

доступных генетических маркеров для определения видовой принадлежности изучаемых организмов (Barcode of Life programme) [1]. В качестве основного молекулярного маркера для грибов была предложена ITS последовательность и создана база данных – Fungal Barcoding Database (www.fungalbarcoding.org). На данный момент более 100 000 грибных ITS последовательностей депонировано в различные электронные базы данных, и эта цифра неуклонно растет в связи с повышающейся доступностью техники секвенирования по всему миру. Однако пока еще не существует эффективных мер контроля депонирования такого огромного количества данных. В базах данных встречается множество неотредактированных последовательностей, включающих всевозможные ошибки секвенирования, особенно по 5'- и 3'-концам последовательностей. Также некоторые последовательности бывают неправиль-

но определены, например, на видовом уровне, или находятся под устаревшими или уже не используемыми названиями. Поэтому для проведения филогенетических исследований с особой осторожностью должен проводиться подбор референсных последовательностей из электронных баз данных [2].

Современные методы геномики позволяют уже сейчас сопоставлять информацию о полных ядерных геномах и геномах органелл. Однако даже такие сравнения не всегда способны дать однозначный ответ о происхождении и путях эволюции тех или иных групп организмов в силу пока еще ограниченности данных по секвенированию геномов и их аннотации. В докладе будут обсуждены преимущества и недостатки современных методов секвенирования – пиросеквенирование и секвенирование на микрочипах – с точки зрения методологических подходов в геносистематике.

Список литературы

1. Hebert P., Cywinska A., Ball S.L., deWaardet J. R. Biological identifications through DNA barcodes // Proceedings of the Royal Society London, Biological Science. 2003. Vol. 270. № 2. P. 313–321.
2. Bellemain E., Carlsen T., Brochmann C., Coissac E., Taberlet P., Kausrud H. ITS as an environmental DNA barcode for fungi: an in silico approach reveals potential PCR biases // BMC Microbiology. 2010. Vol. 10, № 1. P. 189–198.

А. П. Юрков^{1,2}, Н. Е. Гапеева¹, Л. М. Якоби¹

¹Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии
г. Санкт-Петербург, Россия
²Российский государственный гидрометеорологический университет
г. Санкт-Петербург, Россия
e-mail: yurkovandrey@yandex.ru

СИМБИОТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ ГРИБОВ АРБУСКУЛЯРНОЙ МИКОРИЗЫ: МОДЕЛЬНАЯ СИСТЕМА*

Одним из самых распространенных типов растительно-микробных ассоциаций является арбускулярная микориза (АМ), формируемая большинством видов (>80 %) высших наземных растений с грибами монофилетической группы – отдела Glomeromycota, включающего ~150 видов [1]. В условиях среднего и низ-

кого уровня доступного для питания растений фосфора (Рд) в почве АМ обладает существенной симбиотической эффективностью. Под симбиотической эффективностью понимается получаемая за счет инокуляции растений АМ-грибом прибавка показателей продуктивности (веса надземных частей и корней, высо-

© Юрков А. П., Гапеева Н. Е., Якоби Л. М., 2015

* Работа выполнена при государственной финансовой поддержке ГК 16.740.11.0344, гранта Президента РФ МК–5964.2013.4 с использованием оборудования ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ВНИИСХМ и оборудования РЦ «Развитие молекулярных и клеточных технологий» СПбГУ (проект 109–98).

ты стеблей, площади листовой поверхности и др.) и содержания фосфора в тканях растений. Симбиотическая эффективность АМ-грибов является комплексным показателем и контролируется рядом генов как со стороны растения-хозяина, так и со стороны микосимбионта. Несмотря на большое количество данных, посвященных анализу разнообразия структур АМ, механизмы инициации ее формирования, а также способы регуляции эффективности данного типа симбиотических отношений во многом еще остаются неясными.

В условиях вегетационного опыта (условия опыта по [2]) на 85-е сут. от посадки проведен сравнительный анализ симбиотической эффективности АМ-грибов рода *Glomus*. Результаты показали, что несмотря на то, что все анализируемые штаммы были достоверно эффективными в условиях низкого уровня Рд в почве, их эффективность была практически по всем параметрам одинаковой (табл. 1, неопубликованные данные). С другой стороны, исследования авторов показали наличие существенного полиморфизма по симбиотической эффективности АМ на люцерне хмелевидной как на внутривидовом уровне [2], так и на внутривидовом уровне [4]. В совокупности эти данные свидетельствуют о том, что генотип растения-хозяина является определяющим в формировании эффективного симбиоза с АМ-грибом.

В связи с вышесказанным актуальным направлением исследований следует считать се-

лекцию высокоотзывчивой на инокуляцию АМ-грибом растительной линии с получением на ней мутантов с неактивной АМ в условиях низкого уровня Рд в почве. Наличие существенного полиморфизма по симбиотической эффективности позволило выделить быстроотзывчивую на микоризацию линию MLS-1 люцерны хмелевидной (*Medicago lupulina* L. var. *vulgaris* Koch, самоопылитель, диплоид с высокой семенной продуктивностью). Сравнивая люцерну хмелевидную с известными модельными растениями для изучения стадий формирования АМ, такими как: люцерна слабоусеченная (*Medicago truncatula* Gaertn., размер генома – 472 Мб) и горох посевной (*Pisum sativum* L., размер генома – 3947–4397 Мб; [6]), следует отметить, что размер генома *M. lupulina* (полностью еще не секвенирована) сопоставим с размером *M. truncatula* и существенно меньше генома *P. sativum*. Линия MLS-1 *M. lupulina* является облигатно микотрофным растением в условиях низкого уровня Рд в почве, нормально развиваясь при инокуляции АМ-грибом, но обладающая признаками карликовости (мелкая листовая пластинка, отсутствие кущения) без инокуляции. Экологическая облигатность данной линии показана для определенных условий среды: низкий уровень Рд в почве при режиме смены дня и ночи – 18/6 ч с температурой воздуха 24/22 °С, соответственно [3]. На линии MLS-1 с применением этилметансульфоната получен ряд мутантных линий, включая линию III-1-18 с неактивной микоризой

Таблица 1

Показатели продуктивности и симбиотической эффективности люцерны хмелевидной (линия S2m1) при инокуляции штаммами АМ-грибов различного происхождения

Вариант инокуляции	Высота гл. стебля, см	Кустистость, число стеблей	Сырой вес надземных частей, г	Сухой вес надземных частей, г	Эффективность АМ (%), рассчитанная по		
					высоте	сырому весу	сухому весу
без АМ	17,3 ± 1,1	0	0,24 ± 0,03	0,07 ± 0,01	–	–	–
шт. 39	44,9 ± 2,2	5,8 ± 0,4	3,37 ± 0,34	0,92 ± 0,16	160	1332	1318
шт. 84	48,4 ± 1,1	5,7 ± 0,3	3,36 ± 0,24	1,02 ± 0,08	181	1328	1475
шт. 10	47,7 ± 2,0	4,7 ± 0,2	3,57 ± 0,31	1,03 ± 0,11	177	1417	1477
шт. 86	50,1 ± 1,3	5,1 ± 0,2	3,59 ± 0,19	1,07 ± 0,07	190	1427	1543
шт. 30	50,1 ± 1,4	5,3 ± 0,3	3,72 ± 0,33	1,07 ± 0,12	190	1483	1548
шт. 41	49,4 ± 1,3	5,1 ± 0,3	3,39 ± 0,22	1,09 ± 0,06	186	1343	1578
шт. 82	50,9 ± 0,9	5,8 ± 0,3	3,87 ± 0,41	1,1 ± 0,01	195	1547	1586
шт. 47	51,4 ± 1,5	5,3 ± 0,2	3,6 ± 0,13	1,12 ± 0,06	198	1430	1617
шт. 34	51,7 ± 1,0	5,2 ± 0,1	3,48 ± 0,27	1,28 ± 0,1	200	1381	1865

при инокуляции высокоэффективный штамм АМ-гриба RCAM00320 *Glomus intraradices* из коллекции ГНУ ВНИИСХМ [3]. Выход мутантов был высоким и составил до 4,5 % (в зависимости от режима обработки), что на порядок выше, чем в исследованиях *P. sativum*, *Vicia faba*, *M. truncatula* зарубежных и российских коллег [7–9]. Мутант III–1–18 не обладает автотрофным типом питания в условиях низкого уровня доступного для растений фосфора в почве вследствие того, что исходная линия MIS-1 является облигатно симбиотрофной в этих условиях. Показана стабильность наследования признаков в ряду 2–10 поколений.

Первые результаты трансмиссионной электронной и конфокальной лазерной микроскопии исходной и мутантной линии показали, что внутрикорневые гифы гриба в корнях мутанта, как и стенка везикул гриба, более тонкие, морфотип арбускул мутанта – аморфные с отклонениями в развитии несущей гифы и редуцированным ветвлением. Выдвинута ги-

потеза о том, что нарушения регуляции роста растения-хозяина (линии III–1–18) приводят к формированию дистрофичной АМ – недостаточному снабжению микосимбионта углеводами в условиях низкого уровня Рд в почве [5].

Таким образом, люцерна хмелевидная (исходная линия MIS-1 и мутантная линия III–1–18) является новым удобным объектом в модельной растительно-микробной системе (РМС) для исследования механизмов, контролирующих симбиотическую эффективность АМ. Знание этих механизмов в перспективе позволит селектировать новые высокоэффективные РМС с участием АМ-грибов для применения последних в сельском хозяйстве и других сферах деятельности человека (лесных питомниках, ботанических садах, городском озеленении и пр.). Симбиотическая эффективность различных инокулятов АМ-грибов уже показана в полевых испытаниях на ряде сельскохозяйственных культур в различных природных зонах РФ.

Список литературы

1. Смит С. Э., Рид Д. Дж. Микоризный симбиоз. М.: Тов. науч. изд. КМК. 2012. 776 с.
2. Юрков А. П., Якоби Л. М., Степанова Г. В. и др. Эффективность инокуляции форм люцерны хмелевидной грибом арбускулярной микоризы *Glomus intraradices* и внутрипулационная изменчивость растений по показателям продуктивности и микоризообразования // Сельскохозяйств. биол. 2007. № 5. С. 67–74.
3. Юрков А. П., Якоби Л. М. Получение мутантов люцерны хмелевидной (*Medicago lupulina*) с изменениями развития арбускулярной микоризы // Естественные и технические науки. 2011. № 6 (56). С. 127–133.
4. Юрков А. П., Якоби Л. М., Дзюбенко Н. И. и др. Полиморфизм популяции Павловская люцерны хмелевидной по показателям продуктивности, микоризации и эффективности симбиоза с *Glomus intraradices* // Сельскохозяйств. биол. 2011. № 3. С. 65–70.
5. Юрков А. П., Якоби Л. М., Ганеева Н. Е., Шишова М. Ф. Особенности развития арбускулярной микоризы и ее ультраструктурный анализ у сильно микотрофной люцерны хмелевидной и мутанта с отклонениями в симбиотической эффективности // Естественные и технические науки. 2014. № 11–12. С. 72–79.
6. Arumuganathan K., Earle E. D. Nuclear DNA content of some important plant species // Plant Mol. Biol. Rep. 1991. V. 9. P. 208–219.
7. Borisov A. Y., Barmicheva E. M., Jacobi L. M. et al. Pea (*Pisum sativum* L.) mendelian genes controlling development of nitrogen-fixing nodules and arbuscular mycorrhiza // Czech J. Genet. Plant Breed. 2000. V. 36. P. 106–110.
8. Duc G., Trouvelot A., Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S. First report of non-mycorrhizal plant mutants (Myc⁻) obtained in pea (*Pisum sativum* L.) and fababean (*Vicia faba* L.) // Plant Sci. 1989. V. 60. P. 215–222.
9. Sagan M., Morandi D., Tarenghi E., Duc G. Selection of nodulation and mycorrhizal mutants in the model plant *Medicago truncatula* (Gaertn.) after X-ray mutagenesis // Plant Sci. 1995. V. 111. P. 63–71.

A. P. Yurkov^{1,2}, N. E. Gapeeva¹, L. M. Jacobi¹

¹All-Russia Research Institute for Agricultural Microbiology,
St Petersburg

²Russian State Hydrometeorological University, St Petersburg
e-mail: yurkovandrey@yandex.ru

SYMBIOTIC EFFICIENCY OF ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI: MODEL SYSTEM

Summary. It was shown the host plant genotype was crucial in formation of effective symbiosis with arbuscular mycorrhizal fungus, but not fungus genotype. To analyze symbiotic efficiency of arbuscular mycorrhizal fungi under conditions of low phosphorus level in soil a new model plant-microbe system was developed: 1) wild type – ecologically obligate mycotrophic black medic line; 2) mutant black medic line, forming ineffective dystrophic mycorrhiza; 3) high effective arbuscular mycorrhizal fungus.

This work was partially financially supported by the Government of Russian Federation (GC 16.740.11.0344), grant of President of The Russian Federation (МК–5964.2013.4). The research was performed using equipment of the Core Center «Genomic Technologies, Proteomics and Cell Biology» in ARRIAM and equipment of Research Resource Center for molecular and cell technologies of Saint-Petersburg State University (109–98 project).

Е. О. Юрченко¹, Ш.-Х. У²

¹Полесский государственный университет
г. Пинск, Беларусь

²Национальный музей естествознания
Тайчун, Тайвань
e-mail: eugene_yu@tut.by

HYPHODONTIA SENSU LATO: ОПЫТ ГЛОБАЛЬНОЙ ИНВЕНТАРИЗАЦИИ РОДА*

Род *Hyphodontia* J. Erikss. – один из крупнейших среди грибов отдела Basidiomycota. *Hyphodontia* s. l. характеризуется не только значительным видовым и внутривидовым разнообразием, но и выступает как род-убиквист для лесных сообществ в различных природных зонах. На основании изучения выборок кортициоидных грибов из лесных ценозов Беларуси [8, 9] и Тайваня есть предпосылки для прогностического заключения, что представители рода обитают в каждом или почти в каждом конкретном лесном сообществе.

Согласно таксономическому обзору [2] предлагается отнести виды *Hyphodontia* s. l. к 13 производным родам (*Hyphodontia* s. str., *Xylodon*, *Kneiffiella*, *Schizopora*, *Lyomyces*, *Palifer*, *Lagarobasidium*, *Chaetoporellus*, *Hastodontia*, *Alutaceodontia*, *Deviodontia*, *Rogersella*, *Fibrodontia*). С филогенетической точки зрения правомерно

рассматривать в составе *Hyphodontia* s. l. первые 12 родов, относящихся к естественному порядку *Hymenochaetales*, а род *Fibrodontia* исключить как представителя трехиспороидной линии (*Trechisporales*). Специальное исследование *Fibrodontia* [10] подтвердило родство данного рода с *Trechispora*. При изучении морфологии гифодонций установлено, что обобщающей чертой перечисленных 12 родов выступает «гифодонтиоидная» организация базидий. При этом в базидии имеется слегка расширенная пробазидиальная часть, короткая метабазилиальная часть и центральная перетяжка. Последняя проявляется от едва заметной до довольно отчетливой. Базидии гифодонций, как правило, не вытянуты в хорошо выраженное зауженное основание. Тем не менее описаны 6 видов, скомбинированных в роде *Botryodontia*, имеющие иную форму базидии – обратно-

© Юрченко Е. О., У Ш.-Х., 2015