. МГУ, сер. Биология, почвоведение. 1973. № 5. С. 82—85.

Благовещенская Е. Ю. Эндофитные грибы злаков: Дис. ... канд. биол. наук. М.: МГУ, 2006. 124 с.

Максимова И. А., Чернов И. Ю. Структура сообществ дрожжевых грибов в лесных биогеоценозах // Микробиология. 2004. Т. 73, вып. 4. С. 558—556.

Sao L. X., You J. L., Zhou S. N. Endophytic fungi from *Musa acuminata* leaves and roots in South China // World J. Microbiol. Biotechnol. 2002. Vol. 18, N 2. P. 169—171.

Fonseca A., Scorzetti G., Fell J. W. Diversity in the yeast *Cryptococcus albidus* and related species as revealed by ribosomal DNA sequence analysis // Can. J. Microbiol. 2000. Vol. 46. P. 7—27.

Jordaanb A., Taylor J. E., Rossenkhan R. Occurrence and possible role of endophytic fungi associated with seed pods of *Colophospermum mopane* (Fabaceae) in Botswana // South African J. Bot. 2006. Vol. 72. P. 245—255.

Kogel K. H., Franken P., Hückelhoven R. Endophyte or parasite — what decides? // Curr. Opin. in Plant Biol. 2006. Vol. 9. P. 358—363.

Lindow S. E., Brandl M. Microbiology of the phyllosphere // Appl. Environm. Microbiol. 2003. Vol. 69, N 4. P. 1875—1883.

Müller C. B., Krauss J. Symbiosis between grasses and asexual fungal endophytes // Curr. Opin. in Plant Biol. 2005. Vol. 8. P. 450—456.

Rossini G., Fedetici F., Martini A. Yeast flora of grape berries during ripening // Microbiol. Ecol. 1982. Vol. 8. P. 83—89.

Santamaria J., Bayman P. Fungal epiphytes and endophytes of coffee leaves (*Coffea arabica*) // Microbiol. Ecol. 2005. Vol. 50, N 1. P. 1—8.

Schulz B., Boyle C. The endophytic continuum // Mycol. Res. 2005. Vol. 109. P. 661—686.

The Yeasts, a taxonomic study / Eds C. P. Kurtzman, J. W. Fell. 5th revised and enlarged edition. Amsterdam: Elsevier Science B. V., 1998. 1055 p.

Zhao J. H., Bai F. Y., Guo L. D., Jia J. H. *Rhodotorula pinicola* sp. nov., a basidiomycetous yeast species isolated from zylem of pine twigs // Fems Yeast Res. 2002. Vol. 2, N 2. P. 159—163.

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова
yes@soil.msu.ru

Поступила 20 V 2008

РЕЗЮМЕ

На примере плодов шиповника показано, что разнообразные дрожжевые сообщества формируются не только на их поверхности, но и во внутренних тканях. Общая численность эндофитных дрожжей постепенно увеличивается в ходе онтогенеза плодов и достигает максимума в перезревших плодах, перед их разрушением. Эндофитные дрожжевые группировки представлены в основном теми же видами, что и на поверхности плодов, среди которых доминируют филобазидиевые криптококки — *Cystofilobasidium capitatum*, *Metschnikowia pulcherrima* и *Hanseniaspora guilliermondii*. Их численность существенно меняется в течение онтогенеза плодов, причем каждый вид характеризуется особым типом динамики. Значимость базидиомицетовых дрожжей в среднем несколько выше на поверхности плодов. Численность эпифитных и эндофитных аскомицетовых дрожжей в среднем одинакова, однако внутри плода аскомицеты появляются позже и сохраняются дольше, поэтому их эндофитное развитие можно рассматривать как стратегию избегания неблагоприятных факторов. Наиболее вероятным механизмом формирования эндофитных сообществ представляется регулярное попадание дрожжевых клеток внутрь плода через микроповреждения покровных тканей и верхнюю часть гепантия.

Ключевые слова: дрожжи, шиповник, эпифитные микроорганизмы, эндофиты, сезонная динамика.

SUMMARY

Composition of yeast communities in fruits of hedge rose (*Rosa canina* L.) was investigated during all ontogenetic periods from primordium to fruits' destruction. Yeasts were found to be numerous and diverse not only on surface of fruits but also inside. The whole number of yeasts inside fruits gradually increased during ripening and was maximal in winter before their destruction. Species composition of yeasts inside fruits and on fruit's surface was similar. The dominant species were represented by *Cryptococcus albidus* and related filobasidious species, *Cystofilobasidium capitatum*, *Metschnikowia pulcherrima* and *Hanseniaspora guilliermondii*. The relative abundance of these species changed during fruits ripening, and each species was characterized by its own type of dynamic. The abundance of basidiomycetous yeasts was higher on fruit's surface while ascomycetous yeasts were more numerous inside ripe fruits. So the outgoing of ascomycetous yeasts inside fruits in winter is assumed to be the strategy to escape negative factors.

Key words: yeasts, hedge rose (*Rosa canina*), epiphytic microorganisms, endophytes, seasonal dynamics.

ГРИБЫ — ВОЗБУДИТЕЛИ БОЛЕЗНЕЙ РАСТЕНИЙ

УДК 630.627.3

© В. Ф. Ковязин

ПАТОЛОГИЯ ДУБА ЧЕРЕШЧАТОГО (*QUERCUS ROBUR*) НА СЕВЕРО-ЗАПАДНОЙ ГРАНИЦЕ ЕГО АРЕАЛА В НАСАЖДЕНИЯХ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА

KOVYAZIN V. F. THE PATHOLOGY OF SUMMER OAK (*QUERCUS ROBUR*) ON NORTHERN-WEST BORDER OF ITS NATURAL HABITAT ON PLANTATIONS OF SAINT PETERSBURG

Видовой состав насаждений Санкт-Петербурга представлен древесными породами как аборигенными, так и произрастающими на северо-западной границе своего ареала. В городских условиях эти деревья, в том числе и дуб черешчатый (*Quercus robur* L.), встречаются здесь на небольших участках в виде древесных массивов, куртин, групп или одиночно, образуя «точечный» ареал.

На северо-западе Российской Федерации дубовые насаждения подвергаются воздействию ряда природных и антропогенных факторов, не свойственных районам основного произрастания (зоне умеренного климата), что сказывается на их экологическом состоянии и долговечности. К отрицательным факторам можно отнести: укороченный период вегетации, ранние осенние и поздние весенние заморозки, в отдельные годы сильные морозы и резкие перепады температуры, нарушение светового режима, подтопление территории, загрязнение и уплотнение верхних горизонтов почвенного профиля и ряд других антропогенных факторов.

По данным дендрологов (Булыгин, 2000), продолжительность жизни дуба черешчатого в естественных экосистемах достигает 400—500 лет. По Санкт-Петербургу имеются совершенно другие данные о продолжительности жизни этой породы (Минкевич, 2000; Ковязин, 2002). Например, на Каменном острове в парке «Тихий отдых» дуб был посажен в 1715 г. императором Петром Первым, дерево усохло в 1988 г., просуществовав в центре города 273 года. В Сестрорецком парке «Дубки», заложенном также Петром Первым в 1717 г., к 1981 г. сохранилось всего девять экземпляров, достигших возраста 280 лет. В настоящее время здоровые деревья дуба в парке отсутствуют. Можно привести еще множество аналогичных примеров, указывающих на то, что в условиях Северо-Запада предельный возраст жизни дуба черешчатого не превышает 300 лет, т. е. продолжительность жизни этого древесного вида сокращается примерно в 2 раза.

Дуб черешчатый — достаточно жизнестойкая порода. Он образует мощную глубокую стержневую корневую систему, что обеспечивает этой породе достаточно высокую ветроустойчивость. По отношению к внешним факторам городской среды Санкт-Петербурга отмечается, что дуб черешчатый чувствителен к весенним заморозкам и морозам (Булыгин, 2000; Минкевич, 2000; Афанасенко, 2005).

Задачей данной работы является выявление причин ранней гибели дуба черешчатого в условиях Северо-Запада и рекомендация профилактических приемов.

Объекты исследований выбраны в различных экополярных зонах Санкт-Петербурга с севера на юг с разной степенью урбанизации: парк Музея-заповедника «Павловск», Отдельный и Баболовский парки г. Пушкина, парк «Дубки» в Курортном районе и насаждения муниципальных образований (МО) «Стрельна» и «г. Петергоф» в Петродворцовом районе. Всего в течение 2005—2007 гг. учтено санитарное состояние 716 деревьев. Результаты полевого учета древесных пород обработаны методами математической статистики (Чумаков, 1974; Минкевич, 1977).

При учете городских насаждений устанавливались: степень усыхания кроны деревьев (развитие болезни в баллах), повреждение стволов морозом (морозобойные трещины), болезни ветвей и листьев. Определение степени усыхания кроны осуществлялось глазомерно по пятибалльной шкале (Ковязин, 2008): 0 — дерево здоровое; 1 — в кроне имеются усыхающие ветви и побеги, но не более 25 %; 2 — усыхает 26—50 % ветвей и побегов; 3 — 51—75 % кроны; 4 — более 75 % ветвей и побегов. В табл. 1—5 указаны среднеарифметические величины степени усыхания кроны исследованных деревьев. Репрезентативность выборочных данных устанавливалась в пределах стандартной ошибки, что соответствует 70 % их вероятности. Это вполне достаточно для визуальных полевых исследований.

Парк Музея-заповедника «Павловск» расположен на 27 км южнее Санкт-Петербурга. При создании парка значительное место в формировании закрытых ландшафтов уделено дубу черешчатому. По архивным материалам установили (Ковязин, 2008), что посадки дуба проводились в зимнее время в ямы квадратного сечения размером 2.8—4.3 м, глубиной до 0.7 м. Корневую систему крупномерных деревьев выкапывали с замороженным комом, в посадочные места подсыпали «черную землю». Дубки для посадок закупали у крестьян в районе Дудергофских высот, которые расположены рядом с местом посадки, т. е. использовали растения местной популяции. В дальнейшем на состояние деревьев отрицательное влияние оказывали перепады температур в течение зимы (при быстром охлаждении ниже точки замерзания воды стволы растрескиваются, так как внутри древесины возникает физическое напряжение вследствие разности температур в разных ее слоях и поглощения воды кристаллами льда). При этом больше всех страдали породы с широкими сердцевинными лучами, к которым относится и дуб черешчатый (Крамер, 1963; Крутов, 2002).

Данные о состоянии кроны дуба черешчатого в парке Музея-заповедника «Павловск» приведены в табл. 1.

Из данных табл. 1 следует, что во всех возрастных группах деревья имеют признаки усыхания кроны, кроме групповых посадок 120—140-летнего возраста, что служит следствием повреждения побегов и ветвей низкими температурами. Это подтверждается развитием в коре сапротрофов и факультативных паразитов *Colpoma quercinum* (Pers.) Wallr., *Vuilleminia comedens* Maire, *Diatrypella quercina* (Pers.) Nitschke, *Cytospora* sp. Начиная со 120-летнего возраста усыхание кроны у одиночно растущих деревьев и в групповых посадках примерно одинаковое. У старых деревьев этот показатель силь-

Таблица 1

Распространение и развитие усыхания кроны деревьев дуба черешчатого в Павловском парке в зависимости от возраста и типа посадки

Возраст, лет	Количество экземпляров, штук	Распространение усыхания, %			Развитие усыхания, баллы		
		солитеры	аллеи	группы	солитеры	аллеи	группы
До 20	31	0	0	100	0	0	2.0
41—60	38	0	84—100	100	0	1.5—2.1	3.0—3.4
101—120	42	0	100	100	0	4.0	1.1—2.9
121—140	39	100	0	38—90	2.0	0	1.5—2.1
161—180	49	100	0	100	2.1—2.7	0	2.2—2.8
200 и более	35	100	0	100	1.8—3.2	0	1.6—3.4

**Состояние кроны дуба черешчатого в Отдельном парке
у деревьев с различным диаметром ствола**

Диаметр ствола, см	Усыхание кроны, балл	Диаметр ствола, см	Усыхание кроны, балл
44.1—48.0	2.1—2.7	64.1—68.0	2.9
48.1—52.0	2.0	72.1—76.0	3.0
56.1—60.0	2.3	76.1—80.0	3.2—3.5
60.0—64.0	2.8—3.1	84.1—88.0	3.3—3.8

но колеблется, что можно объяснить выборочной санитарной вырезкой усохших ветвей при уходе за насаждениями. Ухудшение состояния кроны дуба с возрастом в аллеях является следствием повышенной рекреационной нагрузки и значительного развития мучнистой росы листьев (возбудитель *Microsphaera alphitoides* Griff. et Maubl).

Возбудителями гнили древесины дуба черешчатого являются два вида базидиомицетов: серно-желтый трутовик (*Laetiporus sulphureus* (Bull.: Fr.) Murrill) вызывает красно-бурю призматическую ядровую гниль, ложный дубовый трутовик (*Phellinus robustus* (P. Karst.) Bourd. et Galz) — желто-белую полосатую ядровую гниль. Базидиомы серно-желтого трутовика обнаружены на 6 % деревьев старше 180 лет, а с учетом скрытой гнили поражение растений в этом возрасте составляет почти 60 %. Ложный дубовый трутовик встречается в парковых насаждениях заповедника редко, его плодовые тела найдены на трех деревьях старше 200 лет.

Отдельный парк расположен в юго-восточной части г. Пушкина. Его насаждения состоят из линейных посадок дуба черешчатого и примыкающих к ним лесных участков, заросших аборигенными видами деревьев и кустарников. Деревья дуба имеют механические повреждения, сухобокость, значительное распространение красно-бурой призматической ядровой гнили. В период обследования листья дуба черешчатого, особенно в нижней части кроны, были поражены мучнистой росой до 40 %. Микрофлора усыхающих побегов и ветвей представлена видами сумчатых и несовершенных грибов, аналогичных видам в парке Музея-заповедника «Павловск».

Учет состояния кроны дуба черешчатого в Отдельном парке проведен для деревьев преобладающего возраста (70—80 лет) с распределением по толщине на «высоте груди» (1.3 м) и интервалом 4.0 см. Усыхание кроны зарегистрировано у всех обследованных 159 деревьев дуба черешчатого (табл. 2).

Из приведенных данных видно, что степень усыхания кроны зависит от таксационных показателей деревьев, особенно диаметра ствола, который тесно коррелирует с высотой и возрастом растений. Отмирание ветвей и побегов в кроне дерева объясняется отрицательным действием внешних факторов.

Баболовский парк расположен на юго-западной окраине г. Пушкина и по своему состоянию больше напоминает лесопарк; гидрологическая сеть находится в запущенном состоянии. Вследствие большой площади объекта обследование состояния деревьев проведено выборочно на типичных для территории парка участках. Фиксировалось состояние кроны, развитие мучнистой росы листьев (на дату учета) и патология стволов. Данные обследования приведены в табл. 3.

Распространенность и интенсивность усыхания кроны у дуба черешчатого в Баболовском парке с возрастом деревьев увеличивается. Как и в парке Музея-заповедника «Павловск», на усохших и усыхающих ветвях и побегах обнаружен комплекс грибов — факультативных паразитов и сапротрофов. Дополнительно к перечисленным ранее здесь обнаружен представитель несовершенных грибов *Tubercularia vulgaris* Tode (анаморфа пиреномицета *Nectria cinnabarina* (Tode) Fr.), который поселяется в коре побегов, пораженных заморозками.

Первые признаки морозобойных трещин зарегистрированы на стволах деревьев в возрасте 40—50 лет, и к 100 годам на ряде участков их распространенность достигла

Таблица 3

Фитопатологическое состояние дуба черешчатого в насаждениях Баболовского парка

Возраст деревьев, лет	Количество деревьев, штук	Усыхание кроны		Патология ствола, %		Мучнистая роса листьев (распространенность), %
		распространенность, %	развитие, балл	морозобойные трещины	ядровая гниль	
20	39	0	0	0	0	75—100
40—50	45	46—68	1.3—1.5	4—16	4—16	19—47
70—80	54	100	2.8—3.2	6—28	36—64	28—56
100 и более	30	100	3.3—4.1	50—100	25—75	0

100 %. Соответственно увеличивается и количество деревьев с ядровой гнилью. Мучнистая роса развивается в нижней части кроны. Возбудителем гнили является серо-желтый трутовик.

Насаждения селитебных территорий. Изучались дубовые посадки, расположенные на землях муниципальных образований (МО) «Стрельна» и «г. Петергоф» в Петродворцовом районе Санкт-Петербурга. Объекты расположены на южном берегу Финского залива, имеют ясно выраженную рельефность. Прибрежная зона, где находятся насаждения, характеризуется мягким морским климатом. На линейные насаждения древесных пород отрицательное влияние оказывают транспортные потоки, характерные для этого района Санкт-Петербурга. Данные обследования насаждений дуба представлены в табл. 4.

Дубовые посадки муниципальных образований Петродворцового района представлены молодыми деревьями, возраст которых не превышает 30—50 лет, что объясняется уничтожением насаждений в период Великой Отечественной войны и медленным их восстановлением в послевоенное время.

По данным обследований, состояние молодых насаждений хуже, что объясняется низким уровнем агротехники посадки. В дальнейшем состояние дуба черешчатого улучшается, но все одиночные деревья старше 80 лет поражены красно-бурой призматической ядровой гнилью. На территории МО «Стрельна» у всех деревьев старше 80 лет отмечена ядровая гниль.

Парк «Дубки». Сестрорецкий парк «Дубки» заложен в XVIII в. по указанию и при личном участии императора Петра Первого. Перед посадкой в Сестрорецкую гавань на нескольких баржах была завезена плодородная («черная») земля, в которую и осуществлялась посадка деревьев. Большинство посаженных деревьев погибло, ко

Таблица 4

Состояние дуба черешчатого на территории муниципальных образований

Возраст деревьев, лет	Количество деревьев, штук	Состояние кроны (усыхание ветвей)		Патология ствола, %		Мучнистая роса листьев (распространенность), %
		распространенность, %	развитие, балл	морозобойные трещины	ядровая гниль	
МО «Стрельна»						
До 15	86	100	2.4—2.8	0	0	30
16—30	73	60	1.5—1.8	0	0	0
Более 30	60	80	1.8—2.8	7	3	0
МО «г. Петергоф»						
До 30	95	100	1.8—2.4	1	0	30

Таблица 5

Распространенность морозобойных трещин деревьев дуба черешчатого в зависимости от возраста в зеленых насаждениях Санкт-Петербурга

Возраст деревьев, лет	Количество деревьев, штук	Распространенность морозобойных трещин стволов, %
21—40	37	24 ± 3
41—60	49	38 ± 6
61—80	51	53 ± 9
81—100	40	72 ± 8
101—120	32	68 ± 9
121—140	31	58 ± 8
161 и более	30	95 ± 5

времени обследования сохранилось всего 32 экземпляра дуба черешчатого искусственного и естественного происхождения. Сохранившиеся в парке деревья старовозрастного дуба поражены серно-желтым и ложным дубовым трутовиками (ядровая гниль), появление базидиом которых указывает на угасание функций корневых систем деревьев в связи с их старением (Бондарцев, 1953; Журавлев, 1979; Мельник, 1992). Иногда в ядровой древесине старых деревьев дуба поселяется северный ежовик (*Climacodon septentrionalis* (Fr.) P. Karst.) — возбудитель белой пластинчатой ядровой гнили, проникновению которого также способствуют морозобойные трещины.

Всего помимо деревьев петровских времен в парке произрастает около 300 экземпляров дуба естественного происхождения. В результате исследования нами установлено, что почти у всех экземпляров дуба в настоящее время отмечена суховершинность, имеются водяные побеги и морозобойные трещины, с признаками красно-бурой призматической ядровой гнили, вызванной серно-желтым трутовиком.

Обнаруженные на дубе черешчатом дереворазрушающие грибы не являются паразитами. По мнению В. Г. Стороженко (2007), это биотрофы, местом обитания которых в насаждениях являются живые растения. Они могут проникать в стволы деревьев только через глубокие механические повреждения, обнажающие мертвую часть ствола — ядро. Такими повреждениями на северо-западной границе ареала дуба черешчатого являются морозобойные трещины, обобщенные данные о распространении которых на дубе черешчатом в Санкт-Петербурге представлены в табл. 5.

Некоторое снижение среднего процента распространенности морозобойные трещин стволов у деревьев в возрасте от 100 до 140 лет объясняется вырубкой из насаждений деревьев с признаками гнили при санитарно-оздоровительных мероприятиях. Из данных табл. 5 следует, что появление морозобойных трещин в обследованных искусственных насаждениях дуба черешчатого наблюдается у деревьев возраста 21—40 лет, а возраст 81—100 лет является критическим, после которого морозобоины встречаются на всех деревьях. Со старением дерева слой заболони, устойчивый к гнили, в котором имеются живые клетки, становится тонким и не выдерживает механических нагрузок ствола и ветвей кроны, особенно при порывах ветра. Сильные ветры характерны для Санкт-Петербурга. Дерево постепенно разрушается и погибает.

С целью продления срока жизни дуба черешчатого в зеленых насаждениях Северо-Запада РФ необходимо осуществлять мониторинг за состоянием деревьев начиная с 20—40-летнего возраста. При обнаружении участков с обнаженной древесиной ядра их следует обработать антисептиками, гниль удалить и провести лечебные и санитарно-оздоровительные мероприятия.

Поскольку основным возбудителем ядровой гнили служит серно-желтый трутовик, его следует отнести к объектам внутреннего карантина: запретить вывоз древесины с признаками гнили, отрезки стволов деревьев, спиленных при санитарно-оздору-

вительных мероприятиях нельзя складировать на территории объекта озеленения, до наступления вегетации их необходимо уничтожить.

При фитосанитарном уходе в первую очередь следует удалять деревья с открытыми морозобойными трещинами, с глубокими механическими повреждениями и усыханием кроны в 3—4 балла. Широкое распространение морозобойных трещин у деревьев в возрасте старше 60 лет, при диаметре ствола более 44 см и в групповых посадках. Это основная патология дуба черешчатого, которая приводит к сокращению срока жизни деревьев.

На основании исследований искусственных насаждений дуба черешчатого на северо-западной границе своего ареала в Санкт-Петербурге установлено, что основным путем проникновения в древесину дереворазрушающих грибов, вызывающих гнили, являются морозобойные трещины. Степень повреждения деревьев зависит от ряда факторов: возраста, диаметра ствола и типа посадок. Серно-желтый трутовик является главным возбудителем ядровой гнили древесины дуба черешчатого в мегаполисе. Деревья подлежат удалению, как представляющие угрозу для отдыхающих.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Афанасенко О. С., Велицкий И. Н., Минкевич И. И. и др. Болезни культурных растений. СПб.: Редакционно-издательский отдел СПбГЛТА, 2005. 288 с.

Бондарцев А. С. Трутовые грибы европейской части СССР и Кавказа. М.; Л.: Изд-во АН СССР, 1953. 106 с.

Булыгин Н. Е., Ярмишко В. Т. Дендрология. СПб.: Наука, 2000. 528 с.

Журавлев И. И., Селиванова Т. Н., Черемисинов Н. А. Определитель грибных болезней деревьев и кустарников. М.: Лесн. пром-сть, 1979. 248 с.

Ковязин В. Ф., Минкевич И. И., Шабнов В. М. Древесные породы зеленых насаждений Санкт-Петербурга и Пушкина, мониторинг их состояния и способы его улучшения. СПб.: СПбГПУ, 2002. 88 с.

Ковязин В. Ф., Минкевич И. И., Шабнов В. М. Зеленые насаждения в системе кадастра Санкт-Петербурга // Зап. Горного института. 2004. Т. 156. С. 268—274.

Ковязин В. Ф. Биологические основы формирования устойчивых экосистем и рационального использования почвенно-растительных ресурсов мегаполисов (на примере Санкт-Петербурга): Дис. ... докт. биол. наук. СПб.: АФИ, 2008. 358 с.

Крамер П., Козловский Г. Физиология древесных растений. М.: Гослесбумиздат, 1963. 628 с.

Крутов В. И., Минкевич И. И. Грибные болезни древесных пород. Петрозаводск: Ин-тут леса, 2002. 196 с.

Мельник В. А., Попшой И. С. Несовершенные грибы на древесных и кустарниковых породах. Кишинев: Штиинца, 1992. 362 с.

Минкевич И. И., Захарова Т. И. Математические методы в фитопатологии. Л.: Колос, 1977. 48 с.

Минкевич И. И. Дуб. Легенды и действительность // Лесное хозяйство. 2000. № 1. С. 35—36.

Стороженко В. Г. Устойчивые лесные сообщества. Теория и эксперимент. Тула: Гриф и К., 2007. 192 с.

Чумаков А. Е., Минкевич И. И., Власов Ю. И. Основные методы фитопатологических исследований. М.: Колос, 1974. 192 с.

РЕЗЮМЕ

Приведены результаты многолетних исследований состояния дуба черешчатого в зеленых насаждениях Санкт-Петербурга. Установлено, что дуб страдает от морозобойных трещин во всех районах мегаполиса. Степень поражения зависит от возраста, диаметра и типа посадок. На месте морозобойных трещин развивается ядровая гниль, вызываемая *Laetiporus sulphureus* и *Phellinus robustus*. Для ограничения распространения болезни предложены профилактические мероприятия.

Ключевые слова: *Quercus robur*, ядровая гниль, *Laetiporus sulphureus*, *Phellinus robustus*, насаждения, морозобойные трещины.

SUMMARY

The results of long-term research of pedunculate oak state on plantations of Saint-Petersburg are presented. It is established that oak trees suffer from frosty cracks in all districts of the megapolis. The degree of affection depends on the age, the diameter and the type of the planting. The heart rot caused by *Laetiporus sulphureus* and *Phellinus robustus* develops at the place of frosty cracks. The preventive measures are suggested for the delimitation of infection spreading.

Key words: *Quercus robur*, heart rot, *Laetiporus sulphureus*, *Phellinus robustus*, plantations, frosty cracks.

УДК: 631.466.1 : 633.2.03(282.247.133)

© *Е. М. Лаптева, Ф. М. Хабибуллина, Ю. А. Виноградова*

РАЗНООБРАЗИЕ МИКРОМИЦЕТОВ В ПОЧВАХ ПОЙМЕННЫХ ЛУГОВ

LAPTEVA E. M., KHABIBULLINA F. M., VINOGRADOVA Yu. A. DIVERSITY OF SOIL MICROMYCETES IN FLOOD PLAINS

Выявление природного разнообразия микромицетов, оценка их функциональной активности — важные задачи почвенной микробиологии (Терехова, 2007). Это обусловлено как значимой ролью почвенных микроскопических грибов в функционировании наземных экосистем (Kjoller, Struwe, 1982; Мирчинк, 1988; Туев, 1989; Rayner, 1992; Полянская, 1996), так и возможностью использования микологических показателей в биоиндикационных целях при оценке антропогенной трансформации природных сред (Марфенина, 1994; Терехова, 1994). Поэтому в условиях активного антропогенного преобразования ландшафтов особое внимание обращается на изучение биоразнообразия микромицетов ненарушенных местообитаний (Терехова и др., 1999; Павлова и др., 2000). В этом аспекте почвы пойменных ландшафтов сравнительно мало исследованы. Можно отметить только одну крупную работу, посвященную микромицетам аллювиальных почв, формирующихся в долинах рек Полесья, лесостепной и степной зон (Билай и др., 1984). Некоторые сведения о видовом разнообразии и профилном распределении микроскопических грибов в аллювиальных почвах таежных рек (в основном южная и северная тайга) представлены в работах И. П. Бабьевой (1962) и В. А. Тереховой (Терехова и др., 1999; Терехова, 2007).

Цель данной работы заключалась в выявлении особенностей качественного и количественного состава микобиоты основных типов аллювиальных почв, формирующихся в биоклиматических условиях средней тайги.

Образцы почв для исследований отбирали и определяли в августе 1998 г. из основных генетических горизонтов аллювиальных почв, формирующихся на пойменной террасе в долине нижнего течения р. Вычегды, притока р. Северной Двины (Республика Коми, Усть-Вымский район, окрестности с. Айкино). Исследуемая территория представлена сенокосными угодьями, на которых сохранена естественная злаково-разнотравная растительность. Почвы не распахивали, однако вплоть до конца 80-х годов XX в. на этом участке поймы периодически вносили известковые материалы и минеральные удобрения. Начиная с 90-х годов прошлого столетия на этой территории (в связи с проблемами экономического характера) минеральные удобрения и известковые материалы не вносятся, а сеноуборочные работы проводятся нерегулярно, что приближает ее к режиму естественного биологического круговорота веществ.

Для изучения видового разнообразия почвенных грибов были выбраны шесть участков, представляющих наиболее типичные местообитания. В прирусловой части поймы: 1 — вершина высокой гривы, обедненный психромезофильный мелкозлаково-разнотравный луг, почва аллювиальная дерновая слоистая; 2 — межгрядное понижение, гигромезофитный остроосоково-лисохвостниковый луг, почва аллювиальная

луговая слоистая; в центральной пойме: 3 — вершина гривы, мезофильный мелкоразнотравно-тимофеечниковый луг, почва аллювиальная дерновая; 4 — склон гривы, эумезофильный мелкоразнотравно-луговоовсяничниковый луг, почва аллювиальная дерново-луговая; 5 — межгрядное понижение, сырой гигромезофитный болотномятликово-луговолисохвостниковый луг, почва аллювиальная луговая; в притеррасной пойме: 6 — глубокое межгрядное понижение, типичный сырой болотистый (гигромезофильный) остроосоково-канареечниковый луг, почва аллювиальная лугово-болотная. Детальная характеристика участков и физико-химических свойств почв представлена в работе Е. М. Лаптевой с соавторами (1999).

Качественный и количественный состав микроорганизмов определяли методом посева почвенной вытяжки на специализированные среды в трехкратной повторности. Использовали подкисленную среду Чапека, Гетчинсона и голодный агар. Подсчет колоний проводили через две недели культивирования при комнатной температуре. Данные по общей численности микроорганизмов, полученные методом посева, выражали в колониеобразующих единицах на 1 г абсолютно-сухой почвы (КОЕ/г). Таксономическую принадлежность микромицетов идентифицировали после выделения их в чистую культуру на среде Чапека—Докса с использованием наиболее распространенных определителей, при этом по возможности были учтены таксономические изменения, отраженные в новых руководствах (Ramirez, 1982; Егорова, 1986; Ainsworth and Bisby's..., 1995; Саттон и др., 2001; Александрова и др., 2006а, и др.). В некоторых случаях были использованы электронные интерактивные «ключи» и информационные сайты интернет-ресурсов (<http://www.indexfungorum.org>; <http://biodiversity.bio.uno.edu/~fungi/>; www.cbs.knaw.nl и др.). При характеристике комплекса микроскопических грибов были использованы такие показатели, как частота встречаемости, коэффициент сходства Сёренсена—Чекановского и индекс видового разнообразия Шеннона (Мэгарран, 1992). Обработку результатов проводили с использованием компьютерной программы «GRAPHS» (Новаковский, 2004).

В результате проведенных исследований составлен общий таксономический список микроскопических грибов, выделенных из аллювиальных почв долины р. Вычегды. Он включает 71 вид из 22 родов, относящихся к двум отделам *Zygomycota*, *Ascomycota* и анаморфным грибам (в том числе и два «вида» стерильных форм мицелия). Таксономический состав микоценозов вне зависимости от типа почвы характеризуется обилием представителей рода *Penicillium* (7—10 видов), *Mortierella* (4—5 видов), *Mucor*, *Fusarium*, *Trichoderma* (по 3 вида), в то время как остальные роды представлены 1—2 видами.

Основная масса микроскопических грибов в аллювиальных почвах р. Вычегды сосредоточена в органогенных горизонтах (Ад, А1). Вниз по профилю численность грибных пропагул резко снижается (рис. 1), что в принципе характерно для пойменных почв (Павлова и др., 2000; Терехова, 2007). Однако глубина распространения микромицетов в аллювиальных почвах исследованного региона в первую очередь определяется особенностями гидрологического режима почв и генетической областью поймы. Максимальная глубина встречаемости микроскопических грибов отмечена в почвах прирусловой части поймы. И в дерновых слоистых почвах, занимающих вершины гряд прирусловой поймы, и в луговых слоистых почвах межгрядных понижений микроскопические грибы обнаружены на глубине до 100—120 см в количестве не менее 2 тыс. КОЕ/г. В то же время в дерновых почвах центральной поймы глубина проникновения микромицетов ограничивается 80 см, в луговых — 50—65, в лугово-болотных — 25 см. Усиление степени увлажненности аллювиальных почв (при переходе от дерновых к луговым почвам) сопровождается также уменьшением численности микромицетов в дерновом горизонте и более резким ее снижением в гумусоаккумулятивных горизонтах. Эта тенденция отмечена для почв и прирусловой, и центральной частей поймы, но наиболее отчетливо она проявляется в лугово-болотных почвах притеррасной части поймы, характеризующейся выраженной переувлажненностью почвенного профиля.

Значительная вытянутость микологического профиля почв прирусловой части поймы связана, по всей видимости, с более ярко выраженным нисходящим током

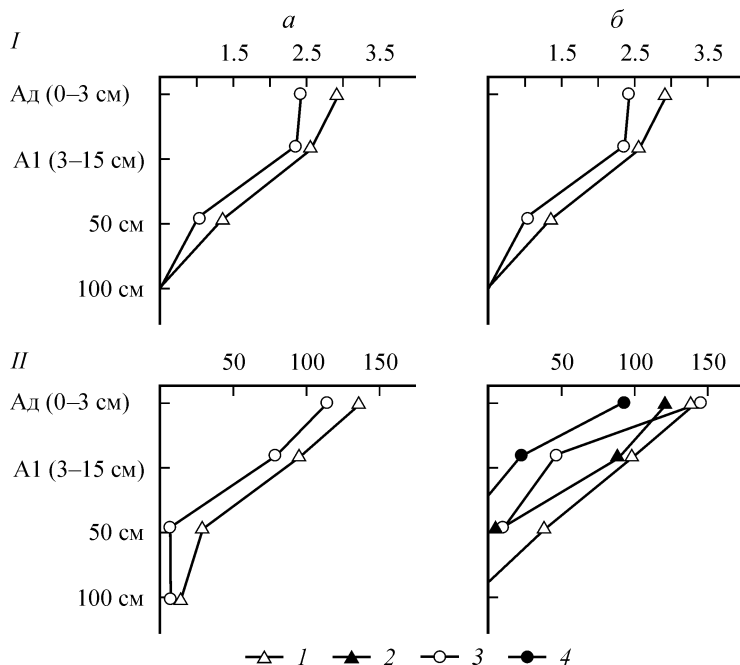


Рис. 1. Изменение видового разнообразия (*I*) и численности микроскопических грибов (*II*) по горизонтам почв прирусловой (*a*) и центральной (*б*) части пойменной террасы долины нижнего течения р. Вычегды. По горизонтали: *I* — индекс видового разнообразия Шеннона, \bar{H} ; *II* — численность грибов, КОЕ тыс./г. Почвы: 1 — дерновые, 2 — дерново-луговые, 3 — луговые, 4 — лугово-болотные.

влаги в послепагодковый период, что обуславливает миграцию вниз по профилю спор грибов. На этой глубине встречаются единичные виды, хотя основная масса грибов также сосредоточена в органогенных горизонтах. Перемещение грибных спор в поровом пространстве почв прирусловой части поймы, возможно, облегчается меньшей мощностью суглинистых отложений, перекрывающих песчано-супесчаный аллювий (в дерновых слоистых — 10—15 см, в луговых слоистых — 45—65 см, в центральной пойме мощность суглинистых отложений — соответственно 25—35 и 120—140 см). На возможность переноса биомассы спор вниз по профилю в почвах легкого гранулометрического состава указывают О. С. Павлова с соавторами (2000).

Общее число видов, формирующих микромицетный комплекс в почвах долины р. Вычегды, также тесно связано с геоморфологической областью пойменной террасы. Минимальное количество видов отмечено в почвах прирусловой части поймы (с учетом разных форм стерильного и неидентифицированного мицелия в них выявлено 26—27 видов), максимальное — в почвах центральной поймы (32—42 вида в зависимости от типа почвы). Наибольшим видовым разнообразием мицелиальных грибов характеризуются почвы центральной части пойменной террасы. Индекс Шеннона в почвах прирусловой части поймы — 2.4—2.9, в почвах центральной поймы — 2.7—3.2 (рис. 1). При этом в почвах центральной поймы, которые по сравнению с почвами прирусловой части пойменной террасы в эволюционном плане считаются более «зрелыми» (Добровольский, 1968; Балабко, 1991), максимум видового разнообразия микромицетов смещается в гумусоаккумулятивный горизонт A1, в то время как максимальная численность микроскопических грибов приходится на дерновый горизонт (рис. 1). Аналогичная зависимость отмечена для микромицетных комплексов лесных биогеоценозов (Звягинцев и др., 1993). В ряду поверхностных растений → лесная подстилка → почва нарастает число видов микроскопических грибов, однако численность

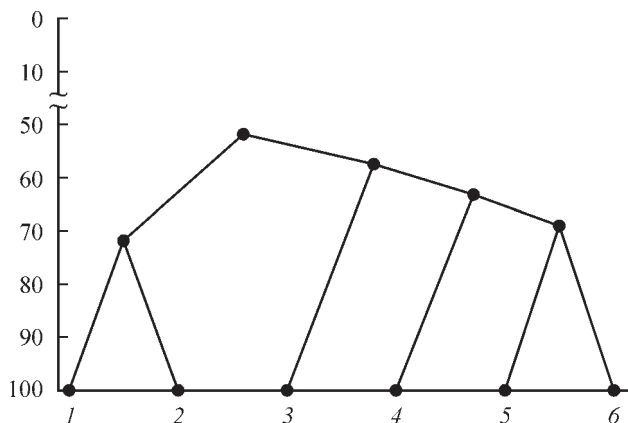


Рис. 2. Дендрограмма сходства комплексов микроскопических грибов в аллювиальных почвах долины р. Вычегды.

По оси абсцисс — номер участка с соответствующим типом почвы: дерновая слоистая (1) и луговая слоистая (2) почвы прирусловой поймы; дерновая (3), дерново-луговая (4), луговая (5) почвы центральной поймы и лугово-болотная (6) притеррасной поймы; по оси ординат — коэффициент Сёренсена—Чекановского, % сходства.

грибных зародышей и биомасса их грибного мицелия достигают максимальных значений в подстилке и значительно снижаются в почве, где многие виды находятся в неактивном состоянии (преимущественно в виде спор). Возможно, именно такая структура вертикально-ярусного распределения микроскопических грибов является отличительной (характерной) чертой стабильно функционирующих зрелых экосистем.

Интересным является тот факт, что на видовой состав большее влияние оказывает геоморфологическая область поймы (прирусловая, центральная, притеррасная), а не тип почвы и не условия их увлаженности. Как видно из рис. 2, вся совокупность грибов четко разделяется на два кластера, в которых объединены комплексы микромицетов почв прирусловой части поймы и почв центральной и притеррасной областей поймы. Наиболее близки по видовому составу микоценозов дерновые слоистые и луговые слоистые почвы, формирующиеся на территории прирусловой части почвы и относящиеся к генетически разным типам почв, резко различающимся по условиям увлажнения. Более того, микромицетный комплекс луговой слоистой почвы существенно отличается по видовому составу от почв лугового и лугово-болотного типа, расположенных в центральной и притеррасной частях поймы, формирование которых, как и в луговых слоистых, протекает в более гидроморфных условиях по сравнению с дерновыми и дерново-луговыми почвами.

Детальный анализ таксономической структуры микоценозов, приуроченных к различным типам и подтипам аллювиальных почв, позволил выявить широко распространенные виды (встречающиеся практически во всех типах пойменных почв и, следовательно, характеризующиеся высокой экологической пластичностью) и виды, характерные для определенных типов почв (т. е. обитающие в наиболее приемлемых для них гидротермических и физико-химических условиях среды). Из видов, приуроченных к конкретным экологическим условиям, четко выявляется *Mucor circinelloides* Tiegh., который входит в структуру микоценозов только аллювиальных дерновых почв. В гидроморфных почвах (луговых и лугово-болотных) преимущественно встречаются *Stemphylium* sp., *Chaetomium spirale* Zopf, *Ch. spiralliform* Bainier (= *Ch. spirilliferum*), *Monilia koningii* Oudem. (= *Scopulariopsis koningii*), *Trichoderma koningii* Oudem.

Отличительной особенностью почв центральной поймы является участие в структуре комплекса мицелиальных грибов видов рода *Chaetomium* и темноцветных дейтеромицетов. Для этих же почв в большей мере характерно и присутствие видов, встречающихся в зональных подзолистых почвах (*Penicillium paxilli* Bainier, *P. sartoryi* Thom, *Dematiium* sp., *Cladosporium epiphyllum* (Pers.) Nees). Последнее может быть

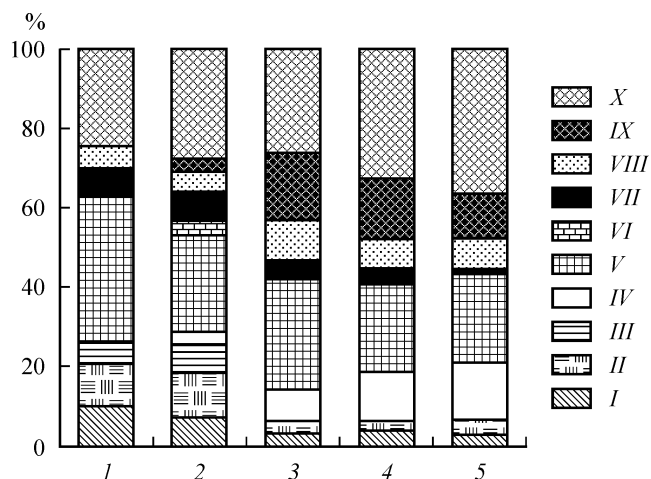


Рис. 3. Видовая насыщенность ведущих родов микромицетов в структуре микоценозов некоторых почв.

I — типичная подзолистая (средняя тайга, бассейн р. Вычегды); пойменные почвы: 2 — средняя тайга (долина р. Вычегды); 3 — Полесье (реки Днепр, Десна, Тетерева); 4 — лесостепная зона (реки Ворскла, Днепр, Рось); 5 — степная зона (реки в Херсонской и Крымской областях). Сводные списки микромицетов, выделенных из пойменных почв Полесья лесостепной и степной зон, использованы из работы В. И. Билай с соавторами (1983).

I — *Mucor*, II — *Mortierella*, III — *Chaetomium*, IV — *Aspergillus*, V — *Penicillium*, VI — *Spicaria*, VII — *Trichoderma*, VIII — *Cladosporium*, IX — *Fusarium*, X — остальные роды.

связано с поступлением пропагул указанных видов микромицетов с поверхностным стоком талых вод с водораздельных территорий в долину реки и оседание их в первую очередь на той части пойменной террасы, которая расположена ближе к склону речной долины. Не исключено, что этим может объясняться и большее видовое разнообразие микроскопических грибов в почвах центральной и притеррасной частях поймы, которое обусловлено повышенной долей в составе микоценозов этих почв редких и случайных видов. Некоторые исследователи считают, что именно редкие и случайные виды обеспечивают устойчивость сообществ микроорганизмов в меняющихся условиях среды (Александрова и др., 2006б), что наряду с другими факторами может объяснять высокую устойчивость аллювиальных почв центральной поймы (почв лугового типа) к антропогенному воздействию (Лаптева, Балабко, 1999).

Такие виды, как *Mortierella isabellina* Oudem. (= *Umbelopsis isabellina*), *Chaetomium caprinum* Bainier, *Cephalosporium terricola* Kamyschko, *Penicillium nigricans* Bainier ex Thom (= *Penicillium jaczewskii*), *P. vesiculosum* Bainier, не проявляли четкой приуроченности к какому-либо конкретному типу почвы и могли встречаться в почвах, резко различающихся по своим экологическим условиям.

Сравнение полученных нами данных с данными литературы (Билай, 1984; Структурно-функциональная..., 2001) свидетельствует о том, что по качественному составу микроскопических грибов пойменные почвы долины р. Вычегды, формирующиеся под травянистыми ценозами, более близки к зональным подзолистым почвам (коэффициент Сёренсена—Чекановского — 46 %), чем к пойменным почвам южных регионов европейской части России (коэффициент Сёренсена—Чекановского — 22—26 %). При этом в структуре микоценозов пойменных почв, формирующихся под луговой растительностью в лесостепной и степной зонах, выше доля аспергиллов, видов родов *Fusarium*, *Cladosporium*, меньше участие представителей родов *Mucor*, *Mortierella*, *Trichoderma* и отсутствуют виды родов *Chaetomium* и *Spicaria*, встречающиеся в почвах бассейна р. Вычегды (рис. 3).

Таким образом, впервые для среднетаежной подзоны составлен общий список микромицетов, обитающих в пойменных почвах, формирующихся под луговой растительностью. Выявлен комплекс толерантных (с широкой экологической амплитудой)

и экологически узковалентных видов. Установлено, что таксономическая структура, глубина распространения микромицетов тесно связаны с условиями формирования основных типов аллювиальных почв: геоморфологической частью пойменной террасы и гидрологическим режимом почв. На качественный состав микроскопических грибов в пойменных почвах долины р. Вычегды значительное влияние оказывают зональные климатические факторы: по видовому составу микромицетов они, несмотря на формирование под луговыми сообществами, близки к зональным подзолистым почвам. При этом эволюционно «зрелые», обладающие высоким потенциальным плодородием луговые почвы центральной части пойменной террасы (по сравнению с «молодыми» почвами прирусловой поймы) характеризуются более богатым видовым составом микроскопических грибов и вертикально-ярусной структурой микоценозов, сходной с лесными экосистемами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Александрова А. В., Великанов Л. Л., Сидорова И. И. Ключ для определения видов рода *Trichoderma* // Микология и фитопатология. 2006а. Т. 40, вып. 6. С. 457—468.
- Александрова А. В., Заяц А. Л., Великанов Л. Л., Сидорова И. И. Разнообразие почвенных микромицетов в лесных экосистемах Тверской области // Микология и фитопатология. 2006б. Т. 40, вып. 1. С. 3—12.
- Балабко П. Н. Микроморфология, диагностика и рациональное использование пойменных почв Восточно-Европейской и Западно-Сибирской равнин: Автореф. дис. ... докт. биол. наук. М., 1991. 32 с.
- Бабьева И. П. К микробиологической характеристике почв пойм реки Клязьмы в районе Чашникова // Пойменные почвы русской равнины. М.: МГУ, 1962. С. 196—218.
- Билай В. И., Элланская И. А., Кириленко Т. С. и др. Микромицеты почв / Под ред. В. И. Билай. Киев: Наук. думка, 1984. 264 с.
- Добровольский Г. В. Почвы речных пойм центра русской равнины. М.: МГУ, 1968. 109 с.
- Егорова Л. Н. Почвенные грибы Дальнего Востока. Гифомицеты. Л.: Наука, 1986. 207 с.
- Звягинцев Д. Г., Бабьева И. П., Добровольская Т. Г., Зенова Г. М., Лысак Л. В., Мирчинк Т. Г. Вертикально-ярусная организация микробных сообществ лесных биогеоценозов // Микробиология. 1993. Т. 62, вып. 1. С. 5—36.
- Лаптева Е. М., Балабко П. Н. Особенности формирования и использования пойменных почв долины р. Печора. Сыктывкар, 1999. 204 с.
- Лаптева Е. М., Хабибуллина Ф. М., Пелихова Ю. А. Микробиота аллювиальных почв средней тайги. Сыктывкар, 2000. 32 с. (Науч. докл. / Коми научный центр УрО РАН; Вып. 426).
- Марфенина О. Е. Микологический почвенный мониторинг: Возможности и перспективы // Почвоведение. 1994. № 1. С. 75—80.
- Мирчинк Т. Г. Почвенная микология. М.: МГУ, 1988. 220 с.
- Мэгарран Э. Экологическое разнообразие и его измерение. М., 1992. 184 с.
- Новаковский А. Б. Возможности и принципы работы программного модуля «GRAPHS». Сыктывкар, 2004. 28 с. (Автоматизация научных исследований / Коми научный центр УрО РАН; Вып. 27).
- Павлова О. С., Полянская Л. М., Кочкина Г. А., Иванушкина Н. Е. Особенности микробных сукцессий в почвах окского заповедника // Почвоведение. 2000. № 3. С. 320—328.
- Полянская Л. М. Микробная сукцессия в почве: Дис. ... д-ра биол. наук. М., 1996. 96 с.
- Саттон Д., Фотергильд А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов. М.: Мир, 2001. 468 с.
- Структурно-функциональная организация почв и почвенного покрова европейского Северо-Востока / Отв. ред. Ф. Р. Зайдельман, И. В. Забоева. СПб.: Наука, 2001. 224 с.

- Терехова В. А. Биоиндикационное значение микроскопических грибов // Биоиндикация: теория, методы, приложения / Под ред. Г. С. Розенберга. Тольятти, 1994. С. 25—38.
- Терехова В. А. Микромицеты в экологической оценке водных и наземных экосистем. М.: Наука, 2007. 215 с.
- Терехова В. А., Трофимов С. Я., Семенова Т. А., Дорофеева Е. И. Структурно-функциональные особенности микобиоты в связи с динамикой органического вещества в ненарушенных почвах южной тайги // Почвоведение. 1999. № 4. С. 461—467.
- Туев Н. А. Микробиологические процессы гумусообразования. М.: Агропромиздат, 1989. 239 с.
- Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi / Eds D. L. Hawksworth et al. 8th ed. CABI Bios., 1995. 540 p.
- Kjoller A., Struwe S. Microfungi in ecosystems: fungal occurrence and activity in litter and soil // Oikos. 1982. Vol. 39. P. 389—422.
- Rayner A. D. M. Introduction // The fungal community: its organization and role in the ecosystem / Eds G. C. Carroll et al. N. Y., 1992. P. 17—24.
- Ramirez C. Manual and atlas of the Penicillia. Amsterdam; New York; Oxford: Elsevier Biomedical Press, 1982. 874 p.

Институт биологии
Коми НЦ УрО РАН
Сыктывкар
lapteva@ib.komisc.ru

Поступила 25 IX 2008

РЕЗЮМЕ

Впервые представлены данные по таксономическому составу, видовому разнообразию и профильному распределению микроскопических грибов в различных генетических типах аллювиальных почв долины нижнего течения р. Вычегды. Показана связь качественного и количественного состава микобиоты с генезисом почв. Установлено, что по мере нарастания степени гидроморфизма аллювиальных почв происходит изменение видового состава, уменьшается численность микромицетов. На качественный состав микроскопических грибов пойменных почв значительное влияние оказывают зональные климатические факторы: по видовому составу микромицетов они близки к зональным подзолистым почвам.

Ключевые слова: микромицеты, пойменные почвы, наземные экосистемы.

SUMMARY

The data on taxonomical content, species diversity and profile distribution of microscopic fungi in different genetic types of alluvia-soils of Vychegda River are represented in the work. The connection of quantitative and qualitative content of micro biota with the soil genesis is shown. It was established that during the ocrease of hydromorphism level the species content changes and the quantity of micromycetes decreases. The zone climatic factors directly influence the qualitative content of microscopic fungi in water-meadow soils: the species content here is close to one of podzol soils.

Key words: micromycetes, alluvia-soils, terrestrial ecosystems.

УДК 582.283

© А. Лугаускас, Б. Яскелявичюс

МИКОЛОГИЧЕСКОЕ СОСТОЯНИЕ ЖИЛЫХ ПОМЕЩЕНИЙ ВИЛЬНЮСАLUGAUSKAS A., JASKELEVIČIUS B. MYCOLOGICAL STATE OF DWELLING PREMISES
IN THE CITY OF VILNIUS

Микроскопические грибы являются постоянным компонентом окружающей среды жилых помещений. Литературные источники сообщают, что около 10 % людей в мире страдают аллергией, вызванной микроскопическими грибами и их метаболитами (Lee et al., 2006). В последние годы микроскопические грибы жилых помещений стали объектом исследований ученых многих стран. Российские ученые (Петрова-Никитина и др., 2000; Антропова и др., 2003, 2004; Желтикова и др., 2004) указывают, что микобиота жилых помещений г. Москвы характеризуется значительным видовым разнообразием. Около 18 % всех выделенных видов составляют аллергенные и около 30 % — условно патогенные виды. По данным Беч-Андерсен (Bech-Andersen, 2004), в Дании в воздухе жилых помещений находится около 3000 КОЕ/м³. Другие авторы указывают, что количество грибных спор в жилых помещениях не должно превышать 1/3 числа спор, находящихся на открытом воздухе. Часто ученые, оценивая зараженность различных жилых помещений или микологические повреждения внутри зданий и оборудования, обычно ограничиваются определением количества спор микроскопических грибов теми или иными методами. Такая оценка недостаточна из-за того, что на исследуемых объектах и в воздухе помещений биологические особенности установленных грибов неодинаковы. Конидиогенез одного рода или вида грибов бывает очень интенсивным, у других конидии образуются медленно, более интенсивно развивается их мицелий, который способен внедриться в субстрат и значительно его повредить. В воздухе спор таких грибов всегда бывает мало, хотя выделяемые ими летучие и другие метаболиты часто могут быть весьма опасными для биоты окружающей среды (Lugauskas, Jaskėlevičius, 2007). Ученые из США (Pope et al., 1993), исследуя зараженность жилых помещений аллергенами, утверждают, что чаще всего источниками аллергенов являются развивающиеся на стенах, под коврами, на комнатных растениях и других органических субстратах представители родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Cladosporium* и другие, которые легко попадают в помещения с потоками воздуха и находящейся в них пылью (Rantiala et al., 1998). Попавшие в помещения споры грибов оказывают значительное воздействие на санитарное состояние жилых помещений, оседают на различных поверхностях и начинают развиваться (McNeel, Kreutzer, 1996). Чтобы уменьшить потенциальную опасность для здоровья людей, ученые различных стран начали интенсивно изучать грибы как один из основных факторов, способствующих распространению заболеваний людей астмой, аллергией, болезнями дыхательных органов, токсокозами, микозами (Tuomi et al., 2000; Scott, 2001; Stanger et al., 2003).

В разных странах проводятся работы по уменьшению зараженности жилых помещений спорами грибов и установлению причин, которые способствуют зараже-

нию, выявлению источников загрязнения и факторов, стимулирующих эти загрязнения, подготовке комплекса мер для улучшения микологического состояния помещений (Gravesen, 1998; Zyska, 1999; Митрофанов, Козлова, 2004). Одним из основных факторов, способствующих развитию грибов в помещении, является влага, поскольку вода — катализатор и участник всех микологических процессов (Flannigan, Morey, 1996; Rylander, 2003). В помещениях бывают разные источники влажности. По происхождению влагу в помещениях можно разделить на следующие виды: строительная, атмосферная, пары, грунтовая, абсорбционная и технологическая. Почти все эти типы влаги свойственны всем жилым помещениям, различается только степень их проявления. Сверхнормативная влажность в строениях ухудшает физико-химические свойства материалов построек, вызывает физико-механическое разрушение. В таких зданиях биологические процессы протекают более интенсивно, возникает биокоррозия, начинается кристаллизация солей, происходит дестабилизация основания здания и деформация строительных материалов, формируется кислотная или щелочная среда. Все это сильно влияет на микроклимат помещений. Таким образом, формируется неблагоприятная для человека окружающая среда, объект теряет эстетический вид, становится короче срок его эксплуатации и растут эксплуатационные расходы, снижается экономическая ценность помещений. Благоприятной для деятельности человека относительной влажностью в помещении считается влажность 15—20 %, однако достигнуть и поддерживать ее довольно трудно, а любые отклонения от нормы вызывают нежелательные последствия.

Цель работы — выделить и определить грибы, функционирующие в жилых помещениях при естественных условиях среды, определить факторы, обуславливающие деятельность обнаруженных грибов, и обсудить возможности их ограничения.

Материал и методы

В период 2000—2007 гг. были исследованы жилые помещения в 66 домах, построенных в различные исторические периоды. Образцы для микробиологических исследований отбирали различными методами. Используемые методы по своим техническим решениям не повторялись, а только дополняли и позволяли более детально оценить микологическое состояние окружающей среды жилых помещений. Для сбора находящихся в воздухе спор грибов использовался изготовленный в СССР сборщик микроорганизмов «Кротов-818». Этот аппарат по своей конструкции и принципу действия относится к типу инерционных сборщиков биоаэрозолей. В исследованиях биоаэрозолей использовали методические рекомендации, предложенные специалистами Европейского сообщества, по которым определяют 5 категорий заражения жилых помещений микромицетами: очень низкая — < 50 , низкая — < 200 , средняя — < 1000 , высокая — $< 10\,000$, очень высокая — $> 10\,000$ КОЕ/м³ воздуха.

В помещениях, в которых по разным техническим причинам не было возможности применить насос «Кротов-818», использовали гравитационный метод, суть которого — подсчет количества спор микромицетов, осевших из воздушной среды помещения в течение определенного времени на открытые чашки Петри с питательной средой. Количество спор грибов в окружающей среде помещения рассчитывали по Омелянскому (Справочник..., 1982). Метод седиментации применяли для качественного анализа грибов в окружающей среде.

Были посеяны микромицеты из соскобов, собранных с поврежденных микромицетами конструкций зданий и находящихся в помещениях предметов. Налеты с поверхности различных объектов брали стерильными тампонами аппликационным способом и переносили на питательный агар. В отдельных случаях для выделения микромицетов из среды использовали метод, описанный в литературе (Lugauskas, Šveistytė, 2005): 1 г соскобов помещали в 100 мл раствора соли (0.85 % NaCl) и добавляли 0.1 % физиологически неактивного растворителя твин-88. Полученную суспензию (0.1 мл) разводили в соотношении 1 : 100, 1 : 1000, 1 : 10 000, переносили в чашки Петри и сверху заливали 15 мл (45 ± 0.5 °C) питательной среды.

Инкубацию посевов проводили в термостате при температуре 26 ± 2 °С. Выросшие колонии грибов подсчитывали через 3, 5 и 7 суток и определяли количество образовавшихся пропагул в КОЕ.

Культуральные и морфологические свойства выращенных монокультур микроорганизмов исследовали с использованием методов световой и электронной сканирующей микроскопии (EVO 50 XV, Carl Zeiss STM AG). Изоляты идентифицировали, руководствуясь различными определителями.

Результаты и обсуждение

Вильнюс — старый город, богатый зданиями разных эпох, в которых оборудованы жилые помещения различного качества. В период 2000—2007 гг. исследовали микробиоту и изучали микологическое состояние этих помещений. По техническим особенностям зданий и их состоянию исследуемые жилые помещения были разделены на 3 группы, список которых представлен в табл. 1.

Необходимо отметить, что разделение объектов на группы является условным, так как для жилых помещений кроме общих особенностей свойственны и специфические, которые определяются использованными при строительстве материалами, средой, влажностью, уходом, эксплуатацией и другими факторами. Поэтому средняя их зараженность пропагулами микроорганизмов также различная — от 63.4 ± 6.8 КОЕ/м³ в блочных домах после 10 лет эксплуатации до 348.0 ± 36.4 КОЕ/м³ в строящихся блочных домах.

Основная причина, по которой в строящихся домах наблюдается высокий уровень микобиотического заражения, заключается в том, что не уделяется должного внимания устойчивости строительных материалов к микроорганизмам и восприимчивости их к влаге. Чаще всего они становятся влажными из-за неправильной транспортировки и складирования. Именно на этих этапах материалы сыреют, впитывают избыточную влагу; тем самым создаются благоприятные условия для развития грибов на поверхности и в толще материалов.

Всегда надо учитывать то, что на строительстве происходит активная миграция рабочих и техники, поэтому для распространения инфекции создаются благоприятные условия. В таких случаях грибы распространяются по всем объектам строительства. Для внутренней отделки жилых домов в настоящее время применяют много гипса, клея, краски, шпаклевки, на которых могут закрепляться и развиваться микроорганизмы (Kaminskas, 2002). В таких строящихся зараженных помещениях удалось выявить и идентифицировать грибы, которые представлены в табл. 2 (объект 1). Взятые пробы позволили среди выделенных грибов выявить условно неблагоприят-

Таблица 1

Количество пропагул грибов в воздухе жилых помещений исследуемых зданий

Группа домов	Номер объекта	Тип объекта и срок эксплуатации	Исследовано помещений	КОЕ/м ³
Блочные	1	Строящиеся	4	348.0 ± 36.4
	2	После 1 года эксплуатации	4	138.2 ± 7.3
	3	После 10 лет эксплуатации	4	63.4 ± 6.8
	4	После 25 и более лет эксплуатации	5	118.6 ± 12.8
Кирпичные	5	То же	12	130.4 ± 8.6
	6	После 25 и более лет эксплуатации и многократных ремонтов	10	211.6 ± 6.4
Деревянные	7	Строящиеся	8	251.4 ± 28.4
	8	После эксплуатации более 10 лет	8	87.8 ± 28.4
	9	Старые после эксплуатации более 50 лет	11	314.0 ± 21.4

Таблица 2

Распределение выделенных видов грибов в жилых помещениях по группам объектов

Виды грибов	Частота встречаемости, %	Группа блочных домов				Группа кирпичных домов		Группа деревянных домов		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
<i>Acremonium</i> spp.	63.1			+	+	+	+	+	+	+
<i>Alternaria alternata</i> (Fr.) Keissl.	55.3	+		+	+	+	+			
<i>Arthroderma quadrifidum</i> Dawson et Gentles	21.7					+	+			
<i>Aspergillus clavatus</i> Desm.	22.1					+	+			
<i>A. flavus</i> Link	11.2					+	+			
<i>A. fumigatus</i> Fresen.	24.6						+			
<i>A. niger</i> Tiegh.	57.3		+	+	+	+	+			
<i>A. penicilloides</i> Speg.	34.2		+		+		+			
<i>A. (=Eurotium) repens</i> de Bary	12.0			+						
<i>A. terreus</i> Thom	36.1	+				+		+		
<i>A. ustus</i> (Bainier) Thom et Church	10.3						+			
<i>A. versicolor</i> (Vuill.) Tirab.	35.2				+	+	+			
<i>Aureobasidium pullulans</i> (de Bary) G. Arnaud	58.3		+	+	+		+	+		
<i>Botrytis cinerea</i> Pers.: Fr.	23.4					+	+			
<i>Candida albicans</i> (Robin) Berkhout	9.6				+					
<i>Chaetomium globosum</i> Kunze	27.1							+		+
<i>Chrysosporium inops</i> J. W. Carmich.	9.6					+				
<i>Ch. merdarium</i> (Link ex Grev.) J. W. Carmich.	8.3						+			
<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresen.) G. A. de Vries	52.1		+	+			+	+		
<i>C. herbarum</i> (Pers.) Link ex Gray	40.3	+				+		+		
<i>Coniophora puteana</i> (Schum.: Fr.) P. Karst.	22.0							+	+	
<i>Coriolaria versicolor</i> (Fr.) Quél.	7.6							+		+
<i>Corticium leae</i> Eriksson et Ryvarden	11.3							+		
<i>Daedalea quercina</i> Fr.	35.8							+	+	+
<i>Exophiala jeanselmei</i> (Langeron) McGinnis et A. Padhye	24.3			+			+			
<i>Fibroporia vaillantii</i> (Fr.) Cooke	6.3								+	
<i>Fusarium moniliforme</i> J. Sheld.	12.3				+					
<i>F. solani</i> (Mart.) Appel et Wollenw.	10.7					+				
<i>Geomyces pannorum</i> (Link) Sigler et J. W. Carmich.	14.5				+					
<i>Gleophyllum sepiarium</i> (Wulfen: Fr.) P. Karst.	9.6							+		
<i>Mortierella exigua</i> Linnem.	34.2			+	+	+				
<i>Mucor racemosus</i> Fresen.	21.5					+				+
<i>M. strictus</i> Hagem	6.3									+
<i>Oidiodendron echinulatum</i> G. L. Barron	23.6					+	+			
<i>Penicillium aurantiogriseum</i> Dierckx	19.6					+	+			
<i>P. brevicompactum</i> Dierckx	12.7						+	+		
<i>P. capsulatum</i> Raper et Fennell	31.4			+		+		+		
<i>P. chrysogenum</i> Thom	81.2	+	+	+	+					
<i>P. commune</i> Thom	76.3		+			+	+	+		
<i>P. decumbens</i> Thom	6.4		+							
<i>P. diversum</i> Raper et Fennell	5.2				+					
<i>P. expansum</i> Link	75.8	+	+		+	+	+			+
<i>P. funiculosum</i> Thom	45.6		+		+		+			+
<i>P. oxalicum</i> Currie et Thom	23.4					+	+			
<i>P. purpurescens</i> Sopp	12.5					+				
<i>P. spinulosum</i> Thom	11.3		+							
<i>P. verrucosum</i> Dierckx	83.6	+	+	+		+	+			

Таблица 2 (продолжение)

Виды грибов	Частота встречаемости, %	Группа блочных домов				Группа кирпичных домов		Группа деревянных домов		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
<i>P. viridicatum</i> Westling	53.4		+	+	+		+			
<i>Phoma exigua</i> Desm.	26.7							+	+	
<i>Rhizomucor pusillus</i> (Lindt) Schipper	11.3		+							
<i>Rhizopus stolonifer</i> (Ehrenb.: Fr.) Vuill.	59.6		+	+		+	+			
<i>Scytalidium lignicola</i> Pesante	9.3								+	
<i>Serpula lacrymans</i> (Wulfen: Fr.) J. Schröt.	26.1								+	+
<i>Sordaria fimicola</i> (Roberge) Ces. et De Not.	5.3									+
<i>Thamnidium elegans</i> Link ex Gray	28.6			+			+			
<i>Trichoderma harzianum</i> Rifai	26.4		+					+		
<i>T. polysporum</i> (Link ex Pers.) Rifai	12.4		+							
<i>T. viride</i> Pers.	53.0					+	+		+	+
<i>Ulocladium chartarum</i> (Preuss) E. G. Simmons	12.3						+			
<i>U. consortiale</i> (Thüm.) E. G. Simmons	11.5					+				
<i>Verticillium alboatrum</i> Reinke et Berthold	9.8						+			
Неспорулирующие изоляты	100	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Примечание. Характеристика объектов приведена в табл. 1.

ные для здоровья людей виды: *Alternaria alternata*, *Aspergillus terreus*, *A. fumigatus*, *Paecilomyces variotii*, *Penicillium chrysogenum*, *P. decumbens*, *P. verrucosum*, *Rhizopus stolonifer*. Указанные микроорганизмы в условиях местного климата встречаются часто.

В первые годы эксплуатации жилых зданий выявляются недостатки строительства и становятся заметными первые очаги поражения. В блочных домах они проявляются в местах стыков стен и полов, где образуются черные и серые пятна и появляется налет. Часто отмечается увеличение разнообразия видового состава грибов, выделенных из объекта (табл. 2, объект 2).

Изучение блочных домов после 10 лет эксплуатации показало, что помещения заражены пропагулами случайных, в естественной среде часто встречаемых, так называемых космополитных видов микроскопических грибов. Обнаруженные грибы могут развиваться только в условиях повышенной влажности или на субстрате, на который пропагулы грибов попадают из воздуха с пылью или с материалов, применяемых при оборудовании жилых помещений. Их количество и разнообразие популяций при монтаже дома, ремонте, эксплуатации, уборке, когда воздух, люди, животные, свободно перемещаясь, контактируют со средой и другими существующими в природе живыми и неживыми объектами. Большинство пропагул грибов прорастает и начинает развиваться, когда активность воды в субстрате $a_w < 0.80$. Оптимальная температура для развития большинства грибов 26 ± 2 °C, но они могут развиваться при более низкой или более высокой температуре. В таких условиях, особенно при повышении уровня влажности в жилых помещениях, начинают развиваться *Cladosporium cladosporioides*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Rhizopus stolonifer*, *Penicillium chrysogenum*, *P. verrucosum* и множество других грибов (табл. 2, объект 3).

Поражение блочных домов после 25 лет эксплуатации чаще всего связано с техническими повреждениями и повышенной влажностью. Кроме того, для многократных ремонтов таких жилых помещений применялись различные материалы, пригодные для питания грибов: краски, клей, шпаклевка, на которых споры грибов прорастают, начинают спорулироваться и быстро распространяться.

В пораженных местах появляются очаги заражения, которые в благоприятных условиях могут расширяться. Их внешний вид и форма часто изменяются в зависимо-

сти от внешних условий, сообществ укрепившихся микроорганизмов и характера взаимодействия микроорганизмов, составляющих сообщество. В такие сообщества, кроме уже упомянутых видов микромицетов, активно включаются *Aspergillus niger*, *A. penicilloides*, *A. versicolor*, *Aureobasidium pullulans*, *Geomyces pannorum*, *Penicillium chrysogenum*, *P. expansum*, *P. viridicatum* (табл. 2, объект 4).

Часть исследованных жилых помещений г. Вильнюса оборудована в домах, построенных в старой части города в XVI—XIX вв. Эти дома находятся на узких улицах, со всех сторон окружены другими строениями, имеют плохую наружную вентиляцию и повышенную влажность (Juodis, 2000). При реставрации таких домов часто не учитывается то, что между фундаментами и стенами старая изоляция почти полностью разрушилась. Поэтому фундамент дома, находящийся в непосредственном контакте с грунтом, соприкасается с кирпичными стенами и влага по капиллярам кирпичей мигрирует вверх и увлажняет стены, создавая тем самым благоприятные условия для развития микроорганизмов и протекания химических процессов. В таких домах наблюдаются интенсивные микробиологические и химические процессы. Нижние части стен крошатся, их штукатурят и красят, но результаты такого ремонта домов кратковременны, поскольку причины не устранены, и процесс разрушения продолжается, интенсивность его растет, особенно в условиях влажного климата.

В таких жилых помещениях появляется специфический запах, на который жители реагируют не одинаково (James, Yang, 2005). Одни из них быстро привыкают, у других появляется недомогание, снижается работоспособность, появляются головные боли и другие функциональные расстройства. Причина таких явлений — способность широко распространенных в помещениях видов грибов (*Aspergillus versicolor*, *Penicillium cyclopium*, *P. brevicompactum*, *P. chrysogenum*, *P. commune*, *P. expansum* и др.) выделять летучие метаболиты, такие как 2-метил-1-пропанол, 3-метил-1-бутанол. Необходимо обратить внимание на то, что разнообразие развивающихся и участвующих в деструктивных процессах видов микромицетов в жилых помещениях таких домов очень большое (табл. 2, объекты 5 и 6), поэтому выделяемое обилие метаболитов значительно шире.

На исследуемых деревянных строительных материалах интенсивно развиваются виды родов *Cladosporium*, *Trichoderma*, *Chaetomium*, *Penicillium* и другие известные активные разрушители лигниноцеллюлозных комплексов растительного происхождения (табл. 2, объекты 7—9). Упомянутые грибы почти всегда встречаются в начинающей разрушаться древесине, однако они не всегда являются инициаторами этих процессов, а чаще всего помощниками. На разрушающейся древесине микромицеты рода *Trichoderma* представлены видами: *T. viride* (= *T. lignorum*), *T. harzianum*, *T. hamatum*. При этом некоторые из них в процессе разрушения древесины являются постоянными активными помощниками других грибов: *Serpula lacrymans*, *Coniophora puteana*, *Poria vaporaria*, *Paxillus panoides*, *Trametes serialis*, *Lentinus lepideus*, *Gloeophyllum sepiarium*, *Daedalea quercina*, *Coriolus versicolor*, *Peniophora gigantea*, *Corticium leave*. Разрушая древесину, они способны образовывать сообщества с *Phoma*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Chaetomium* и другими грибами. Замечено, что грибы рода *Trichoderma* иногда приостанавливают развитие грибов из родов *Acremonium*, *Arthrimum*, *Candida*, *Fusarium* и становятся доминирующими на поверхности использованной строительной древесины. На некоторых образцах они развиваются параллельно с *Corticium leave* (*Basidiomycetes*). Перечисленные грибы относятся к четвертой группе опасности. Они являются типичными аэробами, развивающимися чаще всего на поверхности древесины.

В последнее время в литературных источниках встречается все больше данных о воздействии микотоксинов на высших позвоночных, в том числе и на людей, проживающих в пораженном микромицетами доме. Блум и соавторы (Bloom et al., 2007), используя методы масс-спектрометрии, в 45 пробах из 62, взятых из зараженных микромицетами строительных объектов, обнаружили продукты гидролиза макроциклических трихотененов: веррукозола, триходермола, сатратоксина, триходер-

мина. Эти токсины обильно синтезируют и выделяют в окружающую среду не только *Stachybotrys chartarum*, *Aspergillus versicolor*, но и множество других грибов, обнаруженных на стенах поврежденных домов, в соскобах с потолка, в воздухе, в собранной с различных поверхностей пыли, особенно с пола, где часто обнаруживаются очень токсичные стеригматоцистин и ему родственные соединения, которые могут быть синтезированы грибами *Aspergillus nidulans*, *A. versicolor*, *A. ustus*, *A. flavus*, *A. parasiticus*, *Eurotium amstelodami*, *E. chevalieri*, *E. rubrum*, *Bipolaris sorokiniana* и некоторыми видами грибов из родов *Chaetomium* и *Farrowia*. Перечисленные виды грибов или их сообщества обнаружены в различного типа квартирах жителей Литвы. Иногда они занимают доминирующее положение и могут представлять опасность для здоровья людей.

Таким образом, подтверждается, что зараженность обследованных жилых помещений грибами зависит от множества факторов, среди которых важное место занимают влажность, температура здания и окружающей среды, возраст здания, материалы, из которых оно построено, частота и качество реставраций и ремонтов, продолжительность и тип эксплуатации.

Чтобы ограничить поражение жилых помещений грибами, необходимо учесть все упомянутые факторы и предусмотреть технические и организационные меры, снижающие их отрицательное воздействие на состояние зданий, ликвидацию источников заражения, улучшение условий проживания и здоровья людей в пораженных жилых помещениях.

Количество пропагул (КОЕ) является переменным показателем, которым микробиотическое состояние жилых помещений можно охарактеризовать только частично. Этот показатель предлагается всегда дополнять качественным определением доминирующих микромицетов в помещениях, с указанием потенциальных рисков, которые они представляют для здоровья людей.

Доминирующими загрязнителями жилых помещений, как и в большинстве других стран, являются микромицеты таких родов, как *Penicillium*, *Aspergillus*, *Paecilomyces*, *Alternaria*, *Ulocladium*, *Acremonium*, *Rhizopus*, *Rhizomucor*, *Cladosporium*, *Chrysosporium*, *Thamnidium*, *Botrytis*, *Aureobasidium*, *Blastomyces*, *Candida*, *Exophiala*, *Fusarium*, *Galactomyces*. Наряду с перечисленными родами в отдельных жилых помещениях доминантами могут быть и представители других родов микромицетов. Особенно это свойственно деревянным домам, на элементах конструкций которых довольно часто интенсивно развиваются *Serpula lacrymans*, *Coniophora puteana*, *Daedalea quercina*, *Gloeophyllum sepiarium*.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Антропова Л. Б., Макеева В. Л., Биланенко Е. Н., Чекунова А. Н., Желтикова Т. М., Петрова-Никитина А. Д. Аэромикота жилых помещений г. Москвы // Микология и фитопатология. 2003. Т. 37, вып. 6. С. 1—11.

Антропова Л. Б., Макеева В. Л., Биланенко Е. Н., Чекунова А. Н., Петрова-Никитина А. Д., Желтикова Т. М. Сезонная динамика комплекса микромицетов жилых помещений г. Москвы // Микология и фитопатология. 2004. Т. 38, вып. 5. С. 32—41.

Желтикова Т. М., Антропова Л. Б., Петрова-Никитина А. Д., Макеева В. Л., Биланенко Е. Н., Чекунова А. Н. Экология помещений и аллергия // Аллергология. 2004. № 3. С. 37—39.

Митрофанов В. С., Козлова Я. И. Плесени в доме (обзор) // Пробл. медицинской микологии. 2004. Т. 6, № 2. С. 10—19.

Петрова-Никитина А. Д., Макеева В. Л., Желтикова Т. М., Чекунова А. Н., Антропова Л. Б., Мокроносорова М. А., Биланенко Е. Н., Сизова Т. П. Микробиота домашней пыли г. Москвы // Микология и фитопатология. 2000. Т. 34, вып. 3. С. 25—33.

Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / Под ред. М. О. Биргер. М.: Медицина, 1982. 462 с.

Bech-Andersen J. Indoor climate and moulds. 2nd ed. Holte, Denmark: Hussvamp Laboratoriet Publishers, 2004. 81 p.

Bloom E., Bal K., Must A., Larsson L. Mass spectrometry — based strategy for direct detection and quantification of some mycotoxins produced by *Stachybotrys* and *Aspergillus* spp. in indoor environments // *Appl. environ. microbiol.* 2007. Vol. 73, N 13. P. 4211—4217.

Flannigan B., Morey P. R. Control of moisture problems affecting biological indoor air quality // *Internat. Society for Indoor Air Quality and Climate (ISIAQ) Guideline TFI—1996*. Ottawa, 1996. 70 p.

Gravesen S. Microfungal contamination of dump buildings // *Bioaerosols, Fungi and Mycotoxins* / Ed. E. Johanning // *Proc. III Internat. Conf. on Fungi, Mycotoxins and Bioaerosols*. (Saratoga Springs, New York, September 23—25, 1998). Albany; New York: Eastern New York Occupational and Environmental Health Center, 1998. P. 505—511.

James J. P., Yang X. Emissions of volatile organic compounds from several green and non-green building materials. A comparison // *Indoor Built Environ.* 2005. Vol. 14. P. 69—74.

Juodis E. Energy saving and airtightness of blocks of flats in Lithuania // *Indoor Built Environ.* 2000. Vol. 9. P. 143—148.

Kaminskas A. The energy saving technologies of building materials. Vilnius: VĮ Knygų naujienos, 2002. 327 p. (in Lithuan.).

Lee T., Grinshpun S. A., Martuzevičius D., Adhikari A., Crawford C. M., Reponen T. Culturability and concentration of indoor and outdoor airborne fungi in six single-family homes // *Atmospheric Environ.* 2006. Vol. 40. P. 2902—2910.

Lugauskas A., Jaskelevičius B. Micromycetes hazardous to human health in buildings of various age and use in Vilnius // *Indoor Built Environ.* 2007. Vol. 16. P. 358—370.

Lugauskas A., Šveistytė L. Contamination of occupational and dwelling premises with micromycetes hazardous to human health / Eds D. Cygas, K. D. Froehner // *Environ. Engineering / VI Internat. Conf.* Vilnius, Lithuania. 2005. P. 171—175.

McNeel S. V., Kreutzer R. A. Fungi et indoor air quality // *Health and Environ. Digest*. 1996. Vol. 10, N 2. P. 9—13.

Pope A. M., Petterson R., Burge H. Agents, sources, controls and diseases // *Indoor Allergens. Assessing and Controlling Adverse Health Effects*. Washington: National Acad. Press, 1993. Vol. 3. P. 86—116.

Rantiala S., Reponen T., Nevalainen A., Husman T., Kalliokoski P. Control of exposure to airborne viable microorganisms during remediation of moldy buildings; Report of three case studies // *Amer. Indoor Hyg. Assoc. J.* 1998. Vol. 59. P. 455—460.

Rylander R. Humid buildings — the problem // *Indoor Built Environ.* 2003. Vol. 12. P. 211—213.

Scott J. A. Studies on indoor fungi. A Thesis for the degree of doctor of Philosophy in Mycology. University of Toronto, 2001. 228 p.

Stanger M., Potgieter-Vermaak S. S., Van Grieken R. Comparative overview of indoor air quality in Antwerp, Belgium // *Environ. International*. 2003. Vol. 33. P. 789—797.

Tuomi T., Reijula K., Johnsson T., Hemminki K., Hintikka E.-L., Lindroos O., Kalso S., Koukilo-Kähkölä P., Mussalo-Rauhamaa H., Haahtelu T. Mycotoxins in Crude Building materials from Water-Damaged Buildings // *Appl. Environ. Microbiol.* 2000. Vol. 66, N 5. P. 1899—1904.

Zyska B. Biological hazards in buildings. Warszawa: Arkady, 1999. 251 p.

Институт химии
Вильнюс
lugauskas@chi.lt

Вильнюсский технический университет им. Гедиминаса
Литва
aak@ap.rgtu.lt

Поступила 30 IX 2008

РЕЗЮМЕ

Вильнюс — старый город, богатый зданиями разных исторических эпох. Было изучено микологическое состояние 66 жилых помещений, разделенных на три группы (блочные, кирпичные, деревянные). Интенсивность заражения и его скорость зависят в основном от метеорологических условий и от влажности и состава субстрата. При этом в жилых помещениях наиболее часто встречались микромицеты из родов *Aspergillus*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Chrysosporium*, *Ulocladium*. Некоторые из микромицетов, обнаруженных в ходе исследования, являются потенциальными возбудителями респираторных заболеваний и аллергий. Деревянные дома Вильнюса характеризуются специфическим составом грибов, причем на балках часто встречаются *Daedalea* и *Serpula* в сообществе с микромицетами.

Ключевые слова: жилые дома, микобиота, разнообразие, метаболизм, биоповреждение, здоровье людей.

SUMMARY

Vilnius is characterized by a particularly large variety of buildings established at various historical periods. The mycological state of 66 dwellings of three types (block, brick, wooden) has been studied. The infection intensity and progress mostly depend upon meteorological conditions as well as the composition and humidity of the substrata. Under such conditions in dwelling room micromycetes ascribed to the genera *Aspergillus*, *Alternaria*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Chrysosporium*, *Ulocladium* were most frequent. Some of the micromycetes found in dwelling rooms were potentially agents of respiratory disorders and allergies. The wooden houses of Vilnius are characterized by specific fungi developing on them with *Daedalea* and *Serpula* frequently found on balks accompanied by a number of other micromycetes.

Key words: dwelling-houses, mycobiota, diversity, metabolism, biodeterioration, human health.

УДК 582.284.51 : 577.29

© Е. Ф. Малышева, В. Ф. Малышева, А. А. Красильникова

**МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ ПОДХОДЫ
К ИЗУЧЕНИЮ РОДА *PLUTEUS***MALYSHEVA E. F., MALYSHEVA V. F., KRASILNIKOVA A. A. MORPHOLOGICAL
AND MOLECULAR APPROACHES TO STUDY THE GENUS *PLUTEUS*

Род *Pluteus* Fr. — наиболее крупный род в семействе *Pluteaceae* Kotl. et Pouzar., насчитывающий в мире по различным данным от 140 (Singer, 1986) до 300 видов (Kirk et al., 2001).

Морфологически род *Pluteus* характеризуется плодовыми телами чаще мелких или средних размеров без покрывала или у отдельных представителей с покрывалом, свободными пластинками и розовым споровым порошком (рис. 1). На микроскопическом уровне представители рода легко узнаваемы по инвертной траме гименофора, характерному облику плевро- и хейлоцистид, широкоэллипсоидальным (часто яйцевидным) неамилоидным спорам.

Представители рода распространены по всему земному шару, исключая Антарктиду, и обитают в основном на различных древесных остатках. Они способны развиваться на крупном и мелком валеже как лиственных, так и хвойных пород, погребенной древесины, опилках, часто растут на почве в лесах и луговых сообществах. Гниль, вызываемая грибами рода, белая, однако в целом динамика процессов гниения изучена недостаточно. Все представители рода — сапротрофы, но некоторые могут проявлять биотрофную активность, поселяясь на отмирающих деревьях, микоризу не образуют.

Род *Pluteus* был описан Фризом в 1835 г. Первоначально ряд видов, относимых сегодня к данному роду, рассматривался в рамках крупного рода *Agaricus* L. В 1821 г. в первой части своей работы «Systema mycologicum» Фриз выделил в роде *Agaricus* серию *Hyporhodium*, подразделив ее на ряд триб (Fries, 1821). В рамках трибы *Clitopilus* для таких видов, как *Agaricus pellitus* Pers., *A. leoninus* Schaeff., *A. chrysohaeus* Schaeff., *A. pluteus* Batsch (= *A. cervinus* Schaeff.), *A. umbrosus* Pers., *A. nanus* Pers., *A. phlebophorus* Ditmar и *A. hispidulus* Fr., он выделил подтрибу *Plutei*, которую затем возвел в ранг самостоятельного рода (Fries, 1835). Внутри рода Фриз выделял 3 группы видов, объединенные друг с другом согласно различиям в характере поверхности шляпки: «волоknистая», «зернистая» и «гладкая». Однако, по микроморфологическим характеристикам, согласно Ланге (Lange, 1917), эти группы можно рассматривать лишь в составе двух типов: 1) виды с филаментозной структурой pileипеллиса; 2) виды, pileипеллис которых состоит из отдельных вздутых округлых клеток.

Со времени описания рода *Pluteus* многие исследователи внесли значительный вклад в его изучение. Однако таксономия рода до сих пор еще недостаточно ясна. Даже в случае распространенных таксонов, при достаточном количестве имеющегося гербарного материала и многочисленных находках, у различных микологов часто не

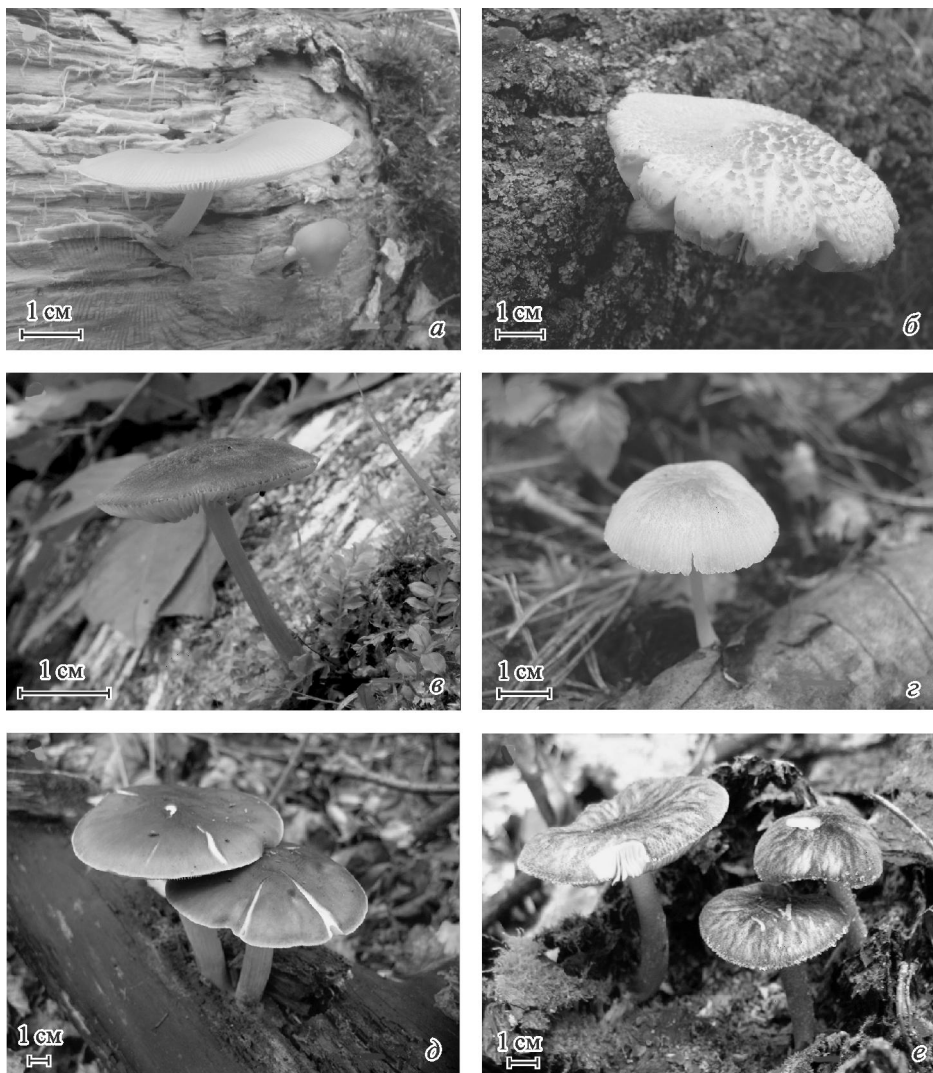


Рис. 1. Внешний вид плодовых тел некоторых представителей рода *Pluteus*.

a — *Pluteus leoninus*, *б* — *P. fenzii*, *в* — *P. podospileus*, *г* — *P. granulatus*, *д* — *P. cervinus*, *е* — *P. umbrosus*.

существует единого взгляда как на объем некоторых видов (или внутривидовых таксонов), так и на значимость отдельных таксономических признаков. В качестве примера можно привести *Pluteus plautus* (Weinm.) Gillet, понимаемый одними авторами (Moser, 1983; Orton, 1986; Вассер, 1992; Малышева, 2004) в узком смысле, а другими (Vellinga, Schreurs, 1985; Vellinga, 1990) — в достаточно широком. В первом случае в качестве диагностических признаков, отличающих его от близких самостоятельных видов *P. granulatus* Bres., *P. semibulbosus* (Lasch) Gillet, *P. depauperatus* Romagn., *P. boudieri* P. D. Orton и *P. punctipes* P. D. Orton, принимаются главным образом размеры плодовых тел, окраска шляпки, характер ее поверхности, размер спор и цистид, а также экология (произрастание только на хвойных породах). Другие же авторы склонны рассматривать данные различия не как константные таксономические признаки, а как количественно варьирующие по степени выраженности. Такой подход приводит к широкому пониманию данного вида и рассмотрению всех вышеперечисленных таксонов в качестве его синонимов (Vellinga, Schreurs, 1985).

Не существует также единой точки зрения и на объем вида *P. podospileus* Sacc. et Cub. Одни авторы (Orton, 1986) отличают его от близкого вида *P. minutissimus* Maire только по размеру спор, степени пигментации ножки и экологии (произрастании в основном на древесине, а не на почве), тогда как другие исследователи (Vellinga, Schreurs, 1985; Vellinga, 1990) признают данные различия таксономически значимыми лишь для выделения таксонов внутривидового ранга, ограничиваясь выделением двух форм в пределах *P. podospileus* (f. *podospileus* — с бурыми волокнами по всей поверхности ножки и f. *minutissimus* — с их отсутствием или наличием только в основании ножки), либо не придают значения данным признакам вообще, рассматривая *P. minutissimus* в качестве синонима *P. podospileus* (Вассер, 1992).

Можно привести еще множество примеров неоднозначной трактовки вида разными авторами. Так, к достаточно дискуссионным видам относятся *P. cervinus* (Schaeff.) P. Kumm., *P. chrysophaeus* (Schaeff.) Quél., *P. ephebeus* (Fr.: Fr.) Gillet и др.

Таким образом, остается неясным вопрос о таксономическом весе отдельных морфологических признаков рода, используемых в классификации. Применение исключительно морфологических критериев в изучении систематики рода не вносит ясности в понимание объема отдельных видов и выяснение отношений между близкородственными таксонами ввиду субъективной оценки тех или иных признаков. Важным препятствием при исследовании рода *Pluteus* является сложность выделения его представителей в чистую культуру, что затрудняет использование биохимического и физиологического критериев разграничения близких видов. Применение молекулярно-генетического подхода к изучению различных таксонов грибов, набирающее силу в последнее время в микологии, способствует лучшему пониманию родственных связей между видами, а также разрешает многие таксономические проблемы, существующие на данный момент. Однако работы, посвященные молекулярным исследованиям рода *Pluteus*, в литературе отсутствуют. Имеются отдельные статьи, касающиеся решения узких вопросов взаимоотношений между отдельными видами (Minnis et al., 2006), либо крупные работы, затрагивающие семейство *Pluteaceae* в целом (Moncalvo et al., 2000, 2002; Matheny et al., 2006).

В настоящее время существуют различные системы рода, что связано с противоречивостью критериев, положенных в основу классификации. Поэтому представляется необходимым соотнесение морфологических критериев, на основании которых выделяются главным образом секции и подсекции, с данными молекулярных исследований.

Целью настоящей работы является попытка выделения естественных групп видов в пределах рода *Pluteus* на основании анализа последовательностей рДНК и соотнесение выделенных групп с результатами морфолого-таксономического анализа. В качестве объектов исследования мы взяли как широко распространенные в Европе, так и редкие виды рода *Pluteus*, так чтобы каждая секция (с учетом основных систем рода) была представлена в исследовании несколькими ключевыми таксонами.

Ниже мы приводим анализ используемых в систематике рода *Pluteus* макро- и микроморфологических признаков с критической оценкой их таксономической значимости, а также обзор основных систем рода (до уровня подсекций).

Обзор морфологии рода *Pluteus*

Род *Pluteus* Fr.

Fl. Scan.: 338, 1835. — *Hypo[r]rhodius* (Fr.) Staude, 1857. — *Rhodosporus* J. Schröt., 1889. Т и п: *Agaricus pluteus* Batsch: Fr., 1821 [= *Pluteus cervinus* (Schaeff.) P. Kumm., 1871].

Систематика рода основана главным образом на микроморфологических признаках.

Из макроморфологических признаков для разграничения видов и групп видов используются в первую очередь окраска шляпки и ножки, а также размер базидиом и окраска края пластинок. Некоторые авторы (Orton, 1986) полагают, что окраска шляпки и нож-

ки коррелирует с размером и формой гимениальных цистид, тогда как размер базидиом и экологию признают второстепенными признаками при определении видов.

К дискуссионным относится признак наличия окрашенного края пластинок. Он может служить хорошим диагностическим признаком для одних видов [*P. atromarginatus* (Singer) Kühner, *P. umbrosus* (Pers.: Fr.) P. Kumm.] и спорным для других [в случае разграничения таких близких видов, как *P. sororiatius* (Karst.) Karst. и *P. leoninus*, *P. fenlzii* (Schulzer) Corriol et P.-A. Moreau и *P. mammillatus* (Longyear) Minnis, Sundb. et Methven].

Другим неоднозначным признаком является наличие или отсутствие пряжек на мицелии. Одни авторы склонны придавать ему большое значение, используя в подразделении рода на секции (Вассер, 1992), другие же (Vellinga, Schreurs, 1985; Orton, 1986) вовсе не рассматривают его как таксономически важный признак в роде *Pluteus*.

Онтогенез базидиом изучен у немногих представителей рода (Reijnders, 1963; Горовой, 1990). Зона нарастания зачатков базидиом *Pluteus* концентрированного типа и поверхностной локализации. Дифференциация шляпки происходит за счет радиального нарастания боковых частей зачатка. Большинство видов развивается гимнокарпно, но у отдельных представителей [*P. admirabilis* Peck, *P. chrysophlebius* (Berk. et Ravenel) Sacc.] край загибается к ножке и развивающийся гименофор оказывается закрытым пучком гиф, соединяющих шляпку и ножку (пилеостипитокарпный тип развития). Недавние работы (Minnis et al., 2006; Corriol, Moreau, 2007; Malysheva et al., 2007) показали, что часть видов, имеющих покрывало в виде кольца на ножке и относимых ранее к слабоизученному роду *Chamaeota* (W. G. Sm.) Earle, в настоящее время следует помещать в род *Pluteus*. Некоторые авторы (Corriol, Moreau, 2007) выделяют даже подсекцию *Annularia* (Schulzer) Corriol et P.-A. Moreau в пределах секции *Hispidoderma* Fayod, представители которой характеризуются наличием покрывала. Таким образом, отдельные виды рода характеризуются паравелангиокарпным типом развития базидиом (по: Cléménçon, 2004). Развитие пластинок начинается с появления складок на изначально гладкой поверхности гименофора. Трама складок дивергентная, по мере их преобразования в пластинки становится правильной и в конце развития — инвертной: вследствие неравномерного роста гиф медиостратум пластинки растягивается в длину быстрее, чем субгимений (и гимений), в результате чего боковые ответвления расходящихся к гимению гиф заворачиваются в противоположном направлении.

Гифальная система мономитическая, т. е. гифы, формирующие все структуры базидиомы, имеют функционирующий протопласт и тонкие либо умеренно утолщенные стенки (Малышева, 2004). В ножке гифы расположены параллельно и достаточно свободно (поверхностный слой может содержать каулоцистиды), в шляпке принимают радиальное расположение и дают нитчатую, волокнистую или триходермоидную структуру поверхности. Развитие внешнего слоя шляпки у видов рода идет по-разному. У одной группы видов поверхностные гифы не претерпевают особенной дифференциации и состоят из удлиненных, пигментированных (в основном с внутриклеточным пигментом) клеток: они расходятся радиально от центра шляпки, а их ответвления имеют часто восходящую ориентацию. Такая поверхность шляпки называется нитчатой, или филаментозной, а в других классификациях — кутисом (Vellinga, 1990), или плагиотриходермисом (Cléménçon, 2004). У других видов поверхностные гифы состоят из сильно трансформированных клеток шаровидной, грушевидной или пузырчатой формы, образующих плотный либо рыхлый поверхностный слой, именуемый гименодермисом (Cléménçon, 2004).

Такие признаки, как морфология базидий и форма спор, наряду с характером прикрепления пластинок и цветом спорового порошка, являясь характерными для рода в целом, не имеют таксономической значимости во внутриродовой систематике.

Хейлоцистиды всегда присутствуют в гимении, различной формы — от цилиндрических и бутылковидных до вздуто-веретенновидных. Плевроцистиды присутствуют или отсутствуют (что реже), схожие по морфологии с хейлоцистидами либо очень характерного облика — с утолщенными стенками и шиловидными или крочковидными отростками на вершине.

В целом наиболее значимыми таксономическими признаками для видов рода признаются характер пилеипеллиса и строение цистид. Большинство авторов (Lange, 1917; Homola, 1972; Orton, 1986; Singer, 1986, и др.) в качестве дифференцирующих признаков рассматривают лишь форму элементов, слагающих пилеипеллис, тогда как другие авторы (Vellinga, Schreurs, 1985; Vellinga, 1990) большое значение придают не только морфологии элементов, но и характеру их расположения, т. е. типу пилеипеллиса в целом. Из гимениальных цистид большее значение в таксономии отводится плевроцистидам, имеющим характерную и достаточно константную форму у многих видов (Orton, 1986). Однако хейлоцистиды могут также иметь таксономическое значение в некоторых случаях — при отсутствии плевроцистид, либо когда они обладают выраженным, характерным обликом [например, у *P. thomsonii* (Berk. et Broome) Dennis].

Системы рода *PLUTEUS*

1. Система Ланге (Lange, 1917, 1936). В своей системе автор выделяет в пределах рода 2 крупные группы видов неясного таксономического ранга, подразделяя одну из них еще на 2 группировки. Основой классификации является характер поверхности шляпки и микроскопическое строение пилеипеллиса, а также морфология цистид.

A. Tricholomatae (*Trichodermei*, 1937) — шляпка гладкая или чешуйчатая, пилеипеллис состоит из гифальных элементов:

α. *Coronatae* (*Coronati*, 1937) — цистиды с отростками на вершине, споры широкоэллипсоидальные [*P. cervinus*, *P. salicinus*, *P. petasatus*, *P. pellitus* (Pers.) P. Kumm.];

β. *Depauperatae* (*Depauperati*, 1937) — цистиды без отростков, споры почти шаровидные [*P. robertii* (Fr.) P. Karst., *P. hispidulus* (Fr.: Fr.) Gillet, *P. plautus*, *P. umbrosus*, *P. cinereus* Quél., *P. leoninus*].

В. *Micaceae* (*Micacei*, 1937) — шляпка гладкая или с мучнистым налетом, пилеипеллис сформирован шаровидными клетками, споры почти шаровидные [*P. semibulbosus*, *P. godeyi* Gillet, *P. cinereofuscus* J. E. Lange, *P. nanus* (Pers.: Fr.) P. Kumm., *P. chrysophaeus*, *P. phlebophorus* (Ditm.: Fr.) P. Kumm., *P. coccineus* (Masse) J. E. Lange].

2. Система Имаи (Imai, 1938). Род подразделяется на 3 секции в соответствии со строением пилеипеллиса и плевроцистид.

Sect. *Fibrillosi* Imai — пилеипеллис гименовидный, плевроцистиды толстостенные (*P. cervinus*, *P. salicinus*, *P. macrosporus* Imai, *P. pellitus*);

Sect. *Pruinosi* Imai — пилеипеллис состоит из булавовидных и округлых элементов, плевроцистиды тонкостенные (*P. nanus*, *P. bulbosus* Imai);

Sect. *Nudi* Imai — пилеипеллис состоит из удлиненных цилиндрических элементов, плевроцистиды тонкостенные (*P. leoninus*, *P. phlebophorus*).

3. Система Кюннера и Романьези (Kühner, Romagnesi, 1953). В данной системе род *Pluteus* имеет 3 подразделения (соответствующие уровню секций в системах других авторов), в пределах которых в свою очередь выделяются группы. Классификация построена главным образом на основании строения плевроцистид и пилеипеллиса, а в случае подразделения на группы — особенностей макроморфологии плодовых тел (характера поверхности шляпки, ножки и др.).

A. Trichodermi Fayod — плевроцистиды с толстыми стенками и отростками на вершине; пилеипеллис гименовидный [*P. cervinus*, *P. patricius* (Schulzer) Boudier, *P. pellitus*, *P. salicinus*];

B. Hispidodermi Fayod — плевроцистиды тонкостенные, без отростков; пилеипеллис состоит из фибриллярных элементов:

1 group [*P. villosus* (Bull.: Fr.) Quél., *P. murinus* Bres., *P. roseipes* Höhn., *P. luteomarginatus* Roll., *P. leoninus*];

2 group [*P. hiatulus* Romagn., *P. hispidulus*, *P. pusillulus* Romagn., *P. exiguus* (Pat.) Sacc.];

3 group (*P. umbrosus*, *P. plautus*, *P. minutissimus*, *P. granulatus*, *P. depauperatus*, *P. semibulbosus*).

C. Celluloderma Fayod — плевроцистиды тонкостенные, без отростков; пилеипеллис гимениформный:

1 group (*P. rimulosus* Kühner et Romagn., *P. poliocnemis* Kühner, *P. thomsonii*, *P. godeyi*);

2 group [*P. alborugosus* Kühner, *P. coccineus* (Cooke) Mass., *P. romellii* (Britz.) Sacc., *P. chrysophaeus*, *P. satur* Kühner et Romagn., *P. cinereofuscus*, *P. marginatus* (Quél.) Kühner et Romagn., *P. cyanopus* Quél.].

4. Система Зингера (Singer, 1986). Род включает 3 секции и 2 подсекции, выделение которых также основано на признаках строения пилеипеллиса и плевроцистид.

Sect. *Pluteus* (соответствующая *Trichoderma* Fayod, *Tricholomatae* J. E. Lange и *Fibrilosi* Imai), характеризуется дифференцированным кутисом и толстостенными плевроцистидами, несущими на вершине крючковидные отростки [*P. pellitus*, *P. brunneidiscus* Murrill, *P. subcervinus* (Berk. et Broome) Sacc., *P. nigropallescens* Singer, *P. mesosporus* Singer, *P. glaucus* Singer, *P. salicinus*, *P. atomarginatus*, *P. spagazzinianus* Singer, *P. aporpus* Singer, *P. cervinus* и др.];

Sect. *Hispidoderma* (= *Trichadermei* J. E. Lange), представители которой имеют пилеипеллис, состоящий из удлиненных элементов, а также тонкостенные плевроцистиды [*P. leoninus*, *P. umbrosus*, *P. roseipes*, *P. longipes* Murrill, *P. semibulbosus*, *P. niveus* Murrill, *P. hispidulus*, *P. granulatus*, *P. microsporus* (Dennis) Singer и др.];

Sect. *Celluloderma* Fayod (= *Micaceae* J. E. Lange, *Pruinosi* Imai) с округлыми элементами в пилеипеллисе и тонкостенными плевроцистидами, подразделяемая на 2 подсекции:

Subsect. *Mixtini* Singer (*P. longistriatus* Peck, *P. varipes* Singer, *P. minutissimus*, *P. thomsonii*, *P. laetus* Singer и др.);

Subsect. *Eucellulodermini* Singer [*P. nanus*, *P. aurantiorugosus* (Trog) Sacc., *P. chrysophlebius*, *P. melleus* Murrill, *P. chrysophaeus*, *P. romellii*, *P. cinereofuscus* и др.].

5. Система Ортона (Orton, 1986). Род подразделяется на 3 секции, совпадающие с классификацией Зингера и выделяемые также на основании строения пилеипеллиса и плевроцистид. Отличием от последней системы является выделение многочисленных рядов (*stirpes*) в пределах секций.

Sect. *Pluteus* (*P. cervinus*, *P. atomarginatus*, *P. salicinus*, *P. pellitus*, *P. patricius*, *P. pseudorobertii* M. M. Moser et Stangl., *P. petasatus*);

Sect. *Hispidoderma* [*P. umbrosus*, *P. punctipes* P. D. Orton, *P. plautus*, *P. murinus*, *P. pearsonii* P. D. Orton, *P. villosus*, *P. robertii*, *P. lepiotoides* A. Pearson, *P. gracilis* (Bres.) J. E. Lange, *P. granulatus*, *P. dryophiloides* P. D. Orton, *P. depauperatus*, *P. boudieri* P. D. Orton, *P. leoninus*, *P. hispidulus*, *P. exiguous*];

Sect. *Celluloderma* [*P. nanus*, *P. griseoluridus* P. D. Orton, *P. luctuosus* Boud., *P. olivaceus* P. D. Orton, *P. cinereofuscus*, *P. godeyi*, *P. phlebophorus*, *P. galeroideus* P. D. Orton, *P. xanthophaeus* P. D. Orton, *P. luteovirens* Rea, *P. aurantiorugosus* (Trog) Sacc., *P. romellii*, *P. splendidus* Pearson, *P. griseopus* P. D. Orton, *P. satur*, *P. semibulbosus*, *P. rimulosus* Kühner et Romagn., *P. thomsonii*, *P. podospileus*, *P. minutissimus*].

6. Система С. П. Вассера (Wasser, 1989; Вассер, 1992). В пределах рода выделено 2 подрода и 4 секции. В основу классификации положен комплекс признаков, которые автор считает константными для рода: строение пилеипеллиса, морфология слагающих его элементов, характер поверхности шляпки, строение плевроцистид, а также признак наличия или отсутствия пряжек на мицелии.

Subgen. *Pluteus* — пилеипеллис состоит из удлиненных клеток; поверхность шляпки волнообразная, шелковистая; плевроцистиды толстостенные, с отростками; пряжки имеются или нет:

Sect. *Pluteus* — пряжки на мицелии отсутствуют (*P. petasatus*, *P. cervinus*, *P. pouzarianus* Singer);

Sect. *Fibulatus* S. Wasser — пряжки имеются (*P. atomarginatus*, *P. salicinus*, *P. pellitus*, *P. pseudorobertii*);

Subgen. *Hispidocelluloderma* S. Wasser — пилеипеллис может состоять из удлинённых, гиеновидных элементов, а также из округлых, веретеновидных и грушевидных элементов; поверхность шляпки морщинистая, чешуйчатая; плевроцистиды тонкостенные, без выростов на вершине:

Sect. *Hispidoderma* — пилеипеллис состоит из удлинённых элементов; пряжки в основном отсутствуют (*P. exiguus*, *P. hispidulus*, *P. robertii*, *P. lepiotoides*, *P. umbrosus*, *P. plautus*, *P. ephebeus*, *P. leoninus*, *P. granulatus*, *P. sororiatius*);

Sect. *Celluloderma* — пилеипеллис состоит из округлых, грушевидных или веретеновидных элементов (*P. cinereofuscus*, *P. godeyi*, *P. semibulbosus*, *P. aurantiorugosus*, *P. romellii*, *P. chrysophaeus*, *P. phlebophorus*, *P. cyanopus*, *P. podospileus*, *P. nanus*, *P. thomsonii*).

7. Система Веллинги (Vellinga, 1990). В своей системе рода автор выделяет 3 секции на основании характера пилеипеллиса и строения плевроцистид. Особенностью данной системы и ее отличием от предыдущих систем является акцент не только на морфологию элементов, слагающих пилеипеллис, но также на тип пилеипеллиса в целом. На основании морфологии элементов пилеипеллиса в секции *Celluloderma* выделены 3 подсекции.

Sect. *Pluteus* — ножка выполненная; плевроцистиды многочисленные, толстостенные, с крючковидными выростами на вершине; хейлоцистиды возникают в субгимении; пилеипеллис — кутис; пряжки присутствуют или отсутствуют (*P. salicinus*, *P. atromarginatus*, *P. pouzariianus*, *P. cervinus*, *P. pellitus*, *P. petasatus*);

Sect. *Villosi* Schreurs et Vellinga — ножка выполненная; плевроцистиды тонкостенные, без выростов или отсутствуют; хейлоцистиды укореняются в траме гименофора; пилеипеллис — кутис; пряжки на гифах отсутствуют (*P. ephebeus*, *P. hispidulus*);

Sect. *Celluloderma* — ножка выполненная или полая; плевроцистиды тонкостенные, без выростов или отсутствуют; пилеипеллис — гименодермис или триходермис; пряжки на гифах отсутствуют:

Subsect. *Hispidodermini* (Fayod) Vellinga et Schreurs — хейлоцистиды возникают в субгимении; пилеипеллис состоит из цилиндрических элементов, формирующих гименодермис или триходермис (*P. exiguus*, *P. pusillulus* Romagn., *P. leoninus*, *P. roseipes*, *P. umbrosus*, *P. plautus*);

Subsect. *Mixtini* — хейлоцистиды возникают в субгимении; пилеипеллис — гименодермис, сформированный двумя типами элементов: булавовидными и веретеновидными либо цилиндрическими клетками (*P. podospileus*, *P. thomsonii*);

Subsect. *Eucellulodermini* — хейлоцистиды укореняются в траме гименофора; пилеипеллис — гименодермис, состоящий из булавовидных или округлых элементов (*P. nanus*, *P. romellii*, *P. diettrichii* Bres., *P. poliocnemis* Kühner, *P. insidiosus* Vellinga et Schreurs, *P. chrysophaeus*, *P. phlebophorus*, *P. cinereofuscus*, *P. pallescens*, *P. cyanopus*, *P. luctuosus*, *P. inquilinus* Romagn., *P. aurantiorugosus*).

По мнению некоторых авторов (Homola, 1975; Kühner, 1980; Vellinga, Schreurs, 1985), секция *Pluteus* объединяет наиболее примитивных представителей рода, тогда как виды, входящие в состав других секций (*Hispidoderma* и *Celluloderma* по системе Зингера), являются более продвинутыми в эволюционном отношении. Этот вывод был основан исключительно на анализе морфологических признаков рода, таких как пилеипеллис, плевроцистиды, пряжки, цвет и размер базидиом.

Присутствие филаментозного пилеипеллиса, тонкостенных плевроцистид, пряжек, темноокрашенных и крупных базидиом принято рассматривать в качестве плезиоморфных признаков в роде *Pluteus*, тогда как гименодермный пилеипеллис, толстостенные плевроцистиды с отростками на вершине, отсутствие пряжек на мицелии, светлая окраска базидиом и их мелкий размер свидетельствуют об эволюционном развитии и являются апоморфными признаками.

Однако мы согласны с мнением Веллинги, что, принимая во внимание только лишь вышеперечисленные признаки, представляется достаточно сложным выведение группы видов, например sect. *Celluloderma* subsect. *Eucellulodermini*, непосредственно из примитивных видов секции *Pluteus* (Vellinga, Schreurs, 1985), несмотря на то что

некоторые авторы (Homola, 1975) логично прослеживали линию эволюции от видов sect. *Pluteus* через виды sect. *Hispidoderma*, обладающие промежуточными признаками и характеристиками, к высоко развитым представителям sect. *Celluloderma*.

Материал и методы

Морфологический анализ. Исследование было основано главным образом на гербарном материале. Также изучались свежесобранные образцы. Все образцы, включенные в морфологический анализ, приведены в табл. 1.

Сбор и обработка гербарного материала осуществлялись стандартными методами. Определение видовой принадлежности образцов проводилось в Лаборатории систематики и географии грибов Ботанического института им. В. Л. Комарова РАН с использованием микроскопов марок БИМАМ и МИКМЕД 2—2. При изучении микроскопических характеристик базидиом были использованы следующие реактивы: 5%-й раствор щелочи (KOH) и 1%-й аммиачный раствор конго красного для окрашивания стенок гиф. Все микроскопические измерения, а также морфологические наблюдения основывались на изучении по крайней мере 20 идентичных структур каждого образца. Средний размер спор оценивался по измерению 30 спор.

Математическая обработка таксономически значимых морфологических признаков и построение кладограммы осуществлялись с помощью компьютерной программы WinClada version 1.00.08 (Nixon, 1999—2002) по методу максимальной парсимонии.

Молекулярный анализ. Изоляция ДНК осуществлялась из сухого гербарного материала, видовая идентификация которого проводилась классическими морфолого-таксономическими методами. Список использованных нами гербарных образцов, а также образцов, готовые нуклеотидные последовательности которых взяты для анализа из Генбанка, приводится в табл. 2.

Экстракция ДНК проводилась по стандартным методикам, используемым для выделения грибной ДНК (Юрченко, Синявская, 2007). Для амплификации ITS-фрагментов рДНК использовались универсальные праймеры ITS1f и ITS4b и стандартизированный протокол (табл. 3).

Полученные ПЦР-продукты были очищены с помощью QIAquick Gel Extraction Kit от QIAGEN.

Для работы с полученными нуклеотидными последовательностями и построения молекулярно-генетической кладограммы использовалась компьютерная программа MEGA version 4 (Tamura et al., 2007). Филогенетический анализ проводился по методу «Neighbor Joining» с 1000 бутстреп-повторностей.

Результаты и обсуждение

Результаты морфологического исследования. Опираясь на результаты таксономического изучения рода рядом авторов, на различные системы рода и принципы их построения, а также на результаты собственных морфологических исследований и наблюдений, мы выделили основные макро- и микроморфологические признаки (придав числовые значения их выражениям), имеющие (либо могущие иметь) наиболее важное таксономическое значение в систематике рода *Pluteus*.

Шляпка:

1. Размер: 0 — меньше 3 см в диам.; 1 — больше 3 см в диам.
2. Цвет: 0 — белая, беловато-серая или розоватая; 1 — темно-серая, коричневатая, бурая; 2 — яркая, яично-желтая, янтарная или оранжево-желтая.
3. Характер поверхности: 0 — гладкая или слегка чешуйчатая только в центре; 1 — волокнистая или чешуйчатая по всей поверхности; 2 — с мучнистым налетом; 3 — морщинистая.

Образцы видов рода *Pluteus*, использованные в морфологическом анализе

Название вида	Гербарный номер (LE)	Место сбора образца
<i>Pluteus cervinus</i>	217575	Псковская обл., Себежский район
	213033	Самарская обл., Жигулевский заповедник
	215353	Ленинградская обл., Кингисеппский район
<i>P. petasatus</i>	234784	Тульская обл., Ефремовский район
<i>P. atromarginatus</i>	246081	Самарская обл., Жигулевский заповедник
	212998	Самарская обл.
<i>P. salicinus</i>	215427	Ленинградская обл., Бокситогорский район
	213064	Самарская обл., Жигулевский заповедник
<i>P. pellitus</i>	217548	Псковская обл., Себежский район, национальный парк «Себежский»
	213034	Самарская обл., Жигулевский заповедник
<i>P. ephebeus</i>	227554	То же
	213045	» »
	212090	Самарская обл., Ставропольский район
<i>P. leoninus</i>	217942	Новгородская обл., Валдайский район
	213005	Самарская обл., Жигулевский заповедник
<i>P. lepiotoides</i>	226544	То же
<i>P. hispidulus</i>	226543	Ленинградская обл., Гатчинский район
<i>P. exiguus</i>	215515	Ленинградская обл., Тоснинский район
<i>P. umbrosus</i>	234773	Тульская обл., Заокский район
	213024	Самарская обл., Жигулевский заповедник
	213004	То же
<i>P. granulatus</i>	215470	Ленинградская обл., Бокситогорский район
	212990	Самарская обл., Жигулевский заповедник
<i>P. podospileus</i>	213015	То же
	235290	Вологодская обл., национальный парк «Русский Север»
	235383	Ленинградская обл., заказник «Березовые острова»
	234787	Тульская обл., Ефремовский район
<i>P. thomsonii</i>	213053	Самарская обл., Жигулевский заповедник
	217568	Псковская обл., Себежский район, национальный парк «Себежский»
<i>P. nanus</i>	213093	Самарская обл., Жигулевский заповедник
	217944	Новгородская обл., Валдайский район
	213013	Самарская обл., Жигулевский заповедник
	213003	То же
<i>P. aurantiorugosus</i>	216873	Московская обл., Приокско-Террасный заповедник
<i>P. semibulbosus</i>	227534	Самарская обл., Жигулевский заповедник
	213043	То же
	234782	Тульская обл., Ефремовский район
<i>P. fenizii</i>	246083	Самарская обл., Жигулевский заповедник
	246082	То же
	246084	Тюменская обл., Юганский заповедник
<i>Amanita pantherina</i>	215578	Ленинградская обл., Выборгский район
	216851	Московская обл., Приокско-Террасный заповедник

Образцы видов рода *Pluteus*, использованные в молекулярном анализе

Название вида	Гербарный номер	Номер в Генбанке
<i>Pluteus cervinus</i>	LE 217575	FJ 774088
<i>P. cervinus</i> var. <i>cervinus</i>	(UBC F 16293)	EU 486448
<i>P. petasatus</i>	(CBS 441.85)	AF 085495
<i>P. atromarginatus</i>	LE 246081	FJ 774075
		EF 530926
	(AFTOL-ID 1340)	DQ 494687
<i>P. salicinus</i>	LE 215427	FJ 774087
<i>P. pellitus</i>	LE 217548	FJ 774078
<i>P. ephebeus</i>	LE 227554	FJ 774074
<i>P. leoninus</i>	LE 212090	FJ 774079
<i>P. exiguus</i>	LE 226543	FJ 774083
<i>P. plautus</i>	LE 213024	FJ 774076
<i>P. granulatus</i>	LE 212990	FJ 774086
<i>P. podospileus</i>	LE 213015	FJ 774085
<i>P. thomsonii</i>	LE 234787	FJ 774084
<i>P. nanus</i>	LE 213093	FJ 774081
<i>P. romellii</i>	LE 217944	FJ 774073
	(AFTOL-ID 625)	AY 854065
<i>P. aurantiorugosus</i>	LE 216873	FJ 774077
<i>P. semibulbosus</i>	LE 227534	FJ 774080
<i>P. fenzlii</i>	LE 246083	FJ 774082
<i>Amanita muscaria</i>	(LG 882)	EU 071960
<i>Cortinarius violaceus</i>	(OSC 1064077)	EU 525958
<i>Tremella mesenterica</i>	(CBS 6973)	AF 444433

Примечание. В скобках указаны гербарные номера образцов, нуклеотидные последовательности которых взяты из Генбанка.

Таблица 3

ПЦР-протокол для амплификации ITS-фрагментов рДНК с использованием праймеров ITS1f, ITS4b

Этапы	Температура, °C	Время
Первичная денатурация	94	5 мин
7 циклов		
Денатурация	94	50 с
Отжиг	55	1 мин 12 с
Элонгация	72	50 с
35 циклов		
Денатурация	94	40 с
Отжиг	50	35 с
Элонгация	72	50 с
Заключительная элонгация	72	7 мин
Остановка реакции	4	∞

Матрица морфологических признаков 20 видов рода *Pluteus* и *Amanita pantherina*

Виды	Номер признака																			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
1	1	1	0	0	1	0	0	1	0	0,1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1
2	1	0	1	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0
3	1	1	0	0	1	0	0	1	3	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
4	1	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1
5	1	0	0	1	1	0	0	1	0,1	1	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1
6	1	1	1	1	1	1	0	1	0,1	1,2	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0
7	1	2	0	0	1	0	2	1	0,1,2	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	0
8	1	1	1	1	1	0	0	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0
9	0	1	1	0	0	0	0	1	0,1	1,2	1	0	1	1,2	1	1	1	0	1	0
10	0	1	1	0	0	0	0	1	0,1	1,2	1	0	1	1,2	1	1	1	1	1	0
11	1	1	1	1	1	1	1	1	3	1	1	0	1	0	1	1	1	1	0	0
12	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	0	1	1	1	1	0	1
13	1	1	0	0	1	1	0	1	1	0,1	1	0	1	0	1	1	1	1	0	1
14	0	1	0	0	1	0	0	1	0,1	1,2	2	2	1	0	1	1	1	1	0	0
15	0	1	3	0	1	0	0	1	0	1,2	2	2	1	1	1	1	0	1	0	1
16	1	1	2	0	1	0	0	1	0,1	1,2	2	1	1	1	1	1	1	0	1	0
17	1	1	3	0	1	0	2	1	0,1	1	2	1	1	0	1	1	1	0	1	0
18	1	2	0	1	1	0	2	1	0,1	1	2	1	1	0	1	1	1	0	1	0
19	0	0	0	0	1	0	1	0	1	1	2	1	1	0	1	1	1	1	0	0
20	1	2	1	1	1	0	2	0	0,1,2	1	1	0	1	0	1	1	1	0	1	0
21	1	9	9	0	1	0	0	0	0	2	0	0	0	2	9	9	1	9	1	1

Примечание. Виды: 1 — *Pluteus cervinus*, 2 — *P. petasatus*, 3 — *P. atromarginatus*, 4 — *P. salicinus*, 5 — *P. pellitus*, 6 — *P. ephebeus*, 7 — *P. leoninus*, 8 — *P. lepiotoides*, 9 — *P. hispidulus*, 10 — *P. exiguus*, 11 — *P. umbrosus*, 12 — *P. plautus*, 13 — *P. granulatus*, 14 — *P. podospileus*, 15 — *P. thomsonii*, 16 — *P. nanus*, 17 — *P. romellii*, 18 — *P. aurantiorugosus*, 19 — *P. semibulbosus*, 20 — *P. fenzlii*, 21 — *Amanita pantherina*. Цифрой 9 обозначены не учитываемые в анализе выражения признака.

4. Характер края: 0 — край полосатый; 1 — край не полосатый.

Ножка:

5. Высота: 0 — до 4 см; 1 — более 4 см.

6. Характер поверхности: 0 — голая по всей длине или чешуйчатая / волокнистая только в основании; 1 — чешуйчатая по всей длине.

7. Цвет: 0 — белая, сероватая; 1 — коричневатая или буроватая; 2 — с желтыми или лимонными оттенками.

8. Наличие покрывала: 0 — с покрывалом; 1 — без покрывала.

Пластинки:

9. Цвет края: 0 — край одноцветный со стороной; 1 — беловатый; 2 — желтоватый; 3 — бурый.

Экология:

10. Субстрат: 0 — на древесине хвойных пород; 1 — на древесине лиственных пород; 2 — на древесине и почве.

Пилеипеллис:

11. Тип: 0 — кутис; 1 — плагиотриходермис; 2 — гименодермис.

12. Структура: 0 — состоит только из удлинённых, цилиндрических клеток; 1 — состоит только из округлых или булавовидных клеток; 2 — состоит из округлых и веретеновидных или удлинённых элементов.

Пряжки:

13. Наличие/отсутствие: 0 — присутствуют; 1 — отсутствуют.

Плевростициды:

14. Частота встречаемости: 0 — многочисленные; 1 — редкие; 2 — отсутствуют.

15. Толщина стенки: 0 — толстостенные; 1 — тонкостенные.

16. Морфология: 0 — с несколькими отростками на вершине; 1 — без отростков.

Хейлоцистиды:

17. Морфология: 0 — с шиловидным отростком на вершине; 1 — без шиловидного отростка на вершине.

18. Происхождение: 0 — хейлоцистиды укореняются в траме гименофора; 1 — хейлоцистиды возникают в субгимении.

Каулоцистиды:

19. Наличие: 0 — присутствуют; 1 — отсутствуют.

Споры:

20. Размер: 0 — до 8 мкм дл.; 1 — более 8 мкм дл.

Данные признаки в виде присвоенных им числовых значений (табл. 4) легли в основу построения кладограммы (рис. 2). В качестве внешней группы выбран вид *Amanita pantherina* (DC.: Fr.) Secr.

На полученной морфологической кладограмме можно выделить по крайней мере 3 крупные группы видов, объединенные на основании сочетаний указанных морфологических признаков: 1) *Cervinus*-группа (*P. cervinus*, *P. petasatus*, *P. pellitus*, *P. atromarginatus*; *P. salicinus*), 2) *Leoninus*-группа (*P. umbrosus*, *P. plautus*, *P. granulatus*, *P. leoninus*, *P. fenzlii*, *P. aurantiorugosus*); 3) *Nanus*-группа (*P. nanus*, *P. romellii*, *P. podospileus*, *P. semibulbosus*, *P. thomsonii*).

Положение на кладограмме и филогенетические взаимоотношения *P. ephebeus*, *P. lepiotoides*, *P. hispidulus*, *P. exiguus* остаются неясными. Данные виды не входят в состав выше указанных крупных клад, а образуют самостоятельные группировки.

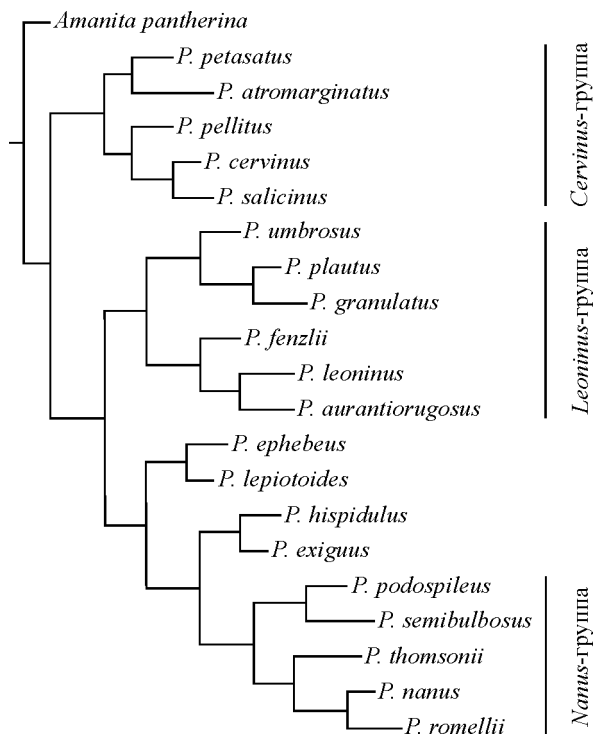


Рис. 2. Кладограмма, отражающая сходства и различия видов рода *Pluteus*, построенная на основании морфологических данных (см. табл. 4)

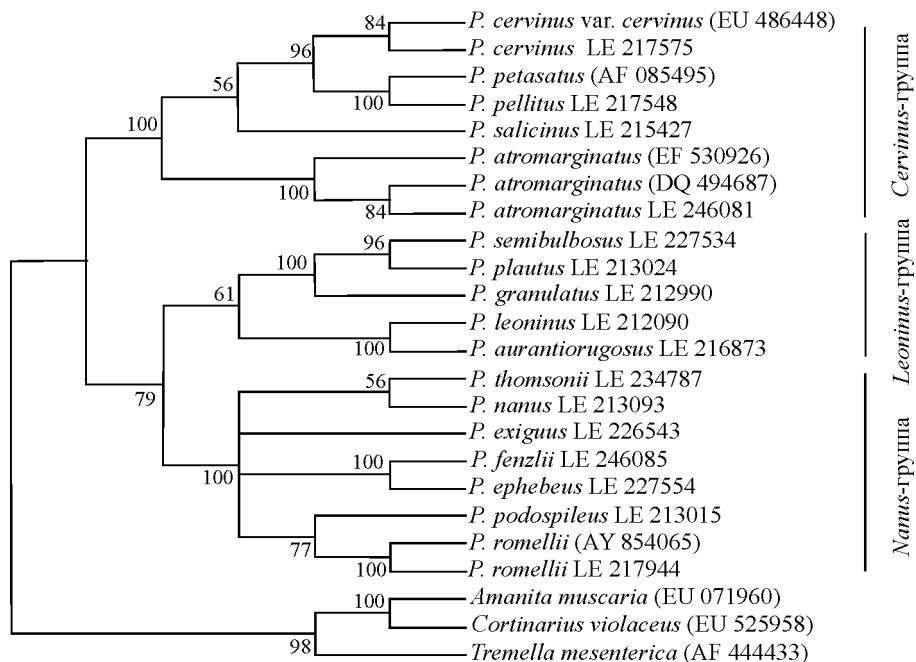


Рис. 3. Филогенетическая позиция видов рода *Pluteus* на основании сходства ITS-области рДНК. Кладограмма построена с использованием метода «Neighbor Joining» с 1000 бутструп-повторностей (показаны значения бутстрапа > 55 %).

Результаты молекулярного исследования. В результате проведенного филогенетического анализа на основании сходства ITS-областей рДНК была построена кладограмма (рис. 3). В качестве внешней группы выбраны *Amanita muscaria* (L.: Fr.) Lam., *Cortinarius violaceus* (L.: Fr.) Gray и *Tremella mesenterica* Retz.: Fr.

На полученной молекулярной кладограмме видно, что в роде *Pluteus* выделяются несколько групп близкородственных видов:

1) *Nanus*-группа; включает 7 видов: *P. romellii*, *P. podospileus*, *P. ephebeus*, *P. fenzlii*, *P. exiguus*, *P. nanus*, *P. thomsonii* (с бутструп-поддержкой 100 %). В малоразрешенной части данного кластера оказалось 3 вида (*P. ephebeus*, *P. fenzlii*, *P. exiguus*);

2) *Leoninus*-группа; состоит из 5 видов, однако имеет невысокую бутструп-поддержку (62 %): *P. leoninus*, *P. aurantiorugosus*, *P. granulatus*, *P. plautus*, *P. semibulbosus*);

3) *Cervinus*-группа; содержит 5 видов (*P. cervinus*, *P. pellitus*, *P. petasatus*, *P. salicinus*, *P. atromarginatus*) и выделяется с максимальным индексом бутстрапа (100 %).

Обобщение морфологических и молекулярных данных. Таксономические схемы рода *Pluteus*, основанные на молекулярно-генетических характеристиках, в определенной степени подтверждают морфолого-таксономические построения.

1. *Cervinus*-группа, соответствующая секции *Pluteus* в системах большинства авторов, характеризуется достаточно крупными плодовыми телами, не имеющими яркой окраски, отсутствием покрывала,pileипеллисом в виде кутикса, толстостенными плевроцистидами с отростками на вершине. Эта группа получила высокую бутструп-поддержку на молекулярной кладограмме.

Проведенные исследования показали, что признак наличия/отсутствия пряжек на гифах не имеет решающего значения во внутриродовой таксономии *Pluteus*. Поэтому выделение отдельной секции *Fibulatus* в некоторых системах (Вассер, 1992), отличающейся от секции *Pluteus* лишь отсутствием пряжек, нами не принимается.

2. *Leoninus*-группа характеризуется плодовыми телами различного размера и окраски, наличием или отсутствием покрывала, pileипеллисом в виде плагиотриходермиса

и гименодермиса, тонкостенными плевростидами. Морфологическая кладограмма в целом совпадает с молекулярной в оценке объема данной группы, за исключением положения *P. semibulbosus*, который по совокупности морфологических признаков оказывается в *Nanus*-группе. Вместе с тем молекулярные исследования указывают на правомерность широкой трактовки вида *P. plautus* (Vellinga, Schreurs, 1985; Vellinga, 1990) с рассмотрением *P. semibulbosus* в качестве его синонима, демонстрируя близкое расположение обоих видов относительно друг друга на кладограмме.

Все виды выделенной *Leoninus*-группы входят в состав одной секции (sect. *Celluloderma*) только в системе Веллинги (Vellinga, 1990). В остальных системах (Kühner, Romagnesi, 1953; Singer, 1986; Orton, 1986; Вассер, 1992) они распределяются по двум разным секциям на основании строения пилеипеллиса.

Впервые показана близость видов *P. leoninus* и *P. aurantiorugosus*, которая подтверждается молекулярными данными. Морфологически оба вида характеризуются яркоокрашенными в желтые и оранжевые тона плодовыми телами, сходной экологией, морфологией хейлоцистид, размерами спор. Отличия сводятся к строению пилеипеллиса и морфологии плевростид.

3. Спорной в морфологических и молекулярных оценках оказалась *Nanus*-группа. Близость друг к другу таких видов, как *P. romellii*, *P. podospileus*, *P. thomsonii* и *P. nanus*, подтверждается молекулярным анализом. Во всех основных системах рода они рассматриваются в пределах одной секции (*Celluloderma*) и характеризуются средним или мелким размером плодовых тел, различной их окраской, отсутствием покрывала, пилеипеллисом в виде гименодермиса, тонкостенными плевростидами. Однако, что касается видов *P. ehpebeus*, *P. fenzlii* и *P. exiguus*, то их положение в малоразрешенной части данного кластера молекулярного древа не позволяет с высокой степенью уверенности говорить об их принадлежности к рассматриваемой группе. Показательно, что на морфологическом древе *P. ehpebeus* вместе с *P. lepiotoides* и *P. exiguus* с *P. hispidulus* также оказываются не в составе всех выше рассматриваемых групп, но образуют собственные малые группировки. Веллинга (Vellinga, Schreurs, 1985; Vellinga, 1990) в своей системе выделяет отдельную секцию (*Villosi*), куда помещает только два вида — *P. ehpebeus* и *P. hispidulus* — на основании строения пилеипеллиса, морфологии и происхождения хейло- и плевростид, отсутствия пряжек на гифах.

На наш взгляд, в данном случае необходим критический пересмотр всех таксономически значимых морфологических признаков, применяемых при выделении большой секции *Celluloderma*, содержащей как близкородственные, так и филогенетически далекие виды, а также группы видов, относимых в большинстве систем к секции *Hispidoderma*. Вовлечение в молекулярный анализ, сопровождающий морфологические исследования, большего числа таксонов будет способствовать выяснению реальных взаимоотношений между видами и объемом выделяемых групп различного таксономического ранга.

Заключение

Использование молекулярных данных в комбинации с морфологическими является основой более глубокого понимания филогенетических взаимосвязей между видами, а также адекватной оценки объема и границ того или иного таксона.

Проведенные исследования показали, что с большой долей уверенности можно говорить о целостности группы видов, относимых к секции *Pluteus* (Singer, 1986; Orton, 1986; Vellinga, 1990). Обособленность *Cervinus*-группы от остальных видов рода связана с признаком наличия только в этой группе толстостенных плевростид с отростками на вершине.

Тип строения пилеипеллиса и морфология его элементов, по-видимому, являются также важными признаками, по которым возможно проводить таксономические построения на внутриродовом уровне, однако лишь в комплексе с другими дополнительными морфологическими критериями. В связи с вновь полученными молекулярными данными важной задачей представляется оценка комплекса таксономически значи-

мых признаков в секциях *Hispidoderma* и *Celluloderma*, а также родственных связей ранее относимых к ним видов.

Авторы выражают глубокую признательность д. б. н. А. Е. Коваленко за помощь на всех этапах исследования, д. б. н. С. П. Вассеру и к. б. н. И. В. Змитровичу за критический просмотр рукописи и ценные советы, к. б. н. О. В. Морозовой за предоставленные образцы грибов, к. б. н. М. Г. Горбовицкой, М. П. Райко и Н. Н. Носову за помощь в проведении молекулярных исследований.

Исследования поддержаны РФФИ (проект № 07-04-01408) и программой президиума РАН «Биоразнообразия».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Вассер С. П. Флора грибов Украины. Базидиомицеты. Аманитальные грибы. Киев: Наук. думка, 1992. 167 с.

Горовой Л. Ф. Морфогенез пластинчатых грибов. Киев: Наук. думка, 1990. 168 с.

Малышева Е. Ф. Род *Pluteus* Fr. в Самарской области. СПб.: ВИЗР, 2004. 56 с.

Юрченко Е. О., Синявская М. Г. Основы молекулярного маркирования грибной ДНК. Практ. руководство. Минск: Право и экономика, 2007. 101 с.

Clémenton H. Cytology and plectology of the hymenomycetes / with assistance of V. Emmett and E. E. Emmett // *Bibl. Mycol.* 2004. Vol. 199. P. 1—488.

Corriol G., Moreau P.-A. *Agaricus* (*Annularia*) *fenzlii* redécouvert dans les Pyrénées. Notes sur le genre *Chamaeota* en Europe // *Persoonia*. 2007. Vol. 19. P. 233—250.

Fries E. M. *Systema mycologicum, sistens fungorum ordines, genera et species, huc usque cognitae, quas ad normam methodi naturalis determinavit, disposuisti atque descripsisti*. Vol. 1. Gryphiswald, 1821. 520 p.

Fries E. M. *Corpus florarum provincialium Sueciae*. 1. *Floram scanicam scripsit*. Uppsala: Shell et Co., 1835. 394 p.

Homola R. L. Section *Celluloderma* of the genus *Pluteus* in North America // *Mycologia*. 1972. Vol. 64. N 6. P. 1211—1247.

Homola R. L. Phylogenetic relationships within the genus *Pluteus* // *Beih. Nova Hedwigia*. 1975. H. 51. S. 139—146.

Imai S. Studies on the Agaricaceae of Hokkaido I. // *J. Fac. Agr. Hokkaido Imp. Univ.* 1938. Vol. 43, pt 2. P. 1—178.

Kirk P. M., Cannon P. F., David J. C., Stalpers J. A. *Ainsworth and Bisby's Dictionary of the Fungi*. 9th ed. N.Y. etc.: Oxford Univ. Press, 2001. 672 p.

Kühner R. Les Hyménomycètes agaricoides (*Agaricales*, *Tricholomatales*, *Pluteales*, *Russulales*): Etude générale et classification // *Bull. Soc. linn. Lyon*. 1980. Vol. 49. P. 1—1025.

Kühner R., Romagnesi H. *Flore analytique des champignons supérieurs (Agarics, Bolets, Chanterelles)*. Paris: Masson et Cil., 1953. 556 p.

Lange J. E. Studies in the Agarics of Denmark III // *Dansk bot. Ark.* 1917. Bd 2, N 7. P. 1—50.

Lange J. E. *Flora Agaricina Danica*. Vol. 2. Copenhagen, 1936. 105 p.

Malysheva E. F., Morozova O. V., Zvyagina E. A. New records of the annulate *Pluteus* in European and Asian Russia // *Acta Mycol.* 2007. Vol. 42 (2). P. 153—160.

Matheny P. B., Curtis J. M., Valérie Hofstetter, Aime M. C., Moncalvo J. M., Ge Z.-W., Yang Z.-L., Slot J. C., Ammirati J. F., Baroni T. J., Bougher N. L., Hughes K. W., Lodge D. J., Kerrigan R. W., Seidl M. T., Aanen D. K., DeNitis M., Daniele G. M., Desjardin D. E., Kropp B. R., Norvell L. L., Parker A., Vellinga E. C., Vilgalys R., Hibbett D. S. Major clades of *Agaricales*: a multilocus phylogenetic overview // *Mycologia*. 2006. Vol. 98, N 6. P. 982—995.

Minnis A. M., Sundberg W. J., Methven A. S., Sipes S. D., Nickrent D. L. Annulate *Pluteus* species, a study on the genus *Chamaeota* in the United States // *Mycotaxon*. 2006. Vol. 96. P. 31—39.

Moncalvo J.-M., Lutzoni F. M., Rehner S. A., Johnson J., Vilgalys R. Phylogenetic relationships of agaric fungi based on nuclear large subunit ribosomal DNA sequences // *Syst. Biol.* 2000. Vol. 49. P. 278—305.

Moncalvo J.-M., Vilgalys R., Redhead S. A., Johnson J. E., James T. Y., Aime M. C., Hofstetter V., Verduin S. J. W., Larsson E., Baroni T. J., Thorn R. G., Jacobsson S., Clémenton H., Miller O. K., jr. One hundred and seventeen clades of euagarics // *Molec. Phylog. Evol.* 2002. Vol. 23. P. 357—400.

Moser M. Die Röhrlinge und Blätterpilze. 5 Aufl. Kleine Kryptogamenflora. IIb/2. Stuttgart; New York: Gustav Fischer Verlag, 1983. 533 S.

Nixon K. C. WinClada ver. 1.0000 published by the author. Ithaca, 1999—2002.

Orton P. D. Pluteaceae: Pluteus and Volvariella // *British Fungus Flora. Agarics and Boleti.* Vol. 4. Edinburgh, 1986. 100 p.

Reijnders A. F. M. Les problèmes du développement des carpophores des Agaricales et de quelques groupes voisins. Haag: Junk, 1963. 412 p.

Singer R. The Agaricales in modern taxonomy. 4th ed. Koenigstein: Koeltz Scientific Books, 1986. 965 p.

Tamura K., Dudley J., Nei M., Kumar S. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version 4.0 // *Molec. Biol. Evolution.* 2007. Vol. 24. P. 1596—1599.

Vellinga E. C., Schreurs J. Notulae ad Floram Agaricinam Neerlandicam — VIII. Pluteus Fr. in West-Europe // *Persoonia.* 1985. Vol. 12, pt 12. P. 337—373.

Vellinga E. C. Genus Pluteus // *Flora Agaricina Neerlandica.* Vol. 2. Balkema; Rotterdam; Brookfield, 1990. P. 31—55.

Wasser S. P. On systematics of the order Amanitales // *Abstracts of the X Congr. Europ. Mycologists (August, 1989).* Tallinn, 1989. P. 138.

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

Поступила 25 IX 2008

РЕЗЮМЕ

Работа посвящена выявлению естественных групп видов (на уровне секций) в пределах 20 видов рода *Pluteus* на основании анализа последовательностей рДНК (ITS-регион и ген 5.8S-субъединицы) и соотносению выделенных групп с результатами морфолого-таксономического анализа. Проведен обзор основных макро- и микроморфологических признаков, используемых в систематике рода *Pluteus* с критической оценкой их таксономической значимости, а также обзор основных систем рода. Получены новые данные о последовательностях рДНК для 17 видов. Построены кладограммы сходства, основанные на морфологических и молекулярных данных, на которых выявлены 3 группы близкородственных видов: *Cervinus*-группа, *Leoninus*-группа и *Nanus*-группа.

Ключевые слова: *Pluteaceae*, *Pluteus*, морфологический анализ, молекулярный анализ, ITS-регион, 5.8S-область рДНК.

SUMMARY

In the present work 20 species of the genus *Pluteus* Fr. were studied. The main taxonomic arrangements of the genus were considered. The investigation includes the analysis of key morphological features and molecular datasets. The new molecular data from ITS-region rDNA of 17 species were obtained. Species relationships inferred from ribosomal DNA sequences were compared to those based on morphological features. It was found that three groups of closely related species (i. e. *Cervinus*-group, *Leoninus*-group, *Nanus*-group) have similar morphological and molecular characteristics.

Key words: *Pluteaceae*, *Pluteus*, morphology datasets, molecular datasets, ITS-region, 5.8S-region of rDNA.

КРИТИКА И БИБЛИОГРАФИЯ

УДК 582.288(047)

Э. Г. СИММОНС. АЛЬТЕРНАРИЯ. РУКОВОДСТВО ПО ОПРЕДЕЛЕНИЮ. СЕРИЯ ПО БИОРАЗНООБРАЗИЮ ЦЕНТРАЛЬНОГО БЮРО ПЛЕСНЕВЫХ КУЛЬТУР, № 6. УТРЕХТ: ЦЕНТР ПО БИОРАЗНООБРАЗИЮ ГРИБОВ ЦЕНТРАЛЬНОГО БЮРО ПЛЕСНЕВЫХ КУЛЬТУР, 2007. 775 с. 287 рис.

E. G. SIMMONS. *ALTERNARIA*. AN IDENTIFICATION MANUAL. CBS BIODIVERSITY SERIES N 6. UTRECHT: CBS FUNGAL BIODIVERSITY CENTRE, 2007. 775 p. 287 figs.

Род *Alternaria* (syn. *Macrosporium*) известен с 1796 г. К настоящему времени список *Alternaria* насчитывает около 1200 названий грибов, описанных как виды этого рода или отнесенных к нему. Они встречаются на растениях, в почве, на пищевых продуктах, растительном сырье, бумаге, текстиле, коже, древесине, иногда на животных тканях, других субстратах, играют важную роль в круговороте веществ в природе. Микологи уже давно испытывают острую необходимость в монографической обработке этого рода.

Изучением грибов этого рода с 1953 г. занимается крупный американский миколог Эмори Гай Симмонс (Emory Guy Simmons). Широко известны его многочисленные статьи, особенно в серии «*Alternaria* themes and variations». Первая статья этой серии вышла в 1981 г., последняя — в 2003 г. В них рассмотрено таксономическое положение 335 видов грибов, описанных как представители рода *Alternaria* или позже отнесенных к нему. Материалом для этих публикаций послужили результаты изучения типовых (или аутентичных) образцов подавляющего количества видов *Alternaria*, а также близких к нему родов *Stemphylium*, *Ulocladium* и др. Следует подчеркнуть, что большинство этих грибов Симмонсу удалось выделить в культуру. Эти данные дополнили характеристику рассмотренных в книге видов.

Книга состоит из 9 глав. В главе «Introduction» излагаются сведения о развитии классификации рода *Alternaria*, точка зрения самого автора книги на это руководство по определению, мнение Симмонса о месте *Alternaria* в классе *Hyphomycetes*, материалы о дифференциации *Alternaria* и таких близких к ней родов, как *Stemphylium*, *Ulocladium*, *Embellisia*, *Nimbya*. В этой же главе приводится протокол, по которому следует проводить изучение материала (выбор репрезентативных изолятов, условия культивирования — среды, температура, способы посева культур, специальные приемы культивирования, другие сведения). Значительное место в этой главе занимает изложение отдельных статей, правил и рекомендаций Международного кодекса ботанической номенклатуры, во многих случаях определяющих решение подчас весьма сложных вопросов как номенклатуры, так и таксономии рассмотренных в книге видов. Насколько известно рецензенту, это первый случай изложения подборки статей, правил и рекомендаций кодекса номенклатуры в такого рода крупных микологических изданиях; такая выборка помогает пользователям понять обоснованность принятых номенклатурных и таксономических решений.

Во второй главе «Introduction to the keying system and outline of descriptions in Chapter 3» приведены дихотомические ключи для разделения рода *Alternaria* на 2 сек-

ции по морфологии конидий и типу спороношения. В свою очередь эти секции подразделяются на более мелкие морфологические группы, различающиеся по таким признакам, как форма и размер «тела» (body) конидий, их расположение в цепочках конидий, размер «клювика» (beak) конидий. Заканчивается глава разъяснением порядка изложения данных по каждому из рассмотренных в 3-й главе видов.

Третья глава называется «Species accepted, keyed, described, illustrated». В ней вначале повторяются те же ключи для определения морфологических групп видов, но уже со ссылками на те страницы книги, где приводятся описания грибов каждой из групп. Далее на с. 28—666 приведены подробные описания 276 принятых видов *Alternaria*. Из них 69 видов описаны здесь как новые таксоны рода *Alternaria*, для 12 видов этого рода созданы новые номенклатурные комбинации. В тексте для каждого из 276 видов приведены название таксона, данные о первоисточнике, синонимы, сведения о типовом материале, хозяине (субстрате), данные о тех материалах (образцах), по которым Симмонс составил приведенные в книге описания видов *Alternaria*. Для большинства видов описаны культуральные признаки. Характеристика каждого вида включает подробные описания конидиеносцев и конидий (часто как молодых, так и зрелых). Почти к каждому виду даны примечания. Они могут касаться сходства рассматриваемого вида с другими представителями рода, порядка развития поперечных и продольных (косых, если таковые имеются) перегородок в конидиях, развития вторичных конидий, для отдельных видов — патогенных свойств гриба, данных о телеоморфе и многих других вопросов, характеризующих именно этот вид гриба. Необходимо остановиться на рисунках (все они выполнены самим Симмонсом), иллюстрирующих описание каждого рассматриваемого гриба. Рисунки большие, форматом А4. Надо отметить некоторое своеобразие этих иллюстраций. Хотя виды *Alternaria* и близких к ним родов относятся к темноокрашенным гифомицетам, на рисунках даны лишь контуры конидий, конидиогенных клеток, иногда обозначена орнаментация клеток конидий. Поэтому для создания полного представления о грибе необходимо, рассматривая рисунок, одновременно учитывать приведенные в диагнозе сведения об окрашенности клеток (она может быть разной даже в одной и той же конидии), о характере поверхности конидий (гладкая или орнаментированная — мелкобородавчатая, бородавчатая и т.д.). Такая подача иллюстративного материала в данном случае вполне оправдана, так как позволяет избежать огромных затрат времени и труда на подготовку «реальных» изображений морфологических структур (примером таковых могут быть рисунки из книг: Ellis, 1971, 1976; Matsushima, 1971, 1975). Отметим еще одну новацию Симмонса: почти для каждого вида нарисованы цепочки конидий, характерные для этого гриба. Это во многом помогает получить представление о грибе уже при изучении спороношения под биноклем.

Четвертая глава носит название «New genera segregated from *Alternaria* and a rejected genus revisited». В ней описаны 3 новых рода *Alternariaster* E. G. Simmons, *Chalatospora* E. G. Simmons и *Teretispora* E. G. Simmons, типом последнего рода является *T. leucanthemi* (Nelen) E. G. Simmons (базионим — *Alternaria leucanthemi* Nelen; гриб описан в 1962 г. на *Leucanthemum vulgare* из Владивостока). Здесь же рассмотрен уже ранее известный род *Prathoda* Subram. (1956), включающий теперь 2 вида — *P. saparva* Subram. и *P. longissima* (Deighton et Mac Garvie) E. G. Simmons.

В пятой главе «Taxa accepted but requiring expanded comparison» приводятся описания 10 видов гифомицетов, которые Симмонс рассматривает как несомненно относящиеся к *Alternaria*, но требующие дальнейшего изучения с целью определить их таксономическое положение среди признанных им 276 видов этого рода. В их числе есть и *A. cerasi* Potebnia, описанный на *Prunus cerasus* из Харькова.

Шестая глава «Comprehensive name list and catalogue raisonné» содержит сведения о почти 1200 грибах, описанных в свое время как виды *Alternaria* (*Macrosporium*). Сюда вошли сведения о принятых Симмонсом видах, их синонимах, а также исключенных по разным причинам из этого рода грибах. Это прекрасный справочный материал, позволяющий сразу же найти данные о таксономическом положении каждого гриба, отнесенного в свое время к *Alternaria*. Отметим одно важное, на взгляд рецен-

зента, обстоятельство. Среди видов рода *Alternaria* (*Macrosporium*) имеется некоторое количество грибов, описанных в разное время из России (дореволюционной) и СССР. Их названия можно встретить в опубликованных в России (СССР) региональных сводках, определителях, где они рассматриваются как «хорошие» виды. Но необходимо учесть, что Симмонс на основании детального анализа сведений по ним исключил ряд названий из списка признаваемых им видов *Alternaria*. Из «российских» («советских») грибов это *A. nana* Matvejeva, *Macrosporium carthami* Rodigin, *M. cynanchici* Lobik, *M. digitalis* Milovtsova, *M. goniolimonis* Thüm., *M. gossypii* Jacz., *M. tau-saghyzianum* Zerova. Они отнесены Симмонсом к грибам группы неопределенного таксономического положения (*insertae sedis*), так как их описания очень короткие, а типовые материалы остались недоступными. А такие виды, как *Alternaria grossulariae* Jacz., *Macrosporium melandrii* Vasjagina, *M. ochroleuca* Matvejeva, Симмонс рассматривает как относящиеся к *A. tenuissima* species-group, более точное их таксономическое положение остается неясным. Еще одну группу составляют грибы *Alternaria* (*Macrosporium*), описанные с нарушением правил Международного кодекса ботанической номенклатуры (*nomen inval.*, *nomen nudum*), так как отсутствует необходимый латинский диагноз, не процитирован голотип, нет полной ссылки на базисном предложенной номенклатурной комбинации или же название просто упоминается в тексте, но гриб не имеет никакого описания. Это *Alternaria cousinia* Koshkelova, *A. cuscutacidae* Rudakov, *A. peponis* Yatel, *A. phaseolicola* Yatel, *A. tenuis* f. *jaczewskii* Baransky, *Macrosporium cirsicola* Nasyrov и *M. vitis* Sorokin. Приведенные сведения необходимо учитывать при составлении современных критических сводок по грибам как отдельных регионов бывшего СССР, так и территории современной России.

«Host/substrate index» — таково название седьмой главы. Здесь сведения о принятых Симмонсом, а также отнесенных им к категории «*insertae sedis*» видах *Alternaria* расположены по латинским названиям растений-хозяев или иных субстратов (древесина, почва, животные ткани и др.).

Содержание восьмой главы «Literature cited» ясно уже из ее названия. Завершает книгу глава девятая — «General index». Здесь перечислены названия более 300 принятых Симмонсом видов *Alternaria*, *Alternariastrum*, *Chalastospora*, *Nimbya*, *Prathoda*, *Stemphylium*, *Teretispora* и *Ulocladium*, а также видов *Lewia*, являющихся телеоморфами некоторых видов *Alternaria*.

Таково содержание этой уникальной книги. Небольшое отступление. Известно, что значительное количество видов *Alternaria* является возбудителями болезней растений, вызывают пятнистости, гниль плодов и семян и т. д. Надо заметить, что в монографии Симмонса фитопатологические «аспекты» затронуты мало. Это вполне объяснимо, так как на изучение только самих грибов рода *Alternaria* Симмонс потратил более 50 лет. Трудно ожидать, что одному автору удалось бы еще рассматривать и проблемы, связанные с видами *Alternaria* как возбудителями болезней. Но в огромном списке процитированной литературы доля публикаций, так или иначе связанных в патогенными видами *Alternaria*, весьма значительна. Специалисты смогут воспользоваться этим источником информации. Кстати, интересным для фитопатологов может быть следующее обстоятельство. В течение долгого времени возбудителем альтернариоза как картофеля, так и томата считался один и тот же вид — *A. solani* Sorauer. По последним данным, в том числе и полученным методом молекулярных исследований, *A. solani* встречается только на картофеле, возбудителем альтернариоза томата является *A. tomatophila* E. G. Simmons.

Несколько слов об одной досадной ошибке. В 2000 г. М. В. Пивкин и Л. В. Зверева (Микология и фитопатология. 2000. Т. 34. С. 38—44) описали новый для науки вид *Ulocladium litoreum* Pivkin et Zvereva. Симмонс создал (см. с. 592) комбинацию *Alternaria litorea*, базисником которой является *Ulocladium litoreum*. Однако по непонятной причине фамилия второго соавтора этого гриба в книге дана как Svereva, а не Zvereva. Есть опасение, что «*Alternaria litorea* (Pivkin et Svereva) E. G. Simmons» может тиражироваться в последующих публикациях микологов, обратившихся к этой книге Симмонса. Поэтому считаю необходимым еще раз подчеркнуть, что правильным на-

званием этого гриба является *Alternaria litorea* (Pivkin et Zvereva) E. G. Simmons. Можно также указать, что и в списке литературы в названии статьи М. В. Пивкина и Л. В. Зверевой фамилия второго автора публикации также транслитерирована с ошибкой — Svereva.

Публикация руководства Симмонса по идентификации *Alternaria* — крупное событие в мировой микологии. Можно ожидать, что теперь скажется так называемый «эффект монографии», когда появление серьезной работы по определенному роду (группе родов) является толчком к разворачиванию дальнейших широких исследований по изучению этих таксонов.

© В. А. Мельник

Ботанический институт им. В. Л. Комарова
Санкт-Петербург
vadim.melnik@mail.ru

Поступила 24 IV 2008

УДК 582.228 (571.151)

© В. А. Мельник, Е. С. Попов

НОВЫЙ ВИД *BAHUGADA ALTAICA* НА СМОРОДИНЕ С АЛТАЯMEL'NIK V. A., POPOV E. S. NEW SPECIES *BAHUGADA ALTAICA* ON CURRANT FROM ALTAJ

В августе 2008 г. во время научной экспедиции на Алтай Е. С. Попов собрал несколько образцов сухих веточек *Ribes* cf. *nigrum*, пораженных микромицетами. Большинство из них оказалось сумчатым грибом *Godronia uberiformis* J. W. Groves и ее анаморфой *Topospora uberiformis* (Fr.) Fr. (*Coelomycetes*). На некоторых веточках были обнаружены черновато-бурые или черные точковидные спородохии. Уже при просматривании под стереомикроскопом были заметны конидии гифального гриба, напоминающего представителей родов комплекса *Berkleasmium—Canalisporium—Oncopodium—Monodyctis—Bahugada*. Большинство из них характеризуется спородохияльными конидиомами и муральными, темноокрашенными конидиями. У некоторых родов, а также у отдельных видов одного и того же рода конидии состоят из двух частей: верхней — муральной, темноокрашенной, и нижней — обычно состоящей из одной клетки бесцветной или почти бесцветной. По форме эта клетка широкая, конусовидная, овальная, рожковидная, бокальчатая или почти бокальчатая. По совокупности признаков родство найденного на Алтае гифомицета с представителями родов *Berkleasmium*, *Canalisporium* и *Oncopodium* сразу же исключается. Остается обсудить возможность отнесения его к роду *Monodyctis* или *Bahugada*. В 10-м издании «Dictionary of the Fungi» (Kirk et al., 2008) *Bahugada* рассматривается как возможный синоним *Monodyctis*. Мы считаем, что, несмотря на некоторое сходство характера конидий, конидиеносцев и конидиогенных клеток, это разные роды. У *Monodyctis* конидиеносцы мононематные, микронематные или семимакронематные, обычно короткие. Конидиогенные клетки монобластические, интегрированные, терминальные, детерминированные, цилиндрические, бутылковидные или субсферические. Конидии грушевидные, булавовидные, эллипсоидальные, субсферические, иногда неправильной формы, спирально скрученные, гладкие или бородавчатые, муральные; у некоторых видов этого рода базальная клетка иногда вздутая. У рода *Bahugada* конидиеносцы мононематные, макронематные, длинные. Конидиогенные клетки полибластические, интегрированные, терминальные (затем интеркалярные), симподиальные, с зубчиками. Конидии грушевидные или обратнойцевидные, гладкие, всегда состоят из двух четко разделяющихся частей: верхней — муральной, окрашенной и нижней — одноклеточной, бокальчатой, бесцветной.

Найденный на Алтае гифомицет отвечает основным признакам рода *Bahugada*, поэтому мы описываем его как новый вид этого рода.

Bahugada altaica Melnik et E. S. Popov, sp. nov. (*Hypophomycetes; Dematiaceae*).

Mycobank, no. 512668.

Bahugadae sundarae affinis, sed conidiis leniter longioribus, 32—44 mkm, et distincte angustioribus, 12—14 mkm, claviformibus vel interdum irregularibus, in parte apicali 3—4

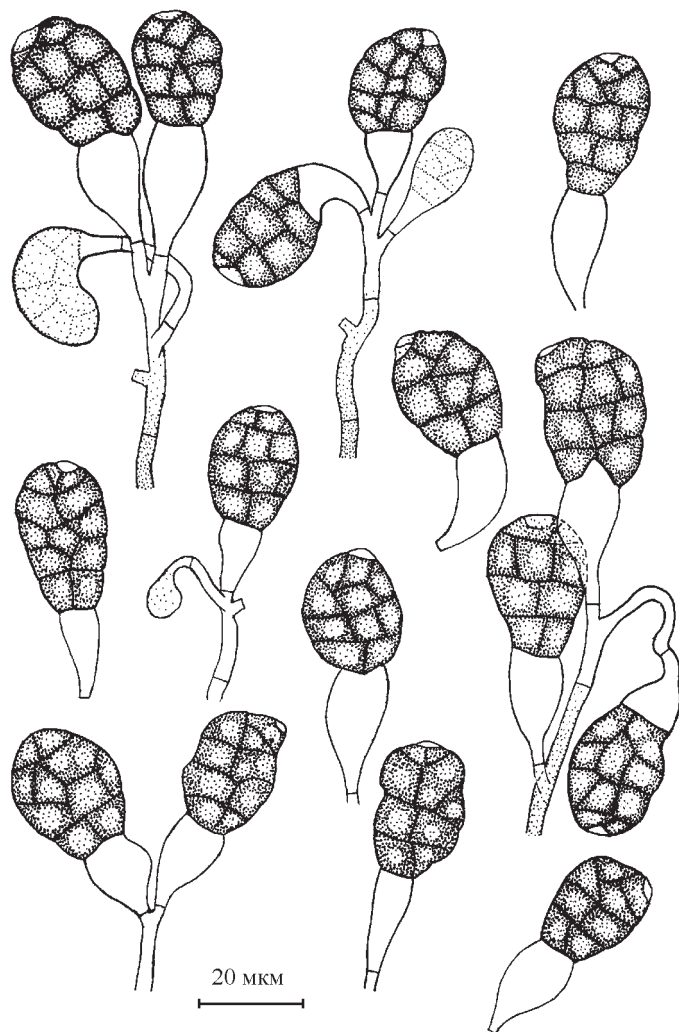


Рис. 1. *Bahugada altaica*: конидии, конидиогенные клетки и конидиеносцы (голотип, LE 230946).

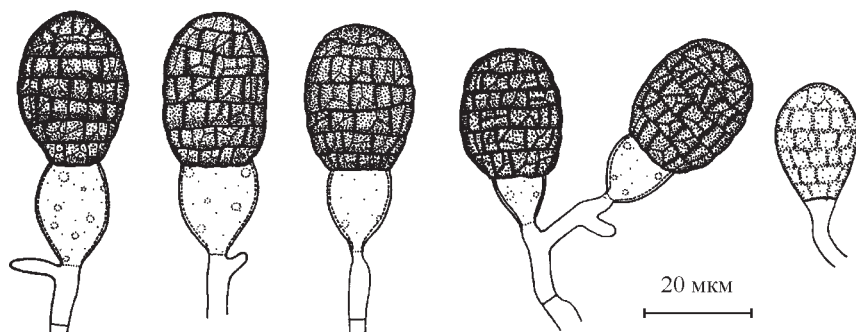


Рис. 2. *Bahugada sundara*: конидии на конидиогенных клетках (по: Мельник, 2000).

minore regulariter longitudinaliter septatis et in parte basali cyathiformibus, oblonge cyathiformibus vel late corniculatis, cellulis singulis in parte apicali maioribus.

Holotypus: Rossia, Republica Altaj, districtus Shebalinensis, in valle fluminis Sarlyk, ad cursum versus montem Sarlyk, ad flumen in pineto (*Pinus sibirica* et *Larix sibirica*), in ramunculis siccis (*Ribes* cf. *rubrum*), 01 08 2008, leg. E. S. Popov (LE 230946).

Колонии одиночные, рассеянные, точковидые, спородохиальные, черно-бурые или черные, до 600 мкм в диам. Мицелий погруженный, состоит из разветвленных септированных, бледно-бурых или почти бесцветных гиф. Конидиеносцы латеральные или терминальные на гифах, узкоцилиндрические или почти нитевидные, до 60 мкм дл. и 2.5—3.0 мкм шир., септированные, мономатные, макроматные, одиночные, простые, часто разветвленные, коленчатые, гладкие, слегка окрашенные, ближе к апикальному концу бесцветные. Конидиогенные клетки полибластические, интегрированные, терминальные (затем интеркалярные), симподиальные, с цилиндрическими или коническими зубчиками. Конидии гладкие, преимущественно булаво-видные или частично неправильной формы, состоящие из двух частей. Базальная бесцветная гладкая клетка конидии бокальчатая, удлинненно-бокальчатая, рожковидная или широкорожковидная, 18—22.5 × 6—10 мкм. Апикальная часть конидии преимущественно овальная, четко отделена от нижней, имеет 3—4 горизонтальные и 1—2 (3) вертикальные или косые перегородки, буровато-черная или почти черная; размер этой части конидии 14.7—20.7 × 12—14 мкм. Клетки муральной части конидии крупные, с более или менее четко выраженными светлоокрашенными «пятнышками» в центре; у некоторых конидий самая верхняя клетка муральной части на просвет выглядит как бесцветная или почти бесцветная. Общий размер конидии, включающей апикальную и базальную части, 32—44 × 12—14 мкм (рис. 1).

Голотип: Россия, Республика Алтай, Шебалинский район, долина р. Сарлык, дорога к горе Сарлык, ручей в кедрово-лиственничном лесу, на сухих веточках *Ribes* cf. *nigrum*, 01 08 2008, собр. Е. С. Попов (LE 230946).

Bahugada altaica отличается от типового вида этого рода *B. sundara* K. A. Reddy et V. Rao по нескольким признакам (рис. 2). Общий размер конидий у *B. altaica* 32—44 × 12—14 мкм, у *B. sundara* — 21—40 × 10—21 мкм. Верхняя муральная часть конидий *B. altaica* имеет 3—4 поперечные перегородки, *B. sundara* — 5—6 поперечных перегородок. Перегородки верхней части конидий *B. altaica* имеют менее четко выраженную горизонтальную ориентацию по сравнению с *B. sundara*. Размер отдельных клеток этой части конидий у *B. altaica* больше, чем у *B. sundara*. Нижняя бесцветная часть конидий *B. altaica* может быть бокальчатой, удлинненно-бокальчатой, рожковидной или широкорожковидной, тогда как у *B. sundara* эта часть конидий имеет бокальчатую форму.

Вид *B. sundara* известен на территории России, найден на *Cerasus sachalinensis* и *Syringa amurensis* с Дальнего Востока (Мельник, 2000).

Авторы выражают благодарность проф. У. Брауну (Prof. U. Braun, Halle, Germany) за перевод диагноза на латынь и помощь в регистрации в Микобанке необходимых сведений, связанных с описанием нового таксона.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Мельник В. А. Класс *Nyctomyces*. СПб.: Наука, 2000. 371 с. (Определитель грибов России; Вып. 1. Сем. *Dematiaceae*).

Kirk P. M., Cannon P. F., Minter D. W., Stalpers J. A. Dictionary of the Fungi. 10th ed. CAB Wallingford: International, 2008. 771 p.

Ботанический институт им. В. Л. Комарова РАН
Санкт-Петербург
vadim.melnik@mail.ru

Поступила 2 XII 2008

РЕЗЮМЕ

Приведено описание нового для науки вида гифомицета *Bahugada altaica* (*Hyphomycetes*, *Dematiaceae*), найденного на *Ribes* cf. *nigrum* с Алтая.

Ключевые слова: биота грибов России, темноокрашенные гифомицеты, *Bahugada*, *Ribes*.

SUMMARY

Description of *Bahugada altaica* (*Hyphomycetes*, *Dematiaceae*) found on *Ribes* cf. *nigrum* from Altaj is given.

Key words: mycobiota of the Russia, dematiaceous hyphomycetes, *Bahugada*, *Ribes*.

УДК [633.11 : 632.4] + 631.523.11

© Л. Я. Плотникова, Т. Ю. Штубей

**ПРОЯВЛЕНИЕ УСТОЙЧИВОСТИ ВЗРОСЛЫХ РАСТЕНИЙ ПШЕНИЦЫ
К *PUCCINIA TRITICINA*, ДЕТЕРМИНИРОВАННОЙ ГЕНАМИ
Lr13, Lr22b И Lr35**

PLOTNIKOVA L. Ya., SHTUBEY T. Yu. APPEARANCE OF ADULT PLANT RESISTANCE OF
WHEAT TO *PUCCINIA TRITICINA* DETERMINED BY GENES Lr13, Lr22b AND Lr35

Неоднократно наблюдаемое преодоление расоспецифической устойчивости к болезням, связанной с реакцией сверхчувствительности, стимулировало поиск альтернативных подходов к защите растений. В результате была сформулирована концепция селекции на расоспецифическую (горизонтальную) устойчивость к ржавчинным болезням. По своему проявлению такой тип устойчивости был назван «медленным развитием ржавчины» (slow rusting; Caldwell, 1968), или «частичной устойчивостью» (Parlevliet, 1975). На растениях, обладающих устойчивостью этого типа, болезнь развивается медленно. Этот подход широко используется в программах селекции пшеницы на устойчивость к стеблевой и бурой ржавчине и ячменя к карликовой ржавчине (Parlevliet, 1979; Singh et al., 2003). В Международном центре улучшения кукурузы и пшеницы (CIMMYT) созданы сорта пшеницы, которые сохраняют устойчивость к ржавчине уже в течение 30 лет (Singh et al., 2003).

При создании сортов пшеницы, частично устойчивых к бурой ржавчине, специалисты широко использовали гены устойчивости взрослых растений Lr13 и Lr34, которые в сочетании с 2—3 дополнительными генами, обладающими аддитивным эффектом, обеспечивали стабильную защиту растений. Гены возрастной устойчивости составляют основу длительной устойчивости сортов к болезням (Kolmer, 1996). Однако, несмотря на широко распространенное мнение, что устойчивость по типу «медленного развития болезни» является неспецифической по отношению к клонам патогена, некоторые гены возрастной устойчивости в ряде случаев проявляют специфичность (Kolmer, 1996). Проявление этих генов часто варьирует в зависимости от условий среды (McIntosh et al., 1995). В связи с этим представляет интерес изучение эффективности генов возрастной устойчивости к бурой ржавчине в регионах России, существенно различающихся по климатическим условиям и расовому составу популяций *Puccinia triticina*.

В настоящее время мало известно о механизмах действия генов возрастной устойчивости. Единственная работа, посвященная цитологическому изучению проявления генов Lr12, Lr13, Lr34, была выполнена с использованием одного изолята *P. triticina*, выделенного из марокканской популяции (Rubiales, Niks, 1996). Информация о проявлении других генов возрастной устойчивости к бурой ржавчине отсутствует. В связи с этим в задачи нашего исследования входило изучение эффективности генов возрастной устойчивости Lr13, Lr22b, Lr35 при защите пшеницы от бурой ржавчины в условиях Западной Сибири; цитологическое исследование влияния генов на патогенез на различных стадиях развития растений.

Материал и методы

В качестве объектов для исследования были использованы образцы мягкой пшеницы *Triticum aestivum* L. с генами возрастной устойчивости: сорт Тэтчер (ген Lr22b), а также его почти изогенные линии (Tc) с генами Lr13 и Lr35. Контролем служил высоко восприимчивый к бурой ржавчине сорт Саратовская 29.

Развитие болезни изучали в поле в условиях интенсивного естественного проявления болезни в 2005—2007 гг. на юге Западной Сибири (г. Омск). Определяли тип реакции растений на заражение патогеном по 5-балльной шкале [0 — высокая устойчивость, иммунитет; 4 — восприимчивость (Mains, Jackson, 1926)] и площадь пораженной листовой поверхности в процентах (Peterson et al., 1948). Исследования проводили в июле—августе, с момента появления пустул на листьях вплоть до полной спелости растений. Развитие болезни изучали в динамике с интервалом в 5 суток, в каждом варианте оценивали степень поражения 15 растений. При построении кривых развития болезни использовали средние значения.

При последней оценке собирали флаговые листья для количественного определения типа реакции растений, а также определения количества спор в пустулах. Подсчет мест инфицирования при разных типах реакции (в сумме не менее 150) проводили в трех повторностях в каждом варианте (по 5 листьев в каждой).

Для определения количества спор в пустулах (спорулирующая способность) подсчитывали количество пустул на листьях, затем споры стряхивали в пробирки, перемешивали с 0.5 мл водного раствора детергента Твин-80. Число спор в суспензии подсчитывали с помощью камеры Горяева под микроскопом, затем рассчитывали среднее количество спор на пустулу. Способность к спорулированию гриба на листьях каждого образца определяли в трех повторностях по пять листьев в каждой.

Растения для лабораторных исследований выращивали в теплице при среднесуточной температуре 15—18 °С. Для проведения цитологических исследований действия генов устойчивости использовали верхние листья в 3 фазах развития: проростки, выход в трубку и колошение. Сегменты листьев отсекали и инокулировали вирулентным моноспоровым изолятом *P. triticina* (тип реакции 4). Жизнеспособность инфицированных листьев в чашках Петри поддерживали 0.004%-м раствором бензимидазола (Михайлова, Квитко, 1970). Спорующую способность пустул на растениях в фазе колошения определяли по описанной ранее методике.

Для изучения развития инфекционных структур гриба на поверхности листьев и в тканях инфицированные листья фиксировали в лактофенольной смеси через 1, 2, 3, 5 и 9—10 суток после инокуляции урединиоспорами. Материал окрашивали 1%-м красителем анилиновым синим в лактофеноле, затем дифференцировали окраску с помощью насыщенного водного раствора хлоралгидрата (Плотникова, 2008). При этом инфекционные структуры гриба окрашивались в синий цвет; неповрежденные клетки растений — в светло-голубой; клетки, погибшие в результате реакции сверхчувствительности, приобретали интенсивный синий цвет. Исследования проводили с помощью светового микроскопа МБИ-15.

Для цитологических исследований использовали по 5 растений каждого образца. В каждом варианте изучали развитие инфекционных структур на поверхности листьев, образованных 80—100 спорами. Особенности развития гриба в тканях листьев и проявление реакции сверхчувствительности наблюдали у пяти растений в 25 местах контакта с грибом. Размеры колоний и пустул гриба определяли с помощью окуляр-микрометра. Площадь колоний и пустул вычисляли по формуле площади эллипса, рассчитывали средние показатели по 25 колониям.

Результаты и обсуждение

Развитие бурой ржавчины на сорте Тэтчер (Lr22b) и изогенных линиях с генами Lr13 и Lr35 изучали в полевых условиях в 2005—2007 гг. Резко континентальный

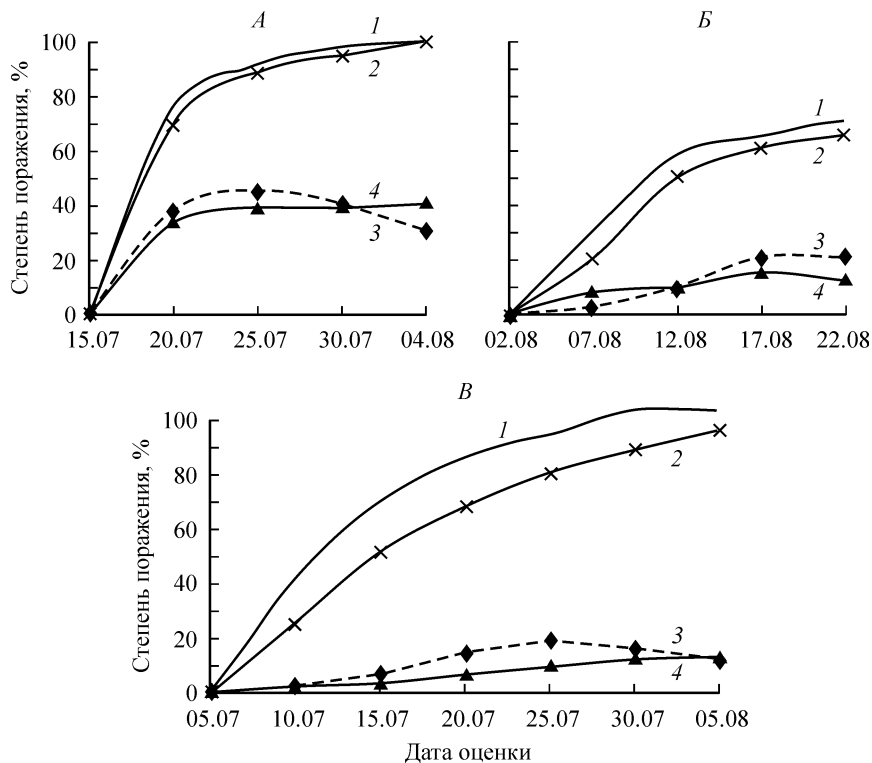


Рис. 1. Развитие бурой ржавчины на сорте Тэтчер и изогенных линиях с генами устойчивости взрослых растений.
 Годы исследований: А — 2005, Б — 2006, В — 2007. 1 — Саратовская 29 (контроль), 2 — Тетчер (Lr22b), 3 — TcLr13, 4 — TcLr35.

климат Западной Сибири и отсутствие растений-хозяев вызывают гибель основной части инокулюма гриба во время зимовки. Развитие болезни связано преимущественно с заносом спор из западных регионов России, поэтому вспышки болезни проявлялись в зависимости от метеорологических условий в июле—начале августа, что соответствовало фазам колошения—полной спелости.

Наибольшее поражение восприимчивого сорта Саратовская 29 отмечено в 2005 и 2007 гг. (100 %), при этом болезнь развивалась быстрыми темпами. В 2006 г. занос инфекции произошел в августе, и метеорологические условия способствовали умеренному развитию ржавчины (рис. 1). В 2005 и 2006 г. кривые развития болезни на сорте Тэтчер (ген Lr22b) и восприимчивом сорте Саратовская 29 практически совпали. В 2007 г. на сорте Тэтчер отмечено слабое замедление развития болезни, хотя к моменту созревания растений степень поражения достигала 93 %. В 2005 г. на линиях с генами устойчивости Lr13 и Lr35 наблюдалось умеренное развитие болезни (35—40 %), в 2006 и 2007 г. — слабое (15—20 %). Установлены общие закономерности развития болезни на растениях TcLr13 и TcLr35: скорость нарастания инфекции была низкой, а через 5—14 суток происходила стабилизация, в то время как степень поражения растений сортов Саратовская 29 и Тэтчер возрастала. Поражение флагового листа линии TcLr13 было ниже по сравнению с листьями нижних ярусов в стадии молочно-восковой спелости. Это явление было наиболее выражено в 2005 г.

Температурные условия в период наблюдений различались (рис. 2). Самые высокие среднесуточные температуры в период развития болезни отмечены в 2007 г. (20—23 °С), самые низкие — в 2006 (16—18 °С), промежуточные (18—20 °С) — в 2005 г. Несмотря на существенную разность среднесуточных температур в 2006

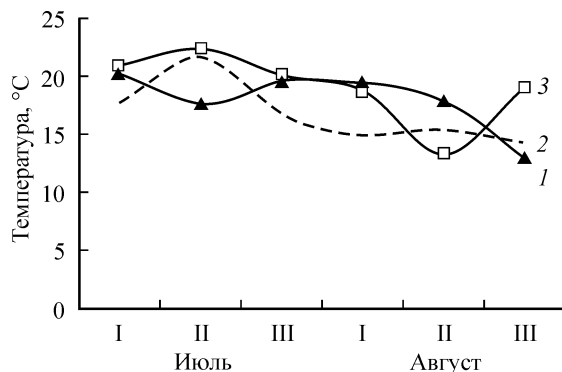


Рис. 2. Среднесуточные температуры в период развития бурой ржавчины.
 Годы исследований: 1 — 2005, 2 — 2006, 3 — 2007.

и 2007 гг., характер развития болезни на линиях TcLr13 и TcLr35 был схожим. Более сильное поражение линий в 2005 г., вероятно, было связано с большим количеством осадков, создавших оптимальные условия для заражения растений.

На листьях сортов Саратовская 29 и Тэтчер преимущественно наблюдался тип реакции 4 (совместимость) (рис. 3). Проявление типа реакции 3 в 2005 г., вероятно, связано с отмиранием части клеток растений над большими пустулами, поскольку в этом году сложились оптимальные условия для интенсивного спорогенеза гриба (рис. 4, а). На листьях линий с генами возрастной устойчивости ежегодно проявлялась гетерогенная реакция (от 1 до 4 баллов). При этом проявление реакции сверхчувствительности (типы 1 и 2) было наиболее характерно для линии TcLr13.

Обнаружены существенные различия в споруляции пустул, развивающихся на листьях восприимчивого сорта Саратовская 29 и на линиях с генами Lr13 и Lr35. Споруляция пустул на листьях устойчивых линий в зависимости от года была в 1.5—4.5 раза меньше, чем в контроле (рис. 4, А). Наименьшее количество спор образовывалось в пустулах на растениях линии TcLr13. На сорте Тэтчер (Lr22b) спорогенез гриба был несколько подавлен по сравнению с таковым в контроле, однако различия не всегда были достоверны.

Для выявления цитологической основы возрастной устойчивости было проведено изучение взаимодействия *P. triticina* с образцами пшеницы в трех фазах развития растений: проростки, выход в трубку и колошение. Позднее исследования не проводили, поскольку с возрастом на листьях растений увеличивались толщина кутикулы и отложения воска, что препятствовало проникновению красителя в листья и выявлению структур патогена. В фазе проростков растения всех образцов были восприимчивы (тип реакции 4); в фазах выхода в трубку и колошения на листьях помимо пустул, соответствующих типу реакции 4, появлялись пустулы, окруженные зоной хлороза (тип реакции 3) либо некроза (тип реакции 2). В итоге средняя оценка типа реакции снижалась (табл. 1).

На листьях всех образцов прорастало более 90 % спор гриба, существенных различий между вариантами не наблюдалось. Ростковые трубки направлялись к устьицам, где формировали аппрессории. На листьях растений линий TcLr13 и TcLr35 образовывалось достоверно меньше аппрессориев, чем в контроле. Подавление образования аппрессориев было более выражено на листьях устойчивых растений в стадиях проростков и колошения (на 24—73 % по отношению к контролю). Ингибирование образования аппрессориев на листьях линии TcLr35 в фазе колошения усилилось (табл. 2). Как правило, ростковые трубки гриба обнаруживали устьица, однако на листьях линии TcLr13 часть ростковых трубок формировала аппрессории на поверхности эпидермальных клеток.

Наблюдались существенные различия между вариантами при проникновении гриба в устьичную щель. Если в листья сорта Тэтчер проникновение гриба происходило

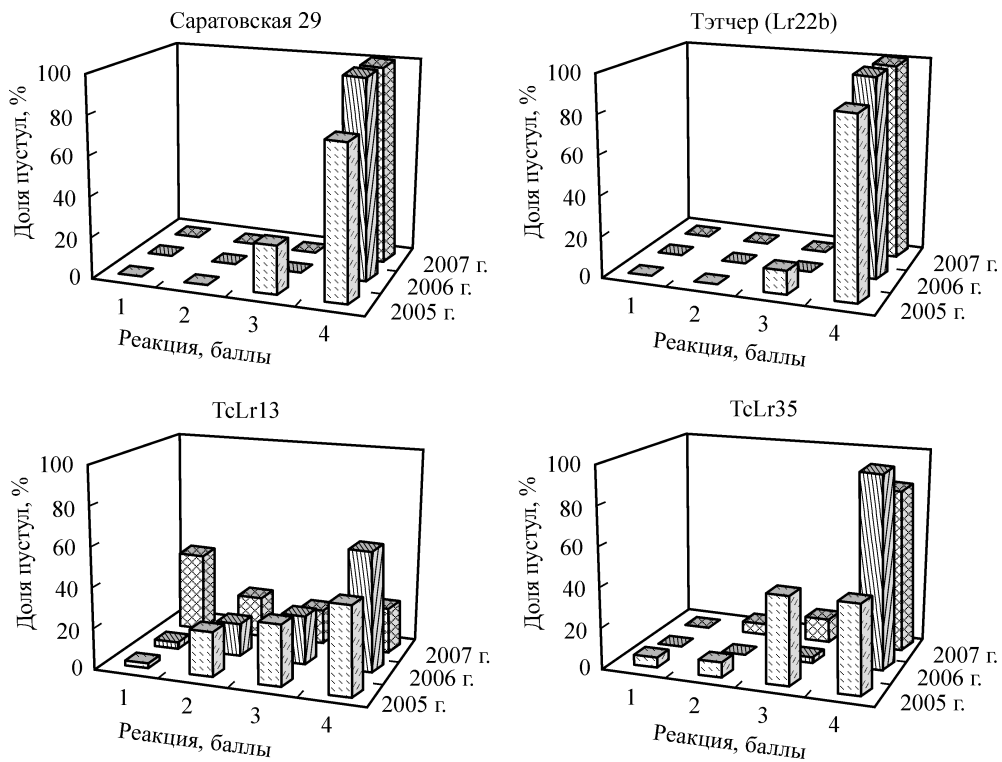


Рис. 3. Типы реакций на листьях сорта Тэтчер и линиях с генами устойчивости взрослых растений.

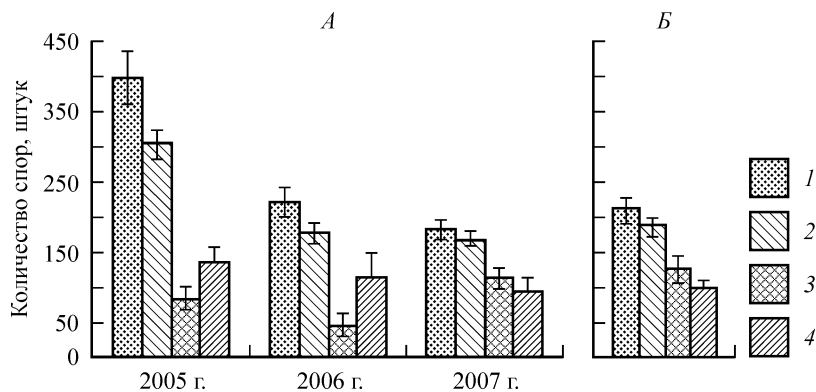


Рис. 4. Количество уренин孢 в пустулах *Puccinia triticina* на образцах с генами устойчивости взрослых растений.

А — полевой, Б — лабораторный опыты. 1 — Саратовская 29 (контроль), 2 — Тэтчер (Lr22b), 3 — TcLr13, 4 — TcLr35.

Тип реакции растений на заражение *P. triticina* в разные фазы развития, баллы

Образец	Фаза развития растений		
	проростки	выход в трубку	колошение
Саратовская 29 (контроль)	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0
Тэтчер (Lr22b)	4.0 ± 0.0	4.0 ± 0.0	3.8 ± 0.2
TcLr13	4.0 ± 0.0	3.6 ± 0.2	3.4 ± 0.4
TcLr35	4.0 ± 0.0	3.6 ± 0.3	4.0 ± 0.0

успешно, а на устьицах листьев Саратовской 29 погибали единичные аппрессории, то на устьицах листьев линий TcLr13 и TcLr35 погибало в 3—4 раза больше аппрессориев, чем в контроле. Доля погибших аппрессориев многократно увеличивалась с возрастом растений (табл. 2). Кроме того, в листьях линий TcLr13 и TcLr35 в значительной части мест инфицирования (10—14 %) гриб останавливался в развитии на стадии подустыичной везикулы или изредка одной инфекционной гифы. Ингибирующее действие растений линии TcLr13 на развитие аппрессориев и подустыичных везикул усиливалось с возрастом растений, а линии TcLr35 оставалось относительно стабильным (рис. 5).

В ткани листьев сорта Саратовская 29 патоген успешно образовывал подустыичные везикулы, затем инфекционные гифы направлялись к мезофилльным клеткам растений и формировали на концах материнские клетки гаусториев, которые обеспечивали проникновение гаусториев патогена в клетки и поглощение питательных веществ, необходимых для развития мицелия. Через 9—10 суток после инокуляции во всех местах инфицирования образовывались пустулы с новой генерацией урединиоспор.

В первые трое суток после инокуляции формирование инфекционных структур гриба в листьях сорта Тэтчер несколько отставало от формирования их в контрольном варианте, однако затем мицелий активно развивался (рис. 6). Размеры колоний и пустул гриба различались на разных фазах развития растений, что, вероятно, связано с колебаниями условий эксперимента, но больших отличий от контроля не наблюдалось (рис. 7). Усиления ингибирования инфекционных структур гриба на поверхности и в тканях листьев сорта Тэтчер с увеличением возраста растений не происходило. Признаков несовместимости с тканями растений не выявлено.

После проникновения в листья линии TcLr13 гриб образовывал только подустыичные везикулы в 2/3 случаев, в остальных местах инфицирования сформировались колонии. В первые двое суток после инокуляции на всех фазах развития растений в колониях гриба отмечено существенное замедление образования инфекционных структур (рис. 6). С увеличением возраста растений наблюдалось интенсивное сокращение размеров колоний и пустул гриба по сравнению с контролем (в 1.6—2.3 раза и 1.5—5.0 раз соответственно). Взаимодействие патогена и растения в фазы выхода в трубку и колошения сопровождалось реакцией сверхчувствительности. В фазе выхода в трубку на первых этапах патогенеза (1-е—3-и сутки после инокуляции) единичные некротические клетки наблюдались только около остановившихся в развитии подустыичных везикул, но к моменту спороношения в районе части пустул отмечены некротические зоны различного размера. В фазе колошения реакция сверхчувствительности усилилась, клетки растения в зоне колоний отмирали раньше (через 1—3 суток после инокуляции), 1/3 пустул была окружены зонами некроза различной интенсивности.

После внедрения патогена в ткани листьев линии TcLr35 в 15 % случаев его развитие прекращалось в стадиях подустыичной везикулы или первой инфекционной гифы, рядом с ними наблюдались некротические клетки растений. В остальных местах инфицирования развитие гриба продолжалось, однако отмечено сильное подавление

Развитие инфекционных структур *P. triticina* на поверхности листьев растений

Фаза развития растения	Образец пшеницы	Доля ростковых трубок, образовавшихся аппрессории, %	Доля аппрессориев на устьицах от их общего количества, %	Доля погибших на устьицах аппрессориев, %
Проростки	Саратовская 29	92.0 ± 3.9	99.2 ± 0.8	0.78 ± 0.3
	Тэтчер (Lr22b)	94.1 ± 2.3	97.3 ± 2.6	0.0 ± 0.0
	TcLr13	76.3 ± 2.1	92.3 ± 1.5	2.8 ± 1.1
	TcLr35	74.7 ± 1.5	98.6 ± 1.4	3.7 ± 0.6
Выход в трубку	Саратовская 29	98.6 ± 1.4	99.1 ± 0.1	0.0 ± 0.0
	Тэтчер (Lr22b)	95.9 ± 3.4	97.1 ± 0.8	0.0 ± 0.0
	TcLr13	91.8 ± 1.8	95.7 ± 3.5	8.1 ± 3.1
	TcLr35	86.5 ± 2.1	97.0 ± 3.0	2.0 ± 1.0
Колошение	Саратовская 29	88.3 ± 3.4	100.0 ± 0.0	0.8 ± 0.2
	Тэтчер (Lr22b)	89.5 ± 5.6	100.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0
	TcLr13	76.2 ± 3.2	94.3 ± 1.2	28.4 ± 3.8
	TcLr35	51.4 ± 2.6	100.0 ± 0.0	11.6 ± 0.6

формирования гаусториев, хотя количество материнских клеток гаусториев в колониях было сравнимо с наблюдавшимся в мицелии гриба в листьях сорта Тэтчер. Для линии TcLr35 была характерна остановка развития части (15 %) колоний через 3—5 суток после инокуляции — происходила их абортация (Niks, 1983). В абортивных колониях наблюдалось мало материнских клеток гаусториев и гаусториев, но реакция сверхчувствительности в их зоне проявлялась после прекращения развития патогена. Доля абортивных колоний была достаточно стабильной в разных фазах развития растений (рис. 5). Небольшой некроз вокруг части развивающихся колоний на поздних этапах патогенеза наблюдался только в листьях растений в фазе выхода в трубку.

Определение количества спор в пестулах на растениях в фазе колошения показало, что на листьях линий с генами возрастной устойчивости Lr13 и Lr35 спорогенез гриба был сильно подавлен, хотя споруляция была интенсивнее, чем в полевых условиях на более поздней стадии развития растений. В лабораторных условиях наименьшее количество спор образовывалось в пестулах на листьях линии TcLr35 (рис. 4, Б).

Несмотря на различия в интенсивности развития колоний гриба, существенных различий в латентном периоде развития болезни между вариантами отмечено не было.

Эффективность генов взрослых растений пшеницы к бурой ржавчине в разных регионах мира различна. В частности, гены Lr13 и Lr22b обеспечивали достаточно высокий уровень защиты растений в Канаде, Европе и юго-западных регионах России (McIntosh, 1995; Kolmer, 1996; Коваленко и др., 2000), но были не эффективны в Индии в связи с широким распространением в популяции аллелей вирулентности к ним (Kaur et al., 2000). Кроме того, известна высокая зависимость проявления ряда генов устойчивости взрослых растений от условий среды. Сведения о влиянии температуры на действие генов противоречивы. В частности, высокая температура повышала устойчивость растений с геном Lr13 к бурой ржавчине на стадии проростков в одних экспериментах (Pretorius et al., 1984), а в других действие гена было более значительным при низких и умеренных температурах (Rubiales, Niks, 1996).

В связи с вариабельностью проявления устойчивости взрослых растений в земледельческих зонах мира представляет интерес изучение действия генов Lr13, Lr22b и Lr35 в Западной Сибири, отличающейся нестабильным климатом, а также весьма агрессивной популяцией патогена. Полученные нами результаты показали, что сорта Тэтчер (ген Lr22b) и Саратовская 29 мало отличались по степени поражения, что свидетельствует о том, что ген Lr22b не эффективен в защите против западно-сибирской популяции патогена. В то же время изогенные линии с генами Lr13 и Lr35 в течение трех сезонов проявили умеренную (2005 г.) либо высокую (2006 и 2007 г.) устойчи-

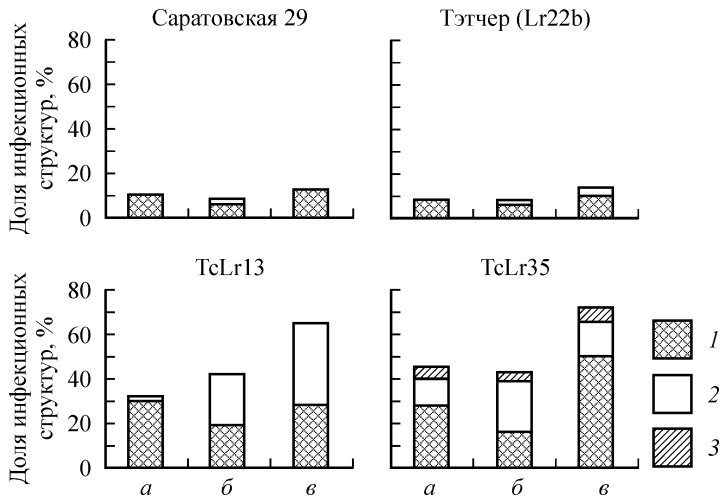


Рис. 5. Соотношение инфекционных структур *Puccinia triticina*, прекративших развитие в разных стадиях патогенеза на листьях сорта Тэтчер и линий с генами устойчивости взрослых растений, % от нанесенного инокулюма.

Фазы развития растений: а — проростки, б — выход в трубку, в — колошение. 1 — ростковые трубки без аппрессориев или с аппрессориями на эпидермальных клетках; 2 — инфекционные единицы, остановившиеся на стадиях аппрессория на устьице, подустьичной везикулы или одной инфекционной гифы; 3 — abortивные колонии.

вость на интенсивном фоне развития болезни. Интенсивность проявления болезни растений этих линий в течение трех лет исследований была сходной. В стадии молочно-восковой спелости наблюдалось небольшое подавление развития ржавчины на флаг-листе линии TcLr13, что свидетельствует о некотором усилении действия гена на поздних этапах онтогенеза растений.

В 2005—2007 гг. среднесуточные температуры в период развития болезни колебались от 16 до 23 °С, при этом растения линий с генами Lr13 и Lr35 проявили высокую устойчивость как при низких, так и при высоких температурах. Таким образом, существенного влияния температуры на проявление генов в наших экспериментах выявлено не было.

Изучение реакции растений на заражение комплексом клонов, составляющих популяцию патогена, в полевых условиях показало, что сорта Саратовская 29 и Тэтчер были восприимчивы. На листьях линий TcLr13 и TcLr35 наблюдался спектр типов реакции от устойчивости до восприимчивости, что могло быть обусловлено несколькими причинами: присутствием некоторого количества авирулентных изолятов гриба, влиянием условий среды, действием защитных механизмов растений. Спорогенез гриба на растениях линий TcLr13 и TcLr35 каждый год был существенно подавлен.

Парлевлит (Parlevliet, 1979) выделил несколько компонентов частичной устойчивости: меньшее количество инфекционных пятен по сравнению с восприимчивым сортом; меньшие их размеры, длинный латентный период; пониженная репродуктивная способность патогенов. Наши наблюдения в полевых условиях свидетельствуют о том, что у растений линий TcLr13 и TcLr35 проявляются по крайней мере 3 компонента устойчивости: снижение степени поражения (числа пустул), размера пустул, генеративной активности гриба. Снижение споруляции у растений сорта Тэтчер (Lr22b) отмечено лишь в слабой степени.

Для выявления неспецифических механизмов защиты в цитологических исследованиях был использован изолят, вирулентный к растениям в стадии проростков (тип реакции 4). Снижение степени поражения растений было обусловлено подавлением развития нанесенного на листья инокулюма, которое имело место на разных этапах взаимодействия с растениями. На листьях восприимчивых сортов лишь небольшая

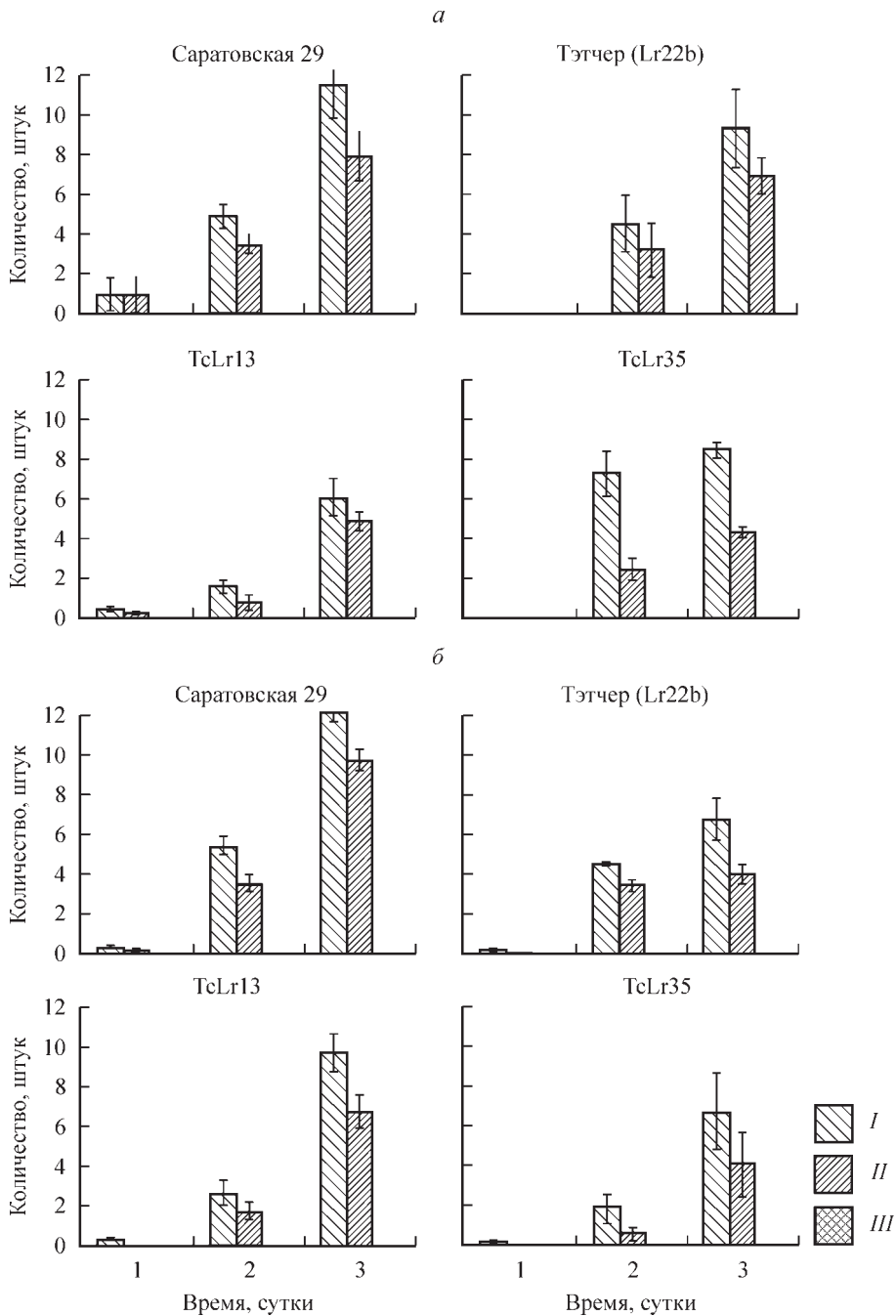


Рис. 6. Инфекционные структуры в колониях *P. tritici* и проявление реакции сверхчувствительности в листьях сорта Тэтчер и изогенных линиях с генами устойчивости взрослых растений.

Фазы развития растений: *a* – проростки, *b* – выход в трубку, *в* – колошение. *I* – материнская клетка гаустории, *II* – гаусторий, *III* – клетки, погибшие в результате реакции сверхчувствительности.

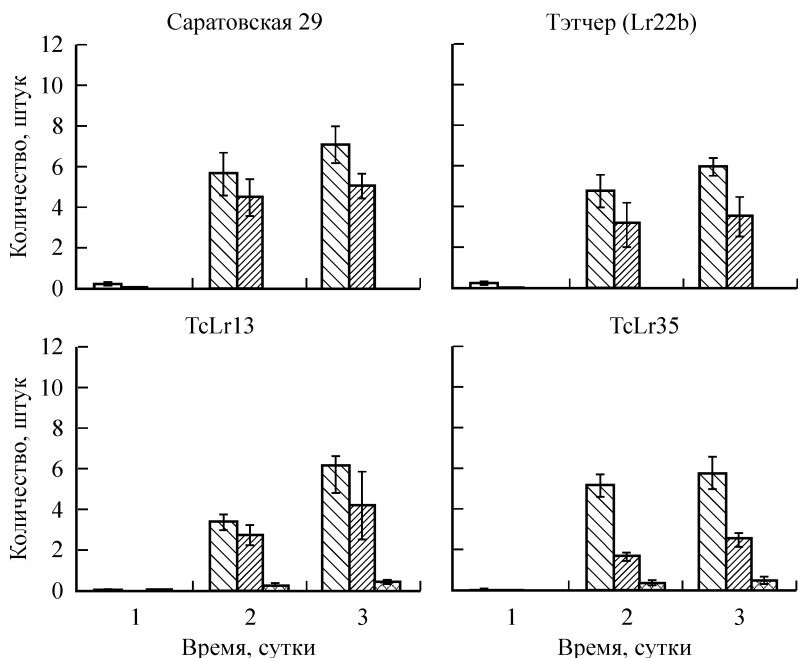


Рис. 6 (продолжение).

часть инокулюма (8—10 %) погибала, поскольку ростковые трубки не образовывали аппрессориев на устьицах. С возрастом растений его доля слабо возрастала, что, вероятно, связано с изменением структуры кутикулы и усилением воскового налета на листьях. Других признаков несовместимости не выявлено. В то же время в экспериментах Рубиалеса и Никса (Rubiales, Niks, 1996) взаимодействие сорта Тэтчер с изолятом гриба Flamingo сопровождалось реакцией сверхчувствительности. Предполагается, что изолят имел аллель авирулентности к гену Lr22b.

Снижение степени поражения растений линий TcLr13 и TcLr35 обусловлено подавлением развития инфекционных структур гриба как на поверхности, так и в ткани листьев. Гибель значительной части инокулюма на поверхности была связана с тем, что часть ростковых трубок не образовывала аппрессориев. На листьях линии TcLr13 их доля оставалась относительно стабильной (20—30 %), а линии TcLr35 в фазе колошения возрастала в 2 раза по сравнению с фазой проростков и достигала 50 %. Этот факт установлен впервые, поскольку развитие ржавчинных грибов на поверхности листьев растений с возрастной устойчивостью ранее не исследовалось.

На листьях линий TcLr13 и TcLr35 в значительной части мест инфекции (от 10 до 35 %) наблюдалась остановка развития гриба на стадиях аппрессориев, подустыичной везикулы или первой инфекционной гифы. На линии TcLr13 ингибирующее действие проявлялось начиная с фазы выхода в трубку и усиливалось в фазе колошения, а на линии TcLr35 было выражено на всех стадиях и несколько повышалось с возрастом растений. В целом в наших экспериментах 2/3 инокулюма, нанесенного на листья линий TcLr13 и TcLr35, прекращало развитие до внедрения гаустория гриба в мезофилльную клетку. Такой эффект был назван прегаусториальной устойчивостью (Niks, 1983). Сходная картина остановки развития значительной части спор на стадии подустыичной везикулы наблюдалась при заражении *P. striiformis* листьев сорта пшеницы Little Joss с длительной устойчивостью к желтой ржавчине (Cartwright, Russel, 1980). В классическом примере частичной длительной устойчивости сорта ячменя Vada к *P. hordei* гриб прекращал развитие до внедрения в клетки мезофилла листа в

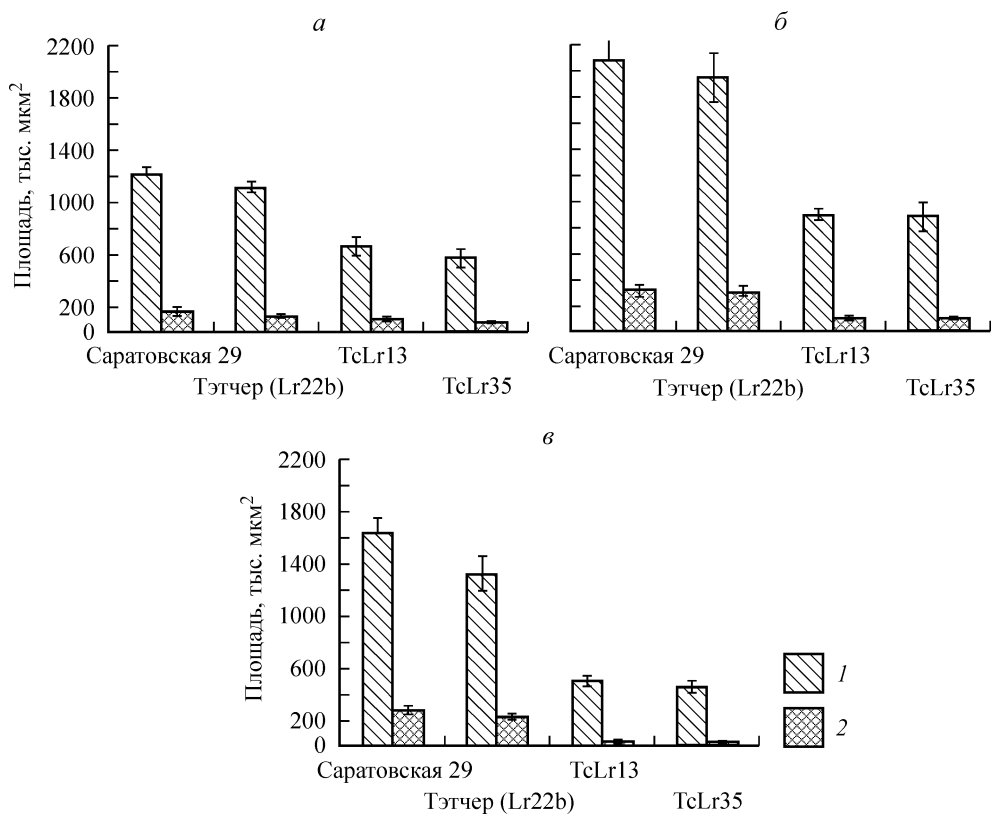


Рис. 7. Размеры колоний (1) и пустул (2) *P. triticina* на сорте Тэтчер и изогенных линиях с генами устойчивости взрослых растений.

Фазы развития растений: а — проростки, б — выход в трубку, в — колошение.

35—40 % случаев. В остальных случаях при внедрении гаусториев в клетки наблюдалась реакция сверхчувствительности либо вокруг гаусториев образовывались капсулы. В растении, не являющемся хозяином для патогена, остановка развития гриба происходила без этой реакции в 80 % случаев (Niks, 1983). В то же время при заражении изолятом *P. triticina* Flamingo растений линий пшеницы с генами Lr12, Lr13 и Lr34 существенного подавления проникновения гриба в устьица листьев не наблюдалось (Rubiales, Niks, 1996).

Ранее мы наблюдали нарушение образования аппрессориев ростковыми трубками *P. triticina* и остановку развития на стадии аппрессория или подустыичной везикулы при заражении листьев иммунных видов (ячменя, овса, пырея удлиненного), а также иммунных линий с генами устойчивости, интрогрессированными от диких видов *Aegilops umbellulata*, *A. speltoides*, *Agropyron elongatum*, *Triticum timopheevii* (Плотникова, Кнауэ, 2007; Плотникова и др., 2007). На примере взаимодействия *P. triticina* и *P. coronata* с иммунными видами злаков показано, что фунгицидное влияние растений на аппрессории и подустыичные везикулы связано с экстраклеточной генерацией активных форм кислорода замыкающими клетками устьиц. Активные формы кислорода образовывались лишь в случае плотного контакта между аппрессориями и замыкающими клетками устьиц (Плотникова, 2008).

В наших экспериментах на линиях TcLr13 и TcLr35 подавлялось проникновение в ткани листа только части инфекционных структур, в остальных случаях в ткани образовывались колонии. Это говорит о том, что предполагаемый окислительный взрыв проявляется не стабильно. Причины этого явления неизвестны, можно предполагать

как усиленную реакцию замыкающих клеток устьиц на контакт с аппрессориями патогена, так и особенности строения устьиц, в которые грибок в части инфекционных точек способен проникать без индукции окислительного взрыва. Поскольку развитие 2/3 инокулюма блокировалось растениями на поверхности листьев либо сразу после внедрения в устьица, можно предположить, что продукты генов возрастной устойчивости накапливались в эпидермальной ткани.

В колониях гриба, развивавшихся в листьях линий TcLr13 и TcLr35, было существенно подавлено образование материнских клеток гаусториев и проникновение гаусториев в клетки растений. В результате в листьях линии TcLr35 наблюдалась абортация части колоний, а на растениях линии TcLr13 все колонии развивались медленно. Отрицательное влияние растений на развитие колоний усиливалось с возрастом растений, одновременно уменьшалась интенсивность спороношения патогена. В то же время латентный период развития болезни на разных образцах существенно не отличался. В ранее проведенных экспериментах также отмечалась абортация колоний *P. tritici* при развитии в листьях растений с генами Lr12, Lr13 и Lr34 и отсутствие различий в латентном периоде (Rubiales, Niks, 1996). Вероятно, различия результатов наших экспериментов и данных, полученных Рубиалесом и Никсом, объясняются разными свойствами изолятов гриба.

В связи с частым преодолением устойчивости сортов, защищенных генами расспецифической устойчивости, характерным проявлением которой считается реакция сверхчувствительности, особое внимание уделяется поиску генов, определяющих другие механизмы защиты. Считается, что примерами действия генов, обеспечивающих длительную устойчивость без реакции сверхчувствительности, являются гены возрастной устойчивости Lr34 и Lr46 (Parlevliet, 2002). В наших экспериментах при взаимодействии гриба с растениями линий TcLr13 и TcLr35 некротические клетки появлялись около погибших подустьичных везикул и абортивных колоний, что может быть объяснено реакцией растений на продукты разложения гриба. Кроме того, на поздних этапах патогенеза небольшие некротические зоны появлялись в зоне пустул. Вероятно, хотя реакция сверхчувствительности имела место при взаимодействии гриба с изучаемыми линиями, она существенно не влияла на патогенез.

Таким образом, ген возрастной устойчивости Lr22b в генотипе сорта Тэтчер не эффективен в защите от бурой ржавчины в Западной Сибири. Отмечается высокая эффективность и сходное действие на развитие болезни генов Lr13 и Lr35. Цитологические исследования показали, что действие генов Lr13 и Lr35 было плейотропным и привело к снижению степени поражения растений по крайней мере по трем параметрам, обозначенным Парлевлитом. Снижение степени поражения обеспечивалось нарушением образования аппрессориев, подавлением развития аппрессориев и подустьичных везикул, абортацией колоний. Кроме того, в растениях с этими генами были ограничены рост колоний и репродуктивная способность гриба.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Коваленко Е. Д., Жемчужина А. И., Крятева Н. Н. Иммуногенетические методы создания болезнеустойчивых сортов зерновых культур. 1. Генетическая структура популяций возбудителя бурой ржавчины пшеницы // Агро XXI. 2000. № 4. С. 14—15.

Михайлова Л. А., Квитко К. В. Лабораторные методы культивирования возбудителя бурой ржавчины пшеницы *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* Rob. ex Desm. // Микология и фитопатология. 1970. Т. 4, вып. 4. С. 269—273.

Плотникова Л. Я. Влияние поверхностных свойств и физиологических реакций растений-нехозяев на развитие клеточных структур ржавчинных грибов // Цитология. 2008. Т. 50, № 5. С. 439—446.

Плотникова Л. Я., Кнаус Ю. К. Клеточные механизмы иммунитета к бурой ржавчине видов-нехозяев и устойчивых видов злаков // Микология и фитопатология. 2007. Т. 41, вып. 5. С. 461—470.

Плотникова Л. Я., Кнауэс Ю. К., Мешкова Л. В. Цитофизиологические особенности проявления генов устойчивости к бурой ржавчине, перенесенных в мягкую пшеницу от дикорастущих злаков // Микология и фитопатология. 2007. Т. 41, вып. 4. С. 362—373.

Cartwright D. W., Russel G. E. Histological and biochemical nature of 'durable' resistance to yellow rust in wheat / Proc. of the 5th Europ. and Mediterranean Cereal Rusts Conference. Ban; Rome, 1980. P. 23—26.

Caldwell R. M. Breeding for general and/or specific plant disease resistance / Proc. 3rd Int. Wheat Genetics Symp / Eds K. W. Finley, K. W. Shepherd. Canberra, Australia: Aust. Acad. Sci. 1968. P. 263—272.

Kaur M., Saini R. G., Preet K. Adult plant leaf rust resistance from 111 wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars // Euphytica. 2000. Vol. 113. P. 235—243.

Kolmer J. A. Genetics of resistance to wheat leaf rust // Annu. Rev. Phytopathol. 1996. Vol. 34. P. 435—455.

Mains E. B., Jackson E. S. Physiological specialization in the leaf rust of wheat *Puccinia triticina* Erikss. // Phytopathology. 1926. Vol. 16, N 1. P. 89—120.

McIntosh R. A., Wellings C. R., Park R. F. Wheat Rusts: An atlas of resistance genes. SCIRO: Australia, 1995. 220 p.

Niks R. E. Haustorium formation by *Puccinia hordei* in leaves of hypersensitive, partially resistant, and nonhost genotypes // Phytopathology. 1983. Vol. 73. P. 64—66.

Parlevliet J. E. Partial resistance of barley to leaf rust, *Puccinia hordei*. I. Effect of cultivar and development stage on latent period // Euphytica. 1975. Vol. 24. P. 21—27.

Parlevliet J. E. Components of resistance that reduce the rate of epidemic development // Annu. Rev. Phytopathol. 1979. Vol. 17. P. 203—222.

Parlevliet J. E. Durability of resistance against fungal, bacterial and viral pathogens; present situation // Euphytica. 2002. Vol. 124. P. 147—156.

Peterson R. F., Campbell A. B., Hannah A. E. A diagrammatic scale for estimating rust intensity of leaves and stem of cereals // Can. J. Res. 1948. Sec. C. Vol. 26. P. 496—500.

Pretorius Z. A., Wilcoxson R. D., Long D. L., Schaffer J. F. Detecting wheat leaf rust resistance gene Lr13 in seedlings // Plant Dis. 1984. Vol. 68. P. 585—586.

Rubiales D., Niks R. E. Characterization of Lr34, a major gene conferring nonhypersensitive resistance to wheat leaf rust // Plant Dis. 1996. Vol. 79, N 12. P. 1208—1212.

Singh R. P., Huerta-Espino J., Williams M. Genetics and Breeding for Durable Resistance to Leaf and Stripe Rusts of Wheat // «Increasing Wheat Production in Central Asia through Science and International cooperation» / Proc. 1st Central Asian Wheat Conf. (Almaty, Kazakhstan, 10—13 June, 2003). Almaty, 2003. P. 127—132.

Омский государственный
аграрный университет
lplotnikova@rambler.ru

Поступила 24 VI 2008

РЕЗЮМЕ

Эффект генов устойчивости взрослых растений пшеницы Lr13, Lr22b и Lr35 к бурой ржавчине был изучен в полевых условиях в Западной Сибири. Сорт Тэтчер (Lr22b) был высоко восприимчив к болезни, а изогенные линии с генами Lr13 и Lr35 устойчивы. Цитологические исследования показали низкую интенсивность формирования аппрессориев и подавление проникновения граба в устьица листьев линий с генами Lr13 и Lr35. В листьях линии с геном TcLr35 часть колоний отмирала. Развитие колоний и пустул было подавлено на обеих линиях. Реакция сверхчувствительности проявлялась в слабой степени на поздних этапах патогенеза. Эффект генов Lr13 и Lr35 усиливался с возрастом растений.

Ключевые слова: устойчивость взрослых растений, Lr13, Lr22b, Lr35, цитология.

SUMMARY

The effect of the adult plant genes Lr13, Lr22b and Lr35 to wheat leaf rust was investigated in the field conditions in the Western Siberia. Thatcher var. (Lr22b) was high susceptible to disease. The isogenic lines with Lr13 and Lr35 genes were high resistant and similar in appearance. The cytological research revealed the low intensity of the appressorium formation and inhibition of fungus penetration to stoma on the leaves of the lines with Lr13 and Lr35 genes. Some colonies were aborted in the leaves of the TcLr35 line. The size of colonies and pustules were reduced in both resistant lines. The hypersensitivity appeared in low extent and at the late stage of the pathogenesis. The effect of the Lr13 and Lr35 genes enhanced with the age of plants.

Key words: adult plant resistance, Lr13, Lr22b, Lr35, cytology.

УДК 582.284.55(471)

© Ю. А. Ребриев

ГАСТЕРОМИЦЕТЫ РОДА *DISCISEDA* (*LYCOPERDACEAE*) В РОССИИREBRIEV Yu. A. GASTEROMYCETES FROM THE GENUS *DISCISEDA* (*LYCOPERDACEAE*)
IN RUSSIA

Род *Disciseda* описан Б. М. Черняевым в середине XIX в. (Czerniaiev, 1845). Отмечая сходство представителей рода с некоторыми видами *Bovista*, автор указал наличие чашевидной структуры, в которой покоится плодовое тело, в качестве основного диагностического признака, отличающего его от других представителей *Lycoperdaceae*. Позже Морган (Morgan, 1892) вновь описал этот род как *Catostoma*.

Данные геносистематики (Larsson, Jeppson, 2007) подтверждают положение рода в семействе *Lycoperdaceae*.

В мире насчитывается немногим более 10 видов этого космополитного рода, но из-за отсутствия современных монографических обработок и обилия синонимов сложно определить точное число видов. Представители рода предпочитают ксерофильные местообитания — степи (в том числе песчаные и каменистые), пустыни, встречаются на сухих низкотравных лугах и изредка в светлых сухих лесах. Согласно нашим наблюдениям (Ребриев, 2006), некоторым термофильным видам, в том числе представителям рода *Disciseda*, высокие температуры необходимы лишь на начальных этапах плодоношения, дальнейшее же их развитие может проходить поздней осенью, уже после первых заморозков, или даже зимой при долговременных оттепелях.

В специальной литературе, касающейся, в частности, морфологических особенностей представителей рода *Disciseda*, встречаются некоторые спорные моменты, на которые мы считаем нужным обратить внимание. Так, некоторые авторы (Moravec, 1954; Bates, 2004) приводят наличие паренхимного слоя экзоперидия в качестве видового признака для *D. candida*. Однако, согласно данным других авторов (Kers, 1975; Jeppson, 1997) и нашим наблюдениям, паренхимный слой имеется и у другого распространенного вида *D. bovista*. Возможно, это общий для рода признак, являющийся адаптацией к аридным условиям произрастания.

Основываясь на сходстве размеров и характера орнаментации спор, Керс (Kers, 1975) предполагал синонимичность видов *D. candida* и *D. cervina*. Сравнение орнаментации спор этих видов с использованием сканирующего электронного микроскопа показало определенные различия. Споры *D. candida* мелкобородавчатые, тогда как у *D. cervina* они почти гладкие, с небольшой бугристостью.

В работах ряда авторов (Moravec, 1958; Dörfeld, Nowak, 2002; Bates, 2004) указывалось, что споры *D. arida* имеют грубобородавчатую орнаментацию. Под световым микроскопом споры этого вида действительно выглядят грубобородавчатыми, однако в действительности они глубокоямчатые до сетчатых (рис. 1), что хорошо видно при высоком увеличении сканирующего электронного микроскопа.

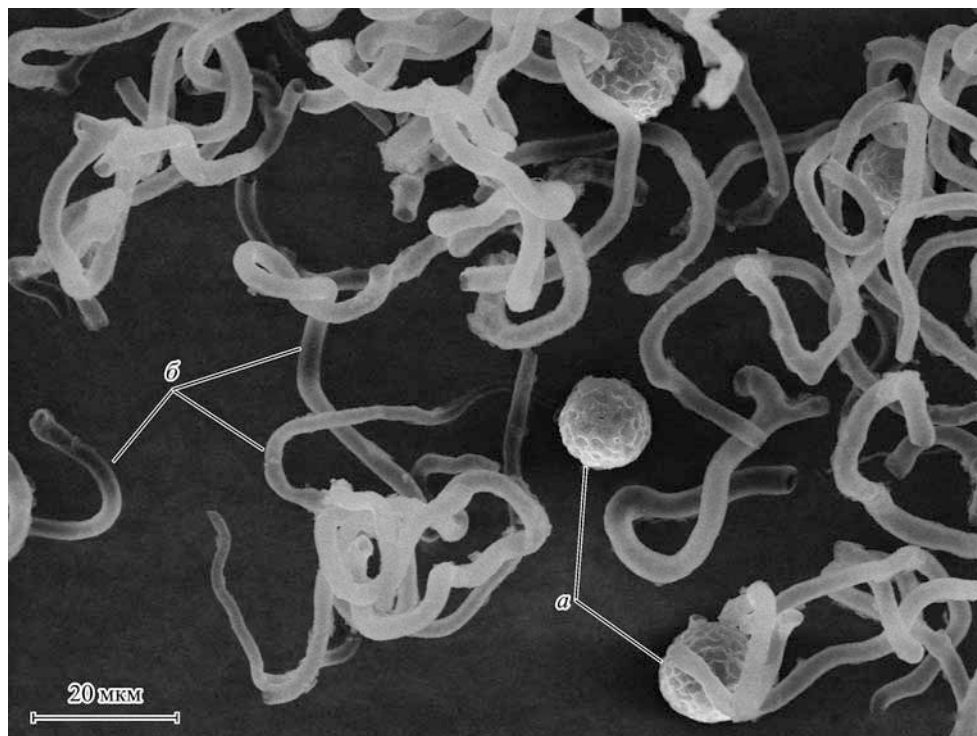


Рис. 1. Споры (а) и капиллиций (б) *Disciseda arida* (YuR1711).

У двух образцов из Ростовской обл. в небольшом количестве имеются споры с длинными, очень хрупкими стеригмами, до 12 мкм (рис. 2); эндоперидий очень темный до почти черного. При изучении шведских образцов Керс (Kers, 1975) также обнаружил подобные образцы, но отмечал, что по размерам и характеру орнамента спор они не отличаются от типичных *D. bovista*, а цвет эндоперидия является очень варибельным признаком. От предыдущего вида *D. pedicellata* отличается несколько более крупными спорами, в подавляющем большинстве имеющими длинные (6 мкм и более) стеригмы. На основании этого наши образцы, предварительно определенные как *D. cf. pedicellata*, отнесены к *D. bovista*. Однако, учитывая, что известно несколько находок *D. pedicellata* в приграничных с Россией районах Казахстана (Шварцман, Филимонова, 1970), мы рассматриваем этот вид как вероятно встречающийся в южных регионах России.

Ниже приводится описание рода, составленное на основании литературных данных и собственных наблюдений, а также аннотированный список видов рода *Disciseda*, обнаруженных в России или предположительно произрастающих здесь. Материалом для исследований послужили образцы, собранные на территории Российской Федерации, Казахстана, Украины, Монголии, Швеции, США, и 7 образцов из 6 серий эксикат, хранящихся в Микологическом гербарии БИН РАН (в конспекте указаны с акронимом LE), а также личная коллекция гастеромицетов (акроним YuR). Всего изучено 214 образцов. Основная часть образцов была определена П. Е. Сосиным и Б. П. Васильковым, а также коллекторами, упомянутыми в аннотированном списке. При определении были использованы определители и монографии (Moravec, 1954, 1958; Шварцман, Филимонова, 1970; Сосин, 1973; Dörfeld, Nowak, 2002; Bates, 2004). Распространение видов в пределах России приведено на основании изученного гербарного материала и литературных данных.



Рис. 2. Споры (а) и капиллиций (б) *Disciseda bovista* (YuR 38). В центре вверху видна спора с длинной стеригмой (в). Слева (более крупная) спора *D. arida* (с).

Микрофотографирование проводилось на базе Южного научного центра РАН, с использованием сканирующего электронного микроскопа Carl Zeiss EVO-40 XVP.

Род *Disciseda* Czern., Bull. Soc. Imper. Naturalistes Moscou 18(2): 153, 1845. — *Castostoma* Morgan, J. Cincinnati Soc. Nat. Hist. 14: 142, 1892.

Тип рода: *Disciseda collabescens* Czern.

Плодовые тела закладываются под землей, затем выходят на поверхность; приплюснуто-шаровидные или шаровидные, 1—3(5) см в диам., с очень коротким, коническим тяжом мицелия. Экзоперидий двухслойный. Наружный гифальный слой сильно инкрустирован частицами субстрата (из-за этого бывает сложно определить диаметр плодового тела), внутренний паренхимный слой водянистый, в сухом виде тонкий, пергаментный, часто обнаруживается у только что открывшихся плодовых тел в виде выступающей из тарелочки тонкой пленки и небольших чешуек, приставших к эндоперидию. Экзоперидий разрывается кольцевидно в горизонтальной плоскости. Нижняя часть экзоперидия, находящаяся в почве, разрушается и отпадает, а верхняя остается соединенной с эндоперидием. При раскрытии плодовое тело переворачивается на 180° и находится в оставшейся более прочной тарелочкообразной части экзоперидия. У старых экземпляров тарелочка полностью разрушается, и они внешне могут быть приняты за виды рода *Bovista* (*B. plumbea*, *B. nigrescens*). Эндоперидий тонкий, кожистый или бумагообразный, гладкий или слабошероховатый, в молодом возрасте желтовато-серый, в зрелом — коричневато-бурый, иногда со временем выцветает до почти белого. Открывается у основания (из-за инверсии плодового тела, оказывающегося вверх), в районе бывшего мицелиального тяжа, или реже в ином месте правильным округлым бархатистым отверстием. Изредка отверстий бывает два или более. Глеба без колумеллы и стерильного основания (субглебы). Гифы

капиллиция слабо разветвленные, изогнутые, очень ломкие, распадающиеся на короткие куски. Споры шаровидные, бородавчатые, иногда почти гладкие, без стеригмы или с более или менее длинной стеригмой.

1. *Disciseda arida* Velen., Novit. Mycol.: 169, 1939. — Moravec, Čas. čes. Houbařů 29: 15, 1952. — **Тарелочница засушливая.** (Рис. 1).

Распространение в России: Волгоградская обл., И. В. Землянская (YuR 1167), Ю. А. Ребриев (YuR 1711, 1834); Ростовская обл., Ю. А. Ребриев (YuR 387).

Общее распространение: Европа, Сев. Америка (США) (Bates, 2004).

2. *Disciseda bovista* (Klotzsch) Henn., Hedwigia 42: 128, 1903. — *Geaster bovista* Klotzsch, Nova Acta leop. 19: 243, suppl. 1, 1843. — *Catastoma bovista* (Klotzsch) Hollós, Verh. bot. Ver. Prov. Brandenburg 43: VI, 1901. — *Disciseda compacta* Czern., Bull. Soc. imp. Natur. Moscou 18: 153, 1845. — *Globaria debreceniensis* Hazsl. Verh. zool.-bot. Ges. Wien 26: 226, 1877. — *Bovista debreceniensis* (Hazsl.) de Toni in Saccardo, Syll. fung. 7: 476, 1888. — *Catastoma debreceniensis* (Hazsl.) Hollós, Termés. Közl. 56: 186, 1900. — *Disciseda debreceniensis* (Hazsl.) Hollós, Termés. Fü. 25: 102, 1901; Gasterom. Ung.: 119, 1904. — *Bovista subterranea* Peck, Bot. Gaz. 4: 216, 1879. — *Catastoma subterraneum* (Peck) Morgan, J. Cincinnati Soc. natur. Hist. 14: 143, 1892. — *Disciseda subterranea* (Peck) Coker et Couch, Gast. US and Canada: 142, 1928. — *Disciseda cervina* Alexandri, Not. biol. 2(3): 67, 1934, non *Disciseda cervina* (Berk.) Hollós. — *Disciseda cervina* (Berk.) Cunn., Proc. Linn. Soc. New South Wales 52: 238, 1927, non *Disciseda cervina* (Berk.) Hollós. — **Тарелочница порховка.** (Рис. 2).

Распространение в России: Алтайский край, И. А. Горбунова (YuR 1415, 1450, 1464); Астраханская обл., С. Д. Эрперт (LE 2012, 2045), О. Н. Комирная (LE 2062), Л. Е. Родин (LE 2013), И. В. Землянская (YuR 343, 1175); Белгородская обл. (Беденко, 1978); Волгоградская обл., С. Д. Эрперт (LE 2034), Б. П. Васильков (LE 2015), Ю. А. Ребриев (YuR 367); Кировская обл., Ю. Шелл (LE 2020, 2023, 2031); Краснодарский край, Л. А. Лебедева (LE 2006, 2007, 2032, 2036), Ю. А. Ребриев (YuR 335); Красноярский край (Беглянова, 1971); Пензенская обл. (Иванов, 1983); Республика Алтай, Р. Зингер, Л. Н. Васильева (LE 2009, 2038, 2047), В. Баранов (LE 2022); Республика Бурятия (Забайкальская обл.), М. Короткий (LE 2021, 2039, 2044), А. Жукова (LE 2027); Республика Марий Эл, Л. Н. Васильева (LE 2028, 2050), Б. П. Васильков (LE 2070); Республика Саха (Якутия), А. Л. Биркенгоф (LE 2026); Ростовская обл., Ю. А. Ребриев (YuR 369, 747, 1084, 1758, 1468, 1470, 1489), А. М. Волкова (YuR 355A) Мусоthesа Petropolitana, N 26; Рязанская обл., Л. Ф. Волоснова (YuR 1275); Саратовская обл., Д. Е. Янишевский (LE 2030, 2048), Л. Казакевич (LE 2064); Ставропольский край, Волков (LE 2063); Татарстан (Васильева, 1977), Д. С. Коржинский (LE 2035).

Общее распространение: Европа, Азия, Африка, Сев. и Южн. Америка, Австралия (Шварцман, Филимонова, 1970).

3. *Disciseda candida* (Schwein.) Lloyd, Mycol. Not. 1(10): 100, 1902. — *Bovista candida* Schweinitz, Schrift. natur. Ges. Leipzig 1: 126, 1822. — *Catastoma candidum* (Schwein.) Lloyd, Mycol. Writ. 7: 1168, 1922. — *Disciseda candida* (Schwein.) Lloyd var. *candida*, Sydowia 8: 280, 1954. — *Disciseda candida* (Schwein.) Lloyd var. *calva* Moravec, Sydowia 8: 282, 1954. — Šebek, Čes. Mykol. 9: 132, 1955. — *Disciseda calva* (Moravec) Moravec, Flora ČSR. B-1. Gasteromycetes: 384, 776, 1958. — *Bovista circumscissa* Berk. et M. A. Curtis, Grevillea 2: 50, 1873. — *Catastoma circumscissa* (Berk. et M. A. Curtis) Morgan, J. Cincinnati Soc. natur. Hist. 14: 143, 1892. — *Disciseda circumscissa* (Berk. et M. A. Curtis) Hollós, Termés. Fü. 25: 126, 1901. — *Bovista cellulosa* Ellis et Everh., Acad. Philad.: 414, 1895. — *Catastoma cellulolum* (Ellis et Everh.) Lloyd, Mycol. Writ. 7: 1168, 1922. — **Тарелочница белая.**

Распространение в России: Алтайский край, Р. Зингер, Л. Н. Васильева (LE 2055), И. А. Горбунова (YuR 1357, 1410, 1627); Астраханская обл., О. Н. Комир-

ная (LE 2061), И. В. Землянская (YuR 330, 1173), В. П. Савич (LE 2067); Белгородская обл. (Беденко, 1978); Волгоградская обл., Ю. А. Ребриев (YuR 1711А), И. В. Землянская (YuR 328); Красноярский край (Беглянова, 1971); Пензенская обл. (Иванов, 1983); Республика Калмыкия, А. И. Лобик (LE 2068); Республика Татарстан (LE 2017); Республика Тува, Н. В. Перова (YuR 1431); Ростовская обл., Ю. А. Ребриев (YuR 332, 342, 380, 1083, 1196, 1516), А. М. Волкова (YuR 348); Рязанская обл., Л. Ф. Волоснова (YuR 1276).

Общее распространение: Европа, Азия, Африка, Сев. и Южн. Америка, Австралия, Новая Зеландия (Шварцман, Филимонова, 1970).

4. *Disciseda cervina* (Berk.) Hollós, Hedwigia 42: 22, 1903. — *Bovista cervina* Berk., Fung. Darw.: 447, 1842. — *Bovista argillacea* Pat., Bull. Soc. Myc.: 93, 1888. — *Bovista uruguayensis* Speg., Fungi Argentini Pug. 4: 251, 1881. — *Catastoma magnum* Lloyd, Mycol. Writings 5: 631, 1917. — **Тарелочница оленья.**

Распространение в России: Ростовская обл., Ю. А. Ребриев (YuR 741).

Общее распространение: Европа, Африка, Сев. Америка, Австралия, Новая Зеландия (Bates, 2004).

(5). *Disciseda pedicellata* (Morgan) Hollós, Termés. Füz. 25: 103, 1902. — *Catastoma pedicellatum* Morgan, J. Cincinnati Soc. natur. Hist. 14: 143, 1892. — **Тарелочница ножковая.**

Распространение в России: возможно, Ростовская обл. (YuR 325, 386) и другие южные регионы России.

Общее распространение: Европа, Азия, Африка, Сев. Америка, Австралия (Шварцман, Филимонова, 1970; Bates, 2004).

Идентификационный ключ к роду *Disciseda* в пределах России

1. Споры со стеригмой 6—12 мкм дл. (5). *D. pedicellata*

Плодовые тела 1—3 см в диам. Эндоперидий умброво-коричневый, на вершине более светлый. Споры шаровидные, грубобородавчатые, коричневые, 8—9(10) мкм в диам. (с учетом орнамента), с бесцветной стеригмой 6—12(37) мкм дл. Гифы капиллиция светло-коричневые, 3,5—4 мкм. В степях.

1а. Споры с более короткой стеригмой или без нее 2

2. Споры до 5.5 мкм в диам., мелкобородавчатые или гладкие 3

2а. Споры больше 5.5 мкм в диам., сильно орнаментированные 4

3. Споры почти гладкие или очень мелкобородавчатые 4. *D. cervina*

Плодовые тела 1—1.8 см в диам. Эндоперидий от почти белого, светло-серого до оранжево-серого, коричневато-серого. Споры шаровидные, гладкие до очень мелкобородавчатых, 4—5.5 мкм в диам., желтовато-коричневые, иногда с короткими стеригмами до 1 мкм. Гифы капиллиция бесцветные или светло-коричневые, 4—5.5 мкм в диам. В степях.

3а. Споры явнобородавчатые 3. *D. candida*

Плодовые тела 1—1.5(2) см в диам. Эндоперидий свинцово-серый, реже светло-коричневый до почти черного, со временем выцветает до почти белого. Споры шаровидные, светло-коричневые, мелкобородавчатые, (3)3.5—5 мкм в диам., часто с маленькой стеригмой до 2.5 мкм. Гифы капиллиция 3.5—7.5 мкм в диам, бесцветные или светло-коричневые. В светлых сосновых и смешанных лесах, в степях, полупустынях.

4. Споры до 8 мкм в диам. 2. *D. bovista*

Плодовые тела 1—5 см в диам. Эндоперидий беловатый, охристый, коричневый до почти черного. Споры шаровидные, грубобородавчатые, темно-коричневые, 5.5—7(8) мкм в диам. (с учетом орнамента), со стеригмой до 3.5 мкм или без нее. Гифы капиллиция 3—4 мкм в диам., от бесцветных до оливковых. В светлых хвойных и смешанных лесах, на пастбищах, в полупустынях и степях.

4а. Споры более 8 мкм в диам. 1. *D. arida*
Плодовые тела 1—2(3) см в диам. Эндоперидий коричневый, коричневато-серый до почти черного с красноватым оттенком. Споры шаровидные, глубокоямчатые (в световом микроскопе кажутся грубобородавчатыми), темно-коричневые, 8—12 мкм в диам. (с учетом орнамента), иногда со стеригмой до 2.5 мкм. Гифы капиллиция 2.5—5 мкм в диам., светло-коричневые. В степях.

Автор благодарит к. м. н., научного сотрудника ЮНЦ РАН К. В. Двадненко за помощь при микрофотографировании.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 08-04-00193-а «Микобиота аридных территорий юго-запада России».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Беглянова М. И. К флоре гастеромицетов Красноярского края // Вопросы ботаники и физиологии растений. Красноярск, 1971. С. 13—29.

Беденко Э. П. Гастеромицеты Белгородской области РСФСР // Микология и фитопатология. 1978. Т. 12, вып. 6. С. 469—473.

Васильева Л. Н. Грибы макромицеты Раифского участка Волжско-Камского заповедника // Тр. Волжско-Камского государственного заповедника. Казань, 1977. Вып. 3. С. 3—36.

Иванов А. И. Гастеромицеты Пензенской области // Новости систематики низших растений. 1983. Т. 20. С. 83—84.

Ревриев Ю. А. О некоторых особенностях плодоношения *Disciseda bovista* (Klotzsch) Henn. // Матер. I (IX) Междунар. конф. молодых ботаников в Санкт-Петербурге (21—26 мая 2006). СПб.: ГЭТУ, 2006. С. 300.

Сосин П. Е. Определитель гастеромицетов СССР. Л.: Наука, 1973. 164 с.

Шварцман С. Р., Филимонова Н. М. Флора споровых растений Казахстана. Т. 6: Гастеромицеты — Gasteromycetes. Алма-Ата: Изд-во АН КазССР, 1970. 318 с.

Bates S. T. Arizona Members of the Geastraceae and Lycoperdaceae (Basidiomycota, Fungi). Masters Thesis. Tempe: Arizona State University, 2004.

Czerniaiev B. M. Nouveaux cryptogams de l'Ukraine // Bull. Soc. Imper. Nat. Moscou. 1845. Vol. 18. P. 132—157.

Dörffeld H., Nowak H. *Disciseda nigra* — ein verkannter Gasteromycet // Feddes Repertorium. 2002. Vol. 113, N 1—2. P. 24—29.

Jeppson M. Observations on peridial morphology in *Disciseda bovista* and *Disciseda candida* // Windahlia. 1997. Vol. 22. P. 33—41.

Kers L. E. The genus *Disciseda* (Gasteromycetes) in Sweden // Svensk Botanisk Tidskrift. 1975. Vol. 69. P. 405—438.

Larsson E., Jeppson M. Phylogenetic relationships among species and genera of Lycoperdaceae based on ITS and LSU sequence data from North European taxa // Mycol. Res. 2007. doi: 10.1016/j.mycres.2007.10.018.

Moraveč Z. On some species of the genus *Disciseda* and other Gasteromycetes // Sydowia. 1954. Vol. 8. P. 278—286.

Moraveč Z. Rod *Disciseda* Czern. // Flora ČSR. B. 1: Gasteromycetes / Ed. A. Pilát. Praha, 1958. P. 377—386.

Morgan A. P. North American fungi // J. Cincin. Soc. Nat. Hist. 1892. Vol. 14. P. 141—148.

Южный научный центр РАН
Ростов-на-Дону
rebriev@yandex.ru

Поступила 16 IV 2008

РЕЗЮМЕ

Рассмотрены основные морфологические особенности рода *Disciseda*. Приведены некоторые критические таксономические замечания, географическое распространение и идентификационный ключ для 5 видов. *Disciseda arida* Velen., *D. bovista* (Klotzsch) Henn., *D. candida* (Schwein.) Lloyd и *D. cervina* (Berk.) Hollós обнаружены в России, *D. pedicellata* (Morgan) Hollós может произрастать в южных районах страны.

Ключевые слова: гастеромицеты, *Disciseda*, Россия, географическое распространение.

SUMMARY

The main morphological features of the genus *Disciseda* are considered. Some taxonomical notes, data on geographical distribution and key to the identification of 5 species are given. *Disciseda arida* Velen., *D. bovista* (Klotzsch) Henn., *D. candida* (Schwein.) Lloyd and *D. cervina* (Berk.) Hollós are found in Russia. *D. pedicellata* (Morgan) Hollós may grow in the southern regions of the country.

Key words: *Gasteromycetes*, *Disciseda*, Russia, geographical distribution.

ОБЗОРЫ И ДИСКУССИИ

УДК 593.195 : 575.86

© Ю. Я. Соколова

ПРОИСХОЖДЕНИЕ МИКРОСПОРИДИЙ
И ИХ ПОЛОЖЕНИЕ В СИСТЕМЕ ЭУКАРИОТSOKOLOVA Yu. Ya. ORIGIN OF *MICROSPORIDIA* AND THEIR SYSTEMATICAL
POSITION AMONG EUKARYOTES

Microsporidia Balbiani, 1882 — уникальная группа многочисленных одноклеточных эукариотических организмов, представленная исключительно паразитическими формами, заражающими животных самых разных систематических групп. При всем своем многообразии микроспоридии — монофилетическая группа, основным отличительным признаком которой является спора — единственная внеклеточная стадия паразита, оснащенная аппаратом экструзии — уникальным набором органелл, позволяющим эффективно заражать клетки-мишени и давать начало внутриклеточной пролиферативной части жизненного цикла (рис. 1).

Микроспоридиологическую летопись принято вести с описания микроскопического возбудителя пембины тутового шелкопряда, грозившего уничтожить шелководство в Южной Европе в начале XIX в.¹ Паразит был описан как *Nosema bombycis* Nägeli в 1857 г. и отнесен к Schizomycetes (Sprague, 1977; по: Becknel, Andreadis, 1999). Этот факт сегодня звучит иронично. Микроспоридиям понадобилось полтора века, чтобы, побывав в качестве семейства отряда Мухоспоридия (Thelohan, 1892; по: Исси, 1986), отряда или подкласса в составе типа Sporozoa (Labbe, 1899; Kudo, 1924), таксона, равного ранга с микоспоридиями и актиномиксидиями, в составе класса Cnidosporidia (Kudo, 1966), независимого типа в составе царства Protozoa (Levine et al., 1980), а затем Archezoa (Cavalier-Smith, 1993), найти свое место на древе жизни в качестве ближайших родственников грибов (Adl et al., 2005; James et al., 2006).

Ранг группы и положение микроспоридий в системе эукариот неоднократно менялись в ходе их изучения и всегда вызывали дискуссии. Мы не будем здесь останавливаться на этом вопросе, так как он подробно рассмотрен в нескольких публикациях (Sprague, 1977; Исси, 1986; Sprague et al., 1992; Keeling, Fast, 2002). Примечательно, что еще в 1990-х годах микроспоридий относили к Archezoa — сборному супертаксону низших эукариот, объединяющему амитохондриальных простейших, якобы отделившихся от эукариотического ствола до приобретения клеткой митохондрий (Cavalier-Smith, 1983, 1993; Vossbrinck et al., 1987; Corliss, 1994). В пользу первичной «примитивности» и принадлежности микроспоридий к Archezoa² говорили следующие характеристики: 1) упрощенное строение вегетативных

¹ Самая ранняя находка микроспоридии относится к 1838 г., когда был открыт неизвестный микроорганизм из рыб, позднее, в 1887 г., описанный в честь автора находки как *Glugea anomalia* Moniez (по: Becknel, Andreadis, 1999).

² К супертаксону Archezoa (Cavalier-Smith, 1983) были отнесены следующие группы протист: диплонады (*Giardia*), трихомонады (*Trichomonas*), микроспоридии (*Nosema*), энтамебы (*Entamoeba*) и пелобиионты (*Naegleria*, *Valkhampia*); в скобках приведены типичные представители протист.

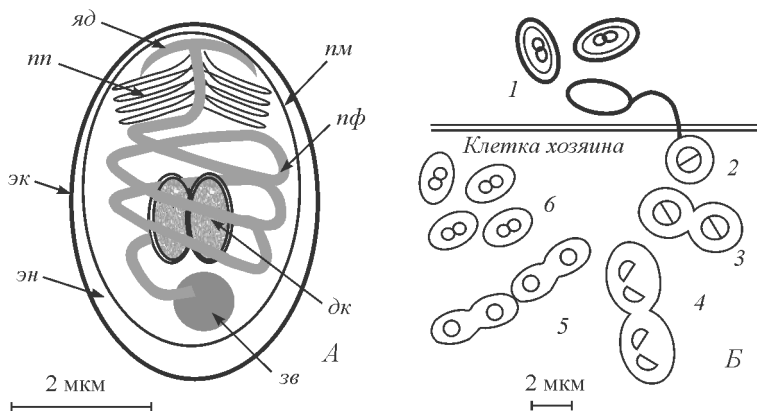


Рис. 1. Схемы споры (А) и жизненного цикла (Б) микроспоридий.

А: дк – диплокарion (парные ядра); пп – полярoplast; нм – плазматическая мембрана; нф – полярная трубка, или филламент; зв – задняя вакуоль; эн – эндоспора; эк – экоспора; яд – якорный диск. Б: 1 – споры; 2–6 – внутриклеточные стадии жизненного цикла, который может содержать исключительно одноядерные или исключительно двуядерные (диплокарion-типические) формы, а также включать в себя смену ядерных фаз, как это изображено на рисунке.

стадий микроспоридий, в частности закрытый тип митоза, отсутствие митохондрий и пероксисом, диктиосом аппарата Гольджи, 9 + 2 микротубулярных структур и запаасающих гранул; 2) рибосомы «прокариотного типа» (70S в отличие от 80S у большинства эукариот) с коэффициентом седиментации малой рибосомальной субъединицы 16S, как у прокариот, а не 18S, как у эукариот; 3) структура рибосомального РНК оперона, в котором 5.8S рРНК ковалентно связана с 23S рРНК, как у прокариот, в отличие от других эукариот, у которых эти участки рРНК представлены отдельными молекулами (Vossbrinck, Woese, 1986); 4) отсутствие у микроспоридий интронов, которые по гипотезе Кавалье-Смита (Cavalier-Smith, 1991) были привнесены в геном эукариотической клетки премитохондриальными эндосимбионтами, и системы сплайсинга; 5) первые филогенетические построения, основанные на анализе сиквенсов гена малой субъединицы рибосомальной РНК (Vossbrinck et al., 1987), факторов элонгации трансляции 1α и 2 (Kamaishi et al., 1996a, 1996b) и гена изолейцин РНК синтетазы (Brown, Doolittle, 1995), которые указывали на базальное положение микроспоридий на древе эукариот.

Следует отметить, что «архезоидная» природа микроспоридий неоднократно подвергалась сомнению самими же авторами «архезоидной гипотезы» (Cavalier-Smith, 1993b), поскольку упрощенность строения вегетативной клетки микроспоридий, как и других групп Archzoa, большинство из которых представлены паразитическими формами, могла быть связана с приспособлениями к внутриклеточному паразитизму, а сложное строение спор микроспоридий (Vavra, Larsson, 1999) невозможно было назвать примитивным. Именно перемещение микроспоридий от основания филогенетического древа (Vossbrinck et al., 1987) к его вершине (Keeling, Fast, 2002) стало первым сокрушительным ударом по «архезоидной гипотезе», которая оказалась несостоятельной и в отношении других групп Archzoa (Dacks, Doolittle, 2001), но при этом необычайно плодотворной с точки зрения прогресса в изучении эволюционных связей низших эукариот.

Раскрытый недавно характер редуцированной эволюции генома микроспоридий, характеризующейся необычайно высокой частотой мутаций и направленной на компактизацию генома за счет делеций нетранслируемых участков, выпадения кластеров нефункциональных генов и укорочения функциональных генов (Keeling, Slamovits, 2004; Slamovits et al., 2004; Cavalier-Smith, 2005; Williams et al., 2005; Corradi et al., 2007), объясняет происхождение уникальной структуры рибосом и РНК микроспоридий и позволяет считать конвергентным сходство с бактериями по этим признакам (Keeling et al., 2005). В частности, считается, что одна из делеций затронула сайт про-

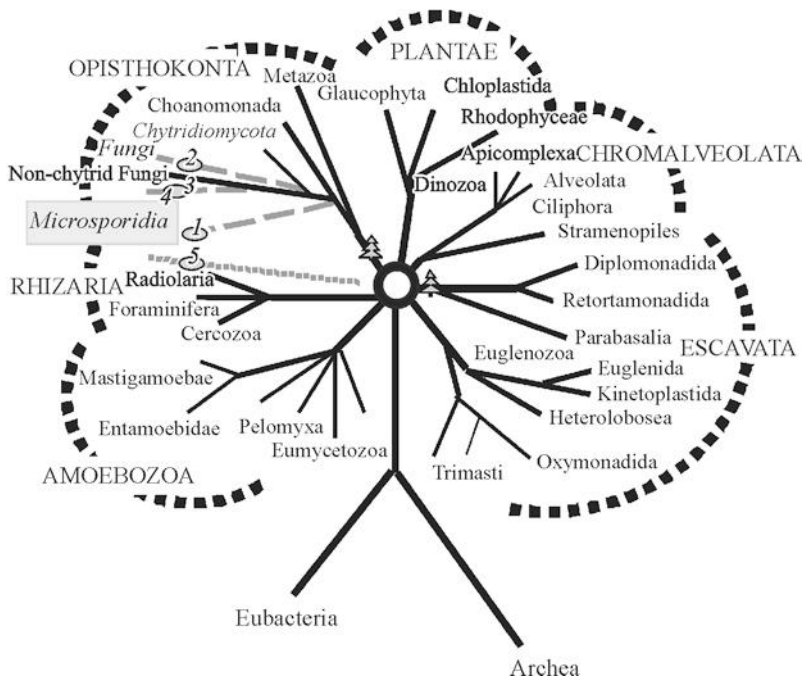


Рис. 2. Схема древа жизни (по: Adl et al., 2005) отражает господствующую концепцию монофилетического происхождения клетки эукариот от прокариот, а также наиболее общепринятое представление о дивергенции основных групп (супертаксонов).

«Елочки» обозначают предположительные позиции корня. Положение микроспоридий на древе окончательно не определено. Большинство исследователей относят *Microsporidia* к супертаксону Opisthokonta, объединяющему царства грибов, животных и хоанофлагеллят. В настоящее время четыре гипотетические позиции микроспоридий представляются наиболее вероятными: 1) сестринская группа по отношению к *Fungi* в целом; 2) сестринская группа по отношению к *Chytridiomycota*; 3) группа *Zygomycota*; 4) сестринская группа по отношению к высшим грибам *Dikarya* (*Ascomycota* + *Basidiomycota*). Ряд фактов свидетельствует в пользу независимого происхождения микроспоридий и базальной позиции группы на древе (5), однако эта топология имеет слабую статистическую поддержку в репрезентативных мультигенных филогенетических построениях.

цессинга оперона рибосомальной РНК, что вызвало слияние большой и малой субъединиц (Cavalier-Smith, 1993; Keeling, Fast, 2002).

Усовершенствование алгоритмов и уточнение параметров филогенетического анализа выявило ошибки в ранних филогенетических построениях (Arisue et al., 2005; Fischer, Palmer, 2005). Наиболее типичная расчетная ошибка, характерная для ранних филогенетических построений, «артефакт взаимного притяжения длинных ветвей» (long-branch attraction artifact) (Felsenstein, 1978; Philippe, Laurent, 1998; Philippe et al., 2000), была основана на ложном предположении, что один и тот же ген в разных организмах эволюирует с одинаковой скоростью.³ Классическим примером такой ошибки оказалось заключение о древности происхождения микроспоридий на основании сравнительного филогенетического анализа сиквенов генов малой субъединицы РНК и фактора элонгации транскрипции 2. Эти гены характеризуются повышенной скоростью дивергенции, что зачастую приводит к неправильной оценке позиций таксонов старших рангов (отряды и выше) в филогенетических построениях (Liu et al., 2006).

³ В филогенетических построениях быстро эволюирующие сиквены («длинные ветви», к которым относятся гены рибосомальной РНК и фактора элонгации трансляции) искусственно группируются друг с другом и с истинно древними последовательностями, в частности с последовательностями Eubacteria и Archea, которые обычно выбираются в качестве «внешних групп» (outgroups) при реконструкциях макросистемы эукариот.

Предположения о наличии общего предка у грибов и микроспоридий высказывались неоднократно (Исси, 1986). Однако первые филогенетические построения, основанные на молекулярных данных, которые опровергали базальное положение микроспоридий и группировали их с грибами, основывались на анализе сиквенсов генов α - и β -тубулинов (Edlind et al., 1996; Keeling, Doolittle, 1996; Keeling, Fast, 2002). Учитывая, что гены тубулинов значительно быстрее эволюируют в таксонах, лишенных 9 + 2 структур (например, в нехитридиевых грибах и микроспоридах), сближение этих двух групп могло быть связано также с артефактом взаимного притяжения длинных ветвей. Однако при исключении нехитридиевых грибов из анализа микроспоридии все равно объединялись с хитридиевыми грибами (Keeling, Doolittle, 1996). Результаты «тубулиновых» филогенетических построений немедленно привели к переоценке других характеристик микроспоридий. Например, у микроспоридий давно были отмечены похожие на грибные черты организации ядра, митоза и мейоза (Исси, 1986; Flegel, Pasharawipas, 1995). Также наличие инсерции в гене фактора элонгации транскрипции 1 альфа сближает микроспоридий с Opisthokonta (*Fungi* + Metazoa + Choanoflagellata) (Keeling, McFadden, 1998), несмотря на то что в филогенетических построениях на основании этого гена микроспоридии занимают базальную позицию по отношению ко всем Eukarya (Kamaishi et al., 1996a, 1996b).

С помощью более совершенных алгоритмов анализа, позволяющих минимизировать влияние «длинных ветвей», принадлежность *Microsporidia* и *Fungi* к одному кладу была показана с помощью филогенетических построений на основе сиквенсов различных генов (см. таблицу), включая гены малой и большой субъединиц рРНК, и факторов элонгации трансляции (Fischer, Palmer, 2005). Результаты анализа *Encephalitozoon cuniculi*, первого и пока единственного полностью расшифрованного микроспоридиального генома (Katinka et al., 2001; Keeling, 2001), а также частично отсеквенированных геномов *Paranosema locustae* (jbpc.mbl.edu/Nosema/index.html) и *Spraguea lophii* (jbpc.mbl.edu/Spraguea-HTML) позволили выявить у них значительное число генов, сходных с грибными.

Наиболее сильным аргументом против предположения о первичном отсутствии митохондрий в клетках микроспоридий стало выявление генов митохондриальных белков шаперонов mtHSP70 и пируватдегидрогеназы в геномах *Nosema locustae* (Germot et al., 1997) и *Vairimorpha necatrix* (Hirt et al., 1997), а позже — генов целой серии митохондриальных белков в геномах этих и других микроспоридий (Katinka et al., 2001; Arisue et al., 2002; Williams, Keeling, 2005; Burri et al., 2006). Характерно, что некоторые из этих генов демонстрировали наибольшую гомологию с генами митохондриальных белков *Saccharomyces cerevisiae*. Таким образом, факты неопровержимо указывали на наличие митохондрий у предков микроспоридий и на вторичную утрату этих органелл в связи с паразитическим образом жизни. Более того, рудиментарные митохондрии (митосомы) были обнаружены в вегетативных стадиях *Trachipleistophora hominis* методом электронной микроскопии, сопряженной с иммуноцитохимической локализацией mtHSP70 (Williams et al., 2002).

В геномах представителей микроспоридий (Biderre et al., 1998; Fast et al., 1998), как и в других архезойных таксонах, выявлены и интроны, и гены факторов сплайсинга (Fast, Doolittle, 1999; Dacks, Doolittle, 2001). Также получены доказательства наличия функционально активных пероксисом в *Spraguea lophii* (Weidner, Findley, 2002, 2003; Findley et al., 2005).

Кроме того, следует считать доказанным, что аппарат Гольджи в явном или скрытом виде имеется в клетках всех современных эукариот, включая микроспоридий (Beznoussenko et al., 2007), а его морфологическая организация подвержена значительным модификациям, связанным со специфическими функциями (Dacks et al., 2003; Соколова и др., 2007; Sokolova, Mironov, 2008).

В настоящий момент принадлежность микроспоридий к «кроне» филогенетического древа и родство микроспоридий и грибов не вызывают сомнения у большинства исследователей. Аргументы в поддержку этих положений можно суммировать следующим образом. 1) Metazoa, грибы и микроспоридии имеют сходную структуру генов

Основные гипотезы о положении микроспоридий на древе эукариот, предложенные в зависимости от использованных генов-маркеров филогенетического родства

Гены	<i>Microsporidia</i> — сестринская группа по отношению к Opisthokonta/ <i>Eukarya</i> в целом	<i>Microsporidia</i> — сестринская группа по отношению к царству <i>Fungi</i>	<i>Microsporidia</i> принадлежит царству <i>Fungi</i>
α - and β -tubulins			Edlind et al., 1996; Keeling, Doolittle, 1996; Keeling et al., 2000; Keeling, 2003
EF 1 α	Kamaishi et al., 1996a; Tanabe et al., 2002	James et al., 2006; Liu et al., 2006	Gill, Fast, 2006; James et al., 2006
EF 1 γ	Kamaishi et al., 1996b		
EF 2	То же		
Gln-tRNA synthetase	Brown, Doolittle, 1999		
Glu-tRNA-synt			Brown, Doolittle, 1999
Ile-tRNA trans	Brown, Doolittle, 1995, 1999		
LSU rRNA	Peyretilade et al., 1998a	Peyretilade et al., 1998a	Van de Peer et al., 2000
mtHSP70	Hirt et al., 1997; Peyretilade et al., 1998b	Peyretilade et al., 1998b	Germot et al., 1997; Hirt et al., 1997; Williams, Keeling, 2005
mtPDH- α and β		Fast, Keeling, 2001; Gill, Fast, 2006	Gill, Fast, 2006
Proteosome α	Bouzat et al., 2000		
RPB1, 2	Tanabe et al., 2002	Gill, Fast, 2006; James et al., 2006; Liu et al., 2006	Hirt et al., 1999; Gill, Fast, 2006; James et al., 2006
SSU rRNA	Vossbrinck et al., 1987		Fisher, Palmer, 2005
TBP		Gill, Fast, 2006	Fast et al., 1999; Gill, Fast, 2006

Примечание. α - and β -tubulins — альфа и бета тубулины; EF 1 α — фактор элонгации трансляции 1 альфа; EF 1 γ — фактор элонгации трансляции 1 гамма; EF 2 — фактор элонгации трансляции 2; Gln-tRNA synthetase — глутаминил тРНК синтетазы; Glu-tRNA-synt — глутамил тРНК синтетазы; Ile-tRNA trans — изолейцил тРНК синтетазы; LSU rRNA — большая субъединица рРНК; mtHSP70 — митохондриальный хитшоковый протеин HSP70; mtPDH- α and β — митохондриальная пируватдегидрогеназа, альфа и бета; proteosome α — белки семейства протеосом альфа; RPB1, 2 — рРНК-полимераза II, большая (1) и малая (2) субъединицы; SSU rRNA — малая субъединица рРНК; TBP — TATA-бокс-связывающий протеин.

Наибольшую статистическую поддержку в филогенетических построениях, располагающих *Microsporidia* внутри царства *Fungi*, имеют три позиции: 1) группа, относящаяся к *Zygomycota* (Keeling, 2003); 2) базальная ветвь *Chytridiomycota* (James et al., 2006); 3) сестринская группа по отношению к *Dikarya* (*Basidiomycota* + *Ascomycota*) (Gill, Fast, 2006).

факторов элонгации EF 1 и 2, отличающуюся от таковой в других группах эукариот. 2) Только Metazoa, грибы и микроспоридии кодируют тимидин синтазу и редуктазу дегидрофолиевой кислоты двумя генами, в то время как растения и все изученные представители простейших имеют только один ген, с которого транслируются оба белка. 3) Хитин в оболочке спор и трегалоза как основное запасное вещество помимо микроспоридий встречается только у грибов. 4) Клетки микроспоридий и грибов похожи цитологически. Для представителей обеих групп характерно наличие дикарио-

нов, сходный характер митоза и мейоза, деление ядер без диссоциации ядерной мембраны (закрытый внутриядерный плевромитоз) и встроенные в ядерную мембрану центры организации микротрубочек (spindle plaques), а также аппарат Гольджи в виде тубуловезикулярных кластеров. 5) Фундаментальные молекулярные механизмы 5'-кэппинга матричной РНК в ходе транскрипции сходны у грибов и микроспоридий (Hausmann et al., 2002). 6) Филогенетический анализ нескольких генов-маркеров эволюционного родства позволяет поместить микроспоридии в один супертаксон с грибами (см. таблицу).

Таким образом, к началу XXI в. стало очевидным, что микроспоридии невозможно считать базальной и архаичной группой эукариот, и некоторые молекулярные биологи стали рассматривать микроспоридии как эволюционно молодую группу грибов, родственную дрожжам, специализированную к внутриклеточному паразитизму, аналогичную *Pneumocystis carinii* (Van de Peer et al., 2000).⁴ Вид *P. carinii* относили к Protozoa до 1988 г., когда с помощью молекулярной филогении была доказана принадлежность этого опасного патогена человека к аскомицетам (Edman et al., 1988). Несомненно, филогенетические судьбы микроспоридий и *Pneumocystis* похожи. Они говорят о том, что адаптации к паразитизму способны изменять до неузнаваемости признаки родственных связей как на морфологическом, так и на молекулярном уровне. Существенное различие между двумя группами состоит в том, что род *Pneumocystis* — небольшая группа высших грибов из отдела *Ascomycota*, специализированных к паразитизму в теплокровных. Для эволюции аскомицетов характерны неоднократные переходы от автотрофности к паразитизму, и *Pneumocystis* представляет собой один из наиболее ярких примеров крайней адаптации к паразитизму. Микроспоридии же — тип протист, представленный исключительно паразитическими формами. Многочисленные (более 1200 видов и 170 родов) представители этого типа паразитируют почти во всех таксонах Bilateria, гидрах, в Mixozoa и в более чем 40 видах Alveolata, инфузориях и грегарирах (Canning, Vavra, 2000), что само по себе говорит о достаточном древнем происхождении микроспоридий (Исси, 1986).

Для большинства исследователей, принимающих гипотезу родства микроспоридий с грибами, остается неясным, образуют ли *Microsporidia* сестринскую группу по отношению ко всему царству *Fungi*, т. е. обе группы имеют общего предка, но самостоятельный путь развития, или же *Microsporidia* принадлежат царству *Fungi*, т. е. сформировались как обособленный таксон низших грибов уже после дивергенции грибной ветви от эукариотического древа. В пользу последнего предположения, по мнению этих авторов, свидетельствуют некоторые уникальные для грибов и микроспоридий морфологические признаки. Так, наличие дикарионов у некоторых видов сближает микроспоридии с *Dikarya* (*Basidiomycota* + *Ascomycota*).

Механизм выстреливания микроспоридиями полярной трубки напоминает быстрое «прорастание» покоящихся спор, наблюдаемое у представителей рода *Conidiobolus* (*Zygomycota*, *Entomophthorales*), которое, как и у микроспоридий, включает выворачивание мембранных структур и запускается изменением осмотического давления (Ingold, 1972; Keohane, Weiss, 1999). К тому же подавляющее большинство видов как энтомофторовых грибов, так и микроспоридий — паразиты членистоногих. Кавалье-Смит (Cavalier-Smith, 2001a) рассматривал другую группу паразитических зигомицетов — *Harpellales* (*Zygomycota*, *Trichomycetes*) в качестве возможных предков микроспоридий на основании сходства морфологии полярной трубки микроспоридий и придатков трихоспор (Benjamin, 1979), а также учитывая сходные экологические адаптации.⁵ И все же, несмотря на некоторые аналогии, следует признать, что структура споры микроспоридий и механизм дисперсии уникальны и не имеют аналогов ни среди грибов, ни среди других групп эукариот и не могут служить

⁴ Причиной такого «перегиба» было отсутствие сиквенсов представителей зигомицетов и хитридиомицетов в большинстве филогенетических анализов, опубликованных в 1998—2002 гг., и, как следствие, — ошибочная группировка микроспоридий с дрожжами (Tanabe, 2002).

⁵ Харпелиевые трихомицеты — облигатные полостные паразиты артропод и многоножек.

основанием для включения микроспоридий ни в один из существующих таксонов грибов.

Филогенетические построения, основанные на молекулярных данных, полученных при анализе сиквенсов разных генов, противоречивы (см. таблицу). Некоторые из них, базирующиеся на сиквенсах генов HSP70 и митохондриальных пептидаз (Keeling, Fast, 2002; Williams, Keeling, 2005), помещали микроспоридии как сестринскую группу дрожжей (*Ascomycota*). Однако разрешающая способность этих анализов была низкой из-за недостаточного количества изученных таксонов грибов, а статистическая поддержка кластера, объединяющего микроспоридии и дрожжи, явно была недостаточной. Альтернативной позицией микроспоридий в этом же исследовании было их расположение в основании кроны эукариотического древа (Williams, Keeling, 2005).

Сравнительный филогенетический анализ генов α - и β -тубулинов указывает на родственные отношения микроспоридий с зигомицетами и отвергает их родство с *Dikarya* и *Trichomyces* (Keeling, 2003). В построениях, основанных на анализе тубулинов, микроспоридии группируются с представителями *Entomophthorales* или *Zoopagales*, большинство из которых — симбионты других грибов или беспозвоночных (Tanabe et al., 2000). Однако выводы об эволюционном родстве групп на основании сходства тубулинов и их генов ненадежны, так как известно, что тубулины подвержены конвергентным изменениям, и их макромолекулярные свойства, отраженные в аминокислотных последовательностях, играют важную роль в определении формы клетки — признака высоковариабельного и адаптивного у низших грибов. Таким образом, весьма вероятно, что сродство между тубулинами двух групп связано со сходными ответными реакциями клетки на условия существования. Кроме того, как уже говорилось, гены тубулинов характеризуются неравномерными темпами эволюции, особенно в группах, лишенных жгутикоподобных (9 + 2) структур.

Топологии эволюционных деревьев зависят от используемых генов-маркеров филогенетического родства. В большинстве случаев желательно или даже необходимо использование нескольких генов для более надежной оценки взаимоотношений между таксонами. Гены РНК оперона и факторов элонгации трансляции, как и гены тубулинов, не самый хороший выбор для установления родственных связей микроспоридий с другими организмами из-за насыщенности мутациями и относительно высокой изменчивости, что затрудняет их корректное сравнение с аналогичными генами других организмов (Hirt et al., 1999; Roger, 1999; Tanabe et al., 2002). В настоящее время наиболее подходящим «эволюционным маркером» для грибов считаются гены двух субъединиц ДНК-зависимой РНК полимеразы 2 (RPB), характеризующиеся низкой частотой мутаций. Эти гены присутствуют в клетках всех эукариот и обеспечивают универсальный механизм транскрипции (Tanabe et al., 2002; James et al., 2006; Liu et al., 2006). Сравнительный филогенетический анализ гена большой субъединицы RPB, включающий сиквенсы двух видов микроспоридий, двух видов грибов (*Saccharomyces cerevisiae* и *Schizosaccharomyces pombe*) и одиннадцати представителей других типов эукариот, сгруппировал микроспоридии с грибами, добавив аргумент в пользу заключения о «позднем» происхождении микроспоридий (Hirt et al., 1999). Серьезнейший недостаток этого анализа, как и большинства других, доказывающих якобы «позднее» происхождение микроспоридий, — отсутствие достаточного для сравнения числа таксонов низших грибов.

Характерно, что чем большее количество сиквенсов низших грибов включалось в анализ, тем более базальным оказывалось положение микроспоридий. Например, включение сиквенсов RPB, принадлежащих 17 представителям *Zygomycota* и *Chytridiomycota*, в филогенетический анализ снизило статистическую поддержку группировки микроспоридий с грибами приблизительно с 0.9 (Hirt et al., 1999) до 0.6 (Tanabe et al., 2002). В проведенном Танабе и соавторами (Tanabe et al., 2002) анализе более достоверной оказалась группировка микроспоридий с животными (Metazoa) и базальная позиция по отношению к грибам. Также было выявлено отсутствие характерной для всех грибов делеции двух аминокислот в микроспоридиальном гене фактора

элонгации трансляции EF 1, что, по мнению авторов (Tanabe et al., 2002), ставит под сомнение близкое родство микроспоридий с грибами.

Увеличение количества сравниваемых генов и включение в анализ большего числа таксонов позволило значительно повысить разрешающую способность и надежность филогенетического анализа. Мультигенные филогенетические построения подтвердили принадлежность микроспоридий к «кроне» и их родственные отношения с грибами, но не разрешили окончательно вопрос о положении микроспоридий в системе в целом. Неожиданной оказалась группировка микроспоридий с *Chytridiomycota* в филогенетическом анализе шести генов 199 представителей различных таксонов грибов и двух видов микроспоридий (James et al., 2006). В результате этого анализа микроспоридии были помещены в один кластер с наиболее базальным представителем типа *Chytridiomycota* — внутриклеточным паразитом хитридиевых грибов — *Rozella allomyces*, как считается, самым примитивным из ныне живущих представителей царства *Fungi* (Bruns, 2006). Хитридиевые — базальная и обособленная ветвь низших грибов, отмеченная анцестральным признаком — присутствием в жизненном цикле жгутиковых зооспор. Предками остальных групп современных грибов зооспоры были утрачены в процессе приспособления к наземному образу жизни (Cavalier-Smith, 2001b). На основании сравнения сиквенсов нескольких генов Джеймс и соавторы (James et al., 2006) делают выводы о парафилетичности хитридиевых грибов, объединенных, по их мнению, лишь на основании наличия анцестральных признаков, и о как минимум четырехкратной потере жгутика в процессе эволюции.⁶ Авторы предполагают, что микроспоридии произошли от эндопаразитического предка одной из групп хитридиевых, подобного *Rozella allomyces*, и представляют собой наиболее рано отделившуюся ветвь филогенетического древа грибов (Bruns, 2006; James et al., 2006). На наш взгляд, не следует переоценивать значение группировки сиквенсов микроспоридий и *R. allomyces* на филогенетическом древе и на этом основании делать вывод о принадлежности микроспоридий к грибам (Hibbett et al., 2007), тем более что клад микроспоридий — *R. allomyces* поддерживается только при сравнении гена одной субъединицы РНК полимеразы 2, но не остальных генов (двух генов рРНК оперона и гена фактора элонгации трансляции), взятых для анализа. Кроме того, статистическая поддержка этого клада невысокая. Объединение неродственных сиквенсов в филогениях может происходить из-за артефакта притяжения сильно измененных генов, каковыми обычно являются сиквенсы внутриклеточных паразитов, а также вследствие недостаточного представительства таксонов низших грибов, многие из которых могут быть неизвестны науке (Tanabe et al., 2004; Bruns, 2006). Кроме того, филогенетический анализ, представленный Джеймсом и соавторами (James et al. 2006), не исключает базального положения микроспоридий по отношению ко всему царству *Fungi*, положения в качестве сестринской группы в отношении *Dikarya*, а также возможной принадлежности к *Entomophthorales* (*Zygomycota*). В то же время этот анализ отвергает другие позиции группы, предложенные ранее, в частности базальное положение по отношению к *Opisthokonta* и *Eucaryota* в целом.

Характерно, что сходное исследование, включающее анализ генов двух субъединиц РРВ, с высокой статистической поддержкой указывает на позицию микроспоридий как сестринской группы по отношению к царству грибов, отвергая все другие позиции (Liu et al., 2006). Авторы не включают в анализ сиквенс *R. allomyces*. В отличие от всех предыдущих работ, в которых группировки микроспоридии с другими таксонами были слабо поддержаны статистически, в этом исследовании суперклад грибы—микроспоридии обеспечен максимальной поддержкой (100 Bayesian posterior probability и 99 maximum likelihood bootstraps).

Анализ протеома микроспоридий ограничен пока аннотацией самого маленького среди эукариот (2.9 МВ) и, возможно, нетипичного генома *Encephalitozoon cuniculi*, а также небольших фрагментов геномов *Paranosema locustae*, *Spraguea lophii* и *Vitta-*

⁶ Существуют не менее убедительные доказательства однократной потери жгутика и монофилетичности зооспоровых грибов (Liu et al., 2006), поэтому данный вопрос остается открытым.

forma corneae. Этот анализ, с одной стороны, подтвердил, что значительное количество микроспориальных белков и белковых кластеров гомологичны грибным, а с другой — выявил несколько существенных различий, ставящих под сомнение их родство с грибами и свидетельствующих, скорее, в пользу «древнего» (базального) положения микроспориид. Наиболее яркий пример — наличие у микроспориид немитохондриальной АТФ-транспортирующей АТФ/АДФ транслоказы, которая также выявлена в растительных хлоропластах и внутриклеточных бактериях (*Rickettsia*, *Chlamydiae*). Предполагается, что микроспорииды и растения могли приобрести этот ген независимо, в результате горизонтального переноса генов (Koonin et al., 2004). Эта альтернативная точка зрения основана на филогенетическом анализе, который подтверждает очень древнее происхождение митохондриальных и немитохондриальных транслоказ (Amiri et al., 2003). Согласно этой точке зрения, ген переносчика присутствовал в бактериальных предшественниках митохондрий и *Rickettsia*, а затем переместился в ядерный геном «проэукариотической» клетки. Во многих группах эукариот этот ген был постепенно утерян. Он сохранился только в растениях, где обеспечивал функцию транспорта АТФ из цитозоля в пластиды, и в микроспоридах для транспорта АТФ из клеток хозяина в свои клетки. Другой фермент столь же древнего происхождения, отсутствующий у грибов, но функционирующий у микроспориид, — 3-метил-аденин ДНК гликозилаза (гликозилирует связи между аденином и дезоксирибозой в процессе удаления поврежденных нуклеотидов). Кроме того, экспрессия в спорах *Paranosema locustae* фосфолиазы класса II (метазойного типа), фермента, участвующего в репарации ДНК, поврежденной ультрафиолетом (Keeling, Slamovits, 2004), и цитоплазматической (непероксисомальной) каталазы протеобактериального типа (Fast et al., 2003) также не вполне согласуется с представлением о «грибных» корнях микроспориид. Сторонники «грибных связей» обычно объясняют наличие этих и других «негрибных» генов и белков латеральным переносом генов и аргументируют эту точку зрения присутствием гена обратной транскриптазы в геномах *Enccephalitozoon cuniculi*, *Spraguea lophii* и *Paranosema locustae*. Однако только будущие исследования покажут, насколько значительную роль играл латеральный перенос генов в формировании геномов микроспориид.

Таким образом, можно констатировать, что точное положение микроспориид в системе эукариот остается неопределенным, их принадлежность к царству *Fungi* — спорной. С достаточной долей вероятности можно говорить лишь о принадлежности микроспориид к супертаксону *Opisthokonta*, объединяющему царства грибов, животных и хоанофлагеллят (James et al., 2006; Liu et al., 2006). Предполагается, что потеря подвижных спор, произошедшая независимо как минимум в четырех группах грибов (предках *Rozella*, *Olpidium*, *Blastocladiomycota* и собственно хитрид) и в микроспоридах, сопровождалась появлением новых механизмов распространения, в частности с помощью воздушной дисперсии спор и/или роста гиф (Bruns, 2006; James et al., 2006; Liu et al., 2006; Hibbett et al., 2007). Механизм экстрезии зародыша спорами микроспориид мог сформироваться как альтернативный способ дисперсии в одной из предковых групп, давшей начало микроспоридам, и помог ей освоить нишу внутриклеточного паразитизма. Исчезновение жгутика во всех этих группах сопровождалось потерей центриоли и возникновением встроенного в ядерную оболочку центра организации микротрубочек.

Наличие родственных связей с грибами никак не противоречит гипотезе о древнем происхождении микроспориид, вопреки довольно популярному среди молекулярных биологов взгляду на микроспорииды как на деградировавших потомков аскомицетов (Keeling, McFadden, 1998; Hirt et al., 1999; Van de Peer et al., 2000). Однако родство микроспориид с последними решительно не подтвердилось позднейшими филогенетическими исследованиями (James et al., 2006; Liu et al., 2006). В настоящее время обсуждаются главным образом возможные связи между микроспоридами и предками низших грибов (*Zygomycota* и *Chytridiomycota*) или дихотомия с *Dikarya* в целом (Gill, Fast, 2006). Грибы — одна из наиболее древних и разнообразных групп эукариот (Hawksworth, 2001). Возраст первых ископаемых остатков грибов —

600 млн лет (Докембрий), а первых наземных грибов — 440 (Силур) (Yuan et al., 2005). Предки последних были связаны с водой и обладали жгутиковыми стадиями, подобно современным *Chytridiomycota*. Способность образовывать симбиотические ассоциации с организмами всех уровней организации, от цианобактерий до сосудистых растений и животных, — фундаментальное свойство грибов и одновременно их эволюционная стратегия. Это свойство сыграло определяющую роль не только в дивергентной эволюции различных групп грибов (James et al., 2006; Liu et al., 2006), но, возможно, и в эволюции жизни на Земле (Heckman et al., 2001). Предшественники современных грибов эволюционировали как симбионты (комменсалы, мутуалисты и паразиты) прокариот и первых эукариот, и весьма вероятно, что предок микроспоридий был уже преадаптирован к внутриклеточному паразитизму. Микроспоридии, этот монофилетичный, широко распространенный и процветающий тип эукариот, состоящий исключительно из внутриклеточных паразитов животных, уникален еще и тем, что, возможно, никогда не имел свободноживущего предка.⁷ Древние корни паразитизма микроспоридий объясняют совершенные и феноменальные приспособления, пронизывающие все уровни организации этих необычных протист: способ проникновения в клетку, взаимоотношения с энергетическими системами клетки хозяина, крайняя редукция генома и метаболических систем и т. д.

С геологической точки зрения диверсификация многочисленных групп эукариот произошла стремительно и одновременно, и последовательность расхождения таксонов от общего предка эукариот определить практически невозможно (Dacks, Doolittle, 2001). Это соображение, высказанное при обсуждении ранней эволюции таксонов эукариот, в полной мере относится к дивергенции групп грибов, возраст которых, рассчитанный по молекулярным часам, составляет 1.5 млрд лет и приблизительно равен предполагаемому времени появления первых эукариот (Heckman et al., 2001). Первые грибы, вероятно, были симбионтами цианобактерий и синезеленых водорослей, подобно некоторым современным представителям *Glomeromycota* (Schussler, 2002). Возникли ли микроспоридии как паразиты одноклеточных, например предков современных *Alveolata*,⁸ а позже через пищевые и паразитарные цепи перешли к паразитированию в многоклеточных? Предположительно наиболее древняя группа микроспоридий, мечниковеллиды (отряд *Metchnikovellida*, класс *Rudimicrosporea*; Sprague, 1977), — гиперпаразиты грегаринов семейства *Leucudinidae*, обитающих в пищеварительном тракте морских полихет, сипункулид и эхиурид (Larsson, 2000). Мечниковеллиды характеризуются набором «примитивных» морфологических признаков, в частности короткой полярной трубкой характерного строения и отсутствием полярнопласта (Vavra et al., 1981; Исси, 1986; Larsson, 2000; Larsson, Koie, 2006). Являются ли мечниковеллиды остатком или прямыми потомками древнейшей фауны морских микроспоридий, или они перешли к паразитированию на простейших вторично, т. е. сначала были паразитами многоклеточных хозяев, а потом внедрились в их паразитов/симбионтов, как это показано для некоторых микроспоридий, заражающих грегаринов из кишечника олигохет (Исси, 1986)? К сожалению, молекулярные данные по мечниковеллидам, так же как и по хитридиопсидам (отряд *Chytridiopsidae*, класс *Microsporea*; Sprague, 1977) — другой, возможно родственной мечниковеллидам, группе «примитивных» микроспоридий, отсутствуют. В свободноживущих пресноводных инфузориях выявлено несколько видов микроспоридий (Fokin et al., 2008). Единственный в настоящее время доступный сиквенс микроспоридии *Euplotespora binucleata* из инфузорий группируется с кластером, включающим в себя виды *Cystosporogenes* spp. из чешуекрылых и вид *Vittaforma corneae*, единственным хозяином которого является *Homo sapiens* (Fokin et al., 2008). Типичная для «высших» микроспоридий структура споры и характер филогенетических связей *E. binucleata* говорит о том, что

⁷ Здесь можно провести аналогию с общим предком *Basidiomycota* и *Glomeromycota*, который предположительно вел паразитический образ жизни (James et al., 2006).

⁸ Среди хозяев микроспоридий более 40 видов грегаринов и инфузорий. В других группах одноклеточных организмов микроспоридии не выявлены.

группа *Cystosporogenes—Vittaforma—Euplotespora*, скорее всего, произошла от общего предка, паразитирующего в членистоногих, споры которого через воду перешли к паразитированию в человеке и в инфузориях-фильтраторах. Могут ли претендовать на родство с мечниковеллидами или хитридиопсидами другие виды микроспоридий, паразитирующие в инфузориях, покажут будущие ультраструктурные и молекулярно-генетические исследования.

Наиболее непротиворечивой представляется точка зрения, основанная на детальном анализе распространения микроспоридий среди групп хозяев (Исси, 1986), согласно которой происхождение микроспоридий связано с переходом их предков к паразитированию в олигохетах и артроподах в Палеозое (Кембрий—Силур, около 400—500 млн лет назад). Расцвет же группы имел место в верхнем Палеозое и Мезозое и был связан с диверсификацией артропод в Карбоне и Триасе (250—350 млн лет назад). Основные группы хозяев встретились с предками микроспоридий при переходе от обитания в типично морских условиях к жизни на литорали, в эстуариях рек и пресноводных водоемах (*Oligochaeta*, *Crustacea*), а также при заселении пресноводных внутренних бассейнов наземными артроподами (*Insecta*, *Hydracarina*), скорее всего, во время частичных регрессий моря в Силуре и Карбоне (Исси, 1986). Характерно, что происхождение первых наземных грибов также датируется Силуром. Если принять точку зрения Джеймса и соавторов (James et al., 2006) об общем происхождении микроспоридий и хитрид, то можно предположить, что современные микроспоридии, как и основные группы грибов, произошли в результате освоения хитридиоподобными предками новой среды обитания. Дальнейшие исследования — ультраструктурные описания и молекулярная характеристика новых видов, выявление ранее неизвестных паразито-хозяинных ассоциаций, и в особенности анализ генетических и экологических связей форм, паразитирующих в простейших и морских беспозвоночных, — позволят более точно датировать происхождение микроспоридий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Исси И. В. Микроспоридии как тип паразитических простейших // Протозоология / Под ред. Т. Бейер, И. Исси. Л.: Наука, 1986. С. 6—136.

Соколова Ю. Я., Снигиревская Е. С., Комиссарчик Ю. Я. Аппарат Гольджи паразитических простейших // Цитология. 2007. Т. 49. С. 163—181.

Adl S. M., Simpson A. G. B., Farmer M. A., Andersen R. A., Anderson O. R., Barta J. R., Browser S. S., Brugerolle G., Fensome R. A., Fredericq S., James T. Y., Karpov S., Kugrens P., Krug J., Lane C. E., Lewis L. A., Lodge J., Lynn D. H., Mann D. G., McCourt R. M., Mendoza L., Moestrup O., Mozley-Standridge S. E., Nerad T. A., Shearer C. A., Smirnov A. V., Spiegel F. W., Taylor M. The new higher level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists // *J. Eukaryotic Microbiol.* 2005. Vol. 52. P. 399—451.

Amiri H., Karlberg O., Andersson S. G. E. Deep origin of plastid/parasite ATP/ADP translocases // *J. Molec. Evolution.* 2003. Vol. 56. P. 137—150.

Arisue N., Hasegawa M., Hashimoto T. Root of the eukaryota tree as inferred from combined maximum likelihood analyses of multiple molecular sequence data // *Molec. Biol. and Evolution.* 2005. Vol. 22. P. 409—420.

Arisue N., Sacher L. B., Weiss L. M., Muller M., Hashimoto T. Mitochondrial-type hsp70 genes of the amitochondriate protists, *Giardia intestinalis*, *Entamoeba histolytica* and two microsporidians // *Parasitol. International.* 2002. Vol. 51. P. 9—16.

Becknel J. J., Andreadis T. G. Microsporidia in insects // *The Microsporidia and Microsporidiosis* / Eds M. Wittner, L. M. Weiss. Washington: American Society of Microbiology, 1999. P. 447—501.

Benjamin R. K. Zygomycetes and their spores // *The whole fungus* / Ed. B. Kendrick. Ottawa: National Museums of Canada, 1979. P. 573—621.

Beznoussenko G. V., Dolgikh V. V., Seliverstova E. V., Semenov P. B., Tokarev Y. S., Trucco A., Micaroni M., Di Giandomenico D., Auinger P., Senderskiy I. V., Skarlato S. O., Snigirevskaya E. S., Komissarchik Y. Y., Pavelka M., De Matteis M. A., Luini A., Sokolova Y. Y., Mironov A. A. Analogs of the Golgi complex in microsporidia: structure and vesicular mechanisms of function // *J. Cell Sci.* 2007. Vol. 120. P. 1288—1298.

Biderre C., Metenier G., Vivares C. P. A small spliceosomal-type intron occurs in a ribosomal protein gene of the microsporidian *Encephalitozoon cuniculi* // *Molec. and Biochem. Parasitol.* 1998. Vol. 94. P. 283—286.

Brown J. R., Doolittle W. F. Root of the universal tree of life base on ancient aminoacyl-transfer-RNA synthetase gene duplications // *Proc. of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 1995. Vol. 92. P. 2441—2445.

Bruns T. Evolutionary biology — a kingdom revised // *Nature.* 2006. Vol. 443. P. 758.

Burri L., Williams B. A. P., Bursac D., Lithgow T., Keeling P. J. Microsporidian mitochondria retain elements of the general mitochondrial targeting system // *Proc. of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2006. Vol. 103. P. 15 916—15 920.

Canning E. U., Vavra J. *Phyllum Microsporida Balbiani 1882 // An Illustrated Guide to the Protozoa* / Eds J. J. Lee et al. Society of Protozoologists, Lawrence Kansas USA, 2000. P. 39—126.

Cavalier-Smith T. A 6-kingdom classification and a united phylogeny // *Endocytobiology II* / Eds W. Schwemmler, H. Schenk. Berlin: Gruyter, 1983. P. 265—279.

Cavalier-Smith T. *Cell evolution // Evolution of life* / Eds S. Osawa, T. Honjo. Tokyo: Springer-Verlag, 1991. P. 271—304.

Cavalier-Smith T. Kingdom Protozoa and its 18 phyla // *Microbiol. Rev.* 1993. Vol. 57. P. 953—994.

Cavalier-Smith T. Obcells as proto-organisms: Membrane heredity, lithophosphorylation, and the origins of the genetic code, the first cells, and photosynthesis // *J. Molec. Evolution.* 2001a. Vol. 53. P. 555—595.

Cavalier-Smith T. What are fungi? // *The Mycota* / Eds D. J. McLaughlin et al. New York: Springer, 2001b. P. 3—37.

Cavalier-Smith T. Economy, speed and size matter: Evolutionary forces driving nuclear genome miniaturization and expansion // *Ann. Bot.* 2005. Vol. 95. P. 147—175.

Corliss J. O. An interim utilitarian (user-friendly) hierarchical classification and characterization of the Protists // *Acta Protozoologica.* 1994. Vol. 33. P. 1—51.

Corradi N., Akiyoshi D. E., Morrison H. G., Feng X., Weiss L. M., Tzipori S., Keeling P. J. Patterns of genome evolution among the microsporidian parasites *Encephalitozoon cuniculi*, *Antonospora locustae* and *Enterocytozoon bieneusi* // *PLoS ONE.* 2007. Vol. 2. P. 1277—1291.

Dacks J. B., Davis L. A. M., Sjogren A. M., Andersson J. O., Roger A. J., Doolittle W. F. Evidence for Golgi bodies in proposed 'Golgi-lacking' lineages // *Proc. of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences.* 2003. Vol. 270. P. S168—S171.

Dacks J. B., Doolittle W. F. Reconstructing/deconstructing the earliest eukaryotes: How comparative genomics can help // *Cell.* 2001. Vol. 107. P. 419—425.

Edlind T. D., Li J., Visvesvara G. S., Vodkin M. H., McLaughlin G. L., Katiyar S. K. Phylogenetic analysis of beta-tubulin sequences from amitochondrial protozoa // *Molec. Phylogenet. and Evolution.* 1996. Vol. 5. P. 359—367.

Edman J. C., Kovacs J. A., Masur H., Santi D. V., Elwood H. J., Sogin M. L. Ribosomal RNA sequence shows *Pneumocystis carini* to be a member of the Fungi // *Nature.* 1988. Vol. 334. P. 519—522.

Fast N. M., Doolittle W. F. *Trichomonas vaginalis* possesses a gene encoding the essential spliceosomal component, PRP8 // *Molec. and Biochem. Parasitol.* 1999. Vol. 99. P. 275—278.

Fast N. M., Law J. S., Williams B. A., Keeling P. J. Bacterial catalase in the microsporidian *Nosema locustae*: implications for microsporidian metabolism and genome evolution // *Eukaryot Cell.* 2003. Vol. 2. P. 1069—1075.

Fast N. M., Roger A. J., Richardson C. A., Doolittle W. F. U2 and U6 snRNA genes in the microsporidian *Nosema locustae*: evidence for a functional spliceosome // *Nucl. Acids Res.* 1998. Vol. 26. P. 3202—3207.

Felsenstein J. Cases in which parsimony or compatibility methods will be positively misleading // *Systematic Zoology*. 1978. Vol. 27. P. 401—410.

Findley A. M., Weidner E. H., Carman K. R., Xu Z. M., Godbar J. S. Role of the posterior vacuole in *Spraguea lophii* (Microsporidia) spore hatching // *Folia Parasitologica*. 2005. Vol. 52. P. 111—117.

Fischer W. M., Palmer J. D. Evidence from small-subunit ribosomal RNA sequences for a fungal origin of Microsporidia // *Molec. Phylogenet. and Evolution*. 2005. Vol. 36. P. 606—622.

Flegel T. W., Pasharawipas T. A proposal for typical eukaryotic meiosis in microsporidians // *Can. J. Microbiol.* 1995. Vol. 41. P. 1—11.

Fokin S. I., Di Giuseppe G., Erra F., Dini F. *Euplotespora binucleata* n. gen., n. sp (Protozoa : Microsporidia), a parasite infecting the hypotrichous ciliate *Euplotes woodruffi*, with observations on microsporidian infections in Ciliophora // *J. Eukaryotic Microbiol.* 2008. Vol. 55. P. 214—228.

Germot A., Philippe H., LeGuyader H. Evidence for loss of mitochondria in Microsporidia from a mitochondrial-type HSP70 in *Nosema locustae* // *Molec. and Biochem. Parasitol.* 1997. Vol. 87. P. 159—168.

Gill E. E., Fast N. M. Assessing the microsporidia-fungi relationships: combined phylogenetic analysis of eight genes // *Gene*. 2006. P. 103—109.

Hausmann S., Vivares C. P., Shuman S. Characterization of the mRNA capping apparatus of the microsporidian parasite *Encephalitozoon cuniculi* // *J. Biol. Chem.* 2002. Vol. 277. P. 96—103.

Hawksworth D. L. The magnitude of fungal diversity: the 1.5 million species estimate revisited // *Mycol. Res.* 2001. Vol. 105. P. 1422—1432.

Heckman D. S., Geiser D. M., Eidell B. R., Stauffer R. L., Kardos N. L., Hedges S. B. Molecular evidence for the early colonization of land by fungi and plants // *Science*. 2001. Vol. 293. P. 1129—1133.

Hibbett D. S., Binder M., Bischoff J. F., Blackwell M., Cannon P. F., Eriksson O. E., Huhndorf S., James T., Kirk P. M., Lücking R., Lumbsch H. T., Lutzoni F., Matheny P. B., McLaughlin D. J., Powell M. J., Redhead S., Schoch C. L., Spatafora J. W., Stalpers J. A., Vilgalys R., Aime M. C., Aptroot A., Bauer R., Begerow D., Benny G. L., Castlebury L. A., Crous P. W., Dai Y. C., Gams W., Geiser D. M., Griffith G. W., Gueidan C., Hawksworth D. L., Hestmark G., Hosaka K., Humber R. A., Hyde K. D., Ironside J. E., Koljalg U., Kurtzman C. P., Larsson K. H., Lichtwardt R., Longcore J., Miadlikowska J., Miller A., Moncalvo J. M., Mozley-Standridge S., Oberwinkler F., Parmasto E., Reeb V., Rogers J. D., Roux C., Ryvarden L., Sampaio J. P., Schussler A., Sugiyama J., Thorn R. G., Tibell L., Untereiner W. A., Walker C., Wang Z., Weir A., Weiss M., White M. M., Winka K., Yao Y. J., Zhang N. A higher-level phylogenetic classification of the Fungi // *Mycol. Res.* 2007. Vol. 111. P. 509—547.

Hirt R. P., Healy B., Vossbrinck C. R., Canning E. U., Embley T. M. A mitochondrial Hsp70 orthologue in *Vairimorpha necatrix*: Molecular evidence that microsporidia once contained mitochondria // *Curr. Biology*. 1997. Vol. 7. P. 995—998.

Hirt R. P., Logsdon J. M., Healy B., Dorey M. W., Doolittle W. F., Embley T. M. Microsporidia are related to Fungi: Evidence from the largest subunit of RNA polymerase II and other proteins // *Proc. of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1999. Vol. 96. P. 580—585.

Ingold C. T. Mechanisms of liberation of spores and pollen // *Hautarzt*. 1972. Vol. 23. P. 40—55.

James T. Y., Kauff F., Schoch C. L., Matheny P. B., Hofstetter V., Cox C. J., Celio G., Gueidan C., Fraker E., Miadlikowska J., Lumbsch H. T., Rauhut A., Reeb V., Arnold A. E., Amtoft A., Stajich J. E., Hosaka K., Sung G. H., Johnson D., O'Rourke B., Crockett M., Binder M., Curtis J. M., Slot J. C., Wang Z., Wilson A. W., Schussler A., Longcore J. E., O'Donnell K., Mozley-Standridge S., Porter D., Letcher P. M., Powell M. J., Taylor J. W., White M. M., Griffith G. W., Davies D. R.,

Humber R. A., Morton J. B., Sugiyama J., Rossman A. Y., Rogers J. D., Pfister D. H., Hewitt D., Hansen K., Hambleton S., Shoemaker R. A., Kohlmeyer J., Volkmann-Kohlmeyer B., Spotts R. A., Serdani M., Crous P. W., Hughes K. W., Matsuura K., Langer E., Langer G., Untereiner W. A., Lucking R., Budel B., Geiser D. M., Aptroot A., Diederich P., Schmitt I., Schultz M., Yahr R., Hibbett D. S., Lutzoni F., McLaughlin D. J., Spatafora J. W., Vilgalys R. Reconstructing the early evolution of Fungi using a six-gene phylogeny // *Nature*. 2006. Vol. 443. P. 818—822.

Kamaishi T., Hashimoto T., Nakamura Y., Masuda Y., Nakamura F., Okamoto K., Shimizu M., Hasegawa M. Complete nucleotide sequences of the genes encoding translation elongation factors 1 alpha and 2 from a microsporidian parasite, *Glugea plecoglossi*: Implications for the deepest branching of eukaryotes // *J. Biochemistry*. 1996a. Vol. 120. P. 1095—1103.

Kamaishi T., Hashimoto T., Nakamura Y., Nakamura F., Murata S., Okada N., Okamoto K., Shimizu M., Hasegawa M. Protein phylogeny of translation elongation factor EF-1 alpha suggests microsporidians are extremely ancient eukaryotes // *J. Molec. Evolution*. 1996b. Vol. 42. P. 257—263.

Katinka M. D., Duprat S., Cornillot E., Metenier G., Thomarat F., Prensier G., Barbe V., Peyretailade E., Brottier P., Wincker P., Delbac F., El Alaoui H., Peyret P., Saurin W., Gouy M., Weissenbach J., Vivares C. P. Genome sequence and gene compaction of the eukaryote parasite *Encephalitozoon cuniculi* // *Nature*. 2001. Vol. 414. P. 450—453.

Keeling P. J. Parasites go the full monty // *Nature*. 2001. Vol. 414. P. 401—402.

Keeling P. J. Congruent evidence from alpha-tubulin and beta-tubulin gene phylogenies for a zygomycete origin of microsporidia // *Fungal Genetics and Biology*. 2003. Vol. 38. P. 298—309.

Keeling P. J., Doolittle W. F. Alpha-tubulin from early-diverging eukaryotic lineages and the evolution of the tubulin family // *Molec. Biol. and Evolution*. 1996. Vol. 13. P. 1297—1305.

Keeling P. J., Fast N. M. Microsporidia: Biology and evolution of highly reduced intracellular parasites // *Ann. Rev. Microbiol.* 2002. Vol. 56. P. 93—116.

Keeling P. J., Fast N. M., Law J. S., Williams B. A. P., Slamovits C. H. Comparative genomics of microsporidia // *Folia Parasitologica*. 2005. Vol. 52. P. 8—14.

Keeling P. J., McFadden G. I. Origins of microsporidia // *Trends in Microbiology*. 1998. Vol. 6. P. 19—23.

Keeling P. J., Slamovits C. H. Simplicity and complexity of microsporidian genomes // *Eukaryotic Cell*. 2004. Vol. 3. P. 1363—1369.

Keoghane E. M., Weiss L. M. The structure, function, and composition of the microsporidian polar tube // *The Microsporidia and Microsporidiosis* / Eds M. Wittner, L. M. Weiss. Washington: American Society of Microbiology, 1999. P. 196—224.

Koonin E. V., Fedorova N. D., Jackson J. D., Jacobs A. R., Krylov D. M., Makarova K. S., Mazumder R., Mekhedov S. L., Nikolskaya A. N., Rao B. S., Rogozin I. B., Smirnov S., Sorokin A. V., Sverdlov A. V., Vasudevan S., Wolf Y. I., Yin J. J., Natale D. A. A comprehensive evolutionary classification of proteins encoded in complete eukaryotic genomes // *Genome Biology*. 2004. Vol. 5(2). P. R7.

Kudo R. A biological and taxonomic study of the microsporidia // *Illinois Biol. Monograph*. 1924. Vol. 9. P. 1—268.

Kudo R. Protozoology 5th ed. / Ed. C. T. Charles. Springfield, Illinois, 1966. 568 p.

Labbe A. Sporozoa // Friedlander u Sohn. Berlin, 1899. 218 S.

Larsson J. I. R. The hyperparasitic microsporidium *Amphiacantha longa* Caullery et Mesnil, 1914 (Microspora: Metchnikovellidae) — description of the cytology, redescription of the species, emended diagnosis of the genus *Amphiacantha* and establishment of the new family *Amphiacanthidae* // *Folia Parasitologica*. 2000. Vol. 47. P. 241—256.

Larsson J. I. R., Koie M. The ultrastructure and reproduction of *Amphiamblys capitellides* (Microspora, Metchnikovellidae), a parasite of the gregarine *Ancora sagittata* (Apicomplexa, Lecudinidae), with redescription of the species and comments on the taxonomy // *Europ. J. Protistology*. 2006. Vol. 42. P. 233—248.

Levine N. D., Corliss J. O., Cox F. E. G., Deroux G., Grain J., Honigberg B. M., Leedale G. F., Loeblich A. R., Lom J., Lynn D., Merinfeld E. G., Page F. C., Poljan-sky G., Sprague V., Vavra J., Wallace F. G. A newly revised classification of the Protozoa // *J. Protozoology*. 1980. Vol. 27. P. 37—58.

Liu Y. J., Hodson M. C., Hall B. D. Loss of the flagellum happened only once in the fungal lineage: phylogenetic structure of Kingdom Fungi inferred from RNA polymerase II subunit genes // *BMC Evolut. Biol.* 2006. Vol. 6. P. 1—13.

Philippe H., Laurent J. How good are deep phylogenetic trees? // *Curr. Opin. in Genet. De-velopment*. 1998. Vol. 8. P. 616—623.

Philippe H., Lopez P., Brinkmann H., Budin K., Germot A., Laurent J., More-ira D., Muller M., Le Guyader H. Early-branching or fast-evolving eukaryotes? An answer ba-sed on slowly evolving positions // *Proc. of the Royal Society of London Series B-Biological Scien-ces*. 2000. Vol. 267. P. 1213—1221.

Roger A. J. Reconstructing early events in eukaryotic evolution // *Amer. Naturalist*. 1999. Vol. 154. P. S146—S163.

Schussler A. Molecular phylogeny, taxonomy, and evolution of *Geosiphon pyriformis* and arbuscular mycorrhizal fungi // *Plant and Soil*. 2002. Vol. 244. P. 75—83.

Slamovits C. H., Fast N. M., Law J. S., Keeling P. J. Genome compaction and stability in microsporidian intracellular parasites // *Curr. Biol.* 2004. Vol. 14. P. 891—896.

Sokolova Y. Y., Mironov A. A. Structure and function of the Golgi organelle in parasitic protists // *The Golgi Apparatus. State of art 110 years after Camillo Golgi's discovery* / Eds A. Miro-nov, M. Pavelka. Wienn; New York: Springer, 2008. P. 647—675.

Sprague V. Classification and phylogeny of the Microsporidia // *Comparative Pathobiology*/ Eds J. L. A. Bulla, T. C. Cheng. New York; London: Plenum Press, 1977. P. 1—31.

Sprague V., Becnel J. J., Hazard E. I. Taxonomy of Phylum Microspora // *Crit. Rev. in Microbiol.* 1992. Vol. 18. P. 285—395.

Tanabe Y., O'Donnell K., Saikawa M., Sugiyama J. Molecular phylogeny of parasitic Zygomycota (Dimargaritales, Zoopagales) based on nuclear small subunit ribosomal DNA sequen-ces // *Molec. Phylogenet. and Evolution*. 2000. Vol. 16. P. 253—262.

Tanabe Y., Saikawa M., Watanabe M. M., Sugiyama J. Molecular phylogeny of Zy-gomycota based on EF-1 alpha and RPB1 sequences: limitations and utility of alternative markers to rDNA // *Molec. Phylogenet. and Evolution*. 2004. Vol. 30. P. 438—449.

Tanabe Y., Watanabe M. M., Sugiyama J. Are Microsporidia really related to Fungi?: a reappraisal based on additional gene sequences from basal fungi // *Mycol. Res.* 2002. Vol. 106. P. 1380—1391.

Van de Peer Y., Ben Ali A., Meyer A. Microsporidia: accumulating molecular evidence that a group of amitochondriate and suspectedly primitive eukaryotes are just curious fungi // *Gene*. 2000. Vol. 246. P. 1—8.

Vavra J., Canning E. U., Barker R. J., Desportes I. Characters of microsporidia gene-ra // *Parasitology*. 1981. Vol. 82. P. 131—142.

Vavra J., Larsson R. Structure of Microsporidia // *The Microsporidia and Microspori-diosis* / Eds M. Wittner, L. M. Weiss. Washington: American Society of Microbiology, 1999. P. 55—77.

Vossbrinck C. R., Maddox J. V., Friedman S., Debrunner-Vossbrinck B. A., Woese C. R. Ribosomal-RNA sequence suggests Microsporidia are extremely ancient eukaryotes // *Nature*. 1987. Vol. 326. P. 411—414.

Vossbrinck C. R., Woese C. R. Eukaryotic ribosomes that lack a 5.8s RNA // *Nature*. 1986. Vol. 320. P. 287—288.

Weidner E., Findley A. Peroxisomal catalase in extrusion apparatus posterior vacuole of microsporidian spores // *Biol. Bull.* 2002. Vol. 203. P. 212.

Weidner E., Findley A. Catalase in microsporidian spores before and during discharge // *Biol. Bull.* 2003. Vol. 205. P. 236—237.

Williams B. A. P., Hirt R. P., Lucocq J. M., Embley T. M. A mitochondrial remnant in the microsporidian *Trachipleistophora hominis* // *Nature*. 2002. Vol. 418. P. 865—869.

Williams B. A. P., Keeling P. J. Microsporidian mitochondrial proteins: expression in *An-tonospora locustae* spores and identification of genes coding for two further proteins // J. Eukaryotic Microbiol. 2005. Vol. 52. P. 271—276.

Williams B. A. P., Slamovits C. H., Patron N. J., Fast N. M., Keeling P. J. A high frequency of overlapping gene expression in compacted eukaryotic genomes // Proc. of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2005. Vol. 102. P. 10 936—10 941.

Yuan X. L., Xiao S. H., Taylor T. N. Lichen-like symbiosis 600 million years ago // Science. 2005. Vol. 308. P. 1017—1020.

Институт цитологии РАН
Санкт-Петербург
jumicro@yahoo.com

Поступила VII 2008

РЕЗЮМЕ

Microsporidia Balbiani, 1882 — уникальная группа внутриклеточных паразитических эукариот, в последние два десятилетия привлекающая к себе все возрастающее внимание исследователей, в особенности медиков и эволюционных биологов. Совершенные приспособления к паразитизму, выраженные, с одной стороны, в редукции ряда органелл, генов и метаболических путей, а с другой — в эволюции сложнейших механизмов внедрения и взаимодействия с клеткой хозяина, изменили до неузнаваемости признаки родственных связей микроспоридий с другими эукариотами как на морфологическом, так и на молекулярном уровне. Исторически микроспоридий относили к простейшим, однако в последние 10—15 лет накопились убедительные молекулярные и биохимические доказательства, свидетельствующие в пользу родства микроспоридий с грибами или даже принадлежности микроспоридий к царству *Fungi*. В настоящий момент наиболее вероятными представляются следующие позиции микроспоридий на филогенетическом древе (в порядке убывания вероятности): 1) сестринская группа по отношению к *Fungi* в целом, 2) сестринская группа по отношению к *Chytridiomycota*; 3) группа *Zygomycota*; 4) сестринская группа по отношению к высшим грибам *Dikarya*. Настоящий обзор — попытка суммировать и критически проанализировать многочисленные и противоречивые данные по филогенетике и происхождению микроспоридий.

Ключевые слова: *Microsporidia*, *Fungi*, молекулярная филогения, происхождение микроспоридий.

SUMMARY

Phylum *Microsporidia* Balbiani 1882, a unique group of intracellular parasitic eukaryotes, during the last two decades have been in a focus of increasing attention of scientists, in particular evolutionary biologists and physicians. Profound adaptations to the parasitic lifestyle, leading to extreme reduction of organelles, genes and metabolic pathways but also to evolving sophisticated mechanisms of infection and interaction with host cells have altered beyond recognition morphological and molecular markers of evolutionary relationships of microsporidia with other eukaryotes. *Microsporidia* used to be classified as Protozoa, but molecular and biochemical data accumulated during last 10—15 years suggest *Microsporidia* are probably closely related to *Fungi*, or even belong to the Kingdom *Fungi*. The following positions of *Microsporidia* on the Tree of Life are considered as the most likely (in the order of decreasing probability): 1) as a sister group to *Fungi*; 2) as a sister group to *Chytridiomycota*; 3) as a taxon of *Zygomycota*; 4) as a sister group to *Dikarya*. This review is an attempt to summarize and critically analyze the controversial data on molecular phylogeny and origin of microsporidia.

Key words: *Microsporidia*, *Fungi*, molecular phylogeny, origin of microsporidia.