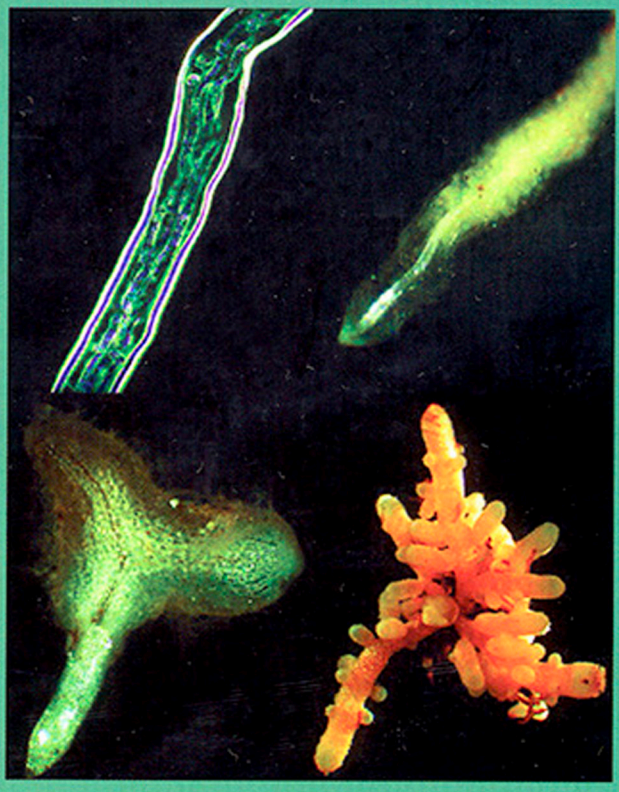
МИКОРИЗНЫЙ СИМБИОЗ



С.Э. Смит, Д.Дж. Рид

МИКОРИЗНЫЙ СИМБИОЗ

Перевод с третьего английского издания
Е.Ю. Ворониной

Товарищество научных изданий КМК
Москва 2012

УДК 581.557+574.4+579 ББК 28.5+28.4 М59

С.Э. Смит, Д.Дж. Рид. Микоризный симбиоз. Пер. с 3-го англ., издания Е.Ю. Ворониной. Москва: Товарищество научных изданий КМК. 2012. 776 с.

Книга представляет собой обзор, обобщающий результаты фундаментальных разносторонних исследований микоризы, как классических, так и современных, и отражающий самые разнообразные аспекты изучаемой проблемы. Авторы, признанные специалисты в области изучения микориз, подробно рассматривают взаимоотношения симбионтов на всех уровнях: от молекулярно-генетического (сигнальные системы для узнавания и «генный диалог» в ходе формирования симбиоза) до биогеоценотического (влияния микориз на структуру фитоценоза, сукцессионные процессы и круговороты биогенных элементов). Особое внимание уделено тем областям изучения микориз, исследование которых было начато недавно (генетические основы симбиоза, ассоциативные связи с микроорганизмами), или тем, в которых накопление новых данных привело к пересмотру существующих концепций (микоризы споровых растений, эволюция микориз, специфичность симбиозов).

Книга может быть полезна не только ботаникам, микологам и микробиологам, но и биологам иных специальностей и экологам, заинтересованным в проблематике симбиоза.

Салли Э. Смит (Sally E. Smith), *Член Академии наук Австралии; Отделение наук о Земле и окружающей среде, Уэйт Кампус, университет Аделаиды, Аделаида, Австралия Дэвид Дж. Рид (David Read), Член Королевского общества; Отделение зоологических и ботанических наук, университет Шеффилда, Шеффилд, Великобритания.*

ISBN 978-5-87317-861-2

© Elsevier Ltd., 2008.
© Е.Ю. Воронина, русский перевод, 2010
© Товарищество научных изданий КМК, издание, 2012.

Предисловие

С момента выхода в свет второго издания прошло девять лет, и мы работали над третьим с изрядным трепетом. Во-первых, значительно возросло количество информации, во-вторых, большая часть этих данных получена с применением новых методов молекулярной биологии, которые только появлялись во время подготовки второго издания. Наконец работа, в меру наших сил, была выполнена, и мы можем только согласиться с утверждением, сделанным в первом издании (1983) о том, что «практически невозможно одному человеку, и даже двоим, уследить за всеми экспериментальными работами и рассуждениями на тему микоризы»! Мы сделали все, что было в наших силах, но заранее приносим читателям извинения за то, что некоторые вопросы освещены недостаточно подробно.

В этом издании мы частично сохранили текст предыдущего, но из-за большого количества новых работ, подробное описание некоторых исследований, включенное в первые два издания, пришлось сократить. Тем не менее, мы постарались проследить историю изучения микоризы и осветить основные достижения ранних исследователей и призываем нынешних и будущих ученых не пренебрегать литературой «доэлектронного» века, так как она содержит множество ценной информации, которую нельзя упускать или описывает эксперименты, в повторении которых нет необходимости.

Невозможно в равной степени полно охватить все темы, и настоящее издание в большой степени отражает наши интересы и личное мнение по излагаемым вопросам. Так как первое издание намеренно не включало в себя рассуждения об эволюции из-за недостаточности имеющихся данных, мы сосредоточили свое внимание на новой информации о молекулярной филогении грибов и растений для выявления возможных путей возникновения микоризных симбиозов. Мы также сделали акцент на свободном мицелии как в контексте развития микориз различных типов, так и функционального значения. В большинстве областей изучения продолжается выявление структурного и функционального разнообразия микоризных симбиозов, и потому мы освещаем этот аспект биологии микориз и демонстрируем его экологическое значение.

Второе издание было написано в период, когда были опубликованы только самые первые результаты изучения микориз молекулярно-биологическими методами. В настоящее время наблюдается бум подобных исследований, направленных как на углубление знаний о хорошо изученных вопросах симбиоза, например, транспорте питательных веществ, так и для выявления неизвестных ранее его сторон. Было показано значение микориз как поглощающих органов у подавляющего большинства видов растений в природных условиях и его экологическое значение. По мере изложения данных мы подчеркиваем экспериментальные подходы, которые оказались плодотворными и могут быть применены в дальнейшем.

Общую структуру книги мы оставили без изменений, три раздела посвящены описанию основных типов микориз, включая информацию об их симбионтах,

структуре, развитии, а также функциях и экологическом значении. Четвертый раздел посвящен функционированию микоризных симбиозов в сообществах, где обобщены данные и гипотезы, необходимые для понимания роли микориз. Эти главы основаны на материале, представленном ранее, но для того, чтобы их можно было читать отдельно, мы сознательно сделали некоторые повторы и попытались улучшить перекрестные ссылки в тексте. Особое внимание было уделено присутствию и активности микоризных симбиозов в основных биомах Земли, их роли во взаимоотношениях разных групп организмов и применению в сельском хозяйстве и лесоводстве. Информация об основных аспектах транспорта питательных веществ (второе издание) теперь по возможности помещена в главы о различных типах микориз. Читателям, интересующимся этими вопросами, следует воспользоваться более ранними изданиями.

В ходе изложения мы пытались определить возможное направление будущих экспериментальных работ, хотя мы осознаем субъективность своей оценки, которую заметят те, кто нас знает.

Множество друзей и коллег помогало нам самыми разными способами: путем обсуждения, вычитывания текста, предоставления иллюстраций и данных, в том числе, неопубликованных. Мы не повторяем список из второго издания, а просто перечисляем в алфавитном порядке всех тех, кому мы особенно признательны за помощь при подготовке книги: Сьюзан Баркер, Мартин Бидартондо, Том Брунс, Эмили Грейс, Лиза Грубиша, Джефф Дакетт, Мануэла Джованетти, Сэнди Диксон, Андре Жанр, Тим Каваньяро, Дункан Кэмерон, Джонатан Лик, Мария Маньярес, Франсис Мартин, Рэнди Молина, Джо Мортон, Хьюджес Мэссикотт, Хесус Перес-Морено, Ларри Петерсон, Эндрю Смит, Ли Тейлор, Сари Тимонен, Жан-Патрик Тюссан, Мишель Уэйсс, Эвелина Фацелли, Хосе Фацелли, Мария Харрисон, Сара Хэмблтон, Катя Циммер, Марк Чейз, Мишель Шало, Артур Шусслер и Ян Янза. Мы благодарны им за критику и комментарии, многие из которых были вставлены в текст. Однако, именно мы несем ответственность за все представленные мысли и точки зрения и за все допущенные ошибки.

Также мы получили неоценимую помощь при работе над рукописью. Джейн Янг печатала множество набросков глав и подготовила окончательный вариант текст; Ребекка Упсон и Крис Рид занимались получением авторских прав и проверкой информации, а Глин Вудс помогала в работе с иллюстрациями.

В таблицах и рисунках мы использовали большое количество уже опубликованных данных. В каждом случае источники приведены, но мы хотели бы выразить особую благодарность авторам и издателям, предоставившим нам возможность использовать их материалы.

И наконец, мы выражаем нашу благодарность и любовь многострадальным Эндрю Смиту и Крис Рид, оказывавших нам неоценимую моральную поддержку в течение многих месяцев работы над книгой. Им пришлось пройти через это дважды, и мы вдвойне признательны им.

Книга посвящена памяти Джека Харли, очень заметно повлиявшего на развитие исследования микоризных симбиозов. Увеличивать список тех, кто внес значительный вклад в изучение микоризы — все равно, что открыть ящик Пандоры. Кого следует выбрать, и что если мы ненамеренно пропустим важные персоналии? Мы питаем надежду, что изложение истории изучения микориз будет достаточным для получения представления о тех, кому мы обязаны главными достижениями.

Среди многочисленных заслуг Джека Харли следует особенно отметить два наиболее важных момента. Разочаровавшись в экологическом подходе к биологии микоризы, Джек занялся тщательным анализом физиологии. В течение нескольких десятилетий он со своими сотрудниками на эктомикоризных корневых окончаниях бука досконально изучил обмен веществ между партнерами по симбиозу. Второй

и, возможно, даже более важный вклад связан с его талантом к сбору информации. Книга «Биология микоризы» (*The Biology of Mycorrhiza*), опубликованная в 1959 г., была первой попыткой объединить многие, иногда взаимоисключающие мнения, появившиеся за более чем сто лет исследований. Со свойственной ему настойчивостью и педантизмом он проработал множество материалов, чтобы выявить вопросы, требующие решения. Эта работа имеет неоценимое значение для многих исследователей, которые, как и мы сами когда-то, делают первые трудные шаги в своей работе. Все это послужило стимулом к дальнейшему расширению исследований, так что в 1983 г. вышла новая, еще более значимая книга, первое издание «Микоризного симбиоза» (*Mycorrhizal Symbiosis*). Один из нас имел честь участвовать в работе над ней.

Влияние Джека Харли продолжает ощущаться. Хотя, к глубокому сожалению, он не принимал участия в подготовке двух последних изданий, мы считаем себя его наследниками. Без него исследование микоризных симбиозов вряд ли заняло бы то место, которое принадлежит ему сейчас, признанное физиологами и экологами, а также молекулярными биологами важнейшей проблематикой в биологии растений и грибов.

ВВЕДЕНИЕ

Интерес к проблематике симбиозов, отмеченный во вступительной части обоих предшествующих изданий, продолжает возрастать и охватывает целый ряд областей научного знания. Уже установлено значение различных прокариотных симбиозов в ходе эволюции клеток эукариот и в настоящее время накапливаются свидетельства того, что симбиозы на уровне более сложных организмов — скорее правило, нежели исключение. По сравнению с взаимоотношениями на клеточном уровне, мутуалистические ассоциации между несходными организмами (грибы и водоросли в лишайниках, растения и грибы в большинстве типов микориз, водоросли и кишечнополостные в кораллах, бактерии и растения при симбиотической азотфиксации) возникли относительно недавно, но они играют важнейшую роль в жизни растений и экологии природных сообществ. Эти функции в большей степени выявлены учеными, чьи научные интересы не были изначально связаны с симбиозами как таковыми, но, по той или иной причине обнаружившими необходимость учитывать взаимодействия симбионтов между собой и влияние на них факторов окружающей среды на молекулярном, клеточном, организменном и экосистемном уровне.

Термин «*symbiotismus*» (симбиоз) впервые, возможно, был использован Франком (1877) как нейтральное обозначение для взаимоотношений, не предполагающих паразитизм и основанных просто на стабильном сосуществовании разных организмов, как это наблюдается в лишайниках. Де Бари (1887), которому обычно приписывают введение этого термина, использовал его для обозначения как совместного проживания паразита и хозяина, так и взаимовыгодных ассоциаций между организмами. Со временем значение терминов «симбиоз» и «паразитизм» изменилось. Симбиозом все чаще стали называть мутуалистические взаимовыгодные отношения между несходными организмами, а термины «паразит» и «паразитизм» оказались почти синонимичны терминам «патоген» и «патогенез». Де Бари указывал на существование всех возможных градаций между паразитами, быстро разрушающими своего хозяина и теми, которые «поддерживают» своих партнеров, и в последнее время ученые вновь вернулись к этой точке зрения. В данной книге термин «симбиоз» использован в широком смысле, как его изначально трактовал Де Бари. К мутуалистическим относятся симбиозы, в которых оба партнера могут получать пользу от совместного проживания, но, что в тех или иных условиях окружающей среды следует считать «пользой», «более высокой жизнеспособностью» или «лучшей адаптацией» — вопрос, остающийся открытым. Большинство микоризных симбиозов в настоящее время наряду с лишайниками, кораллами и азотфиксирующими ассоциациями определяют как типичные примеры мутуалистической области симбиотического спектра, в то время как биотрофные патогены (ржавчинные и мучнисторосяные грибы) представляют паразитические симбиозы. Тем не менее, как станет ясно из нижесказанного, не все типы микориз соответствуют определению мутуализма по экспериментальным данным о питании или состоянии симбионтов. Более того, показано, что даже в пределах одного типа микориз возможен континуум взаимоотношений от мутуализма до паразитизма. Также характер вза-

имоотношений может меняться на протяжении жизни отдельной симбиотической пары гриб-растение.

Если симбиоз является мутуалистическим и основывается на двунаправленном обмене питательными веществами или иной взаимной выгоде, применение к одному из партнеров термин «хозяин» представляется неуместным. В третьем издании для партнеров в микоризных симбиозах применены термины «растение» и «гриб», хотя сохранено такое сочетание как «круг хозяев» для обозначения разнообразия растений, ассоциированных с одним видом гриба. Термин «инфекция» был заменен термином «колонизация» в ответ на требования избегать предположений о негативном влиянии симбиоза, несмотря на существующее многообразие ответов симбионтов.

Де Бари (1887) полагал, что до некоторой степени совместная жизнь, т.е. симбиоз, присуща всем или почти всем ассоциациям растений с грибами. Эти взаимоотношения часто подразделяют на биотрофные и некротрофные, в зависимости от того, остаются ли в живых оба симбионта, или смерть одного из них необходима для получения вторым питательных веществ. Тем не менее, существует целый ряд переходных форм между этими четко выраженными полюсами, различающихся не только между типами ассоциаций, но и в пределах одной из них в разные моменты времени или при разных условиях окружающей среды. Это разнообразие функций, иногда также выраженное в структурных изменениях симбионтов, проявляется в микоризах так же, как и в симбиозах других типов. Сведения о значительном разнообразии структур, способов развития и функций даже в пределах одного типа микориз были приведены во втором издании. Исследования прошедших лет существенно обогатили наши знания об этом многообразии, было начато изучение его роли в природе. Следует вновь повторить сказанное во введении к первому изданию: «Очевидно, что при наличии такого разнообразия, дискуссии о классификации и номенклатуре преимущественно представляют собой проявление педантизма, если только они не ведут к формулированию четких вопросов, приводящих к постановке экспериментов, в ходе которых могут быть получены ответы». Несомненно, исследованиями последнего десятилетия было выявлено не только структурное и онтогенетическое разнообразие, но также и высокая физиологическая вариабельность, что привело к появлению термина «мутуалистически-паразитический континуум» (Johnson et al., 1997). Изучение роли подобного многообразия для взаимоотношений в природных растительных сообществах пока находится в самом начале.

Несмотря на то, что термин «микориза» предполагает связь грибов с корневой системой растения, отношения, называемые микоризными симбиозами и включающие поглощение питательных веществ из почвы, обнаружены у мицелиальных грибов с подземными органами гаметофитов многих мохообразных и папоротникообразных наряду с корнями семенных растений и спорофитов множества папоротникообразных. Недавние исследования привели к накоплению данных о малоизученных в отношении микориз группах растений, и обусловили написание новой главы «Грибные симбиозы несосудистых и споровых растений». Применение к этим группам молекулярных методов исследования позволило выявить как виды грибов, участвующие в симбиозе, так и изучить филогению обоих симбионтов. Вследствие этого появилась возможность строить эволюционные гипотезы, основывающиеся на фактическом материале.

Микоризные окончания, а не корни сами по себе — основные органы поглощения питательных веществ у наземных растений. Работами последних лет полностью подтверждены ранние представления о том, что самые первые наземные растения, не имевшие настоящей корневой системы, были заселены мицелиальными грибами, формировавшими везикулы и арбускулы, очень сходные со структурами современных арбускулярных микориз (см. Nicolson, 1975). В настоящее время счи-

тается общепризнанным, что суша была заселена симбиотическими организмами, способными получать питательные вещества, недоступные для несимбиотических особей. В данной книге не были введены новые термины для трактуемых как «микоризы» симбиозов растений, не имеющих настоящей корневой системы, и к которым, в силу этого, неприменимо понятие «микориза» («грибокорень») в узком смысле. Увеличение количества терминов вряд ли принесет пользу. Вместо того, как гораздо более важные, приведены данные исследований, посвященных функциональной интеграции симбионтов и значимости подобных симбиозов в эволюции и экологии.

Одним из важнейших достижений, отмеченных во введении во втором издании, было растущее внимание к структуре, организации и функциям свободного мицелия. Разработка этого направления продолжается, в исследованиях используются все более сложные и чувствительные методы, как для выявления наличия мицелия в почве, так и для выяснения его роли в протекающих в почве процессах (мобилизация питательных веществ, стабилизация почвенной структуры). Микоризные грибы занимают особое место среди множества микроорганизмов, населяющих ризосферу. За редким исключением, они полностью зависят от растения как источника органических соединений. Не имея зависимости от скудных и неравномерно расположенных в почве запасов органики, они получают преимущество перед сапротрофами в мобилизации азота, фосфора и других элементов. Другим принципиально важным отличием микоризных взаимоотношений от ассоциации организмов с корневой поверхностью (ризосферные ассоциации) состоит в близости отношений и формировании узнаваемых и единообразных структур. В микоризных симбиозах всегда имеет место проникновение гриба в ткани растения, или формирование определенных структур одного из распространенных типов, или то и другое одновременно. Основное различие между микоризами и симбиозами с участием паразитов, приводящими к болезни симбионта, заключается в том, что наличие микоризы является нормальным состоянием для большинства растений при любых условиях.

Механизм возможного объединения растений в общую сеть, осуществляемого свободным мицелием их грибных симбионтов, продолжает привлекать внимание исследователей. Подобные связи, несомненно, существуют и отображают отсутствие строгой специфичности в большинстве основных типов микориз. Тем не менее, свидетельства того, что мицелиальные сети создают подземные каналы для передачи значимого количества питательных веществ от одного растения к другому и их перераспределения, все еще немногочисленны. Физиологические механизмы, которые ответственны за перенос веществ между растениями, все еще не выявлены. Можно отметить, что транспорт веществ от одного растения к другому в большей степени подтверждается для эктомикоризы (ЭМ), чем для арбускулярномикоризных симбиозов (АМ). Кроме того, грибы-эктомикоризообразователи в некоторых случаях ассоциированы с бесхлорофилльными растениями, получающими от них все элементы питания.

Эти микогетеротрофные ассоциации являются микоризами в том смысле, что для растений они являются нормальными (и даже необходимыми). Отличие их от прочих типов микориз в том, что поток органических веществ в них однонаправлен с потоком минеральных элементов, и таким образом, растение непосредственно паразитирует на грибном партнере и косвенно зависит от второго (фотосинтезирующего) симбионта микоризы. Существенные успехи в изучении этого вопроса были достигнуты в последнее десятилетие, поэтому подобные взаимоотношения обсуждены в отдельной новой главе. По тем же причинам структурные и функциональные особенности микориз зеленых орхидных рассмотрены отдельно от симбиозов тех представителей семейства, которые остаются бесхлорофилльными на протяжении всей жизни.

Второе издание было написано до периода расцвета молекулярных методов, теперь применяемых практически во всех областях биологических исследований. Для АМ взаимодействий был обнаружен параллелизм между микоризным и ризобиальным симбиозами, что принесло колоссальную пользу для исследования микоризы. В дальнейшем последовало большое количество новых данных, касающихся практически всех аспектов биологии АМ. Значительные успехи были сделаны в области изучения эктомикоризы, в их числе недавняя работа по полному секвенированию генома ЭМ гриба *Laccaria bicolor*. В этом издании была сделана попытка обсуждения новой информации, полученной этими методами и проливающей свет на функционирование различных типов микориз. На данном этапе развития научного знания существует тенденция к применению экспериментальных моделей, и, таким образом, исследования сфокусированы на ограниченном количестве видов как растений, так и грибов, преимущественно, легко культивируемых. Этот узкий подход понятен и более того, пригоден для начальной стадии нового направления в исследованиях. Тем не менее, следует принимать во внимание, что использование модельных объектов сделает невозможным изучение тех аспектов разнообразия симбиотических структур и функций, которые были выявлены другими методами в прошлом десятилетии. Нельзя забывать о необходимости проведения исследований, связанных с функциональным разнообразием. Более того, по мере усложнения и повышения затратности методов, становится заметным, что простые измерения параметров симбиотического развития и эффективности симбиоза (например, рост растения, поглощение питательных веществ и степень колонизации) зачастую не используются – они не являются продвинутыми технологиями, трудоемки и требуют времени. Тем не менее, эта базовая информация может оказать неоценимую помощь в интерпретации новых данных применительно к биологии растений и грибов в связи с условиями окружающей среды, в которой они обитают. Только объединение данных, полученных молекулярными, биохимическими и физиологическими методами может дать настоящий прорыв в исследованиях.

Такого же рода критика часто направлена в адрес физиологов. Редукционистские экспериментальные подходы, рассматривающие отдельные особи растений, выращенных в культуре, расцениваются как непригодные для получения данных о природных условиях. Тем не менее, подобные эксперименты играют значительную роль в выявлении функционального разнообразия в симбиозах. Без подобных данных невозможно понимание механизмов, лежащих в основе экологических взаимодействий. Мы не в состоянии вскрыть подземный «черный ящик» и прояснить, на какие процессы микоризы оказывают влияние в экосистемах. Однако, при физиологических исследованиях очень важно ставить такие эксперименты, которые могут помочь дать ответы на вопросы, связанные с экологией. Иными словами, только совместные исследования представляют собой эффективный способ изучения сложных симбиотических систем, включая взаимоотношения между партнерами и их связи с окружающей средой.

Классификация микориз

Приведенная классификация типов микориз не менялась существенно с момента выхода первого издания (табл. 1.1, из второго издания, с изменениями). Как и прежде, классификация носит описательный характер и в большей степени направлена на постановку вопросов, ждущих ответа, чем на улаживание существующих противоречий. Типы микориз выделены, как и ранее, на основании принадлежности их грибных симбионтов к эндофитам из отдела Glomeromycota с преимуществен-

Таблица 1.1. Характеристика основных типов микориз. Особенности структуры приведены для полностью сформированного симбиоза, а не для развивающихся или стареющих возрастных стадий. В скобках приведены редкие состояния.

Тип микоризы	Арбускулярная микориза	Эктомикориза	Эктэндомикориза	Арбутоидная микориза	Монотропоидная микориза	Эрикоидная микориза	Орхидная микориза
Грибы с септированным мицелием	-	+	+	+	+	+	+
с несептированным мицелием	+	–	–	–	–	–	–
Внутриклеточная колонизация	+	–	+	+	+	+	+
Грибной чехол	–	+	+ или –	+ или –	+	–	–
Сеть Гартига	–	+	+	+	+	–	–
Бесхлорофилльность	– (+)	–	–	–	+	–	+[1*]
Таксоны грибов	Glomero	Basidio/Asco (Glomero)	Basidio/Asco	Basidio	Basidio	Asco	Basidio
Таксоны растений	Bryo Pterido Gymno Angio	Gymno Angio	Gymno Angio	Ericales	Monotropoideae	Ericales Bryo	Orchidales

[*] Все орхидные лишены хлорофилла на ранних стадиях развития. Во взрослом состоянии большинство орхидных – зеленые растения. Названия грибных таксонов представляют собой сокращения от Glomeromycota, Ascomycota, Basidiomycota; растительных таксонов – от Bryophyta, Pteridophyta, Gymnospermae и Angiospermae.

но несептированным мицелием или септированным грибам из отделов Ascomycota и Basidiomycota.

Выделение Glomeromycota как самостоятельного отдела представляет собой важное достижение последнего десятилетия. Ранее эти грибы рассматривали как зигомицеты и относили вначале к порядку Endogonales, а затем Glomales. Степень генетической вариабельности в пределах групп, считавшихся ранее единым таксоном, полностью подтверждена молекулярно-генетическими методами для микоризообразующих представителей отделов Ascomycota и Basidiomycota. Аскомицет *Hymenoscyphus ericae*, долгое время известный как симбионт эрикоидной микоризы, оказался комплексным видом, в котором представители только одной клады, теперь называемые *Rhizoscyphus ericae*, вовлечены в симбиоз данного типа. Некоторые представители других клад в пределах комплекса *H. ericae* образуют эктомикоризы, в то время как прочие являются сапротрофами или слабыми патогенами. Масштаб генетического и функционального разнообразия грибов-микоризообразователей на внутриродовом уровне лучше всего демонстрирует род *Sebacina,* члены которого известны как эктомикоризообразователи, симбионты зеленых орхидных и нескольких полностью микогетеротрофных орхидей. Также они встречаются в талломах некоторых печеночных мхов, и как ассоциативные организмы с пока неясными функциями - в корнях вересковых (сем. Ericaceae). Широко распространенный и экологически значимый эктомикоризообразователь *Pisolithus tinctorius*, о котором в предыдущем издании было сделано предположение, что это — комплексный вид, действительно оказался комплексом. В настоящее время известно, по меньшей мере, одиннадцать видов рода *Pisolithus*, и можно ожидать, что будут открыты новые, в том числе эндемичные. Техники молекулярно-генетических исследований, давшие возможность идентифицировать виды грибов, заселяющих отдельные корни микогетеротрофов, позволили также выявить специфичность этих растений к узких группам грибов из таких крупных базидиомицетных родов как *Rhizopogon* и *Russula*. Экологические проявления подобных ранее неизвестных уровней специфичности обсуждаются в данном издании.

В третьем издании для симбиоза, образуемого представителями Glomeromycota, был принят широко используемый в настоящее время термин «арбускулярная микориза». Ранее подобные симбиозы были известны под названием везикулярно-арбускулярной микоризы (ВАМ), так как для некоторых из них характерно наличие и везикул, и арбускул. Принимая во внимание то, что не все представители Glomeromycota образуют везикулы, следует заметить, что некоторые не образуют также и арбускулы. Этот факт иллюстрирует проблему, связанную с увеличением количества терминов, и мы советуем в будущем стремиться к простоте и стабильности в терминологии.

Растительные симбионты микориз столь многочисленны и таксономически разнообразны, что построение на их основе классификации типов микориз лишено практического смысла. Симбионты арбускулярной микоризы могут принадлежать ко всем отделам растений: мохообразным, почти всем группам папоротникообразных, всем группам голосеменных и большинству семейств покрытосеменных. Этот тип микориз наиболее древний, ископаемые растения из рода *Aglaophyton* из девонских отложений содержат везикулы и арбускулы. Кроме того, представители отдела Glomeromycota могут быть ассоциированы не только со мхами, но и с цианобактериями, что предполагает наличие еще более древних симбиотических предковых форм. Грибы из этой группы не выделяются в чистые культуры, и обычно полагают, что они полностью зависимы от фотосинтезирующего растения. Вследствие этого, подтвержденные молекулярными методами данные о том, что микоризы бесхлорофилльных представителей семейств Burmanniaceae и Gentianaceae образованы грибами из отдела Glomeromycota, поднимают вопросы о питании этих грибов и, ко-

нечно, их растительных симбионтов. Результаты подобных исследований обсуждаются в отдельной главе, посвященной микогетеротрофным растениям.

Грибы с септированным мицелием, образующие все прочие типы микоризных симбиозов, включают представителей почти всех порядков базидиомицетов и многие аскомицеты. Растительные симбионты экто-, эктэндо- и эрикоидных микориз — обычно автотрофные деревья, кустарники и, реже, травянистые растения. Арбутоидные микоризы также образуют деревья и кустарники, но некоторые растения, например виды рода *Pyrola*, травянистые и нередко частично микогетеротрофные. Все представители близкородственного подсемейства Monotropoideae (подъельниковые) — бесхлорофилльные травянистые растения. Орхидные лишены хлорофилла в начале своего развития, но многие виды во взрослом состоянии способны к фотосинтезу. Тип образуемой микоризы зависит от обоих партнеров в симбиозе. К примеру, как было указано выше, один и тот же вид гриба может образовывать арбутоидную (монотропоидную) и эктомикоризу, или экто- и эктэндомикоризу, или экто- и орхидную микоризу, в зависимости от вида растения. Таким образом, получается сложное переплетение разных взаимодействий видов растений и грибов, различающихся типом формируемых микоризных структур. Молекулярные подходы к таксономии могут прояснить некоторые имеющиеся вопросы. Для удобства эктэндо- и арбутоидные микоризы (включая фотосинтезирующих представителей *Pyrola*) сгруппированы в новой главе. Это разделение искусственно, так как микоризы *Pyrola* образуют непрерывный ряд с симбиозами филогенетически близкого рода *Monotropa*, и так же как и микоризы зеленых и бесхлорофилльных орхидных могли быть рассмотрены вместе. Принятое разделение призвано подчеркнуть особенности лишенных хлорофилла микогетеротрофных форм для более глубокого понимания их общих с зелеными растениями черт, а также различий.

В эктомикоризах гриб формирует чехол — структуру, покрывающую корневое окончание, от которой в субстрат отходят гифы или ризоморфы. Также гифы пронизывают межклеточное пространство корня, образуя сложную систему, выглядящую на срезе как мицелиальная сеть и называемую сетью Гартига. Внутрь клеток симбионт не проникает или проникновение очень слабое. У небольшого количества видов растений сеть Гартига отсутствует или слабо развита, и в этом случае очень важно экспериментальное подтверждение того, что это действительно микоризный симбиоз, как в случае *Pisonia*.

У эктэндомикориз чехол может быть редуцирован или отсутствует; сеть Гартига обычно развита нормально, но гифы проникают в клетки растения. Как уже было упомянуто, один и тот же вид гриба может формировать эктомикоризу с одним видом растения и эктэндомикоризу с другим. Арбутоидные микоризы образуют чехол, наружные гифы и обычно хорошо развитую сеть Гартига. Кроме того, здесь наблюдается активное развитие гифальных клубков внутри клеток растения.

Эктомикоризы, эктэндомикоризы и арбутоидные микоризы имеют ряд общих черт строения (см. табл. 1.1), их растительные симбионты способны к фотосинтезу, и это дает основание для объединения их в одну группу. Однако такой подход может скрыть проблемы, требующие дальнейшего изучения. Развитие эктэндомикориз и особенности их грибных симбионтов сейчас известны гораздо лучше, чем в 1983 г.[1] Для этого типа, а также для арбутоидных микориз требуется больше данных о физиологии симбиоза и о факторах, влияющих на формирование одним видом гриба тех или иных структур и степень его проникновения внутрь клеток растения. Тем не менее, грибной симбионт способен к усвоению питательных веществ в форме органических соединений, что расширяет круг доступных для растения ресурсов.

[1] Год выхода первого издания книги, в котором эти типы микоризных симбиозов были объединены вместе (*Прим. перев.*).

Два типа микориз, отчетливо различающихся по структуре, ассоциированы с растениями, лишенными хлорофилла полностью или в определенный период своей жизни. Микоризы, образуемые корнями растений подсемейства Monotropoideae несколько сходны с тремя вышеупомянутыми типами наличием хорошо развитого грибного чехла и сети Гартига. Кроме того, высокоспециализированная, подобная гаустории структура («шпилька») проникает внутрь ризодермальной клетки и проходит сложный цикл развития в течение роста и цветения растения. Одновременно гриб образует эктомикоризу с находящимся поблизости автотрофным растением, и предполагается, что органические соединения передаются бесхлорофилльному партнеру, но механизмы транспорта и роль «шпильки» требуют экспериментальных исследований. В экспериментах особое внимание было уделено органическому углероду как питательному веществу для растения, но очень слабое развитие корневой системы представителей Monotropoideae делает вероятным значение гриба как источника также и минерального питания.

В семействе орхидные (Orchidaceae) растения частично или полностью бесхлорофилльны в течение некоторого периода жизни, они образуют микоризы с базидиомицетами различных филогенетических линий. Разделение видов орхидных на зеленые в течение определенного периода жизни и полностью бесхлорофилльные отражается и в составе их грибных симбионтов. В то время как симбионты зеленых орхидных являются эффективными сапротрофами, принадлежащими к формальному роду *Rhizoctonia*, грибные партнеры бесхлорофилльных орхидей, вероятно, способны к образованию эктомикориз с автотрофными растениями. Для зеленых орхидных имеются новые данные о том, что взрослые растения способны на определенной стадии развития симбиоза снабжать гриб продуктами фотосинтеза, то есть направление транспорта углерода между партнерами может меняться. Механизмы, лежащие в основе двунаправленного транспорта органических соединений, еще не изучены, но, выяснено, что, вопреки ранее существовавшим предположениям, в этом типе симбиоза есть возможность мутуалистических взаимоотношений.

У многих автотрофных представителей семейства Ericaceae (вересковые) и близких к нему тонкие волосовидные корни погружены в сплетение мицелия, который также пронизывает клетки корня. Чехол в норме не формируется. Все грибы, для которых точно показано участие в эрикоидных микоризах, принадлежат к аскомицетам. Многие вересковые населяют местообитания, в которых большинство питательных веществ находится в почве в виде органических соединений. Грибы играют важную роль в мобилизации этих веществ и обеспечении доступа к ним растения, используя ресурсы, недоступные для немикоризных растений или видов, образующих арбускулярную микоризу.

Приведенные краткие описания демонстрируют то, что термин «микориза» используется для обозначения множества разнообразных симбиотических взаимоотношений между грибами и растениями, и важно подчеркнуть, какие именно характеристики в совокупности определяют такой тип симбиоза как микориза. Это стабильность структуры, развития и присутствие в природных условиях. У каждого микоризного симбиоза имеются свои характерные функции, и термин «микориза» не должен подразумевать единых функций для всех микоризных типов, равно как и то, что любая устойчивая ассоциация между грибом и корнем представляет собой микоризный симбиоз.

Ассоциации между грибами и корневой системой растений широко распространены в природе, и следует выделить определяющие черты именно для микоризного состояния. Микоризные симбиозы имеют четкие структурные особенности, которые сравнительно легко распознать. Описать функции намного сложнее, но в этом аспекте также необходимо определение, которому должна соответствовать грибо-растительная ассоциация, считающаяся микоризой. Объединяющей чертой может

быть роль свободного мицелия в снабжении растения питательными веществами из почвы. Во втором издании указано, что это условие можно принимать с определенными оговорками, так как некоторые растения, как выяснилось, не получают преимущества в питании за счет своих грибных симбионтов. Исследователи усомнились в том, как очевидно мутуалистический симбиоз мог существовать в ходе эволюции, основываясь только на таких «выгодах» как устойчивость к засухе или насекомым-вредителям. Хотя эти преимущества действительно существуют, недавние исследования арбускулярной микоризы выявили также, что путь транспорта питательных веществ через гриб сохраняется и часто вносит большой вклад в общее поглощение веществ, даже если это не выражается в пользе для ростовых процессов. Более того, растения могут благодаря этому выигрывать в конкурентной борьбе, что служит объяснением их сохранения в ходе эволюции. Это пример исследования, в котором простые физиологические эксперименты в сочетании с применением молекулярных методов привели к более глубокому пониманию широкого распространения микоризных симбиозов в природе.

Роль углеродного питания как определяющей характеристики симбиоза оценить сложнее, так как его источники варьируют в микоризах различных типов. В большинстве микоризных симбиозов участвуют автотрофные растения и в них взаимоотношения партнеров потенциально мутуалистического типа: оба симбионта получают выгоду от ассоциации. Когда растение не является фотосинтезирующим и есть сомнения, что подобные симбиозы представляют собой мутуализм в плане взаимного обмена питательными веществами, возможно, будущие исследования смогут выявить другие преимущества, получаемые грибом при совместной жизни с растением. Новые работы показывают, что преимущества симбиоза могут проявляться в течение всей жизни партнеров и, таким образом, не быть заметными в кратковременных экспериментах в культуре.

В следующих главах перечисленные типы микориз будут описаны по отдельности, чтобы подчеркнуть, что известно о каждом из них и какие проблемы еще ждут решения. Далее будут обсуждены некоторые общие и сравнительные аспекты микоризных симбиозов. Выбранные области отличны от тех, которые были затронуты в предыдущих изданиях. Информация о транспорте питательных веществ между симбионтами теперь включена в главы о типах микориз ввиду того, что накоплены данные о различиях в источниках и формах питательных веществ. Экологическая значимость микориз освещена в двух главах. Распространение и значение микориз всех типов в различных биомах рассмотрено отдельно от роли микориз при определенных условиях. Это расширение темы отражает одновременно значение микориз в природе и растущий интерес экологов к функциям, которые микоризные симбиозы выполняют на всех уровнях растительно-микробных взаимодействий. Фактическое и потенциальное прикладное значение микориз в сельском хозяйстве, садоводстве и лесоводстве отражено в отдельной главе, также содержащей информацию о культивировании съедобных микоризных грибов.

Раздел 1

Арбускулярные микоризы

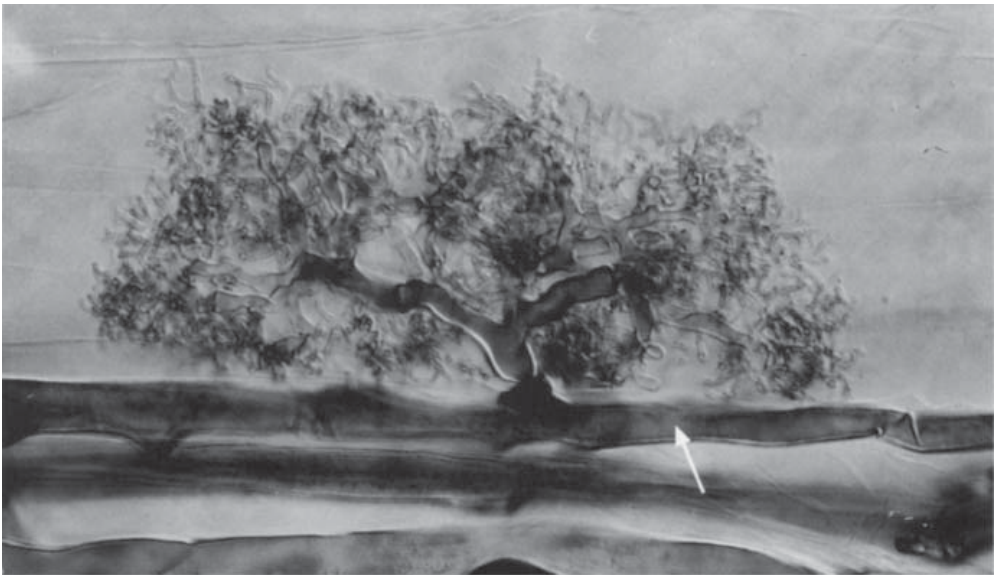
1
Симбионты арбускулярных микориз

Введение

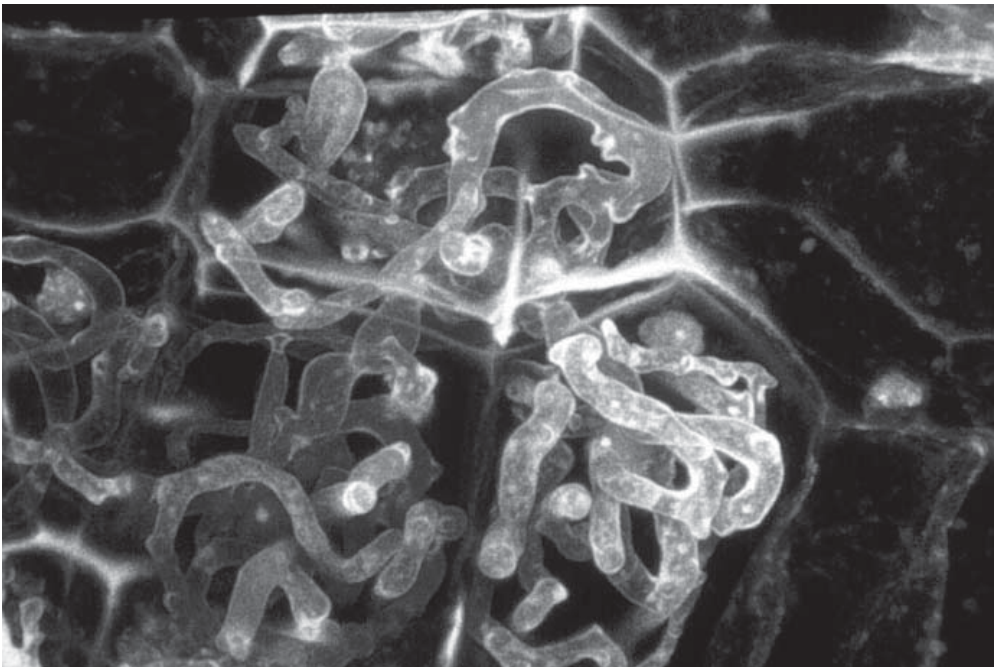
Арбускулярная микориза (АМ) представляет собой наиболее широко распространенный тип микоризных симбиозов. Она формируется у необычайно широкого круга растений облигатно симбиотрофными грибами, недавно перенесенными на основании анализа последовательностей ДНК в самостоятельный отдел Glomeromycota (Schüßler et al., 2001). Растения-хозяева представлены покрытосеменными, голосеменными и спорофитами папоротникообразных, у которых имеется корневая система, а также гаметофитами некоторых печеночных мхов и папоротников, у которых она отсутствует (Read et al., 2000; см. гл. 14). Весьма возможно, что эти грибы появились более чем 1000 млн. лет назад (ранее выхода на сушу согласно современным датировкам), и арбускулярно-микоризные (АМ) симбиозы, таким образом, являются очень древними. Благодаря своей роли в поглощении растением питательных веществ, АМ грибы, вероятно, были весьма важны при выходе растений на сушу (Simon et al., 1993; Remy et al., 1994; Taylor et al., 1995; Redecker et al., 2000; Heckman et al., 2001); и они остаются главным определяющим фактором взаимоотношений растений в экосистемах до настоящего времени.

Название «арбускулярная» происходит от характерных структур, арбускул (рис. 1.1А), встречающихся в клетках коры корней многих растений, а также в некоторых микоталлиях, заселенных АМ грибами. Наряду с выполняющими функцию запасания везикулами, расположенными внутри клеток или между ними, эти структуры считаются диагностическим признаком АМ симбиозов. Тем не менее, выявлено достаточно много других внутрикорневых структур, образуемых АМ грибами (см. гл. 2 и Dickson, 2004), включая хорошо развитые внутриклеточные гифальные клубки, иногда встречающиеся при полном отсутствии арбускул (рис 1.1Б). Вариации в развитии симбиоза определяются как растительным, так и грибным партнером, что осложняет идентификацию АМ на основании морфологии внутрикорневых структур гриба. Термин «везикулярно-арбускулярная микориза» (ВАМ), применяемый на протяжении многих десятилетий, перестали использовать, так как только 80% АМ грибов формируют везикулы, а название «арбускулярная» было сохранено до настоящего времени, несмотря на то, что структурное разнообразие симбиоза оказалось гораздо выше, чем предполагали ранее.

Арбускулярная микориза содержит три важных компонента: собственно корень, грибные структуры внутри клеток и между ними и свободный мицелий в почве. Последний может быть очень обильным, но не формирует ни сложных мицелиальных тяжей или ризоморф, ни каких-либо вегетативных псевдопаренхиматозных структур наподобие типичного для эктомикоризы грибного чехла (см. гл. 6). Не-



А



Б

Рисунок 1.1. А — зрелая арбускула *Arum*-типа *Glomus mosseae* в клетке коры *Allium porrum* (лук-порей). Арбускула отходит от хорошо выраженной межклеточной гифы (стрелка). По Brundrett et al., 1984, с разрешения. Б — внутриклеточные гифальные клубки *Paris*-типа *Glomus intraradices* в клетках коры корня *Panax quinquifolius*. Обратите внимание на отсутствие межклеточных гиф. Конфокальная микроскопия. Воспроизведено из Peterson et al., 2004, с разрешения. Описание *Arum*- и *Paris*-типов АМ см. в гл. 2.

многие виды грибов образуют спорокарпы или грозди спор при ограниченном количестве стерильного мицелия. Так как характерные грибные структуры развиваются внутри растения, а изменения в скорости роста и ветвлении корневой системы могут быть замечены только при тщательном сравнении с немикоризными растениями, обычно невозможно определить наличие грибного симбионта без окрашивания и микроскопирования или молекулярного анализа.

Арбускулярные микоризы были впервые выявлены и описаны в конце девятнадцатого века. Очень скоро выяснилось, что они имеют широкое распространение и в норме присутствуют у растений из многих отделов по всему земному шару, в особенности, в тропиках (Janse, 1897; Gallaud, 1905), но об их функциях до середины 1950-х гг. было известно очень мало. Почти вся информация о видовой принадлежности АМ грибов, полученная до 1953 г., недостоверна, за исключением работы Б. Пейронеля (Peyronel, 1923), который показал, что гифы эндофита можно проследить до находящихся в почве спорокарпов грибов, позднее отнесенных к сем. Endogonaceae. В более позднем обзоре (Butler, 1939) было признано, что виды грибов, известные под названием *Rhizophagus* — почти наверняка несовершенные представители семейства Endogonaceae, в которое было включено большинство видов, теперь относимых к отделу Glomeromycota. Работа Б. Моссе (Mosse, 1953), убедительно показавшей, что микоризные особи земляники были колонизированы видом рода *Endogone* (затем перенесенным в род *Glomus*), можно сказать, открыла современный период исследований. Вскоре Б. Моссе и другие ученые существенно дополнили свои ранние наблюдения и путем инокуляции продемонстрировали, что грибы из сем. Endogonaceae - симбионты многих видов растений. Информация о дальнейшей истории исследования АМ приведена в известной статье «A history of research on arbuscular mycorrhiza» («История исследования арбускулярной микоризы» (Koide, Mosse, 2004).

Важной вехой в изучении АМ стал проведенный в 1974 г. симпозиум, посвященный эндомикоризам, на котором был впервые разработан целый ряд ключевых для данной проблематики понятий. Многие представленные тогда работы стали классическими (Sanders et al., 1975) и, наряду с двумя предыдущими изданиями данной книги (Harley, Smith, 1983; Smith, Read, 1997), освещают базовые аспекты АМ симбиозов. Помимо того, что недавними исследованиями были подтверждены закономерности, установленные в ранних работах, было также выявлено высокое генетическое, структурное и функциональное разнообразие АМ грибов и образуемых ими симбиозов. Кроме того, появился акцент на клеточном и молекулярном уровне взаимоотношений между симбионтами и их роли в экосистемах.

Таким образом, АМ грибы в настоящее время считаются облигатными симбионтами очень широкого круга растений. Симбиоз является биотрофным и в норме мутуалистическим, долговременные отношения совместимых партнеров основаны прежде всего на двустороннем транспорте питательных веществ между симбионтами, иногда имеются и другие преимущества, такие как устойчивость к засухе и болезням (см. гл. 5 и 6).

Арбускулярно–микоризные грибы

Общая биология и развитие

Споры АМ грибов (рис. 1.2; см. приложение 1.1) очень крупные (до 500 мкм в диаметре), с изобилием запасных липидов, некоторым количеством углеводов и толстой, прочной оболочкой, содержащей хитин и, в некоторых случаях, β (1–3) глюкан

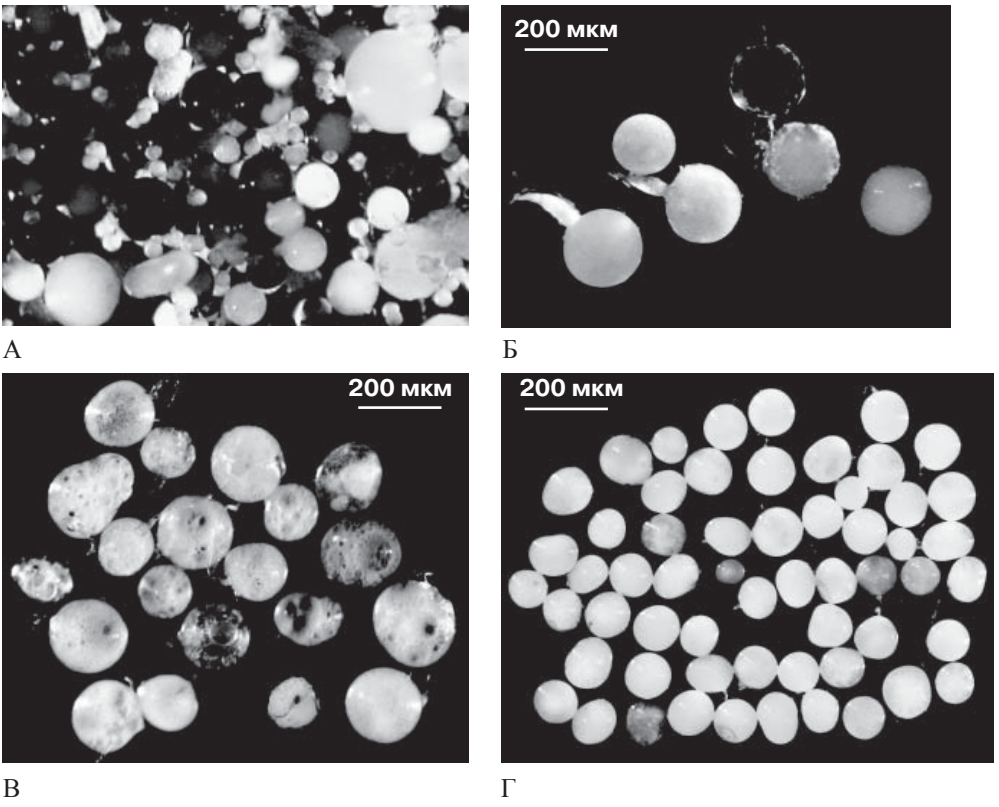


Рисунок 1.2. А — споры девяти видов АМ грибов, собранные на лугу, возникшем на месте заброшенного агроценоза. Воспроизведено из Bever et al., 2001 (Arbuscular mycorrhizal fungi: more diverse than meets the eye, and the ecological tale of why. *Bioscience* **51**, 923–931, права принадлежат Американскому институту Биологических наук, с разрешения). Б — споры *Acaulospora laevis*. К споре крепится прозрачный спороносный мешочек (отмечено стрелкой). В — споры *Glomus mosseae*. Г — споры *Gigaspora gigantea*. Фото Б, В и Г любезно предоставлены Дж. Мортоном. См. также приложение 1.1.

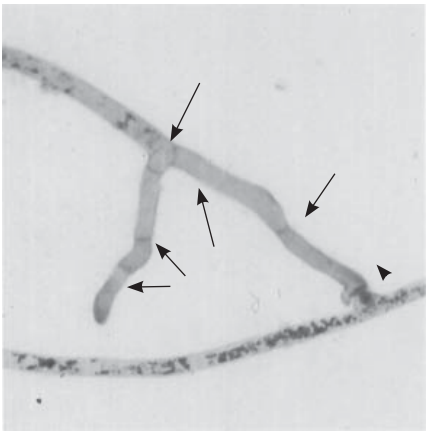
(Gianinazzi-Pearson et al., 1994b; Lemoine et al., 1995). Каждая спора содержит большое количество ядер, примерно оцениваемое в диапазоне от 800 до почти 35000 в зависимости от вида (Hosny et al., 1998). Последние данные свидетельствуют о том, что у *Glomus intraradices* и *G. etunicatum* и, возможно, также у *Scutellospora castanea*, все ядра гаплоидны, и как у грибов из других групп, различия по плоидности выявлены не были (Bianciotto et al., 1995; Hijri, Sanders, 2004, 2005). Предполагается, что такова же ситуация у всех видов АМ грибов (однако, см. ниже). Содержание ДНК в ядре достаточно сильно варьирует; количество ДНК на спору и оценка числа ядер дают значения 1,7 и 3,4 пг для *Glomus versiforme* и *Scutellospora persica* (Viera, Glenn, 1990), однако методом флюорометрии окрашенных ядер для ряда видов из четырех родов были получены меньшие значения в интервале 0,26–1,65 пг (Bianciotto, Bonfante, 1992; Hosny et al., 1998). Размер генома *G. intraradices*, около 16,54 Мб (0,017 пг) несопоставим с таковым у грибов из других групп, но у некоторых АМ видов он значительно больше, до 1058,4 Мб (1,1 пг) у *S. pellucida* (Bianciotto, Bonfante, 1992; Hosny et al., 1998). Маловероятно, что высокие значения

являются результатом полиплоидии, скорее это связано с накоплением повторяющихся последовательностей (Hosny, Dulieu, 1994). Споры многих видов, в особенности представителей семейства Gigasporaceae, содержат в качестве эндосимбионтов бактерииподобные организмы (БПО, BLO в англоязычной литературе), обнаруженные при помощи электронной микроскопии и молекулярного анализа. Многие из них близки к *Burkholderia* и, как показано, имеют функциональные бактериальные гены, в том числе из *nif* оперона, который, возможно, принимает участие в фиксации азота. БПО могут передаваться новым поколениям спор путем вертикального переноса, однако их функциональная значимость в жизни АМ грибов или в симбиозах еще не выяснена (Bianciotto et al., 1996, 2004; Minerdi et al., 2002).

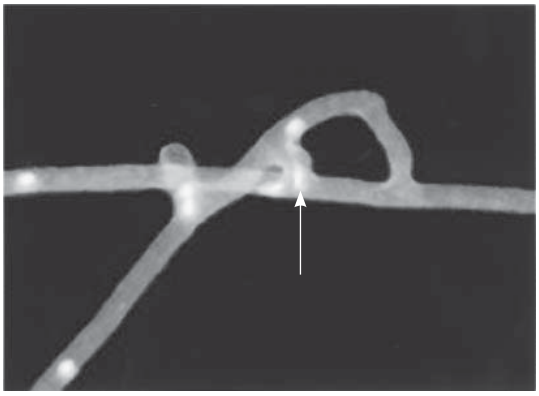
При прорастании споры рост гифы сопряжен с делением ядер (Bianciotto, Bonfante, 1992; Bécard, Pfeffer, 1993; Bianciotto et al., 1995), расходованием запасов углеводов и липидов (Bécard et al., 1991; Bago et al., 1999a) и образованием небольшого количества ветвящегося несептированного мицелия, способного к образованию анастомозов. Без растения-хозяина рост постепенно прекращается, вероятно, из-за отсутствия сигнальных молекул от корней, которые, как показано, стимулируют ветвление гиф (Giovannetti et al., 1993a; Buee et al., 2000; Tamasloukht et al., 2003; Akiyama et al., 2005; Besserer et al., 2006) (см. гл. 3). Остановка роста, скорее всего, запрограммирована и сопровождается контролируемым сокращением цитоплазмы и ядер и образованием септы, что позволяет споре и ассоциированному с ней мицелию долгое время сохранять жизнеспособность и дает возможность повторно прорастать и колонизировать корни (Koske, 1981; Logi et al., 1998). Как только симбиоз с совместимым растением установлен, и внутри корней и в почве начинается рост мицелия, а на концах свободных гиф происходит образование новых многоядерных спор (см. гл. 2 и 3). Несмотря на многочисленные попытки, АМ грибы так и не удалось культивировать, их цикл развития не может быть пройден полностью без формирования симбиоза с автотрофным растением. Тем не менее, в одной недавней работе (Hildebrandt et al., 2006) описано образование небольшого количества жизнеспособных и инфекционных спор у изолята *Glomus intraradices* при совместном культивировании с двумя определенными бактериями. Это обнадеживающее открытие, возможно, приведет к выяснению, какие именно стимулы необходимы для роста и споруляции АМ грибов.

Мицелий, образующийся из одной споры, не остается самостоятельным. Анастомозы между гифами известны на протяжении более чем ста лет (Gallaud, 1905) и наблюдались у пресимбиотического мицелия (Mosse, 1959). Позже в ходе тщательного анализа были показаны анастомозы между гифами, как образующимися из спор, так и выходящими из колонизированного корня, приводящие к непрерывности цитоплазмы и миграциям ядер (Giovannetti et al., 1999, 2001, 2003, 2004; Giovannetti, Sbrana, 2001; de la Providencia et al., 2005) (рис. 1.3А, Б, В). Частота анастомозов и, следовательно, возможность генетической рекомбинации, выше в пределах мицелия, образующегося из единственной споры, чем между мицелиями одного и того же изолята, происходящими от разных спор. Анастомозы между изолятами одного вида из различных географических точек или мицелиями разных видов не наблюдались, однако необходимо изучить более широкий круг видов грибов. У *Glomus mosseae* генетическая дистанция, установленная при помощи тестов на вегетативную несовместимость (рис. 1.3Б), была подтверждена белковыми профилями и рестрикционным анализом ITS RFLP (Giovannetti et al., 2003), что предполагает возможность использования таких тестов для выявления генетического сходства АМ грибов. Наличие анастомозов может иметь большое значение для изучения генетики АМ грибов, а также для создания и поддержания мицелиальных сетей, участвующих в колонизации растения и транспорте питательных веществ (Jakobsen, 2004).

А



Б



В

Рисунок 1.3. А — микрофотография анастомоза (отмечено стрелкой) между гифами свободного мицелия *Glomus mosseae.* Происходит слияние стенок гиф и объединение цитоплазмы, что показано окрашиванием, выявляющим сукцинатдегидрогеназную активность. Из Giovannetti et al. 2001: The occurrence of anastomosis formation and nuclear exchange in intact arbuscular mycorrhizal networks. *New Phytologist* **151**, 717–724, с разрешения. Б — микрофотография несовместимого соединения (отмечено наконечником стрелки) между гифами *Glomus mosseae* от географически удаленных изолятов. Содержимое гиф отмерло и образовались септы (отмечено стрелками), о чем свидетельствует отсутствие сукцинатдегидрогеназной активности. Из Giovannetti et al., 2003: Genetic diversity of isolates of *Glomus mosseae* from different geographic areas detected by vegetative compatibility testing and biochemical and molecular analysis. *Applied and Environmental Microbiology* **69**, 616–624, с разрешения Американского Общества Микробиологии. В — анастомоз между гифами *Glomus mosseae* с окрашиванием DAPI. Обратите внимание на наличие ядра в копуляционном мостике (стрелка). Эпифлуоресцентная микроскопия. Из Giovannetti et al., 1999: Anastomosis formation and nuclear and protoplasmic exchange in arbuscular mycorrhizal fungi. *Applied and Environmental Microbiology* **65**, 5571–5575, с разрешения Американского Общества Микробиологии.

Строение генома

Организация генома АМ грибов изучена недостаточно, хотя в последнее время в решении давно назревших вопросов был достигнут успех благодаря применению новых методов работы с этой сложной для исследования группой организмов. Этот очерк представляет собой обзор полученных данных, в котором признается, что многое еще остается под сомнением. Как было отмечено выше, изученные АМ грибы гаплоидны, и предположение, что некоторые виды могут быть полиплоидными (Pawlowska, Taylor, 2004), нуждается в экспериментальном подтверждении. Морфологически выраженных половых структур у АМ грибов обнаружено не было, что привело к заключению, что представители отдела Glomeromycota - бесполые клональные организмы, но, тем не менее, высокое генетическое разнообразие наблюдается даже в пределах одного изолята. Это подтверждается как регулярным обнаружением нескольких различных последовательностей ITS в ядерной рДНК одной многоядерной споры (Sanders et al., 1995; Lloyd-MacGilp et al., 1996; Lanfranco et al., 1999; Antoniolli et al., 2000; Pringle et al., 2000; Rodriguez et al., 2001; Jansa et al., 2002b), так и профилями AFLP (Rosendahl, Taylor, 1997) в некоторых генах, очевидно, задействованных в функционировании клетки (Kuhn et al., 2001; Sanders et al., 2003; Pawlowska, Taylor, 2004). С точки зрения выявления происхождения и передачи генетической информации последующим поколениям спор или другим клональным мицелиям большой интерес представляет распределение изменчивых последовательностей между ядрами в многоядерной споре или гифе. Существует два возможных варианта: или ядра генетически различны, и организм представляет собой гетерокарион, или ядра идентичны (гомокарион), и каждое из них содержит все варианты последовательностей (рис. 1.4).

Существуют подтверждения обеих точек зрения. В пользу гетерокариотичной модели свидетельствуют наследование формы спор у *Scutellospora pellucida* (Bever, Morton, 1999) и полученные методом флуоресцентной *in situ* гибридизации (FISH) данные о том, что ядра в одной споре *S. castanea* содержат разные количества двух отличающихся последовательностей ITS участка рДНК (Kuhn et al., 2001). Более того, варьирование ДНК полимеразы -*α* (*POL1*-подобная последовательность) у *G. etunicatum* в пределах споры вряд ли может быть объяснена полиплоидией (Hijri, Sanders, 2005). Если эти бесполые организмы гетерокариотичны, то должен проис-

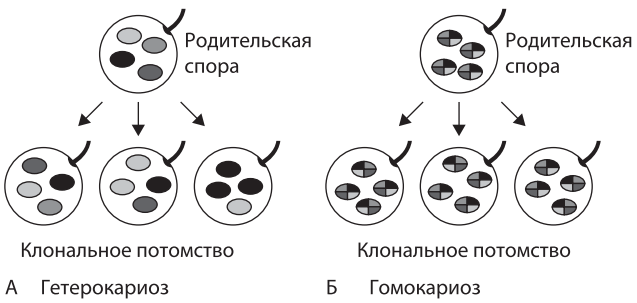


Рисунок 1.4. Классификация вариантов полиморфного маркера в моноспоровых культурах *Glomus* согласно двум моделям, объясняющим генетическую разнородность АМ грибов. А — гетерокариотическая модель; Б — гомокариотическая модель. Варианты полиморфного генетического маркера, содержащиеся в ядрах, отмечены заливкой разной интенсивности. Воспроизведено с разрешения MacMillan Publishers Ltd из Pawlowska, Taylor, *Nature* **427**, 733–737 (2004).

ходить переход ассоциации различных ядер, представляющих разные геномы, по несептированному мицелию и от одного поколения к следующему. Подобная ситуация весьма необычна, и, следовательно, необходимо ее тщательное изучение. Существующие данные (Pawlowska, Taylor, 2004; Stukenbrock, Rosendahl, 2005a) могут согласовываться с гетерокариотической моделью только в том случае, если частоты различных ядер сохраняются неизменными в течение всего цикла развития гриба. Это вряд ли возможно в несептированном и часто анастомозирующем мицелии, который может распространяться на много метров (Rosendahl, Stukenbrock, 2004). Есть предположение, что взаимоисключающие данные объясняются различиями между исследованными видами или изолятами грибов и/или между типами последовательностей (ДНК или цДНК), применяемых в качестве маркеров для выявления генетической изменчивости и гетерокариоза (Stukenbrock, Rosendahl, 2005b).

Генетическая организация важна, так как существование множественных геномов (гетерокариоз) может создавать проблемы с контролем генной экспрессии на уровне всего организма в целом. Модель гомокариона требует доработки для объяснения наличия выраженного генетического разнообразия при отсутствии полиплоидии. Необходимо понять, каким образом происходит передача генетической информации в пределах мицелия и от поколения к поколению, выяснить пути эволюции группы, а также механизмы контроля генной экспрессии, которые в мультигеномном организме могут быть очень сложными.

Если АМ грибы представляют собой древнюю группу, лишенную полового процесса, то возникает вопрос, как они избегают накопления большого количества вредоносных мутаций (Judson, Normark, 1996). Возможно, что эти грибы вовсе не являются бесполыми организмами, просто их половой процесс протекает скрытно или имеются другие процессы с аналогичными последствиями «чистки генома», такие как конверсия генов или митотический кроссинговер. Были предприняты попытки обнаружения свидетельств рекомбинации, и получены данные как об ее отсутствии или крайней редкости (Rosendahl, Taylor, 1997; Kuhn et al., 2001; Stukenbrock, Rosendahl, 2005a), так и о более высокой ее частоте (Vandenkoornhuyse et al., 2001; Gandolfi et al., 2003). Опять же, взаимоисключающие результаты могут быть обусловлены методологическими различиями экспериментов. Необходимо подчеркнуть, что выявление процессов рекомбинации как таковых ничего не говорит ни о ее частоте, ни о механизмах, ни о сроках появления. Если АМ грибы совершенно лишены полового процесса и рекомбинация встречается редко, то из этого следует, что мутации (и, возможно, гетерокариоз) обеспечивают основу для адаптации к изменениям окружающей среды и продолжения эволюции. Это может не являться серьезной проблемой, так как стимулы к изменению партнеров при мутуалистическом симбиозе, вероятно, менее значительны, чем при паразитизме, когда, как полагают, паразит и хозяин, должны постоянно эволюционировать для того, чтобы не отставать друг от друга (Taylor et al., 1999). Однако, существует предположение, что при мутуалистическом симбиозе эндобионт (в данном случае, гриб) в ходе эволюции подавляет половой процесс ввиду того, что направление отбора благоприятствует скорее сходству с родительским поколением, нежели отличиям от него (Law, Lewis, 1983). В особенности это подходит для АМ грибов, для которых источником получения углерода (С) служит апопласт корня, гомеостаз которого поддерживается растением, делая это местообитание гриба достаточно стабильной средой. Тем не менее, упомянутая гипотеза получила критические отзывы из-за того, что не была принята во внимание свободная, находящаяся вне корня часть грибного организма, подвергающаяся воздействию изменчивых факторов почвы. Эта гипотеза включает допущение, что физиологическое разнообразие в симбиозе низко у обоих партнеров и подразумевает малую специфичность взаимоотношений АМ грибов с растением-хозяином. Все колебания этих признаков будут приводить к отбору бо-

лее выгодных симбиотических союзов, и таким образом, стимулировать рекомбинацию и эволюцию в сторону полового процесса.

Явно недостаточное внимание было уделено взаимосвязи между описанным выше генетическим разнообразием АМ грибов и разнообразием фенотипическим, также довольно высоким как на межвидовом уровне, так и среди изолятов, принадлежащих к одному виду. Было показано, что в группе изолятов *Glomus intraradices*, полученных из одной точки сбора, генетическое разнообразие было выше, чем фенотипическое, оцениваемое по скорости роста гиф и спорообразованию в моноксеничной культуре (Koch et al., 2004). Было бы интересно выяснить, существует ли на самом деле генетическая избыточность применительно к функционированию симбиоза с растениями, находящимися в почве, или имеющиеся данные являются результатом работы в однотипных и искусственных условиях культуры. Важность фенотипических различий в симбиозах и последствия разнообразия для взаимоотношений между растениями в экосистемах будут обсуждены далее. В любом случае, степень как специфичности, так и фенотипического разнообразия АМ грибов, возможно, гораздо выше, чем предполагалось ранее, что имеет важные последствия для эволюции данной группы.

Систематика и филогения

Сложность культивирования АМ грибов и идентификации вегетативных стадий различных таксонов в почве или внутри корня привела к тому, что до недавнего времени их классификация была основана почти исключительно на способе развития и строении клеточной стенки их спор. Споры могут быть собраны почти в любой почве и использованы для получения совместной культуры с растением («горшечные культуры»), споры из которой можно применять в качестве инокулюма для постановки экспериментов. Многие культуры сознательно выделяют из единственной споры, чтобы убедиться, что в них находится только один вид гриба. В результате, полученные таким образом изоляты, похоже, имеют гораздо более низкий уровень генетического разнообразия, чем свойственно виду в целом (Clapp et al., 2002).

До недавнего времени, исходя из наличия у АМ грибов несептированного мицелия считали, что они наиболее близкородственны отделу Zygomycota и, несмотря на отсутствие типичного для зигомицетов полового процесса, эта точка зрения сохранялась до тех пор, пока применение методов анализа последовательностей ДНК не привело к пересмотру системы. Первая классификация сем. Endogonaceae (Zygomycota) не преследовала цели связать таксономию с филогенией группы (Gerdemann, Trappe, 1974, 1975). Свою классификацию Дж. Гердеманн и Дж. Трэпп называли «временным решением трудной таксономической проблемы», но она была очень важна, так как заложила основу изучения АМ грибов, представив описания четырех родов: *Gigaspora*, *Acaulospora*, *Glomus* и *Sclerocystis*. Далее, с прибавлением рода *Scutellospora* их число возросло до пяти. Эта классификация позволила исследователям обозначать изучаемые ими виды грибов уже не в описательных терминах, например, «Е3» или «желтый вакуолизированный мицелий», как это было принято раньше. К 1993 г. было описано около 150 широко распространенных видов и, хотя произошел серьезный пересмотр таксономии и филогении группы, прибавилось только очень небольшое количество видов. Принимая во внимание долгую эволюционную историю группы, малочисленность видов кажется удивительной, так как предполагает очень низкое разнообразие. Тем не менее, как уже было показано, один-единственный вид может демонстрировать высокое генетическое и функциональное многообразие. Строение и развитие спор, особенно их стенок, продолжает являться важным компонентом таксономических описаний и филогенетического анализа. Первая попытка соз-

дания классификации, отражающей филогенетические взаимоотношения, была сделана Дж. Мортоном (Morton, 1990a). Он применил методы кладистики и предположил эволюционную значимость 27 признаков. Из порядка Endogonales был выделен новый порядок, Glomales (однако, все еще помещаемый в отдел Zygomycota), который являлся монофилетической группой, включающей только те виды грибов, которые «получают углерод исключительно от растения-хозяина через дихотомически ветвящиеся арбускулы» (Morton, Benny, 1990). Хотя это определение было просто попыткой выделить АМ грибы в самостоятельную группу, оно налагало слишком большие ограничения, так как многие предположения не были проверены физиологическими экспериментами (Gianinazzi-Pearson et al., 1991a; Smith, Smith, 1996), что создавало некоторые трудности в практическом использовании. Было предложено использовать в качестве основной диагностической структуры арбускулу, которая, как считалось, является единственным локусом поглощения углерода грибом. Это не вполне точно, так как нет оснований *a priori* считать, что внутриклеточные гифы или гифальные кубки в межклетниках не могут быть зонами транспорта органического углерода (см. гл. 4). В этом случае также возникают сложности: определение подразумевает, что все описания видов АМ грибов должны сопровождаться данными о наличии арбускул, что проблематично, так как, во-первых, в некоторых симбиозах преобладают гифальные клубки; во-вторых, существуют виды грибов с типичным характером развития спор и морфологией вегетативных структур, но «атипичным» углеродным транспортом (см. гл. 13); и в-третьих, грибной партнер в уникальном симбиозе с цианобактериями (*Nostoc*) — *Geosiphon pyriformis* несомненно относится к АМ грибам на основании как данных о последовательностях ДНК, так и морфологии спор, но не образует характерных структур, аналогичных формирующимся в корнях (Schüßler et al., 1994; Schüßler, 2002). Прочие используемые авторами характеристики касались стабильных и дискретных качественных признаков спор. Вегетативные структуры (помимо арбускул) не были использованы из-за пластичности их формы и большого многообразия при симбиозе с разными растениями. С помощью методов кладистики для определения эволюционных взаимоотношений АМ грибов было построено филогенетическое дерево (рис. 1.5А), которое послужило отправной точкой для последующих исследований.

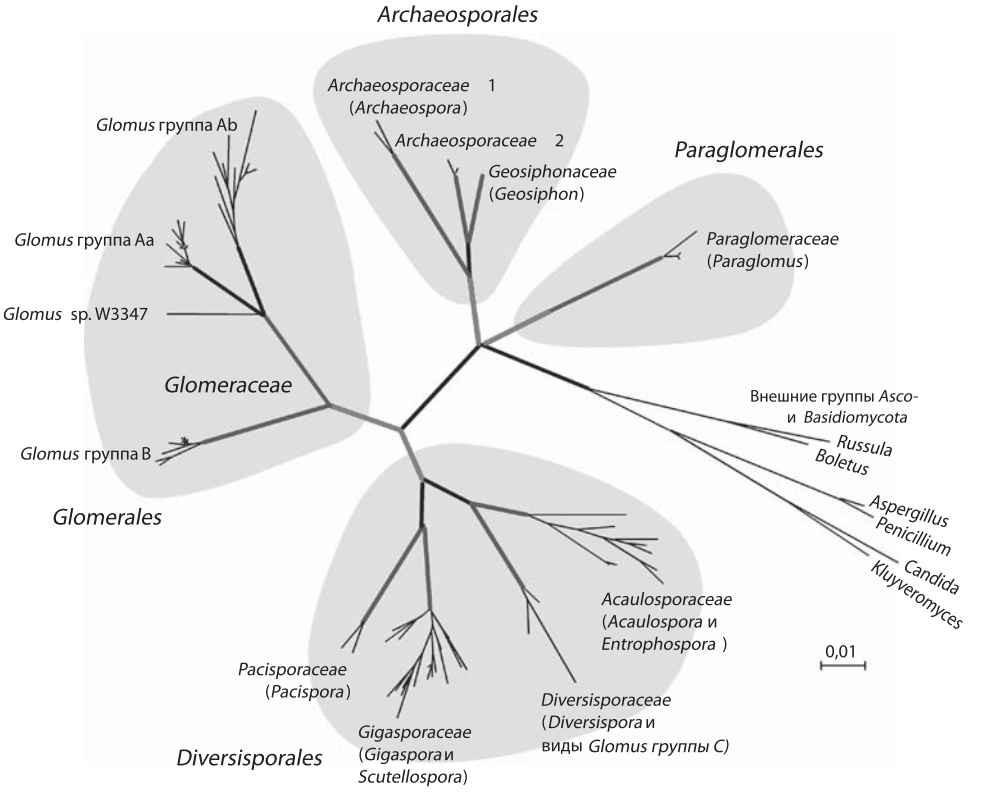
Ключевыми моментами топографии дендрограммы являются отделение группы *Glomus*/*Sclerocystis* от *Gigaspora*/*Scutellospora* и наличие линии *Acaulospora*/*Entrophospora*, очевидно произошедшей от *Glomus*. Первоначальный анализ последовательностей ДНК подтвердил то, что гломусовые грибы представляют собой монофилетическую группу, разделяющуюся на те же три семейства, которые были выявлены методом кладистики. Данные липидного анализа также подтвердили существование трех семейств (Sancholle, Dalpé, 1993), но состав углеводов в клеточной стенке предполагал менее четкую филогенетическую картину и, таким образом, поставил под сомнение родство АМ грибов с представителями отдела Zygomycota (Gianinazzi-Pearson et al., 1994b; Lemoine et al., 1995).

Развитие молекулярных методов анализа изменило наши представления об эволюции и филогении АМ грибов. На основании анализа последовательностей рДНК

Рисунок 1.5. Филогенетические деревья АМ грибов, полученные на основании разных типов данных. А — кладограмма, показывающая таксономическое и филогенетическое расхождение родов АМ грибов на основании сравнительного анализа последовательностей из спор; любезно предоставлено Д. Мортоном. Б — филогенетическое дерево АМ грибов (Glomeromycota), построенное методом максимального сходства на основании молекулярных данных последовательности гена малой субъединицы рРНК, топология получена различными методами присоединения соседей и проверена экономным бутстрэп-анализом; любезно предоставлено А. Шусслером (по Schüßler, 2002, с изменениями).

Glomus
Acaulospora
Entrophospora
Gigaspora
Scutellospora
Боковая спора на шейке спорогенного мешочка
Спора внутри шейки спорогенного мешочка
Слой сосочков в области прорастания споры
Двухслойная эластичная внутренняя стенка (-и)
Щиток в области прорастания споры
Шиповатые ауксилярные клетки
Узловатые ауксилярные клетки
Двухслойная эластичная внутренняя стенка (-и)
Терминальная спора на спорогенной гифе (гифах)
Спороносный мешочек
Постоянный внешний слой, окружающий клеточную стенку
Исчезающий слой, окружающий клеточную стенку
Спорогенная клетка
Везикулы внутри корня
Внешние ауксилярные клетки
Гифы цилиндрические, часто с ветвлением под прямым углом
Гифы со вздутиями и выростами, часто в виде клубков
Арбускулы (монофилетическое происхождение?)

А


Archaeosporales
Archaeosporaceae 1 (Archaeospora)
Archaeosporaceae 2
Geosiphonaceae (Geosiphon)
Glomus группа Ab
Glomus группа Aa
Glomus sp. W3347
Glomeraceae
Glomus группа B
Glomerales
Paraglomerales
Paraglomeraceae (Paraglomus)
Внешние группы Asco- и Basidiomycota
Russula
Boletus
Aspergillus
Penicillium
Candida
Kluyveromyces
0,01
Acaulosporaceae (Acaulospora и Entrophospora)
Pacisporaceae (Pacispora)
Diversisporaceae (Diversispora и виды Glomus группы C)
Gigasporaceae (Gigaspora и Scutellospora)
Diversisporales

Б

малой субъединицы появление этой группы было датировано сроками между 460 и 350 млн. лет назад (Simon et al., 1993), что хорошо согласуется с палеонтологическими свидетельствами АМ колонизации наземных сосудистых растений (рис. 1.6 и см. ниже). Позднее эти датировки были пересмотрены, и сроки появления АМ грибов оказались сдвинуты на период 1400–1200 млн. лет назад, а дата происхождения первых наземных растений оценивается как приблизительно 900 млн. лет назад. Однако остается некоторая неопределенность из-за отсутствия палеонтологических находок, по которым можно было бы проверить молекулярные данные (Heckman et al., 2001; Schüßler, 2002). В любом случае, тот факт, что гриб *Geosiphon pyriformis* относится к анцестральной по отношению к другим представителям отдела Glomeromycota группе, предполагает участие этих грибов в самых ранних этапах выхода растений на сушу путем симбиоза с цианобактериями (Gehrig et al., 1996).

Главные успехи в построении филогении были достигнуты, когда стали использовать множество последовательностей генов рДНК малой субъединицы для целого ряда грибов, включая как представителей отдела Zygomycota и АМ грибы, так и хорошо изученные базидиомицеты и аскомицеты. Новые молекулярные, морфологические и экологические данные ясно показали, что АМ грибы существенно отличаются от всех остальных групп и должны быть выделены в новую монофилетическую кладу, получившую ранг отдела. В соответствии с филогенией, основанной на последовательностях малой субъединицы, отдел, получивший название Glomeromycota, возможно, происходит от общего с отделами Ascomycota и Basidiomycota предка, но не родственен отделу Zygomycota (Schüßler et al., 2001) (см. рис. 1.5Б). Монофилия Glomeromycota, основанная на последовательностях малой субъединицы, поддержана филогенией на основе генов *β*-тубулина, актина и фактора элонгации альфа, хотя они предполагают, что сестринской группой могут быть не аскомицеты и базидиомицеты, а хитридиомицеты или зигомицеты (*Mortierella*) (Helgason et al., 2003; Corradi et al., 2004). Таким образом, подтверждение того, что аскомицеты и базидиомицеты являются наиболее близкими ныне живущими родственниками представителей Glomeromycota, остается темой для дальнейших исследований.

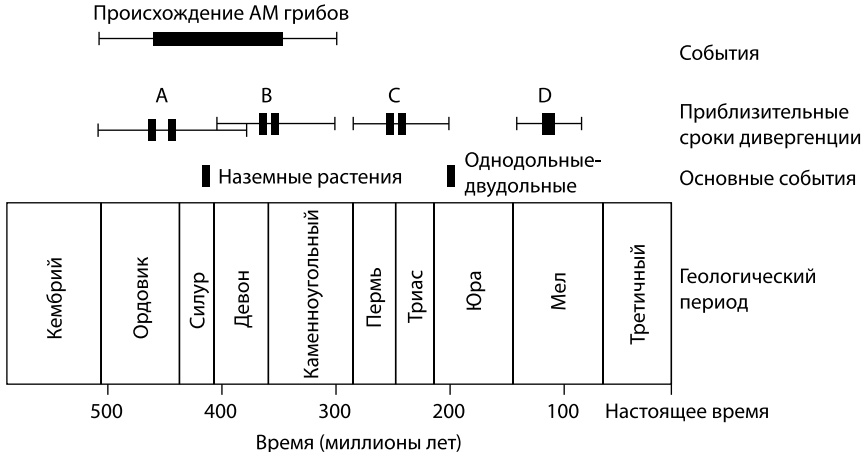


Рисунок 1.6. Приблизительные сроки возникновения и дивергенции арбускулярно-микоризных грибов. Из Simon et al., 1993. Воспроизведено с разрешения из *Nature*, **363**, 67–69. Правообладатель McMillan Magazines Ltd.

В отношении более низких рангов таксонов филогения на основании последовательностей малой субъединицы поддерживает четыре группы, которым А. Шюсслер придал статус порядков (Schüßler et al., 2001) (см. рис. 1.5Б). Порядок Glomerales (ранее Glomales) в старом понимании (Morton, Benny, 1990) сейчас разделен на два порядка, Glomerales, включающий два семейства «Glomus группа А» и «Glomus группа В», и Diversisporales, содержащий семейства Acaulosporaceae, Diversisporaceae, Gigasporaceae и Gerdemanniaceae (Schüßler et al., 2001; Walker et al., 2004). Также были выявлены еще две анцестральные линии, Archaeosporales с семействами Archaeosporaceae и Geosiphonaceae, и Paraglomerales, в настоящее время включающий единственное семейство Paraglomeraceae. Эти таксоны хорошо поддерживаются анализом последовательностей малой субъединицы. Среди достаточно изученных групп семейство Gigasporaceae является монофилетичным и включает роды *Gigaspora* и *Scutellospora*, но род *Glomus* не монофилетичен, и его представители распределены, как минимум, в четырех семействах, «Glomus группа А», «Glomus группа В», Diversisporaceae (Schwarzott et al., 2001) и Gerdemanniaceae (Walker et al., 2004).

Концепция вида для арбускулярно–микоризных грибов

Так как представители отдела Glomeromycota являются бесполыми, клональными организмами, к ним неприменима биологическая концепция вида. Их следует трактовать как фенеты или формальные виды (Morton, 1990b; Walker, 1992). Широкое применение последовательностей рДНК малой субъединицы означает, как было сказано выше, что классификация и филогения, основанная на признаках спор (Morton et al., 1992), может быть дополнена данными о последовательностях, которые обеспечивают для каждого вида ряд «типов последовательностей», отражающих молекулярное разнообразие, и «штрихкодов», по которым этот вид или его отдельные изоляты могут быть идентифицированы. Эта информация уже доказала свою значимость в экологических исследованиях распространения АМ грибов в корневых системах разных видов растений при различающихся условиях окружающей среды. Небольшое количество видов в отделе Glomeromycota (около 150), выделяемых на основе строения спор, может создать поверхностное представление о низком разнообразии внутри группы. Тем не менее, стало совершенно очевидно, что высокий уровень генетических различий между изолятами одного фенетического вида простирается вплоть до фенотипического разнообразия на уровне развития и функционирования симбиоза (Hart, Reader, 2002a; Koch et al., 2004; Munkvold et al., 2004). Генетический контроль многообразия путей развития обусловлен различной способностью изолятов *Glomus intraradices* (разделенных как на основании последовательностей рДНК, так и происхождения) проникать в корни мутантного томата с ограниченной микоризной колонизацией (*rmc*). Большинство изолятов прекращали рост в ризодерме, но один из них, *G. intraradices* WFVAM23, нормально развивался в коре корня и устанавливал функциональный симбиоз (Gao et al., 2001; Poulsen et al., 2005; Jansa et al., неопубликованные данные). Если уровень фенотипического разнообразия в пределах фенетического вида высок, то приходится поставить под сомнение видовое название в свете изучения эволюции, фенотипических и функциональных характеристик вида и сравнения результатов различных работ, где исследовали один и тот же вид гриба. Главной задачей на будущее должна стать разработка действующей концепции вида для представителей отдела Glomeromycota и методов, позволяющих быстро идентифицировать и охарактеризовать виды или внутривидовые вариации таким образом, чтобы эти наименова-

ния учитывали их развитие и функции и предполагаемую способность к установлению симбиоза. В свете этого, различия АМ грибов по способности к формированию анастомозов в пределах одного или между различными изолятами и видами вкупе с информацией о сходстве генетических последовательностей и симбиотических функциях, могут стать темой, достойной самого серьезного исследования.

Растения, образующие арбускулярные микоризы

Круг растений - потенциальных симбионтов АМ чрезвычайно широк, и благодаря этому появилось часто цитируемое утверждение (Gerdemann, 1968), что «симбиоз распространен столь повсеместно, что легче перечислить семейства растений, в которых он не встречается, чем составить список тех, для которых он показан». Это мнение сохраняется и в настоящее время. Представители большинства семейств цветковых растений и голосеменных, наряду со спорофитами папоротников и плаунов образуют арбускулярные микоризы. Кроме того, свободноживущие гаметофиты папоротникообразных, так же как и некоторых печеночных мхов (см. гл. 14), часто колонизируются грибами, которые сейчас относят к отделу Glomeromycota, несмотря на иные структурные особенности колонизации и фотосинтетическую способность растения. Один из представителей отдела Glomeromycota поглощает ци-

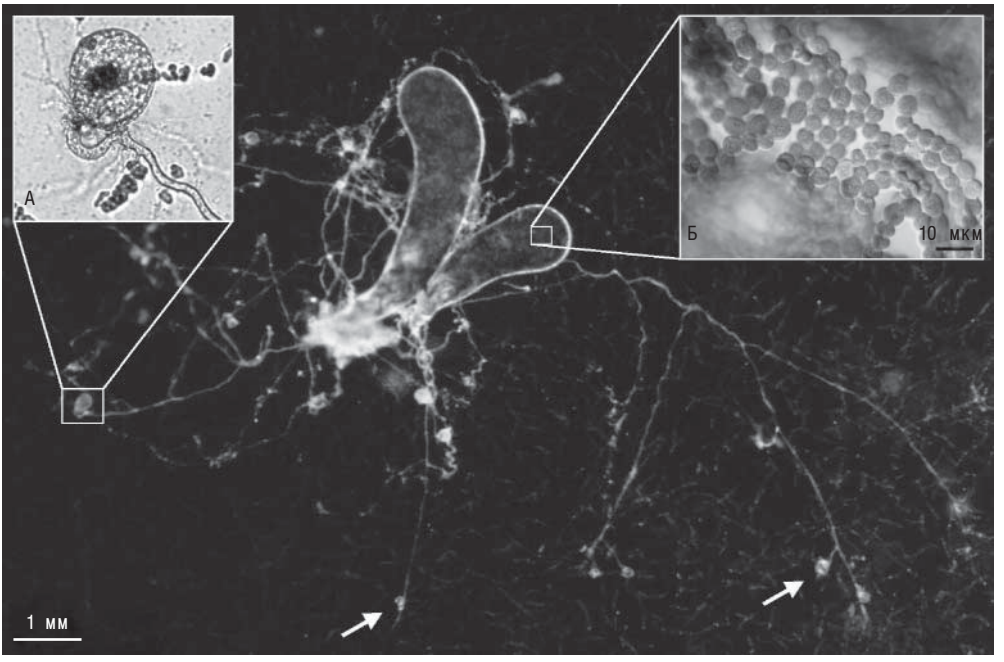


Рисунок 1.7. *Geosiphon pyriformis*, почвенный гриб из гломеромицетов, образующий эндосимбиоз с цианобактерией и формирующий в *in-vitro* культуре микоризоподобную ассоциацию. А — спора и гифа *G. pyriformis*; Б — цианобактериальный симбионт; В — пузыревидные структуры *G. pyriformis* с отходящим от них свободным мицелием. Из Schüßler, Wolf, 2005: *Geosiphon pyriformis* – a glomeromycotan soil fungus forming endosymbiosis with Cyanobacteria, в *In Vitro Culture of Mycorrhizas.* Eds S. Declerck, D.G. Strullu, J.A. Fortin, pp. 272–289, с любезного разрешения Springer Science and Business Media. См. также приложение 1.2.

анобактерии из рода *Nostoc* и образует симбиотический организм с пузыревидным талломом, известный как *Geosiphon piriformis* (Schüßler et al., 1994) (рис. 1.7; см. приложение 1.2).

С другой стороны, некоторые растения стабильно не вступают в микоризные симбиозы какого бы то ни было типа, и можно сделать заключение, что грибная колонизация не характерна для нескольких крупных семейств, в том числе Chenopodiaceae, Brassicaceae, Caryophyllaceae, Polygonaceae, Juncaceae и Proteaceae. Однако, даже среди них иногда наблюдается колонизация корней, варьирующая от формирования как арбускул, так и везикул до разрозненных гиф и, возможно, везикул (см. ниже). Физиология подобных взаимоотношений редко подвергается изучению и, вследствие этого, не следует быть чересчур категоричными в функциональных характеристиках этих симбиозов. Они могут меняться от паразитической утилизации органического углерода через нейтральные отношения до типичных мутуалистических симбиозов (см. гл. 4 и 5).

Дж. Трэппом (Trappe, 1987) была по литературным данным составлена наибо-

Таблица 1.1 Число и доля видов в подклассах и классах покрытосеменных растений (Angiospermae), исследованных на микоризность, и распределение изученных видов по типам микориз.

Таксон				Доля представителей с разными типами микориз, %			
	Общее число видов	Число изученных видов	Доля изученных видов, %	Только АМ	Прочие	АМ + прочие	НМ
Отдел Angiospermae	223400	6507	3	50	15	5	18
Класс Dicotyledonae	173500	5020	3	50	14	6	17
Подкласс							
Magnoliidae	12000	270	2	66	3	4	17
Hamamelidae	3400	265	8	27	44	11	6
Caryophyllidae	11000	317	3	14	4	2	59
Dilleniidae	25000	792	3	33	29	7	20
Rosidae	62100	1838	3	56	16	5	12
Asteridae	60000	1538	3	63	2	5	15
Класс Monocotyledonae	49900	1487	3	49	18	2	21
Подкласс							
Alismatidae	500	26	5	4	0	0	88
Arecidae	5600	61	1	56	3	3	30
Commelinidae	15000	826	6	55	1	2	28
Zingiberidae	3800	28	1	71	4	0	11
Lilliidae	25000	546	2	37	48	2	7

По Trappe, 1987. Классификация растений по Chronquist, 1981. АМ — арбускулярная микориза; Прочие — микоризы, образуемые аскомицетами и базидиомицетами; НМ — немикоризные растения.

лее полная компиляция по встречаемости микориз всех типов у покрытосеменных растений. Данные об арбускулярных микоризах можно обнаружить во всех исследованных порядках растений, почти с равной частотой для двудольных и однодольных (табл. 1.1). Он подчеркнул, что только около 3% видов растений изучены к настоящему времени, и наши знания о микоризном статусе некоторых таксонов до сих пор очень скудны, невзирая на растущее количество исследований. Тем не менее, чем больше мы узнаем, тем выше число микоризообразующих видов, даже в предполагаемо немикоризных семействах и в таких местообитаниях, как заболоченные участки, соленые болота, аридные или нарушенные сообщества, где, как считали долгое время, маловероятно обнаружение микориз (Bagyaraj et al., 1979; Clayton, Bagyaraj, 1984; McGee, 1986; Khan, Belik, 1995; O'Connor et al., 2001; Carvalho et al., 2004). Дж.Л. и Э.Л. Харли проанализировали литературу по встречаемости микориз на видовом уровне в весьма хорошо изученной флоре Великобритании (Harley, Harley, 1987a, b). Во многих семействах было исследовано, часто даже неоднократно, свыше 40% и иногда даже до 80% видов. Все перечисленные семейства включают микоризные виды и, нередко они составляют значительную долю. Сходная тенденция прослеживается и в большинстве исследований, выполненных недавно (Fitter, Moyersoen, 1996; Wang, Qiu, 2006). Во многих случаях для видов описано и микоризное и безмикоризное состояние, и представители некоторых семейств в типе формируют микоризы не АМ-типа или даже более одного типа микориз (Newman, Reddell, 1987; Wang, Qiu, 2006). Причин отсутствия колонизации у потенциально микоризных видов может быть множество, например, отсутствие инокулюма совместимого вида гриба в данном местообитании или условия окружающей среды, такие как обилие питательных веществ, низкие температуры или затопление, а также сезонная специфика развития гриба в корневой системе. Растения, которые не всегда колонизированы грибами, часто называют факультативно микоризными, чтобы отличать их от облигатно микоризных[1] видов, все представители которых колонизированы. Желательно избегать применения этих терминов в отношении степени выраженности реакции растений на колонизацию, так как восприимчивость растения (как положительный, так и отрицательный ответ) сильно зависит от вида АМ гриба, заселяющего корни, и условий окружающей среды (гл. 4).

Арбускулярные микоризы найдены у большинства изученных видов травянистых растений (про исключения см. выше), но они приурочены не только к травам. Уже в 1897 г. Я. Янзе обследовал 46 древесных пород на Яве и обнаружил, что все они содержат арбускулярную микоризу. Более поздние работы (см. обзоры Smits, 1992; Janos, 1987; Wang, Qiu, 2006), подтверждают наличие АМ у деревьев. Даже в сем. Dipterocarpaceae, долгое время считавшемся исключительно эктомикоризным (Smith, Read, 1997), как было показано недавно, до 75% видов могут образовывать арбускулярную микоризу (Tawaraya et al., 2003; Wang, Qiu, 2006), что свидетельствует о преобладании АМ симбиозов в тропических лесах с высоким биоразнообразием, а также и в некоторых лесных сообществах умеренных широт. Так появилось утверждение, что АМ представляет собой наиболее экологически значимый тип микоризных симбиозов в лесах Новой Зеландии (Baylis, 1961, 1962), и оно иногда правомочно также для северных широколиственных лесных сообществ, даже в случае, если деревья первого яруса образуют эктомикоризы.

В целом, арбускулярные микоризы обычно встречаются в экосистемах с высо-

[1] Мы избегаем употребления термина «микотрофные» как недостаточно определенного и вносящего путаницу. Этот термин используется по меньшей мере в двух значениях: для обозначения, колонизируется растение грибом, или нет, что возможно установить при помощи микроскопии или методов молекулярной экологии; и/или определения, восприимчиво ли растение к колонизации, что в большей степени зависит от вида участвующего в симбиозе гриба.

ким видовым богатством, в противоположность эктомикоризам, преобладающим в лесных сообществах, где присутствует только небольшое количество совместимых видов растений. Семейство Pinaceae преимущественно эктомикоризное (ЭМ), но все прочие семейства хвойных в основном АМ, как и большинство остальных голосеменных, представленных исключительно древесной жизненной формой. Хотя в лесоводстве арбускулярные микоризы обычно не принимают во внимание, они в типе имеются у таких практически важных древесных пород как *Acer*, *Araucaria*, *Podocarpus* и *Agathis*, а также у представителей семейств Cupressaceae, Taxodiaceae, Taxaceae, Cephalotaxaceae и большинства тропических лиственных деревьев. В настоящее время широко признана важность подбора подходящего микоризного симбионта для деревьев при лесовосстановлении в умеренных широтах и в тропиках (см. гл. 17). Большинство экспериментальных работ по арбускулярным микоризам выполнено на травянистых растениях, но были изучены также и некоторые деревья, включая *Malus* (яблоня), *Citrus*, *Salix*, *Populus*, *Persea* (авокадо), *Coffea*, *Araucaria*, *Khaya*, *Anacardium* (кешью), *Liquidambar*, *Acacia* и многие другие. Также важно помнить, что арбускулярные микоризы могут быть существенны для поглощения питательных веществ древесными растениями и их обмена веществ. Поэтому работа с деревьями и другими многолетниками, а также ассоциированными с ними растениями нижних ярусов, очень важна как для изучения экологии, так и в прикладных целях лесоводства и сельского хозяйства. Разумеется, ведение работы с травянистыми растениями позволяет более точный контроль условий в теплицах и т.п., но возможность размножения древесных пород черенкованием может иметь большое преимущество в виде получения генетически однородного материала, что отчасти компенсирует длительность периода выращивания, необходимого для изучения долгоживущих растений. Активное изучение микоризы у *Citrus*, проводимое в Калифорнии и Флориде, является примером использования в эксперименте экономически важной древесной породы с целью как повышения урожайности, так и исследования развития и физиологии АМ симбиоза (Menge et al., 1982; Graham, Syvertsen, 1985; Graham, 1986; Eissenstat et al., 1993; Graham et al., 1997). Можно предполагать, что проект картирования генома *Populus*, растения, образующего как арбускулярную, так и эктомикоризу (Martin et al., 2004; Strauss, Martin, 2004), откроет большие возможности исследования АМ симбиоза у древесных растений.

При изучении АМ основной акцент был сделан на цветковых и голосеменных растениях преимущественно из-за их важной роли в экосистемах и в первичной продукции. Однако, этот тип симбиоза присущ также и спорофитам папоротников, что было выявлено Б. Буйяром (Boullard, 1951, 1958) и позже показано многими другими исследователями, изучавшими эту группу растений или хотя бы включавшими ее в рассмотрение (Cooper, 1976). Спорофиты Lycopodiaceae и Psilotacae, как сейчас известно, образуют АМ, и, хотя данные о гаметофитах более скудны, у представителей большинства семейств папоротников, а также у многих талломных печеночных мхов, этой стадии тоже присуще формирование АМ симбиоза (Read et al., 2000; Winther, Friedman, 2007). Гаметофиты представляют собой весьма интересную сферу исследования, так как некоторые из них лишены хлорофилла и, следовательно, нуждаются во внешнем источнике органического углерода, которым, возможно, являются их грибные АМ симбионты. Соответственно, в симбиозах этого типа гриб снабжает растение органическим углеродом (см. гл. 13 и 14).

Последние мировые исследования сильно расширили круг видов растений, для которых характерно образование более одного типа микориз (Wang, Qiu, 2006). Вполне возможно, что благодаря своей древности и важной роли в эволюции наземных растений АМ грибы могли иметь возможность заселить подземные органы практически всех растений суши. Таким образом, неспособность растения к обра-

зованию АМ или другого типа симбиоза, вероятно, является вторичной, приобретенной, и все растительные геномы могут нести следы наличия прошлого или настоящего АМ статуса. Данные о филогении растений-хозяев и палеонтологические свидетельства подтверждают эту гипотезу (см. ниже).

Филогенетические отношения арбускулярно–микоризных растений

Первая успешная попытка проанализировать микоризный статус растений в контексте их филогении была сделана Дж. Трэппом (Trappe, 1987). Используя только те таксоны покрытосеменных растений, в которых микоризный статус известен как минимум для 10% видов, и филогенетическую классификацию Кронквиста (Cronquist, 1981), он построил дендрограммы, позволяющие сделать некоторые предварительные выводы относительно эволюции (рис. 1.8).

В более поздних исследованиях (Fitter, Moyersoen, 1996; Brundrett, 2002; Wang, Qiu, 2006), в которых применяли филогенетическую систему покрытосеменных, основанную на молекулярных данных (Soltis et al., 1992; Stevens, 2004), результаты получились весьма сходными. Используя литературные данные, Б. Ванг и Ю-Л. Цзи проверили микоризный статус 3617 видов растений из 263 семейств. Они показали, что в целом среди наземных растений 80% видов и 92% семейств потенциально образуют как минимум один тип микоризы. Для покрытосеменных были

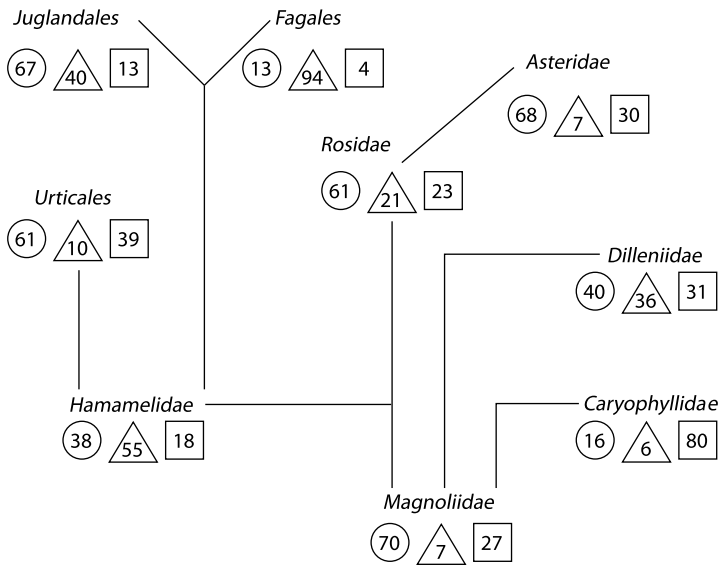


Рисунок 1.8. Филогенетическая дендрограмма подклассов Dicotyledonae, с указанием процентной доли видов, образующих арбускулярную микоризу (отмечено кружками), аско- и базидиомицетные микоризы (эрикоидная и эктомикориза) (отмечено квадратами) или немикоризных (отмечено треугольниками). Многие виды образуют более одного типа микориз, поэтому сумма процентных долей превышает 100. Из Trappe, 1987 из *Ecophysiology of VA Mycorrhizal Plants*, ed. G.R. Safir. Правообладатель CRC Press, Boca Raton, Florida.

получены значения 84 и 94% соответственно, что близко к цифрам, полученным Дж. Трэппом (Trappe, 1987) (табл. 1.1 и 1.2). Арбускулярные микоризы приведенным как предковый тип, они встречаются у подавляющего большинства видов наземных растений, и во всех рано дивергировавших линиях очень часто в базальных кладах. Микоризные симбиозы иного типа и немикоризные виды появились в линиях более позднего происхождения. Орхидная микориза, вероятно, появилась один раз, но экто- и эрикоидные микоризы, возможно, имеют независимое происхождение во многих неродственных линиях растений. То же справедливо как для микогетеротрофов (бесхлорофилльных растений, состоящих в симбиозе с разнообразными грибами, включая представителей отдела Glomeromycota, см. гл. 13), так и для немикоризных растений.

Таблица 1.2 Микоризный статус четырех основных групп наземных растений, с указанием числа и доли семейств и видов, у которых формирование микоризы наблюдалось всегда (облигатно микоризные), иногда (факультативно микоризные) или никогда (немикоризные).

Группа	Число изученных семейств / видов	Число (доля, %) микоризных семейств	Число (доля, %) облигатно микоризных видов	Число (доля, %) факультативно микоризных видов	Число (доля, %) немикоризных семейств	Число (доля, %) немикоризных видов
Мохообразные	28/143	20 (71)	60 (42)	6 (4)	8 (29)	77 (54)
Папоротникообразные	28/426	26 (93)	185 (43)	39 (9)	2 (7)	202 (47)
Голосеменные	12/84	12 (100)	83 (99)	1 (1)	0 (0)	0 (0)
Покрытосеменные	195/2964	184 (94)	2141 (72)	396 (3)	11 (6)	427 (14)
Всего	263/3617	242 (92)	2469 (68)	442 (12)	21 (8)	706 (20)

По Wang, Qiu, 2006, с изменениями. Более подробную информацию см. в оригинальной публикации. Классификация покрытосеменных дана согласно Soltis et al., 1992.

Безмикоризные растения

Как предполагают, полностью безмикоризные семейства растений, появлялись среди групп мхов, папоротников и покрытосеменных растений, весьма отдаленно родственных друг другу. Кроме того, некоторые семейства содержат и микоризные и безмикоризные виды и даже в преимущественно немикоризных группах могут встречаться микоризообразующие представители. Такие семейства как Brassicaceae, Caryophyllaceae, Proteaceae и Cyperaceae традиционно считались полностью безмикоризными, но к настоящему времени стало окончательно понятно, что нельзя делать выводов о микоризном статусе вида или группы, не подвергавшихся непосредственному изучению.

Независимое (полифилетичное) происхождение безмикоризного состояния в различных эволюционных линиях растений предполагает, что это состояние вторично, и его цитологические и физиологические причины могут быть весьма разнообразны. Хотя семейства, содержащие большое количество в типе безмикоризных видов, сравнительно редки, они требуют исследования с учетом как условий окружающей среды, которые могли привести к утрате симбиоза, и механизмов отторжения гриба, так и способов получения растением элементов питания из почвы и эффективной конкуренции с микоризными растениями в природе (см. гл. 3, 15 и 16) (Lamont, 1981, 1982; Pate, 1994; Marschner, 1995; Lambers et al., 1998). Считается, что к утрате микоризного статуса могут вести несколько факторов, включая освоение водных местообитаний и произрастание в условиях избытка или крайнего недостатка питательных веществ или в нарушенных сообществах. У таких растений часто имеются компенсаторные механизмы для эффективного поглощения элементов питания, такие как тонкие корни с сильно развитыми корневыми волосками, протеоидные и «морковковидные» корни и экссудаты, повышающие растворимость фосфора в почве. Однако, как уже было сказано выше, полного отсутствия микориз в пределах какой-либо крупной таксономической или экологической группы растений выявлено не было.

Палеонтологическая история арбускулярных микориз

Филогенетические данные о происхождении микориз подтверждаются палеонтологическими свидетельствами. Хорошо известна долгая палеонтологическая история как спор АМ грибов, так и колонизированных всасывающих структур растений. Ископаемые находки, напоминающие споры АМ грибов, датируются столь ранними периодами как силурийский и ордовикский (440–410 млн. лет назад) (Redecker et al., 2000), а споры, подобные спорам *Glomus*, часто встречаются в растительных остатках из известной и превосходно сохранившейся флоры чертов Райни (Kidston, Lang, 1921), возраст которых приблизительно 400 млн. лет. Эта флора содержит некоторые из древнейших ископаемых наземных сосудистых растений. Недавнее повторное изучение позволило выявить арбускулы, везикулы и гифы в межклетниках протостелы спорофитов нескольких ископаемых видов, в том числе *Aglaophyton major*, а также четко заметный слой ткани, содержащий арбускулы, у гаметофитов *Leonophyton rhynensis*, так что не вызывает сомнений, что арбускулярные микоризы уже существовали к тому времени (Remy et al., 1994; Taylor et al., 2004, 2005) (рис. 1.9А). Наличие АМ структур у ранних сосудистых растений согласуется с предположением о том, что арбускулярная микориза - первый появившийся тип микориз, и АМ состояние является анцестральным для наземных растений. Даже самые ранние ассоциации грибов из отдела Glomeromycota с растениями представлены в настоящее время цианобактериальным симбиозом *Geosiphon* и доказаны АМ статусом многих современных печеночных мхов. Эти предполагаемые связи с первыми наземными растениями привели к заключению, что АМ симбиозы представляют собой непрерывную линию, берущую начало в самой ранней, до-сосудистой наземной флоре, а аскомицетные или базидиомицетные симбиозы с современными печеночными мхами имеют более позднее происхождение. Эта точка зрения вызывает сомнения из-за структурных черт колонизации и ассоциации некоторых современных печеночников с представителями сравнительно недавно развившейся группы «Glomus группа А» (Selosse, 2005; см. гл. 14).

Значение грибных ассоциаций для ископаемых спорофитов было отмечено рядом исследователей (Kidston, Lang, 1921; Nicolson, 1975). Позднее был составлен критический обзор геологической истории грибов (Pirozynski, Dalpé, 1989). В нем отмечена постоянная встречаемость *Glomus*-подобных структур в четвертичном периоде и обнаружение *Glomus*-подобных спор в окремнелом торфе из триасских отложений Антарктики (Stubblefield et al., 1987a, b). К сожалению, достоверных ископаемых находок других родов отдела Glomeromycota, которые могли бы пролить свет на филогенетические отношения внутри группы, обнаружено не было.

Существование палеонтологических свидетельств наличия симбиотических органов в отложениях позднего каменноугольного периода позволили выявить множество ископаемых голосеменных с арбускулярной микоризой. Структуры наиболее известного и хорошо сохранившегося растения, *Amyelon radicans*, напоминают арбускулярные микоризы нынеживущих голосеменных (Nicolson, 1975). Флора триаса из Антарктики (250–210 млн. лет назад) также содержит важные доказательства наличия внутрикорневых вегетативных структур, включая межклеточные гифы и арбускулы и хорошо выраженные внутриклеточные клубки (Stubblefield et al., 1987a, b; Phipps, Taylor, 1996). Описаны прекрасно сохранившиеся корни *Antarcticycas*, содержащие одновременно и септированные и несептированные гифы и структуры, очень похожие на микоризные арбускулы, везикулы и споры (Stubblefield et al., 1987a). Препараты срезов и соскобов с этих ископаемых практически неотличимы от таковых из микоризных корней современных цикадовых (рис. 1.9Б, В, Г).

Особое внимание было обращено на выявление арбускул, легко узнаваемых и предполагаемо определяющих структур арбускулярной микоризы и, таким образом, были замечены различия в их строении. Арбускулы из *Aglaophyton* тонкие, с ветвями второго порядка 1–2 мкм, сходные с современными арбускулами из микориз *Arum*-типа (см. гл. 2), но отличающиеся от лучше сохранившихся структур *Antarcticycas* из триасских отложений (ср. рис. 1.1А и 1.9А и В). За исключением единственного исследования цикадовых (Phipps, Taylor, 1996), очень мало внимания уделялось изучению разнообразия АМ структур, в том числе, клубков, которые создают важную внутриклеточную контактную зону между АМ грибом и растением (*Paris*-тип микориза) у современных растений, включая микотрофные гаметофиты некоторых печеночных мхов и папоротникообразных (см. гл. 2 и 14). Гифальные клубки сложнее идентифицировать как АМ, но их изучение представляет важную область в исследовании структурного разнообразия ранней наземной флоры и может дать необходимую информацию об эволюции различных морфотипов.

Конечно, невозможно уверенно рассуждать о физиологии ископаемых арбускулярных микориз, но если они функционировали сходным образом с современными, то их роль в заселении суши и последующей эволюции растений должна быть значительной. Спорофиты ранних наземных растений не имели корней, и их подземные протостелы были развиты слишком слабо для поглощения питательных веществ из почвы. У гаметофитов имелись слегка вздутые базальные протокормы, несущие ризоиды, которые тоже имели очень ограниченный доступ к субстрату. Почвы, заселяемые ранними наземными растениями, были, скорее всего, слабо развиты и бедны доступными минеральными питательными веществами. Таким образом, очень вероятно, что мутуалистический симбиоз с грибами из отдела Glomeromycota был важным фактором успеха автотрофных растений при заселении наземных местообитаний (Baylis, 1972; Nicolson, 1975; Pirozynski, Malloch, 1975).

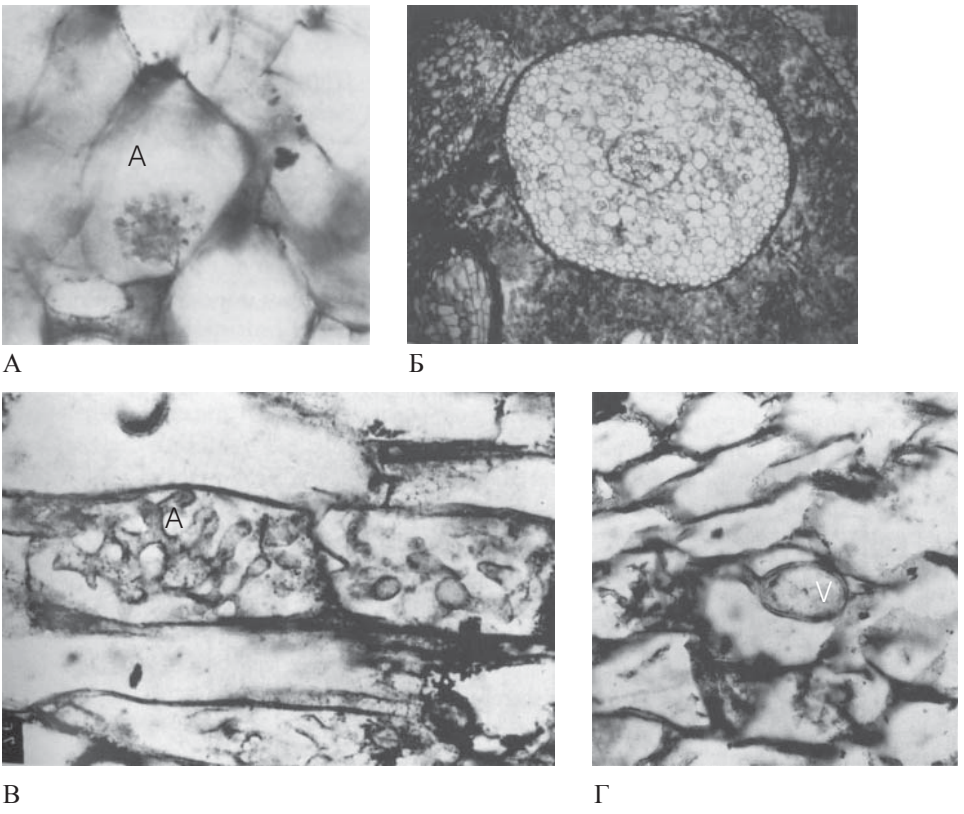


Рисунок 1.9. Ископаемые арбускулярные микоризы. А — арбускула (А) в клетке *Aglaophyton* Девонской флоры из чертов Райни. Из Remy et al., 1994. Правообладатель — Национальная академия наук. Б — поперечный срез микоризного корня *Antarcticycas* из триасских отложений Антарктики. Обратите внимание на колонизацию центральной коры корня. В, Г — детали микоризной колонизации *Antarcticycas*: В — дихотомически ветвящаяся арбускула (А), со сравнительно мощными ветвями; Г — везикула (V). Б, В, Г — по Stubblefield et al., 1987a, b), с разрешения.

Специфичность симбиоза

До сих пор потенциальная способность различных таксонов растений к формированию арбускулярных микориз в природе или в условиях эксперимента обсуждалась без учета того, какой именно вид гриба образует АМ, насколько активно колонизируются корни или как сильно рост и размножение растения зависят от АМ грибного симбионта. Это весьма сложные вопросы, которые важны при изучении взаимодействий на клеточном уровне и специфичности и совместимости пар гриб-растение, а также в экологии. Здесь мы рассматриваем круг возможных партнеров для грибных и растительных симбионтов. Этот аспект специфичности необходимо учитывать и на таксономическом, и на экологическом уровне. Таксономическая специфичность показывает, может ли данный вид гриба образовывать АМ симбиоз более, чем с одним видом растения или может ли данный вид растения быть ассоциирован более, чем с одним видом гриба. Это определение может быть распространено на более низкие таксономические уровни, т.е., внутривидовые штаммы

или изоляты гриба могут формировать АМ с определенным видом или внутривидовой группой растения. Помочь в решении этих вопросов могут методы молекулярной биологии.

Ранние исследователи (Magrou, 1936; Stahl, 1949; Gerdemann, 1955) пришли к выводу, что не существует строгой специфичности между таксонами АМ грибов и потенциальных растений-хозяев, и до сих пор почти все исследования подтверждают это мнение. На уровне видов специфичность очень низкая, но для более высоких таксономических рангов возможно делать обобщения об отсутствии симбиоза или типов микоризы, например, на уровне семейств, как было описано выше. Общепринятым является мнение, что в основном специфичность не является абсолютной, что она низка на видовом уровне и существует целый континуум степеней колонизации и типов влияния на растение.

Множество наблюдений свидетельствует в пользу того, что специфичность низка или очень низка и, следовательно, имеются большие возможности выбора партнера во многих грибо-растительных комбинациях. Небольшое количество видов АМ грибов (около 150, согласно современным данным) по сравнению с огромным числом видов потенциальных растений-хозяев (возможно, 200000, т.е. 80–90% наземных растений), обозначает, что каждый вид грибов теоретически может быть ассоциирован со многими видами растений. Наблюдения в природе (с использованием как традиционных, так и молекулярных методов) показывают, что в корневой системе одного растения может находиться множество АМ грибов и что разные виды растений на одном и том же участке часто содержат одни и те же виды или варианты генетических последовательностей. ^{14}C может передаваться между корневыми системами разных видов растений, что указывает на факт их колонизации одним и тем же грибным симбионтом. Наконец, множество экспериментов с широким набором видов растений и грибов показало, что АМ гриб, выделенный из одного вида растения, может, с большой долей вероятности колонизировать другие виды, способные к образованию арбускулярных микориз. К тому же, является спорным утверждение, что симбионты АМ (как и многие другие почвенные грибы) обладают малоэффективными механизмами распространения, и для них выгодна низкая специфичность, позволяющая им получать органический углерод от широкого круга растений. Кроме того, мутуалистическим симбиозам, в том числе, арбускулярным микоризам, свойственна не такая высокая специфичность как у симбиозов патогенных (Vanderplank, 1978; Law, Lewis, 1983; Smith, Douglas, 1987; Douglas, 1998). Как сказал Вандерпланк: «Мутации устойчивости у микоризных растений были элиминированы отбором как неблагоприятные; и таким образом был уничтожен основной источник специфичности».

Однако эти доводы в пользу ограниченной или низкой специфичности могут быть подвергнуты сомнению (Fitter, 2001). Во-первых, как уже говорилось выше, концепция вида у АМ грибов неадекватна, и описанные виды обладают поразительной внутривидовой изменчивостью. Изменение концепции вида с включением в рассмотрение функционального разнообразия может значительно увеличить число видов и, таким образом, уровень специфичности возрастет, хотя маловероятно, что число видов грибов сравнится с таковым для потенциальных растений-хозяев. Во-вторых, большинство грибных симбионтов, используемых в экспериментах, получены в горшечных культурах и, следовательно, отобраны по таким признакам как устойчивость к нарушениям и способность к быстрой колонизации многих видов растений. Это, скорее всего, генералисты, изначально подбираемые с учетом малой специфичности. Многие грибы, обнаруженные и описанные по спорам, выделенным из почвы, или выявленные по молекулярным последовательностям в корнях, не были успешно поддержаны в горшечной культуре, возможно, из-за отсутствия подходящего вида растения или требований к условиям окружающей среды. При-

мером могут служить такие виды как *Entrophospora infrequens* из многих местообитаний (Rodriguez et al., 2001) и *Scutellospora dipurpurescens* из Претти Вуд (лесистая местность с широколиственными древесными породами на территории Великобритании) (Helgason et al., 2002), хотя изоляты последнего из других точек также были введены в культуру. В-третьих, аргументы Лоу и Льюиса, а также Вандерпланка не учитывают наличие вариаций симбиотического ответа как у грибов, так и у растений, что может влиять на отбор, благоприятствующий сужению круга эффективных партнеров по симбиозу. А. Дуглас (Douglas, 1998), однако, утверждает, что это разнообразие ответов и «выгод» симбиоза является результатом неоднородности условий окружающей среды, а непрогнозируемая доступность «наилучшего» симбионта препятствует отбору в направлении высокой специфичности. Недавно Э. Кирс и М. ван дер Хейден сформулировали четыре гипотезы для объяснения долговременной стабильности и эволюционных взаимоотношений между АМ грибами и их растительными партнерами (Kiers, van der Heijden, 2006). Авторы пришли к весьма логичному выводу, что обмен «излишками ресурсов» является ключевым моментом симбиоза. Они полагают, что подобный обмен «осуществляется с санкции одной или обеих сторон». Важным моментом является то, что эти «санкции» и механизмы их осуществления пока еще только гипотетические.

Оставив в стороне эти споры, стоит задаться вопросом, существуют ли прямые доказательства специфичных отношений между определенными видами растений и АМ грибов. У ряда видов наблюдались генотип-зависимые вариации в степени колонизации (Smith et al., 1992; Peterson, Bradbury, 1995), но следует быть весьма осторожным, относя это на счет специфичности, так как различия в процентном отношении колонизированной части корня зависят не только от способности грибного симбионта проникать в корень и распространяться в нем, но также и от скорости роста корня, что может быть сортовым признаком растения. Более того, и на распространение гриба и на рост корня могут существенно влиять такие факторы окружающей среды, как доступность питательных веществ, температура и освещенность (см. гл. 2). В любом случае, процентная доля корня, колонизированная грибом, не является хорошим показателем «выгоды», получаемой растением от симбиоза.

В ряде исследований была выявлена более строгая специфичность. В одном эксперименте изучали возможность колонизации трех видов бобовых, *Medicago sativa*, *Hedysarum coronarium* и *Onobrychis viciaefolia*, четырьмя видами рода *Glomus* (Giovannetti, Hepper, 1985). Для двух типов почв с разным содержанием доступного фосфора (P), было показано, что в то время как растения *M. sativa* в значительной (хотя и различной) степени колонизировались всеми четырьмя видами грибов, в колонизации двух других видов растений имелись значительные различия. Наиболее ярко они проявлялись для *H. coronarium*, вида, который вступал в симбиоз с *G. mosseae* почти так же активно, как *M. sativa*, но слабо колонизировался или вообще не образовывал микоризу с *G. caledonium* и одним из изолятов *G. fasciculatum*. *H. coronarium* не является немикоризным растением, но ясно, что имеется некоторая избирательность в отношении грибного партнера, которая далее исследована не была. Также показано, что у выращенных в почве растений *M. sativa* формирование симбиоза с *Gigaspora margarita* было очень слабым, но образовывались морфологически и функционально типичные микоризы с *Glomus intraradices* (Douds et al., 1998). В моноксеничной культуре обнаружена реакция сверхчувствительности корней *M. sativa* по отношению к *Gi. margarita* и выявлена полная невозможность колонизации этим видом гриба и в то же время нормальная колонизация *G. intraradices*. Позднее было проведено исследование нескольких древесных пород с применением как традиционного окрашивания, так и методов молекулярной идентификации (Helgason et al., 2002). Доминирующий в верхнем ярусе вид *Acer pseudoplata-*

nus был колонизирован только *G. hoi* (на этот вид в горшечном эксперименте наблюдался позитивный ответ в отношении роста и поглощения фосфора), но не другими встречающимися в этом местообитании видами грибов, в том числе *Glomus* sp. UY1225, *Acaulospora trappei* и *Scutellospora dipurpurescens*. Таким образом, для *Acer* была установлена избирательность в отношении грибного партнера, но все виды грибов были ассоциированы с широким кругом хозяев из травянистого яруса. Сходным образом была изучена встречаемость 24 групп родственных грибных последовательностей («филотипов») в корнях совместно встречающихся луговых видов *Trifolium repens* и *Agrostis capillaris*, и в результате было выявлено, что некоторые филотипы встречаются вместе, а некоторые нет (Vandenkoornhuyse et al., 2003).

Наиболее яркие примеры высокой специфичности можно наблюдать у мутантных растений или генотипов АМ видов с высоким уровнем микоризности. Такие примеры можно найти у целого ряда растений, в особенности среди не образующих клубеньки генотипов бобовых, а также у томата (Peterson, Guinel, 2000; Marsh, Schultze, 2001). Обычно колонизация блокируется в ризодерме или в гиподермальном (экзодермальном) слое клеток, но иногда она продолжается, и происходит образование межклеточных гиф или даже неправильной формы арбускул в клетках коры. В каждом случае рецессивной мутации единственного гена достаточно для подавления развития симбиоза (см. гл. 3). Обычно мутации индуцируют изменения в развитии симбиоза со всеми протестированными видами грибов. Тем не менее, мутация *rmc* у томата (Barker et al., 1998a) воспринимается различно разными видами АМ грибов. Развитие некоторых из них останавливается в ризодерме, другие способны проникать даже в экзодерму и один (разновидность *Glomus intraradices*) способен формировать функциональный симбиоз в коре (Gao et al., 2001; Poulsen et al., 2005). Таким образом, рецессивная *rmc* мутация позволяет АМ грибам проявлять специфичность, при том что доминантная *Rmc* аллель не предоставляет такой возможности. Эти данные показывают значимость грибного генома в «диалоге» симбионтов, ведущем к колонизации, а также возможную эволюцию специфичности и избирательности растений в отношении грибного партнера. Если специфичные симбиозы выгодны обоим партнерам, отбор будет благоприятствовать им, и эти комбинации сохранятся в ходе эволюции. Было бы весьма интересным распространить анализ генов, определенных с помощью мутаций, на те виды, для которых известна специфичность к хозяину, для лучшего понимания природы сигналов и цитологических процессов, лежащих в основе этих взаимоотношений.

Кроме того, примеры крайней специфичности грибо-растительных отношений недавно были выявлены в тех микогетеротрофных симбиозах, в которых участвуют представители отдела Glomeromycota. *Arachnites* из семейства Corsiaceae (однодольные) и *Voyria* и *Voyriella* (семейство Gentianaceae, двудольные) ассоциированы с ограниченным, но несколько разнящимся набором грибных симбионтов (Bidartondo et al., 2002). Это соответствует модели более узкой специфичности образующих разные типы микориз микогетеротрофных растений, сравнительно с их автотрофными родственниками (Bidartondo, 2005). Возможно, только немногие виды или генотипы грибов поддаются включению в трехсторонний симбиоз с микогетеротрофом и автотрофным растением-хозяином, что подразумевает изменение направления потока органического углерода (см. гл. 4 и 13).

Известно относительно немного примеров АМ грибов, ассоциированных с очень узким кругом потенциальных симбионтов среди автотрофных растений, что указывает на наличие существенных преимуществ в возможности симбиоза с любыми растениями, которые могут служить подходящим источником органического углерода. Круг хозяев для гриба может, тем не менее, иногда сужаться. Например, при изучении 19 видов растений, с которыми образует арбускулярную микоризу *Glomus gerdemanni*, симбиоз был обнаружен только с *Eupatorium odoratum* (Graw et al.,

1979). Кроме того, существует много косвенных данных, полученных в экспериментах с использованием разных видов растений для выманивания АМ грибов из природных почв. Оказалось, что вид растения сильно влияет на споруляцию, и, таким образом, на общее состояние разных видов грибов (Bever et al., 1996; Jansa et al., 2002a).

Эти примеры подчеркивают тот факт, что специфичность или избирательность АМ симбиозов может быть выше, чем полагали ранее. Исследователям стоит помнить об этом, рассматривая внутривидовые генотипы грибов в контексте их способности к образованию симбиоза с разными видами растений. Вполне вероятно, что будет обнаружено множество стратегий, начиная от узкой специфичности, демонстрируемой микогетеротрофами, до полного генерализма как растительных, так и грибных партнеров по симбиозу. Генералисты действительно существуют, что показано в многочисленных исследованиях с использованием одного или нескольких видов растений для поддержания в горшечной культуре многих видов грибов. К примеру, *Plantago lanceolata*, *Trifolium subterraneum* и *Sorghum sudanense* широко применяются в горшечных культурах и активно колонизируются множеством разных представителей отдела Glomeromycota, как видно из табл. 1.3. Преимущества различных стратегий и их следствия для взаимоотношений грибов и растений в сообществах могут послужить интереснейшей областью для исследования

Обсуждение вопросов экологии

Дж. Харли и С.Э. Смит предположили, что специфичность в природных условиях может быть выше, чем в экспериментальных системах для выявления способности к колонизации, и ввели термин «экологическая специфичность» (Harley, Smith, 1983). Безусловно, существуют виды растений, которые в природе не всегда образуют микоризы; про факультативно АМ виды см. выше. Во многих случаях причины спорадической колонизации неизвестны, но можно предполагать, что это связано с доступностью инокулюма, в особенности, в нарушенных местообитаниях, а также условиями окружающей среды. Сложность полевых экспериментов с одновременной «атакой» корневых систем разными видами АМ грибов также может вести к количественным изменениям в степени колонизации, которые не будут заметны в простых системах с одной парой симбионтов. С использованием разделения колонизирующих грибов только на «тонкий эндофит» (*Glomus tenuis*) и АМ грибы с большим диаметром гиф было показано, что восприимчивость *Holcus lanatus* к *G. tenuis* заметно выше, и на долю этого вида приходится свыше 60% от общей длины колонизированных корней вне зависимости от времени года (McGonigle, Fitter, 1990). И напротив, тот же вид гриба составлял 10% или менее от длины колонизированных корней *Ranunculus acris* и *Plantago lanceolata*, хотя общая доля колонизации у этих растений была такой же, как у *Holcus* или даже более высокой. На том же участке растения *Phleum pratense* были слабо колонизированы АМ грибами. Сезонные и географические различия в колонизации грибами древесных растений были изучены с использованием молекулярных методов выявления симбионта (Clapp et al., 2002). Вряд ли полученные результаты отражают вариации абсолютной специфичности симбиоза, они могут быть как следствием различий между видами грибов в способности к колонизации и их конкуренции между собой (Wilson, 1984; Vierheilig, 2004a; Jansa et al., 2007), так и ответом на действие экологических факторов (гл. 2). Представляется очень важным выяснить, какие виды или комбинации видов грибов колонизируют корни каких видов растений в природных условиях и будут ли эти симбиозы функционально сходными по взаимно-

Таблица 1.3 Виды грибов – представителей отдела Glomeromycota, для которых показано образование арбускулярной микоризы с *Plantago lanceolata*, *Zea mays* и *Sorghum sudanense*. В списках приведены только те виды грибов, которые были однозначно определены; имеется также множество видов с неясным систематическим положением или сомнительно идентифицированных, часто ассоциированных с этими растениями. Пустые места в таблице не подразумевают того, что какие-либо виды данного рода грибов не могут формировать симбиоз с указанными видами растений.

Виды растений	Виды грибов				
	Scutellospora	*Gigaspora*	*Acaulospora*	*Entrophospora*	*Glomus*
P. lanceolata	*S. calospora* *S. castanea*	*Gi. candida* *Gi. margarita* *Gi. rosea*	*A. delicata* *A. laevis* *A. longula* *A. scrobiculata* *A. spinosa* *A. trappei*		*G. clarum* *G. coronatum* *G. dimorphicum* *G. fasciculatum* *G. fistulosum* *G. flavisporum* *G. geosporum* *G. intraradices* *G. mosseae* *G. occultum*
Z. mays	*S. aurigloba* *S. scutata*	*Gi. candida* *Gi. margarita*			*G. albidum* *G. fistulosum* *G. fragilistratum* *G. geosporum* *G. mosseae*
S. sudanense	*S. calospora* *S. coralloidea* *S. dipurpurescens* *S. erythropa* *S. fulgida* *S. gregaria* *S. heterogama* *S. pellucida* *S. persica* *S. reticulata* *S. scutata* *S. verrucosa*	*Gi. albida* *Gi. descipiens* *Gi. gigantea* *Gi. margarita* *Gi. rosea*	*A. delicata* *A. dilatata* *A. gerdemannii* *A. lacunosa* *A. laevis* *A. longula* *A. mellea* *A. morrowiae* *A. scrobiculata* *A. spinosa* *A. trappei*	*E. colombiana* *E. infrequens*	*G. aggregatum* *G. caledonium* *G. claroideum* *G. clarum* *G. clavispora* *G. constrictum* *G. deserticola* *G. diaphanum* *G. etunicatum* *G. fasciculatum* *G. fistulosum* *G. fragilistratum* *G. geosporum* *G. intraradices* *G. invermaium* *G. lamellosum* *G. leptotichum* *G. manihotis* *G. mosseae* *G. occultum*

Данные предоставили К. Уолкер (C. Walker) и Дж. Б. Мортон (J.B. Morton).

сти транспорта веществ (например, обмен P на C) и степени благополучия партнеров. Первый вопрос сейчас решают с применением быстро развивающихся молекулярных методов выявления симбионта. Ответить на второй вопрос по-прежнему трудно при работе в природных условиях, но из горшечных экспериментов видно, что разные сочетания гриб-растение демонстрируют невероятное многообразие вариантов симбиотических взаимоотношений на уровне не только видов, но и генотипов у растений и изолятов или вариантов генетических последовательностей у грибов (Streitwolf-Engel et al., 1997; van der Heijden et al., 1998a, b; Munkvold et al., 2004; Smith S.E. et al., 2004a).

Почему эти вопросы так важны? Если абсолютная специфичность отсутствует, то корни всех растений могут быть объединены не просто в одну общую мицелиальную сеть (ОМС), но быть разделены между несколькими отдельными мицелиями разных видов грибов. Связи между различными видами растений были показаны путем прямого наблюдения (Newman et al., 1994) и с помощью транспорта ^{14}C между корневыми системами (Grime et al., 1987; Robinson, Fitter, 1999). Также предполагается (доказательства отсутствуют), что они существуют благодаря присутствию одних и тех же генетических вариантов грибов в корневых системах соседних растений. Если некоторые пары грибов и растений являются абсолютно специфичными, то они будут устраняться из сетей, включающих в себя другие виды. Как уже говорилось, существует очень мало свидетельств существования таких жестких ограничений. Однако, есть доказательства того, что некоторые виды растений принимают участие в формировании только одной сети. Например, клены в Претти Вуд (см. выше), которые очевидно ассоциированы исключительно с *Glomus hoi,* будут соединяться с другими растениями на данном участке только через сеть *G. hoi*. Остается пока неисследованным, какие преимущества может давать подобная стратегия, но они могут заключаться, например, в ограничении оттока углерода в грибную сеть (Helgason et al., 2002).

Методические сложности постановки экспериментов и исследований в полевых условиях постепенно преодолеваются. Около 30 видов АМ грибов было выявлено в ненарушенном местообитании наряду с 50 видами растений (Bever et al., 2001). Несмотря на то, что нарушенные сообщества агроценозов могут содержать всего единственный вид растения и небольшое количество АМ грибных популяций (Helgason et al., 1998; Boddington, Dodd, 2000), это не обязательно так (Johnson, 1993; Jansa et al., 2002a). Следовательно, множественные симбиозы более перспективны как в отношении функциональности, так и совместимости партнеров.

Несмотря на все сложности, является обнадеживающим то, что несколько различных групп исследователей начали работу одновременно на теоретическом и прикладном уровнях в умеренных широтах и в тропиках (Bever, 1999, 2002a, 2002b; Fitter, 2001; Bever et al., 2002; Sanders, 2002; Kiers, van der Heijden, 2006).

Растениям приходится адаптироваться к условиям своих локальных местообитаний, в том числе, к доступности симбионтов. Для растения может быть более выгодным симбиоз с «посредственным» мутуалистом, чем полное отсутствие симбиоза. Кроме того, гриб, «посредственный» при одних условиях, может быть хорошим симбионтом при других, так что постоянного мошенничества одного из партнеров может и не существовать вовсе (см. Johnson et al., 1997). Преимущества поддержания гибких отношений в экосистемах с высоким биоразнообразием могут перевешивать очевидные выгоды развития специфичности и ограничения своего круга «лучшими друзьями».

Заключение

Арбускулярные микоризы образуют представители всех отделов наземных растений, и этот тип микориз характерен для экосистем с высоким биоразнообразием, включающим множество потенциальных растений-хозяев. К настоящему времени известно около 150 видов грибных симбионтов, принадлежащих к сравнительно небольшому числу родов из отдела Glomeromycota. Это монофилетичная группа очень древнего происхождения, что подтверждается палеонтологическими данными и анализом ДНК современных представителей Glomeromycota. Организация генетического материала этих грибов представляет большой интерес, проводимые исследования могут вскоре дать ответ на вопросы, связанные с наличием рекомбинации и гетерокариоза. Грибные изоляты, принадлежащие к одному виду, демонстрируют высокое разнообразие как на функциональном, так и на генетическом уровне, поэтому современная таксономия не включает данные о симбиотической способности. Также к таксономическим ограничениям можно отнести проблему, связанную с определением специфичности микоризного симбиоза. Эти симбиозы определенно очень древние, возможно, возникшие однократно, и весьма вероятна их существенная роль в заселении растениями суши.

Число современных видов растений, образующих арбускулярные микоризы, очень велико, они характеризуются высоким разнообразием не только на таксономическом уровне, но и в отношении географического распространения и жизненных форм. Почти все травянистые растения, кустарники и древесные породы умеренной зоны и тропиков способны к образованию арбускулярной микоризы. Тогда как большинство грибов является генералистами, ассоциированными с широким кругом растений, возрастает количество данных о специфичности или избирательности некоторых видов растений по отношению к грибным партнерам. Это важный аспект, требующий изучения, он наряду с функциональным разнообразием комбинаций гриб-растение, в значительной степени определяет роль АМ грибов в растительных сообществах. Немикоризные растения и растения, формирующие более одного типа микориз, имеются в целом ряде семейств, подтверждая мнение о том, что утрата АМ статуса или приобретение другого типа микоризы происходило многократно, возможно, в результате действия иных сил отбора, и эти процессы основаны на других механизмах.

2
Колонизация корня и анатомия арбускулярных микориз

Введение

Эта глава посвящена основным характеристикам арбускулярно-микоризных (АМ) корней различных типов, а также развитию микоризы из почвенного инокулюма. В данной главе освещены следующие вопросы:

1. почвенные пропагулы, с помощью которых осуществляется колонизация, в том числе, споры, фрагменты инфицированных корней и мицелий;
2. развитие внутрикорневых структур, которые характерны для морфологически различающихся типов арбускулярной микоризы и представляют собой зоны контакта между симбионтами, через которые происходит обмен сигнальными молекулами и транспорт веществ;
3. рост свободного мицелия в почве и образование спор;
4. динамичные взаимодействия симбионтов во время грибной колонизации и роста корня, приводящие к развитию АМ корневой системы.

Подробности взаимодействий симбионтов на клеточном и молекулярном уровне перед проникновением гриба и во время колонизации и важность этих процессов для установления и функционирования симбиоза упоминаются вкратце, более полно они будут освещены в гл. 3.

Источники инокулюма

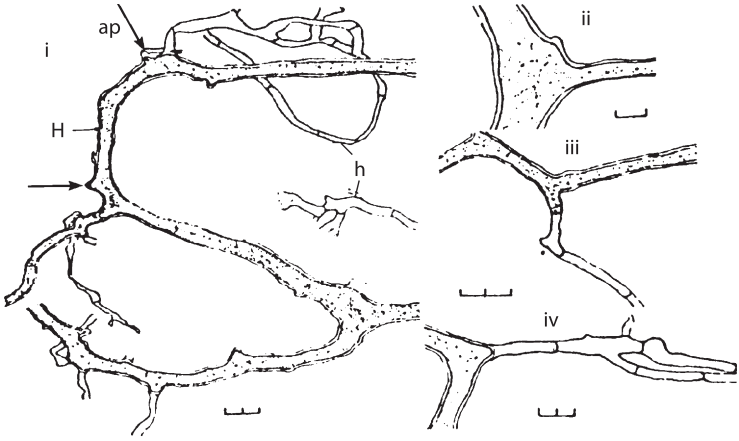
Колонизация корней АМ грибами может осуществляться посредством трех основных источников инокулюма из почвы, собирательно называемых «пропагулы»: спор, инфицированных фрагментов корней и гиф. Крупные споры (рис. 1.2, см. приложение 1.1) с прочными толстыми оболочками и многочисленными ядрами представляют собой долго сохраняющиеся, приспособленные к переживанию неблагоприятных условий структуры, которые могут распространяться ветром и водой, а также животными (Koske, Gemma, 1990; Friese, Allen, 1991; Gemma, Koske, 1992). Споры и спорокарпы могут выдерживать прохождение через пищеварительный тракт множества различных беспозвоночных, птиц и млекопитающих и могут распространяться при перемещениях животных, хотя прямые свидетельства переноса неизвестны (McIlveen, Cole, 1976; Daniels Hetrick, 1984; Reddell, Spain, 1991; McGee, Baczocha, 1994; Reddell et al., 1997a). Размещение спор и фрагментов корней в почве может изменяться из-за раскапывания крупными и мелкими животны-

ми. Подобное влияние на образование микоризы было отмечено для муравьев и сусликов (Koide, Mooney, 1987; Allen, McMahon, 1988; Friese, Allen, 1993).

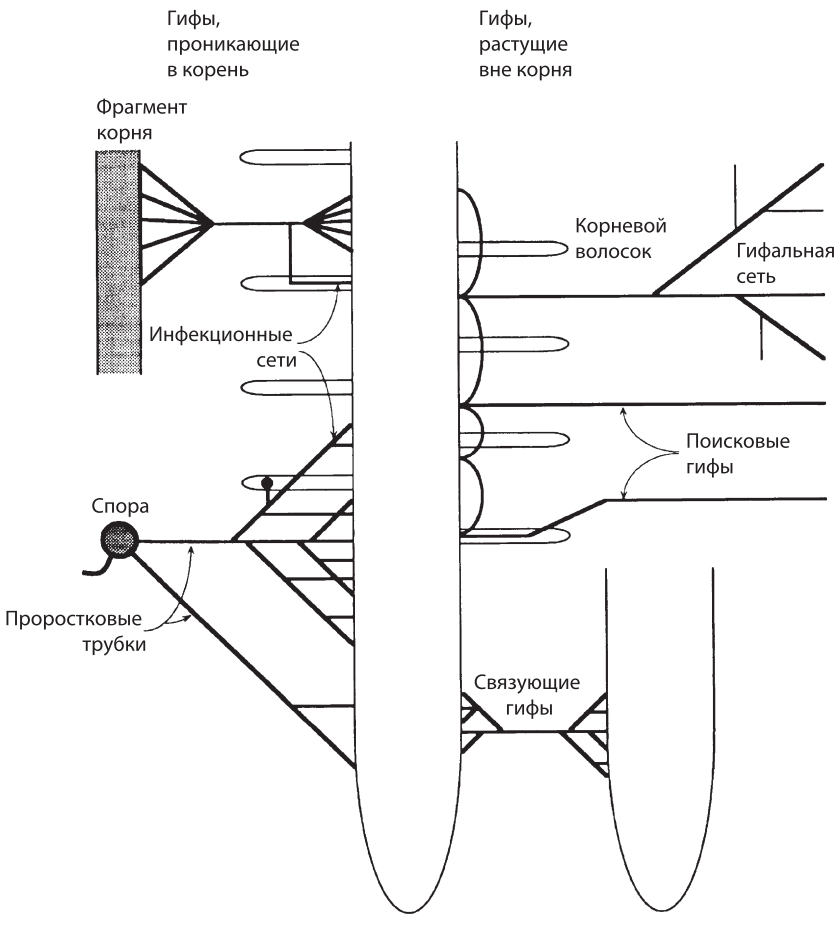
Долгое время считалось, что споры являются наиболее важным или даже единственным типом пропагул. С применением метода влажного просеивания (см. ниже) были описаны споры многих видов грибов и выявлено их распространение и встречаемость в почве, а также роль в колонизации корней. Скопление спор на одном участке обычно включает около 20–50 видов (Bever et al., 2001; Fitter, 2005), споры различны по возрасту и глубине покоя (Tommerup, 1983). О сроках прорастания и инфекционности в подобных почвенных сообществах известно мало, но прорастание многих видов может быть слабым или происходить редко, создавая резервуар инокулюма, сохраняющийся в течение многих лет, но не всегда принимающий участие в ранних стадиях колонизации корневых систем растений (McGee, 1989; Braunberger et al., 1994; Merryweather, Fitter, 1998a). АМ грибы обладают различной способностью колонизировать корни посредством разных типов инокулюма. Дж. Клирономос и М. Харт проверили три типа инокулюма (споры, свежие фрагменты корней с гифами АМ грибов и фрагменты гиф) восьми видов АМ грибов на способность к колонизации корней *Allium porrum* (Klironomos, Hart, 2002). Они показали, что виды родов *Glomus* и *Acaulospora* колонизировали корни при любом источнике инокулюма, но *Scutellospora* и *Gigaspora* могли образовать симбиоз только на основе спор. Это исследование, тем не менее, не включало изучение возможности колонизации посредством гиф, прикрепленных к растению.

Во многих местообитаниях мицелиальные сети в почве (рис. 2.1 и 2.3), наряду с фрагментами корней (рис. 2.2), являются основными источниками инокулюма для колонизации растений даже при наличии большого количества спор (Hepper, 1981; Smith, Smith, 1981; Tommerup, Abbott, 1981; Birch, 1986; Jasper et al., 1992; Merryweather, Fitter, 1998c). Следовательно, если сеянец растет в пределах уже сформировавшегося сообщества, он оказывается присоединен к сложной подземной сети мицелия разных видов грибов и корней растений различных видов и возраста. Даже в условиях выраженной сезонности, когда растения в течение части года не вегетируют, мицелиальные сети продолжают существовать в промерзшей или высохшей почве и играют существенную роль в колонизации новых поколений растений. Для грибного симбионта выживание и распространение сетей, колонизирующих новые растения, является важнейшим процессом, обеспечивающим поступление органического углерода (С) (Olsson et al., 2002). Разрыв сети вследствие нарушения местообитания может иметь следствием значительно меньшую инфекционность почвы и более низкий уровень поглощения питательных веществ как культивируемыми, так и природными видами растений (Birch, 1986; McGonigle, Fitter, 1988a; Jasper et al., 1989, 1991, 1992; Evans, Miller, 1990; Miller, Jastrow, 1992b; Miller, Lodge, 1997; Merryweather, Fitter, 1998c; McGonigle, Miller, 2000).

В полевых условиях очень сложно практически выделить относительный вклад разных типов пропагул при колонизации корневых систем растений, т.е., их вклад в «инфекционность почвы». Плотность спор в почве возможно учесть, но хотя иногда прослеживается корреляция этого значения со степенью колонизации корня, это происходит не всегда. Соотношение более сложное, потому что, несмотря на то, что степень колонизации может быть связана с доступностью спор как источника инокулюма, она также связана со способностью микоризной корневой системы образовывать новые споры (см. ниже). Более того, скопления спор различаются по видовому составу, жизнеспособности и глубине покоя, а также важную роль в колонизации корней могут играть иные источники инокулюма помимо спор. Попытки выяснить количественное соотношение между отдельными, поддающимися учету, спорами и фрагментами корня и колонизацией были наиболее успешны в агроценозах, где мицелиальная сеть разрушена. Неудивительно, что скорость инициации


ap
i
H
h
ii
iii
iv

А


Гифы, проникающие в корень
Гифы, растущие вне корня
Фрагмент корня
Корневой волосок
Гифальная сеть
Инфекционные сети
Поисковые гифы
Спора
Проростковые трубки
Связующие гифы

Б

Рисунок 2.1. Разнообразие гиф свободного мицелия в арбускулярных микоризах. А — рисунки, сделанные с помощью рисовального аппарата, изображающие толстостенные (H) и тонкостенные (h) гифальные элементы с многочисленными угловатыми выступами (отмечено стрелкой) из мицелия, ассоциированного с корнями *Dactylis glomerata*. Масштаб 20 мкм. Из Nicolson, 1959, с разрешения. Б — схематическое изображение типов гиф и гифальной архитектуры, ассоциированных с АМ корнями. Гифы проникают в корни из корневых фрагментов или спор. Рост, ветвление и анастомозы гиф за пределами корня дают начало поисковым гифам, связующим гифам и гифальным сетям. Внутрикорневая колонизация не показана. Перерисовано из Friese, Allen, 1991.

колонизации и ее распространения по корневой системе коррелирует с плотностью пропагул или инфекционностью почвы (см. ниже). Относительно крупные пропагулы возможно подсчитать и взвесить (Thompson, 1987) или суммарно оценить по методу наиболее вероятных чисел (НВЧ), используя растения-приманки для выявления их наличия либо отсутствия. Метод НВЧ включает разведение и смешивание образцов, что также приводит к разрушению гифальной сети, но оказывается полезным для количественной характеристики запаса инфекционных крупных пропагул в почве при учете ограничений метода и широких границ доверительного интервала (Porter, 1979; Wilson, Trinick, 1982; An et al., 1990; Jasper et al., 1992). Оценка инфекционности неповрежденной почвы, в том числе, вклада гифальных сетей, более сложна, но возможна при проведении биотеста с использованием стан-

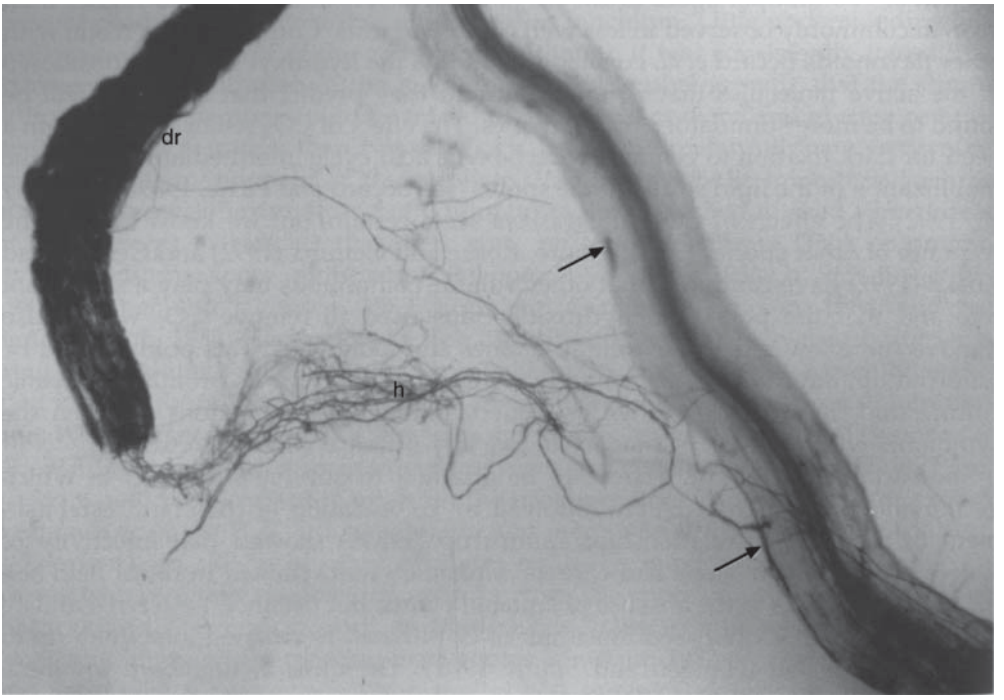


Рисунок 2.2. Рост микоризных гиф (h) из отмершего корневого фрагмента (dr) и начало колонизации живого корня *Trifolium subterraneum* (отмечено стрелкой). Фотография С.Э. Смит.

дартных растений-хозяев в пробах неповрежденной почвы (Gianinazzi-Pearson et al., 1985; Jasper et al., 1989; Braunberger et al., 1994). При совместном использовании методы НВЧ и биотесты очень эффективны, так как колонизация корней растений-приманок используется для определения наличия жизнеспособных пропагул. К сожалению, ни один из методов не пригоден для выявления вклада в колонизацию корневой системы как разных типов пропагул, так и различных видов АМ грибов. Подобные данные представляют большой интерес, так как вариации в специфичности/избирательности и функциональное разнообразие в различных комбинациях гриб–растение имеют важные последствия для взаимоотношений видов в пределах сообщества. При исследовании морфологического разнообразия структур при колонизации или при применении молекулярных методов выявления симбионтов возможно выяснить, какие грибы колонизируют корни тех или иных видов растений, но вопросы количественной характеристики вклада разных видов все еще ждут решения.

Несмотря на то, что сеть свободного мицелия, ассоциированная с живыми растениями, обладает неограниченным ростом и долговременной способностью к началу колонизации, рост гиф из споры или фрагмента корня весьма ограничен. Сапротрофный рост в почве не происходит. Рост гиф после прорастания происходит за счет запасных веществ споры, даже если он и повышает шанс на встречу с корневой системой совместимого вида растения. Хотя споры, возможно, могут переноситься ветром, прочие дискретные пропагулы, вероятно, перемещаются только на небольшие расстояния. Следовательно, грибы зависят или от роста и сохранности мицелиальной сети или от распространения растительных партнеров; отсутствие абсолютной специфичности к определенным видам растений (гл. 1) помогает избежать пространственных или временных разрывов в доступности источников органического углерода. Растения, нуждающиеся в симбиозе для своего процветания, также зависят от способности грибных пропагул выживать в различных типах почв и при разных условиях окружающей среды.

Споры как инокулюм и индикаторы грибных сообществ

Встречаемость спор

Споры — наиболее хорошо заметный источник инокулюма и единственный тип пропагул, для которого возможна более или менее достоверная видовая идентификация (см. гл. 1). Следовательно, они наиболее важны при выделении различных видов АМ грибов, изучении их распространения и постановки горшечных культур с экспериментальной целью или для идентификации. В ранних исследованиях присутствовала тенденция пренебрегать видовым разнообразием скоплений спор АМ грибов, поэтому полученные данные касаются общей плотности спор и суммарной степени колонизации корневых систем. По мере выявления ярко выраженного генетического и функционального разнообразия среди АМ грибов стали предпринимать попытки описания большого числа видов и оценки их вклада в сообщество. В настоящее время данные часто содержат информацию о плотности спор в почве и их видовом составе, выявленном посредством микроскопии морфологии грибных структур в корнях и молекулярной идентификации симбионтов (Abbott, 1982; Merryweather, Fitter, 1998a; Clapp et al., 2002; Dickson, 2004). Однако, как показывают приведенные ниже примеры, все еще очень сложно сделать обобщения относительно факторов, влияющих на образование скоплений спор или на их плотность в почве.

Наиболее широко известный способ выделения спор из почвы — метод влажного просеивания и осаждения (Gerdemann, 1955; Gerdemann, Nicolson, 1963), его

подробное описание и модификации можно найти в различных справочниках и руководствах по лабораторной работе (Schenck, 1982; Brundrett et al., 1994, 1996; Norris et al., 1994). Собранные в полевых условиях споры иногда трудно идентифицировать до вида, поэтому их часто используют для постановки горшечных культур, из которых получают новые поколения спор для определения видовой принадлежности. Выделение из природных субстратов часто сопровождается «приманочным культивированием», процессом, при котором один или несколько видов растений выращивается в полевых условиях в течение нескольких месяцев, а затем из него выделяют и идентифицируют споры грибов. В большинстве исследований при прямом выделении спор получают целый ряд видов АМ грибов, что несколько отличается от ситуации, возникающей при использовании приманочных культур, где различные растения-приманки дают разные, но перекрывающиеся наборы видов грибов (Sanders, Fitter, 1992a; Bever et al., 1996, 1997, 2001; Antoniolli, 1999; Jansa et al., 2002a). Эти данные не только подтверждают более высокое разнообразие АМ грибных скоплений, чем то, которое наблюдается при прямом подсчете спор, но, что более важно, указывают на потенциальное влияние видов растений на предпочтения гриба и активность его споруляции. Число выделенных видов зачастую зависит от схемы отбора образцов (Bever et al., 2001; Fitter, 2001, 2005), среднее значение обычно составляет около 20–25 видов на исследуемый участок, но иногда оно достигает или даже превышает 50 (Fitter, 2001). В ходе продолжающегося в настоящее время исследования на участке скашиваемого луга за первый год работы были выявлены споры только 11 видов грибов, но через несколько лет повторного прямого отбора образцов и учета методом приманок с использованием трех из порядка 50 видов растений, присутствующих на территории исследования, это число возросло до 37 (Bever et al., 2001). Молекулярными методами обычно выявляется число видов, близкое к полученным путем выделения спор или морфологической идентификацией в корнях, например, от восьми до девяти видов для корневых систем колокольчика из леса умеренной зоны (Clapp et al., 1995; Merryweather, Fitter, 1998c; Helgason et al., 1999, 2002) и до 30 последовательностей в корнях сеянцев древесных пород в тропических лесах (Husband et al., 2002b) (см. гл. 15). Несмотря на то, что обычно данные, полученные разными методами, согласуются, есть примеры последовательностей или морфотипов АМ грибов из корней, никогда не выявлявшиеся в виде спор (Merryweather, Fitter, 1998a). Это указывает на важность других типов пропагул, кроме спор, при начале колонизации, а также подчеркивает то, что методом выделения спор могут быть получены некорректные данные о том, какие именно АМ грибы являются наиболее значимыми симбионтами.

Плотность спор может существенно варьировать. В некоторых местообитаниях споры не обнаружены ни в один из сезонов исследования, а сезонный максимум может колебаться, по разным данным, от 1 до 5 спор на грамм лесной почвы (McGee, 1986; Louis, Lim, 1987; Merryweather, Fitter, 1998a), от 9 до 89 спор на грамм почвы в агроценозах (Sutton, Barron, 1972), или иметь значение около 4 спор на кубический сантиметр песчаной почвы на дюнах Род Айлэнда (Gemma, Koske, 1988).

Более тщательный анализ иногда выявляет, что определенные виды АМ грибов могут иметь сезонные изменения в продукции спор. По результатам исследования скашиваемого луга в Северной Каролине у *Gigaspora gigantea* максимум наблюдался в конце года, но плотность спор *Scutellospora calospora* и *Acaulospora colossica* была наиболее высокой поздней весной (Bever et al., 2001). Несмотря на эти открытия, следует быть очень внимательным, так как, например, при повторном отборе образцов на том же самом участке леса (Clapp et al., 1995) сезонность споруляции подтверждена не была. В данном случае пики плотности спор не были явно связаны с фенофазой растений или какими-либо климатическими или сезонными факторами (Merryweather, Fitter, 1998b). Агроценозы часто содержат относительно высо-

кое количество спор, известны значения вплоть до 120 спор на грамм почвы (Johnson et al., 1991, 1992; Jansa et al., 2002a). В этих исследованиях было отмечено выраженное влияние местообитания, сезона и видового состава растений, но не были выявлены эффекты вспашки или долговременного внесения фосфорных удобрений. Нарушения местообитания, вызываемые агротехникой, могут повлечь за собой изменение видового состава скоплений спор АМ грибов, а также снижение их биоразнообразия. Часто наблюдается преобладание видов рода *Glomus* (особенно, *G. mosseae*) и сокращение численности видов других родов, например, *Gigaspora*, *Scutellospora* и *Acaulospora*, что показано на основании данных о плотности спор, согласующихся с изменениями в выявленных последовательностях ДНК (Johnson, 1993; Helgason et al., 1998; Daniell et al., 2001; Jansa et al., 2002a). Считается, что активно спорулирующие виды рода *Glomus* способны выживать и сохранять высокую инфекционность и продуктивность спороообразования даже в случае разрушения гифальных сетей, в отличие от других АМ грибов, более зависимых от целостности мицелия, необходимого для их соединения с новыми растениями.

В случае, когда плотность спор имеет положительную корреляцию со степенью колонизации корня, оба показателя могут возрастать в течение вегетационного периода однолетних растений. Снижение плотности спор с глубиной почвы может быть связано с уменьшением количества АМ колонизированных корней (Hayman, 1970; Sutton, Barron, 1972; Jakobsen, Neilsen, 1983; Giovannetti, 1985). Тем не менее, эта корреляция прослеживается не всегда, например, у четырех древесных пород из равнинного дождевого тропического леса наблюдалась обратная зависимость между плотностью спор и колонизацией (Louis, Lim, 1987), а в некоторых случаях какая-либо корреляция между численностью спор и инфекционностью отсутствует вообще (Powell, 1977).

Прорастание споры и рост гифы

Прорастание споры может происходить тремя способами: через ростковый щиток, как у *Acaulospora* и *Scutellospora*; непосредственно через стенку споры, как у *Gigaspora* и некоторых видов *Glomus*; или путем вторичного роста из гифального придатка, который часто встречается у многих видов *Glomus* (Siqueira et al., 1985). Для этого процесса не требуются корни растений, хотя процент прорастания иногда в их присутствии возрастает. При прорастании в почве или на агаризованных средах образуется небольшое количество пресимбиотического мицелия, порядка 20–30 мм на одну спору. Имеются свидетельства, что этот мицелий обладает слабой способностью к поглощению сахаров и ацетата из внешних источников (Bago et al., 1999a) и, возможно, способен к сапротрофному росту в почве (Hepper, Warner, 1983). Однако в отсутствии корней и корневых экссудатов у гиф очень низкая скорость метаболизма, и все попытки долговременного поддержания мицелия в культуре не увенчались успехом (Azcón-Aguilar et al., 1999; Giovannetti, 2000; Bécard et al., 2004). Наличие корней или корневых экссудатов стимулирует рост и ветвление мицелия и, очевидно, переводит его в «инфекционное» состояние (см. гл. 3), но постоянного роста не происходит и новые споры не образуются до тех пор, пока не состоится успешная колонизация корневой системы; если спора окажется отделена, рост мицелия прекращается.

В большинстве исследований прорастания спор использовали воду или агаризованные искусственные среды разного состава, но существует иной, более оправданный с точки зрения экологии подход — закапывание спор в пакетах в почву таким образом, чтоб их возможно было вынуть. Изменчивость прорастания может быть отнесена на счет покоя. Для «*Gigaspora*» (*Scutellospora*) *calospora*, *Acaulospora laevis* и двух видов *Glomus* было установлено, что споры после образова-

ния должны пройти период покоя, и только по его окончании способны к прорастанию (Tommerup, 1983). Затем, при подходящих температурных условиях и влажности, споры быстро и достаточно синхронно прорастают. Эти данные согласуются с результатами других работ, в которых показано, что хранение спор в сухой почве или при низких температурах, в зависимости от вида, повышает процент прорастания (Sylvia, Schenck, 1983; Tommerup, 1984a; Gemma, Koske, 1988; Louis, Lim, 1988; Safir et al., 1990).

Было проведено обширное систематическое исследование прорастания спор вида *Glomus caledonium* (Hepper, Mosse, 1975; Hepper, Smith, 1976; Hepper, 1979, 1983a, b, 1984a; Hepper, Jakobsen, 1983). Результаты этих и других работ (Schenck et al., 1975; Green et al., 1976; Daniels, Duff, 1978; Daniels, Trappe, 1980) позволяют сделать некоторые обобщения (обзоры см. в Azcón-Aguilar et al., 1999; Giovannetti, 2000). Споры грибов могут различаться по оптимуму pH и температуры для прорастания и восприимчивости к высоким концентрациям доступного фосфора и других минеральных элементов питания, тяжелых металлов (Zn, Mn и Cd), органических кислот и сахаров, которые могут обладать ингибиторным эффектом. Высокая соленость может подавлять прорастание, возможно, путем влияния на водный потенциал (Juniper, Abbott, 1993, 2004). В нескольких исследованиях предполагалось, что глюкоза, корневые экссудаты или экстракты из совместимых растений стимулируют прорастание (Graham, 1982; Gianinazzi-Pearson et al., 1989; Vilarino, Sainz, 1997; Bécard et al., 2004), в то время как в других отмечено отрицательное влияние или вообще не показан эффект (Schreiner, Koide, 1993a, b, c; Vierheilig, Ocampo, 1990a, b).

Прорастание иногда, но не обязательно, стимулируется присутствием микроорганизмов или снижается в стерильной почве (Azcón-Aguilar et al., 1986a, b; Mayo et al., 1986; Azcón, 1987; Wilson et al., 1988; Daniels Hetrick, Wilson, 1989; Xavier, Germida, 2003). Вполне вероятно наличие сложных связей между микробной активностью и прорастанием спор и ростом мицелия, и возможными механизмами могут служить устранение токсинов или ингибиторов прорастания, образование специфических стимуляторных соединений и поддержание повышенной концентрации CO_2, хотя само по себе влияние на прорастание может быть малозаметным (Le Tacon et al., 1983).

Прорастание и рост гиф из споры активно изучались с целью выяснения, почему они так ограниченны при отсутствии колонизации корня, а также в надежде на получение аксеничного мицелия для использования в качестве инокулюма. Ранние работы делали основной акцент на поиске единственного метаболита, который мог отсутствовать в данном случае. Выяснить удалось немного, хотя было установлено, что повышенные концентрации фосфора в среде подавляют рост гиф, что стимуляторный эффект пептона может быть обусловлен лизиновым, цистеиновым и глициновым компонентами и что сульфит и метабисульфат калия (в большей степени, чем соответствующие соли натрия) оказывают более мощный стимуляторный эффект, чем сульфаты или тиосульфаты. С помощью различных ингибиторов метаболизма, таких как актиномицин, циклогексимид, бромистый этидий и т.д., также не удалось дать ответ на эти вопросы. Было показано только то, что во время прорастания споры не имеется серьезных препятствий для синтеза ДНК или белков (Hepper, 1979, 1983a, b, 1984a; Siqueira et al., 1982, 1985; Hepper, Jakobsen, 1983; Pons, Gianinazzi-Pearson, 1984). Однако, скорость метаболизма спор и проростковых трубок, по всей вероятности, является низкой (Tamasloukht et al., 2003; Bécard et al., 2004). Запасные липиды переводятся в углеводы и возможно поглощение небольших количеств глюкозы и ацетата, но синтез липидов во время прорастания не происходит (Bago et al., 1999a).

Исследование влияния растительных экссудатов и летучих веществ оказалось намного более продуктивным (Koske, Gemma, 1992). Уже в 1976 г. было отмечено

усиление ветвления гиф в почве по мере их приближения к корням (Powell, 1976). В аксеничных экспериментах растворимые экссудаты или экстракты из корней растений-хозяев, а также из клеточных культур, стимулировали прорастание спор и ветвление мицелия (Graham, 1982; Carr et al., 1985; Elias, Safir, 1987; Vierheilig et al., 1998a; Buee et al., 2000), в то время как экссудаты несовместимых растений не оказывали никакого влияния (Gianinazzi-Pearson et al., 1989; Schreiner, Koide, 1993b; Buee et al., 2000). Внесение высоких концентраций фосфора в корневые системы, экссудаты из которых в дальнейшем использовались в экспериментах, оказывало отрицательное влияние на ответную реакцию грибных гиф (Tawaraya et al., 1996), возможно из-за подавления накопления стимуляторных веществ (Akiyama et al., 2002, 2005). В почве на корнях ряда видов растений-хозяев (*Fragaria*, *Helianthus*, *Oncimum*, *Lycopersicon* и *Triticum*) наблюдалось сложное мицелиальное ветвление, сопряженное с ростом гиф от споры, но на корнях несовместимых растений, таких как *Brassica*, *Dianthus*, *Erica* или *Lupinus,* оно отсутствовало (Giovannetti et al., 1993b). В то же время, ряд исследований был посвящен различным образуемым корнями или семенами растений фенольным соединениям, которые, как было установлено, влияют на развитие симбиоза между *Rhizobium* и *Agrobacterium* и их хозяевами. В итоге было выявлено, что флавоноиды обладают устойчивым стимуляторным эффектом на рост и ветвление проростковых трубок *Gigaspora margarita* и некоторых видов рода *Glomus* (Gianinazzi-Pearson et al., 1989; Tsai, Phillips, 1991; Bécard et al., 1992; Buee et al., 2000) и могут повышать степень колонизации корней грибами (Nair et al., 1991; Siqueira et al., 1991; Akiyama et al., 2002). В полученных результатах имеются некоторые различия в зависимости от того, какие именно соединения были рассмотрены, но, в целом можно сказать, что флавоноиды (иногда наряду с повышенной концентрацией CO_2) могут быть ключевыми сигнальными молекулами, принимающими участие в стимуляции роста преисмбиотического мицелия и образовании микоризы, а также, возможно, в процессе направленного роста гиф в сторону корней (Vierheilig et al., 1998a). Это мнение в настоящее время признается неверным, потому что, хотя флавоноиды обладают стимулирующим влиянием, их недостаточно для формирования микоризы. Было убедительно показано, что колонизация корней нормально протекает у видов растений, не образующих флавоноиды, и у мутантов кукурузы, лишенных халкон-синтазы и, следовательно, неспособных к синтезу этой группы соединений (Bécard et al., 1995). Представляется наиболее вероятным, что другой липофильный компонент корневых экссудатов, так называемый фактор ветвления (BF в англоязычной литературе), недавно определенный как сесквитерпен, принимает участие в процессах, ведущих к интенсификации роста мицелия и изменениям в морфогенезе (Buee et al., 2000; Tamasloukht et al., 2003; Akiyama et al., 2005; Besserer et al., 2006). Это соединение активно в очень низких концентрациях и, вероятно, скорее является сигнальной молекулой, чем питательным веществом. В любом случае, усиление ветвления и анастомозы приводят к образованию крупной пресимбиотической гифальной сети, для которой выше как вероятность контакта с растением для начала колонизации, так и возможность регенерации и возобновления транспорта при повреждении.

Споры некоторых видов грибов приспособлены к переживанию такого состояния, когда колонизация корня и установление симбиотических отношений не следуют незамедлительно за прорастанием. Инфекционность спор *Acaulospora laevis* и *Glomus caledonium* сохранялась при отсутствии совместимых растений во влажной луговой почве в течение как минимум 4 недель, но снижалась за период 4–10 недель (Tommerup, 1984b). Сходным образом, споровый инокулюм *G. intraradices* сохранял инфекционность до 3 недель во влажной почве при температуре, не превышающей 38 ºС (Haugen, Smith, 1992). Механизмы, лежащие в основе этих процессов для указанных видов неизвестны, но у *G. caledonium* запрограммированная

остановка роста на стадии проростковых трубок происходит при отсутствии доступных для колонизации растений (Logi et al., 1998). Более того, споры *Gigaspora gigantea* способны последовательно образовывать множество проростковых трубок, если предыдущие будут удалены (Koske, 1981) и, возможно, что при этом происходит ядерное деление, компенсирующее отсутствие ядер, мигрировавших в мицелий на начальных стадиях роста (Bécard, Pfeffer, 1993). *Glomus epigaeus* образует вторичные спорокарпы при долговременном хранении без колонизации корней (Daniels, Menge, 1980).

Таким образом, споры хорошо приспособлены к инициации колонизации корней. Также они способны долговременно сохраняться в почве, повторно прорастать при отсутствии совместимых растений и поддерживать низкий уровень метаболизма. При наличии подходящих корневых систем и стимулирующего действия корневых экссудатов изменяется метаболическая активность, в результате чего происходит усиление ветвления, распространение гиф и контакт с корнем. Анастомозы между пресимбиотическими гифами приводят к образованию более крупного мицелия, вследствие чего увеличивается вероятность встречи грибного симбионта с совместимой корневой системой, происходит колонизация и, следовательно, обеспечение постоянного притока сахаров.

Фрагменты корней

Фрагменты корней во многих почвах могут являться важным источником инокулюма, но о нем известно значительно меньше, чем о спорах. Рост свободных гиф из инфицированного корневого фрагмента наблюдается достаточно часто (Magrou, 1946; Hall, 1976; Powell, 1976; Hepper, 1984b), и участки корней нередко используют в экспериментах для инициации колонизации (Biermann, Linderman, 1983) (см. рис. 2.2). Неизвестно, сколь долго вегетативные гифы способны сохранять жизнеспособность в стареющих и отмерших корнях, но некоторые данные предполагают возможность их существования по крайней мере в течение 6 месяцев в сухой почве, а также то, что инфекционность не зависит от наличия везикул. Таким же образом возможность и повторного роста гиф и инфицирования сохранялась у *Scutellospora calospora* (вид, не образующий везикулы) и у двух видов рода *Glomus* (Tommerup, Abbott, 1981). Тем не менее, везикулы, как и споры, запасают большие количества липидов и содержат множество ядер, что, наряду с наличием толстой клеточной стенки предполагает функции либо пропагулы, либо поддержания повторного роста межклеточных гиф. Развитие очень толстых клеточных стенок у межклеточных гиф АМ гриба в старых корнях *Trifolium* было изучено на уровне ультраструктуры (Lim et al., 1983). Многослойные клеточные стенки сходны по строению с таковыми в склероциях и окружают нормальное цитоплазматическое содержимое. Это может быть адаптацией к длительному переживанию неблагоприятных условий, но остается неизвестным, ни насколько распространено это явление, ни насколько толстостенные гифы способны к последующему прорастанию.

Было выявлено, что после долгого времени нахождения поля под паром (до 2 лет без посева), численность как корневых фрагментов, так и спор была низкой, также как и инфекционность почвы, в то время как при более коротком перерыве в посевах эти показатели, напротив, возрастали (Thompson, 1987). Плотность и распределение корневых фрагментов в горшечных культурах очень важны, они определяют скорость колонизации сеянцев, что было показано на примере *Trifolium subterraneum* (Smith, Smith, 1981). Перемещение фрагментов корней почвенными животными оказывает влияние не только на развитие микоризованных корней, но также и на распро-

странение растений. Муравьи-жнецы накапливают очень большие количества мелких кусочков корней (и спор АМ грибов) в своих подземных жилищах (Friese, Allen, 1993). После того как муравьи покидают жилища, такие растения как *Artemisia tridentata* и *Oryzopsis hymenoides,* находящиеся поблизости, колонизируются АМ грибами очень активно. В некоторых случаях отмершие инфицированные корни могут быть расположены так, что инокулюм оказывается именно там, где должны появиться новые корни. Предполагается, что именно это происходит у *Endymion non-scripta*, когда новые корни развиваются рядом с отмершими, остающимися с прошлого сезона вегетации (Daft et al., 1980). Тем не менее, серьезные нарушения почвы значительно снижают колонизацию, что свидетельствует о важности мицелиальных сетей, равно как и отмерших корней, как источника инокулюма (Merryweather, Fitter, 1998c). Неясно, способны ли корневые фрагменты сохранять инфекционность после периодов увлажнения и пересыхания, но они могут играть важную экологическую роль в местообитаниях с выраженной сезонностью, где кратковременные летние дожди увлажняют почву и вызывают рост гиф, но не являются достаточными для поддержания прорастания сеянцев (Braunberger et al., 1994).

Мицелиальные сети

Не вызывает сомнений, что гифальные сети в почве, соединенные с растениями, играют ключевую роль в колонизации сеянцев у многолетних растений, этот факт известен уже давно. Активное распространение мицелия было описано уже в ранних исследованиях АМ (Peyronel, 1923), и значение гиф как связей между растениями общепризнанно (Harley, 1991). Т. Николсон (Nicolson, 1959) был одним из первых исследователей, подробно изучивших свободный мицелий, ассоциированный с корнями травянистых растений в естественных местообитаниях. Им отмечено, как и в последующих работах, «поразительное разнообразие диаметра гиф (2–27 мкм) и соответствующее ему варьирование толщины стенок». Он показал, что толстостенные гифы формируют стабильную основу для короткоживущих гифальных комплексов, ассоциированных с корнями. Осевые гифы, в норме содержащие ядра и цитоплазму, дают начало боковым системам из сильно разветвленных септированных латеральных гиф (см. рис. 2.1А). Порядок ветвления, выявленный в этих исследованиях, крайне сложно увидеть в почве, но он явно виден в моноксеничных культурах АМ грибов (Bago et al., 1998a) (рис. 2.3А) и в двухмерных системах для наблюдения анастомозов мицелия, объединяющего растения разных видов в почве (Giovannetti et al., 2004) (рис. 2.3Б).

Значимость живых гифальных сетей для инициации быстрой колонизации сеянцев и мобилизации питательных элементов в последние годы наконец получила заслуженное признание (Read, 1992; Read et al., 1985; Olsson et al., 2002; Leake et al., 2004a; Simard, Durall, 2004). Гифы направляются от одного растения к другому, образуя простые соединения или разветвляясь при приближении к корню с образованием множества колонизующих гиф и аппрессориев (Friese. Allen, 1991) (см. рис. 2.1Б). Поисковые гифы, формирующие петли на поверхности корня, также инициируют вторичную колонизацию (см. рис. 2.1Б) (Peyronel, 1923; Cox, Sanders, 1974; Brundrett et al., 1985; Friese, Allen, 1991; Wilson, Tommerup, 1992). Показано, что мицелий *Glomus mosseae* распространяется в почве со скоростью 3 мм/день перед началом колонизации сои (Camel et al., 1991), а максимальное расстояние распространения для многих видов — около 20–30 мм (Warner, Mosse, 1983; Schubert et al., 1987), хотя отмечены дистанции до 90 мм. Мицелиальный «инфекционный фронт» в стерильной почве может охватывать популяцию растений со скоростью от 0,2 до 2,5 мм/

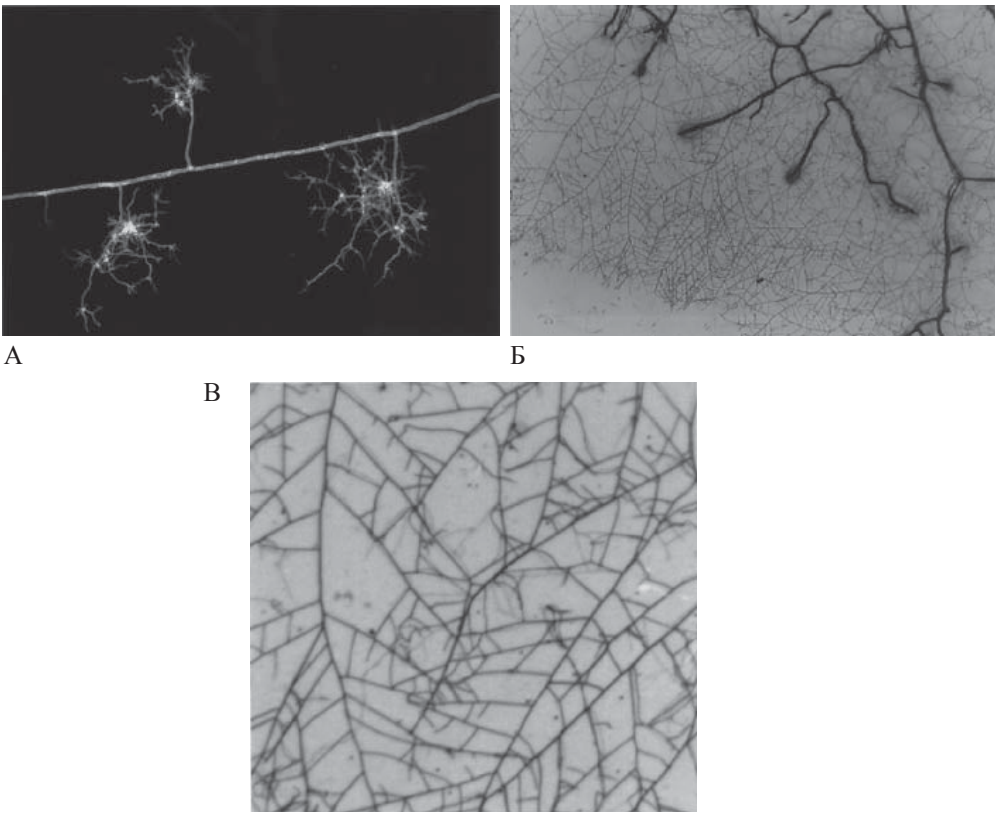


Рисунок 2.3. А — свободный мицелий *Glomus intraradices* в моноксеничной культуре с корнями томата, показана поисковая гифа, соединяющая разветвленные абсорбирующие структуры и отходящая от корня из моноксеничной культуры. Конфокальное изображение, составленное из 40 оптических срезов, сделанных с интервалом в 1 мкм по оси z. Любезно предоставлено С. Диксоном и А. Баго. Б — интактный свободный мицелий *Glomus mosseae*, распространяющийся из АМ корней *Prunus cerasifera*. Светлопольная микроскопия. Любезно предоставлено М. Джованнетти. В — участок сети свободного мицелия *Glomus mosseae* с частыми анастомозами. Светлопольная микроскопия. Любезно предоставлено М. Джованнетти.

день в зависимости от видов гриба и растения-хозяина (Powell, 1979; Scheltema et al., 1987b). На распространение влияет структура почвы, в которой растут гифы, и, как и в отношении других характеристик АМ грибов, имеется межвидовое разнообразие как в расстоянии, которое преодолевают гифы, чтобы колонизировать новое растение, так и в способности продвигаться в узких извилистых каналах в почве (Drew et al., 2003, 2005). Мицелиальные сети АМ грибов могут быть очень обширными, с помощью молекулярного фингерпринтинга показано, что один клон АМ гриба может распространяться на 10 метров между корнями *Hieraceum pilosella* в условиях ненарушенного местообитания на песчаных дюнах (Rosendahl, Stukenbrock, 2004). Хрупкий мицелий может повреждаться почвенными организмами, например, при выедании коллемболами или из-за ходов дождевых червей, а также при ведении агротехни-

ческих мероприятий. Разрыв сети приводит к снижению инфекционности грибов и сокращению поглощения элементов питания ассоциированными с ними растениями, демонстрируя, что уже сформировавшийся мицелий имеет большую способность к улавливанию питательных веществ, чем только начинающий образовываться, соединенный с индивидуальными особями растений (McGonigle. Fitter, 1988a; Fitter, Sanders, 1992; Pattinson et al., 1997).

Высокая скорость колонизации посредством сформированной мицелиальной сети, ассоциированной с растениями, может быть продемонстрирована экспериментами с использованием «растений-доноров» для инициации колонизации (Brundrett et al., 1985; Rosewarne et al., 1997). Колонизация пересаженных сеянцев начиналась с образования аппрессориев в двухдневный период, затем внедрение гриба происходило очень быстро, и колонизация достигала максимума в срок около

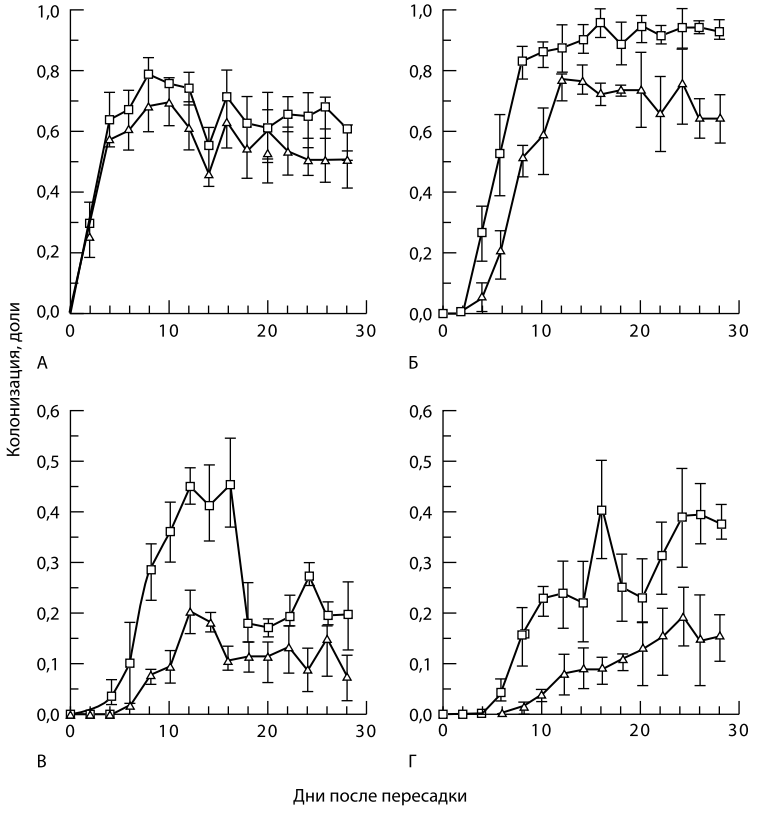


Рисунок 2.4. Колонизация корней *Solanum esculentum* (томат) *Glomus intraradices*. Томаты были выращены в почве с низким (□) или высоким (Δ) содержанием фосфата (Р) и затем пересажены в «донорские горшки» с трехнедельными микоризными растениями *Allium porrum*, растущими в почве с низким содержанием фосфора. Значения — доля длины корня, ассоциированная с (А) свободными гифами, (Б) внутренними гифами, (В) арбускулами, (Г) везикулами. Средние значения и стандартная ошибка среднего даны по четырем растениям. Из *Mycological Research*, **101**. Rosewarne et al., 1997, Production of near-synchronous fungal colonization in tomato for developmental and molecular analyses of mycorrhiza. pp. 966–970.

10 дней, с пиком развития арбускул на 12-й день (Rosewarne et al., 1997) (рис. 2.4). Эти результаты согласуются с наблюдениями очень быстрой колонизации сеянцев в ненарушенных природных местообитаниях, где может находиться несколько различных анастомозирующих сетей разных видов АМ грибов (см. гл. 1). Некоторые виды растений могут быть ассоциированы с несколькими сетями одновременно, в то время как другие ограничены избирательностью растений.

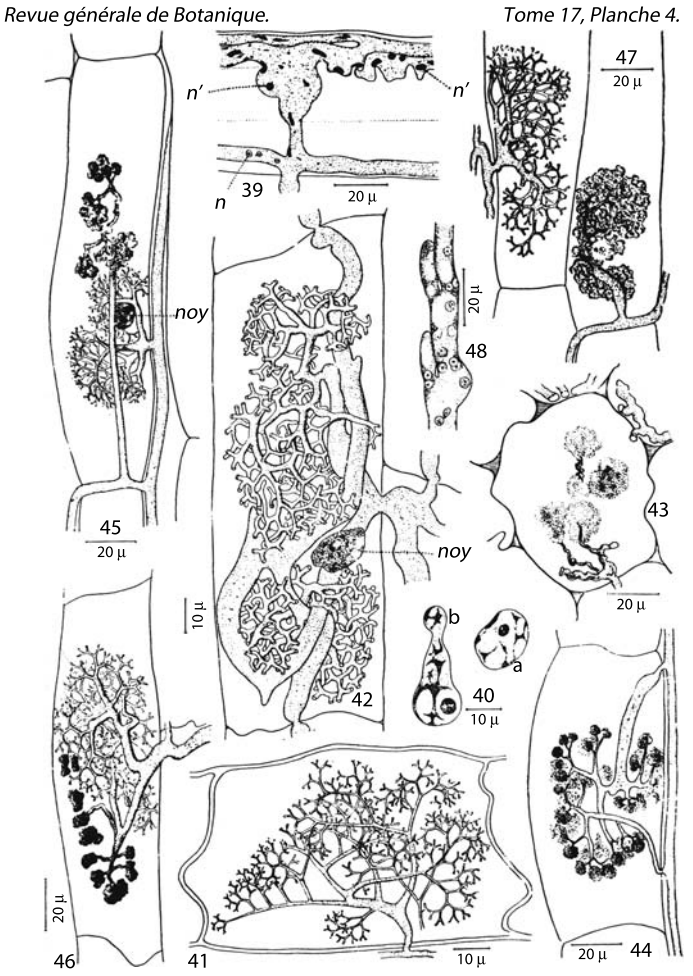
Гифальные сети способны сохранять жизнеспособность и инфекционность в течение периодов, когда вегетация ассоциированных с ними растений прекращается и растения отмирают. Исследования, проводимые в сезонно засушливых и жарких (Jasper et al., 1989; McGee, 1989; Braunberger et al., 1994) или очень холодных (Addy et al., 1994, 1997, 1998) местообитаниях, показывают важность этого периода переживания для быстрой колонизации, когда условия становятся благоприятными для роста и развития растений. В некоторых случаях поддержание инфекционности сети может зависеть от того, произошло пересыхание до или после споруляции грибов, и потому экологическая значимость спор и/или гиф и влияние нарушения местообитания могут быть очень различными (Jasper et al., 1993).

Морфология и анатомия арбускулярной микоризы

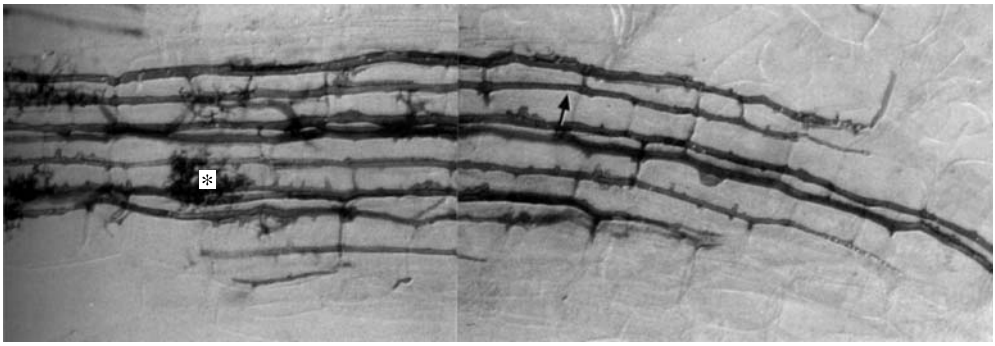
Различия в морфологии колонизации: *Arum*– и *Paris*–типы микориз

Как уже было упомянуто, существуют три важных компонента АМ корневой системы: корень как таковой и две ассоциированные с ним мицелиальные системы, одна, расположенная в почве, и вторая внутри корня. Эти две системы, представленные грибным симбионтом, формируют принципиально важные зоны контакта, на которых происходит транспорт питательных веществ между партнерами по симбиозу, растут и развиваются в очень различных условиях. Первая система очень изменчива, она претерпевает влияние гетерогенности почвы, в то время как вторая сравнительно стабильна и управляется корневым гомеостазом. Почвенный мицелий участвует в поиске новых растений и получении элементов минерального питания, используемых и грибом и растением, а внутрикорневые зоны контакта предназначены для транспорта веществ между симбионтами (см. гл. 4 и 5). Здесь мы описываем развитие контактных зон в корне, делая акцент на разнообразии структур, образуемых различными грибами с разными видами растений, существование и важность которых были вновь приняты в рассмотрение относительно недавно (Smith, Smith, 1996, 1997).

Первые описания и иллюстрации, изображающие внутренний мицелий, были сделаны в конце девятнадцатого века (Janse, 1897), прекрасные рисунки грибных структур в растительных клетках и тканях корня были опубликованы в работе И. Галло (Gallaud, 1905) (рис. 2.5A, B). Несмотря на то, что понимание Галло значения некоторых из этих структур не выдержало проверки временем, основные черты колонизации хорошо узнаваемы. Его наблюдения показали, что АМ корни могут содержать большое количество разных структур, которые он разделял на две основные анатомические группы. Группа, которую часто определяют как «типичную арбускулярную микоризу» и описывают в быстро растущих корневых системах культивируемых растений, в трактовке Галло получила название *Arum*-тип. В этих ассоциациях гриб относительно быстро распространяется в коре корня с помощью межклеточных гиф, которые проходят по хорошо развитым воздушным каналам. Короткие боковые ветви проникают в клетки коры через клеточную стенку и дихотомически ветвятся в апопласте, образуя характерные сильно разветвленные арбускулы.

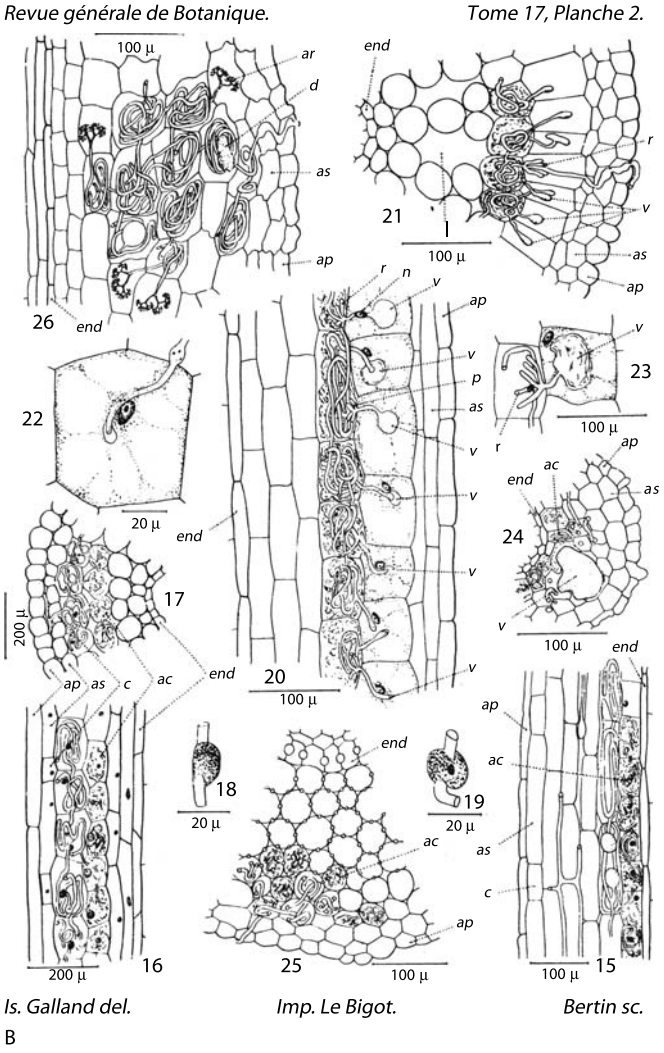


А



Б

Рисунок 2.5. А, Б



В

Рисунок 2.5. Разнообразие внутрикорневой АМ колонизации. А — изображения микориз *Arum*-типа, показывающие внутриклеточные арбускулы, берущие начало от межклеточных гиф у ряда растений-хозяев (41, 45, 46, 47). Также приведены стадии разрушения арбускул (43, 44, 47). Арбускулярный клубок *Paris*-типа приведен под номером 42. По Gallaud, 1905. Б — одиночная единица инфекции в микоризе *Arum*-типа, образованной *Glomus versiforme* на десятидневном корне *Allium porrum*. Обратите внимание на межклеточные гифы (отмечено стрелкой), растущие продольно между коровыми клетками корня. Ветви могут развиваться в арбускулы (*) или оставаться в виде коротких выростов гиф. Из Brundrett et al., 1985, с разрешения. В — изображения различных микориз *Paris*-типа, показывающие обильное развитие внутриклеточных гиф и сравнительно скудные арбускулы. По Gallaud, 1905. (г) Развитие арбускулярной микоризы у американского женьшеня (*Panax americana*), показаны развитые гифальные клубки в клетках коры, изредка образующие арбускулы. Обратите внимание на отсутствие межклеточных гиф; колонизация происходит напрямую от клетки к клетке. Из Peterson et al., 2004, с разрешения.

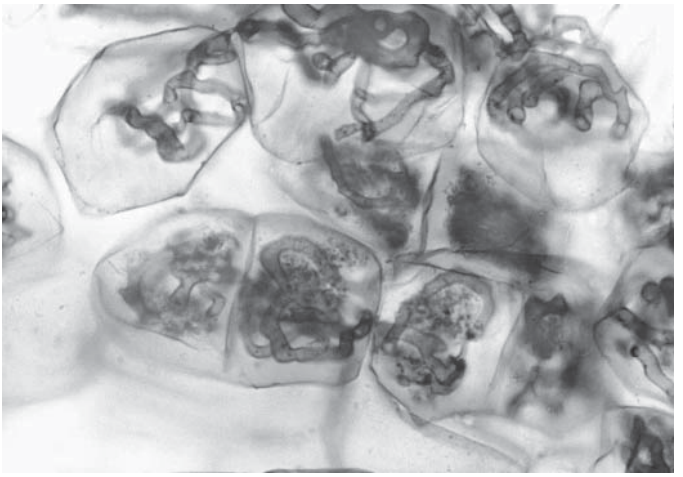


Рисунок 2.5. Г

Гифальные клубки могут образовываться при проникновении через наружные слои клеток корня, но они не являются основным элементом колонизирующих кору структур. Иллюстрация Галло и микрофотография характерной колонизации *Arum*-типа в *Allium porrum*, приведенные на рисунках 2.5А, Б, подробно будут описаны ниже. Одиночная арбускула показана на рисунке 1.1А.

Также Галло выявил так называемый *Paris*-тип микориз, при котором колонизация коры корня характеризуется активным развитием внутриклеточных клубков гиф, которые напрямую распространяются от одной клетки к другой (см. рис. 2.5В). От этих клубков иногда отходят подобные арбускулам ветви (рис. 2.5А, в центре, № 42), но внутриклеточный рост гиф очень слаб или отсутствует. Эти два основных АМ типа представляют собой краевые точки континуума, включающего в себя микоризы, для которых характерно образование неветвящихся гиф, распространяющихся продольно в большей степени внутри клеток коры, чем между ними, а также симбиозы, при которых происходит развитие и межклеточных и внутриклеточных гиф (Dickson, 2004) (рис. 2.6). Каким образом осуществляется контроль над развитием и функционированием различных контактных зон в корне, пока неизвестно, и следует иметь в виду, что микоризы *Arum*-типа — это только набор структурных особенностей, поэтому делать обобщения относительно их функций только на основании принадлежности микоризы к данному типу следует с осторожностью.

Неизвестно, насколько широко на самом деле распространен *Paris*-тип микоризы, однако растущее число исследований, посвященных деталям морфологии внутрикорневых АМ структур, указывает на то, что этот тип встречается у широкого круга растений из разных местообитаний. У Галло (Gallaud, 1905) они описаны у таких растений из европейских лесов как *Paris*, *Parnassia* и *Colchicum*, впоследствии к ним прибавились представители семейства Gentianaceae (Jacquelinet-Jeanmougin, Gianinazzi-Pearson, 1983; McGee, 1985; Jacquelinet-Jeanmougin et al., 1987) и целый ряд лесных видов, в том числе из родов *Erythronium, Trillium*, *Asarum* (Brundrett, Kendrick, 1990a, 1990b), *Taxus* (Strullu, 1978), *Acer saccharum* (Yawney, Schultz, 1990; Cooke et al., 1993), *Liriodendron* (Gerdemann, 1965) и *Ginkgo* (Bonfante-Fasolo, Fontana, 1985). Более поздние работы также подтвердили присутствие *Paris*-типа АМ у широкого круга растений из многих местообитаний.

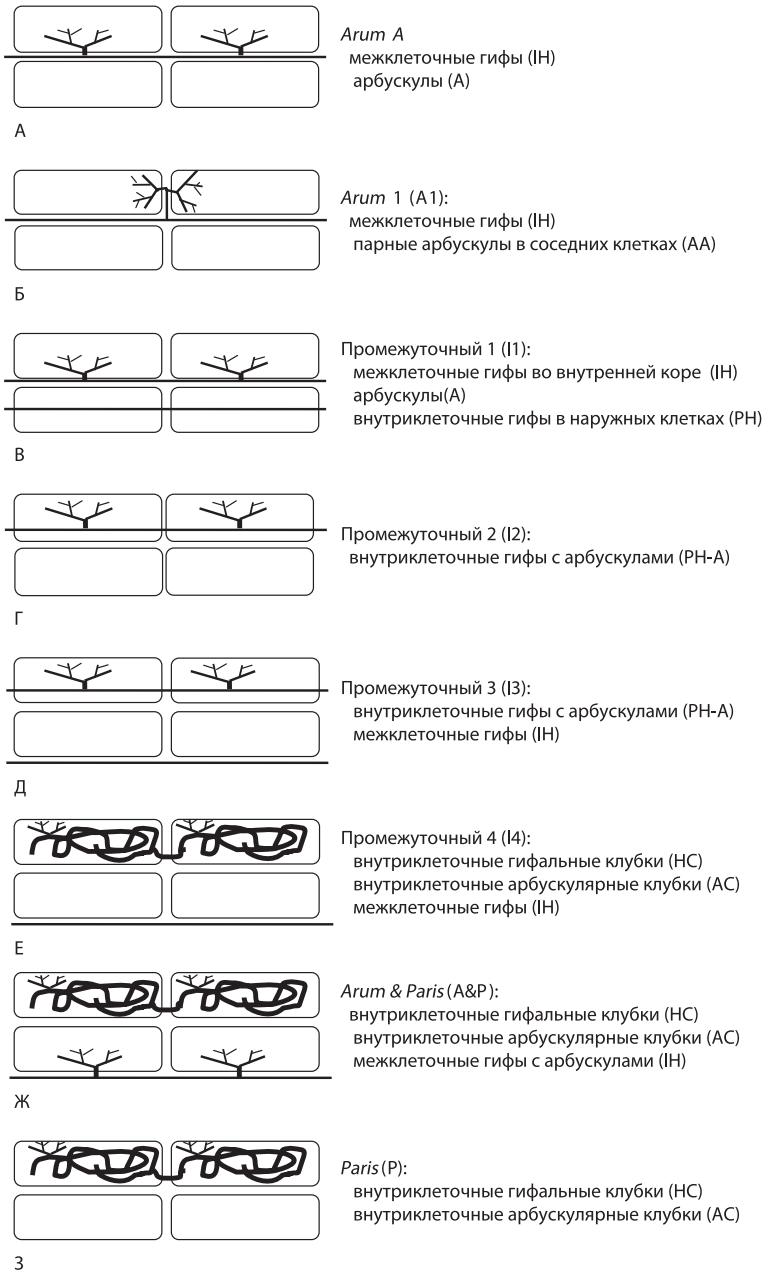


Рисунок 2.6. Схематические изображения типов колонизации, наблюдавшихся в корнях растений различных видов при взаимодействии с разными видами АМ грибов. А — *Arum*-тип; Б — *Arum*-тип 2; В–Е — четыре разных промежуточных типа; Ж — *Arum*- и *Paris*-типы в одной и той же корневой системе; З — *Paris*-тип. А — арбускулы; АА — парные арбускулы; АС — арбускулярные клубки; НС — гифальные клубки; IH — межклеточные гифы; IH-A — арбускулы, ассоциированные с межклеточными гифами; РН — внутриклеточные гифы; РНА — арбускулы, ассоциированные с внутриклеточными гифами. Из Dickson, 2004, с разрешения.

Несмотря на давно полученные данные, *Paris*-тип АМ часто считали нехарактерным и игнорировали в исследованиях. Ф.А. Смит и С.Э. Смит изучили литературные данные о встречаемости и *Arum*- и *Paris*-типов и обнаружили, что микориза *Paris*-типа имеется у представителей многих семейств папоротникообразных, голосеменных и покрытосеменных (Smith, Smith 1997). Гифальные клубки преобладают над арбускулами также у многих гетеротрофных растений, таких как гаметофиты *Psilotum* (Peterson et al., 1981), и в корнях некоторых бесхлорофилльных представителей семейств Gentianaceae и Burmanniaceae (см. гл. 13). Вначале имелись сомнения в видовой идентификации грибов, но впоследствии с помощью инокуляционных тестов и молекулярного фингерпринтинга подтвердилась принадлежность микобионтов к отделу Glomeromycota. Усиливающееся внимание к структурному разнообразию микориз, образуемых АМ грибами, привело к колоссальному возрастанию количества данных о растительных семействах с *Paris*-типом АМ (Dickson et al., 2007). В конечном счете оказалось, что представители большинства семейств чаще образуют *Paris*-тип АМ с внутриклеточными клубками гиф, чем *Arum*-тип с характерными арбускулами, и таким образом, *Paris*-тип не является чем-то редким или необычным. Неудивительно, что эти структуры могли остаться незамеченными при исключительном внимании к арбускулам как диагностическому признаку симбиоза и таксономии грибов-симбионтов.

До 1990-х гг. очень немного экспериментов проводили с АМ не *Arum*- типа. Кроме онтогенетических исследований с применением световой микроскопии, выявления немногих подробностей ультраструктуры микориз *Gentiana*, *Ginkgo* и *Liriodendron* (Kinden, Brown, 1975a, b; Bonfante-Fasolo, Fontana, 1985; Jacquelinet-Jeanmougin et al., 1987) и некоторых экспериментальных работ, связанных с ростовыми процессами, микоризы *Paris*-типа вообще не были изучены. Ф.А. Смит и С.Э. Смит (Smith, Smith 1997) сделали обширный обзор ранних работ, который невозможно привести здесь полностью. В настоящее время акценты сместились благодаря изучению растительности и экспериментальным работам, посвященным развитию и функциям микориз *Paris* –типа и другим морфологическим группам симбиозов АМ грибов. Помимо того, было начато исследование роли грибного и растительного геномов в определении морфологии микоризы. Таким образом, выяснилось, что видовая принадлежность растения играет роль в определении типа АМ, и возможно делать обобщения в отношении типа микориз, образуемых определенным семейством или подсемейством растений (Smith, Smith, 1997). Тем не менее, геном гриба также важен. К примеру, томат с одними грибами образует *Arum*-тип АМ, а с другими *Paris*-тип (Cavagnaro et al., 2001a). Данные о видах растений со «смешанным» типом колонизации или семействах, для которых указан более, чем один тип частично могут быть объяснены различными видами или множественностью колонизирующих видов АМ грибов (Smith, Smith, 1996; Cavagnaro et al., 2001a).

Процесс колонизации

Пресимбиотические события

Вне зависимости от внутрикорневой морфологии, АМ колонизация корней может быть начата гифами, возникающими из любого из трех источников инокулюма, описанных выше. Детали процесса колонизации вначале изучали, используя как инокулюм споры, спорокарпы или инфицированные фрагменты корней, или в моноксеничных культурах (Mosse, Phillips, 1971; Mosse, Hepper, 1975; Hepper, 1981; Bécard, Fortin, 1988; Bécard, Piché, 1989a), или на стеклах и пленках, помещаемых в почву (Powell, 1976; Giovannetti, Citernesi, 1993; Giovannetti et al., 1993a, b, 2000, 2004; Giovannetti, 1997). Наблюдение за колонизацией посредством природ-

ного инокулюма возможно проводить интактно в стеклянных прозрачных боксах (Friese, Allen, 1991) или с применением повторного сбора в горшках с уже микоризованными растениями, в которые после формирования гифальной сети пересаживают нужные растения (Brundrett et al., 1985; Rosewarne et al., 1997) (см. рис. 2.4).

Первичная колонизация корней дискретными пропагулами может быть инициирована на расстоянии до 13 мм, как свидетельствуют расчеты действия ризосферного эффекта у *Trifolium subterraneum*. Расстояние линейно увеличивается со скоростью 0,5 мм/день в течение 12 дней, что позволяет предполагать, что такова скорость роста гиф в направлении корня (Smith SE et al., 1986). В ряде работ и в почве и в аксеничных системах показано, что осевая гифа (диаметром 20–30 мкм) по мере приближения к корню обильно ветвится (рис. 2.7А) и дает начало характерному веерообразному комплексу боковых гиф (диаметром 2–7 мкм), которые могут

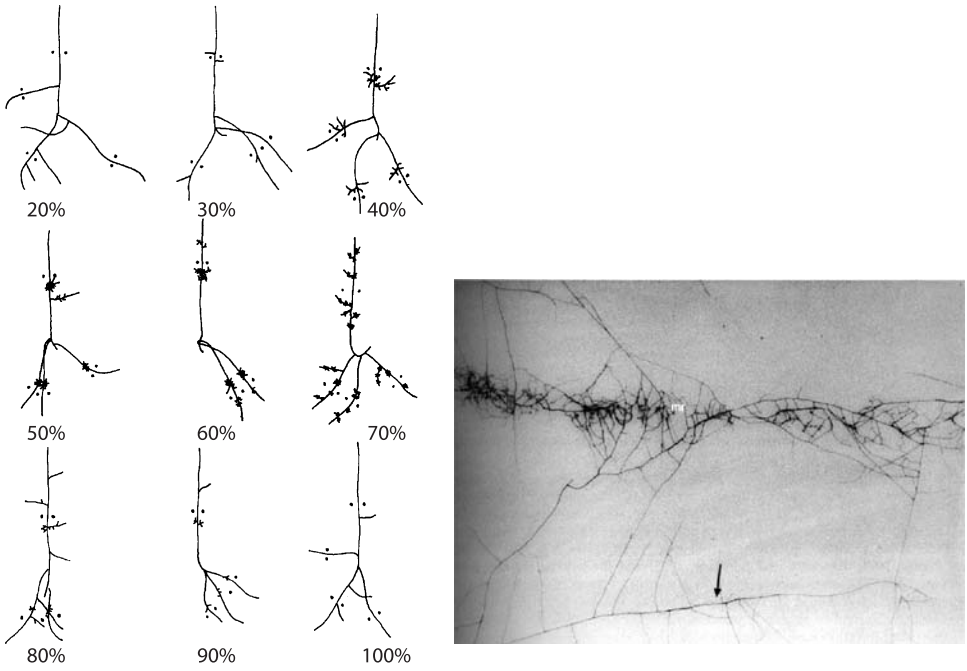


Рисунок 2.7. А — рисунки (при увеличении ×20) проростковых трубок и гиф, растущих от спор, у *Gigaspora gigantea* через 24 ч после введения разных фракций из корневых экссудатов моркови (*Daucus carota*). Профильтрованные корневые экссудаты моркови из 28-дневной культуры корней были пропущены через картридж C18 SEPAK. Соединения, связавшиеся с картриджем, были отделены промыванием в метаноле с повышением концентрации (20–100%), собраны и сконцентрированы. Никакой активности не было выявлено в материале, не связавшемся с картриджем (данные не приведены), а также в 20 и 30%-ных фракциях. Наиболее высокая активность ветвления наблюдалась в 50–70%-ных фракциях, небольшая активность была обнаружена также в 40 и 89%-ных фракциях. Из Mycological Research, 104, Nagahashi, Douds, 2000. Б — характерный морфогенез гиф, вызываемый у *Glomus mosseae* корнями совместимых растений, растущих под ультратонким мембранным фильтром. Плотность гиф указывает на морфогенетическую ответную реакцию на корни растения *Oncimum basilicum*. Не проявляющие реакции гифы находятся на некотором расстоянии от корней (отмечено стрелкой). Из Giovannetti et al., 1993a, с разрешения.

иметь септы. Эти тонкие латеральные гифы обычно и начинают колонизацию корня (рис. 2.1Б). М. Джованетти с соавт. использовали простой и красивый метод для изучения изменения морфогенеза гиф в ответ на присутствие растения-хозяина или несовместимого вида, при этом предотвращая прямой контакт симбионтов: многослойную систему ультратонких мембранных фильтров (Giovannetti et al., 1993a, b). Ими было показано, как можно видеть на рисунке 2.7Б, что при наличии растения-хозяина на поверхности фильтра очень быстро формируется густая, сильно разветвленная сеть гиф, не развивающаяся в присутствии несовместимого растения.

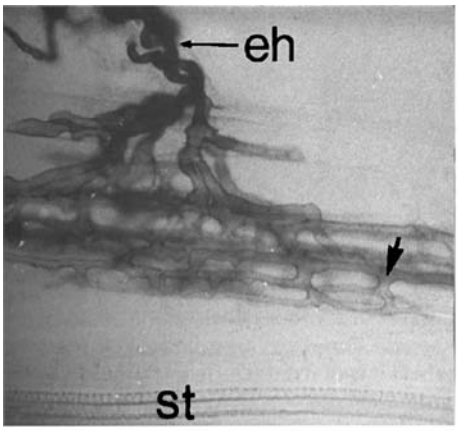
Эти результаты свидетельствуют о наличии системы обмена сигналами на стадии, предшествующей проникновению гриба, но, как подчеркивают К.Ф. Фриз и М.Ф. Аллен (Friese, Allen, 1991), образование веерообразного мицелия или отчетливые изменения морфогенеза гиф не всегда происходят в почве, и иногда сравнительно слабо дифференцированная, толстостенная гифа напрямую колонизирует корень, что подтверждается и некоторыми ранними исследованиями (Nicolson, 1959).

Контакт и проникновение

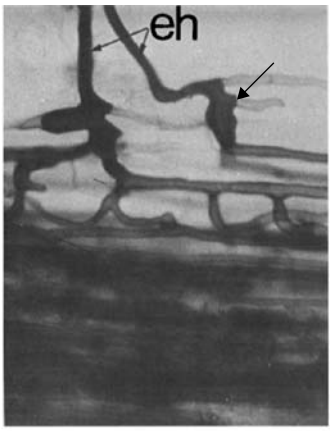
Контакт гифы с корнем обычно сопровождается прилипанием гифы к поверхности корня и формированием, примерно через 2–3 дня, вздутых аппрессориев (Brundrett et al., 1985; Bécard, Fortin, 1988; Giovannetti et al., 1993b; Peterson, Bonfante, 1994; Rosewarne et al., 1997; Giovannetti, Sbrana, 1998), затем происходит проникновение внутрь корня и, спустя 2 дня, формирование арбускул (Brundrett et al., 1985; Rosewarne et al., 1997). Хотя не все АМ грибы при любых условиях образуют явно дифференцированные аппрессории, морфологические изменения на поверхности корня указывают на то, что гриб узнает о наличии потенциального растения-хозяина (см. рис. 2.7Б). Стимул к образованию аппрессориев, скорее всего, связан с клеточными стенками ризодермы (Nagahashi, Douds, 1997) и отсутствует у многих несовместимых растений или у искусственных волокон (Giovannetti et al., 1993a; Nagahashi, Douds, 1997; Giovannetti, Sbrana, 1998).

Ранние стадии колонизации были изучены на ультраструктурном уровне в симбиозе *Allium porrum – Glomus versiforme* (Garriock et al., 1989). Удлиненные и эллиптические аппрессории ориентированы своей продольной осью вдоль продольной оси ризодермальных клеток (рис. 2.8В). Форма и расположение аппрессориев были относительно стабильны, но их длина колебалась от 16,8 до 79,8 мкм. Колонизирующие гифы большого диаметра, несущие мелкие выросты, всегда развивались из аппрессориев и, во многих случаях, проникали одновременно в две соседние ризодермальные клетки (рис. 2.8Г). Колонизация другими видами АМ грибов исследована хуже, но ясно, что единичные гифы, отходящие от аппрессориев, представляют собой наиболее обычный способ внедрения, по крайней мере, для некоторых видов (рис. 2.8Д).

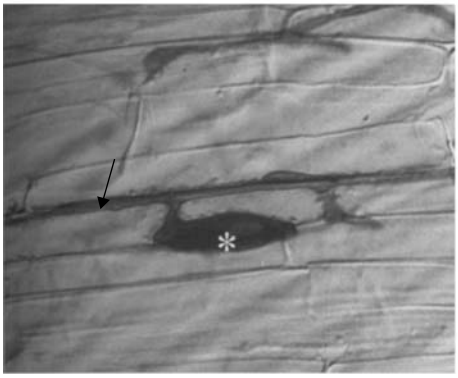
Изменения, происходящие в растении, указывают на то, что оно распознает прикрепление гриба. Регулярно наблюдалось слабое утолщение стенок у ризодермальных клеток, граничащих с проникающей гифой, и даже при отсутствии утолщения стенки заметно флуоресцировали после окрашивания акрифлавином-HCl, красителем на полисахариды со смежными гидроксильными группами (Garriock et al., 1989). Так как флуоресценция при окрашивании анилиновым синим или сульфатом берберина отсутствовала, утолщения клеточной стенки, вероятно, не содержат каллозу или лигнин, что было подтверждено для микоризы, образуемой *Glomus versiforme* и *Medicago* (Harrison, Dixon, 1994). Тем не менее, при проникновении *G. mosseae* у *Pisum sativum* не возникала подобная ответная реакция (Gollotte et al., 1993), а в случае *G. versiforme* ни у *Allium*, ни у *Ginkgo* не происходило изменений



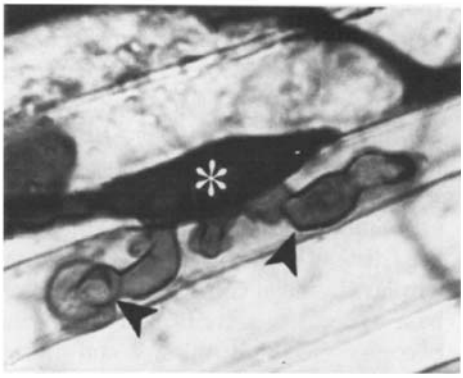
А



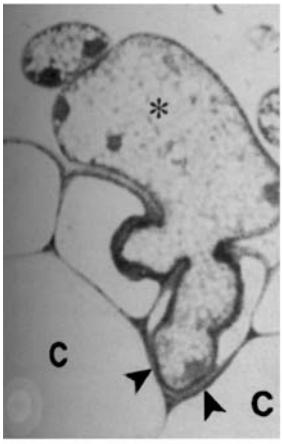
Б



В



Г



Д

Рисунок 2.8. Ранние стадии АМ колонизации корней. А, Б — преколонизационное ветвление свободных гиф (ЕН) и формирование аппрессориев (отмечено стрелкой) у *Glomus monosporus* на корнях *Trifolium subterraneum*. Из Abbott, 1982, с разрешения. В — аппрессорий (*) *Glomus versiforme*, выглядящий как утолщенное ответвление гифы на поверхности корня *Allium porrum*. Свободный мицелий отмечен стрелкой. Из Garriock et al., 1989, с разрешения. Г — инфекционные гифы (отмечено стрелкой), развивающиеся от аппрессория (*) *Glomus versiforme* на поверхности корня *Allium porrum*. По Garriock et al., 1989, с разрешения. Д — срез заключенной в смолу ткани *Allium porrum* с аппрессорием (*) *Glomus versiforme*, соприкасающимся с клеткой ризодермы (С), и развитие инфекционных гиф. Из Garriock et al., 1989, с разрешения.

в синтезе фенолов (Codignola et al., 1989). Пока неизвестно, связаны ли эти различия с видом растения или гриба, но в любом случае, утолщение клеточных стенок не предотвращает внедрение микобионта.

Проникновение сквозь растительную клеточную стенку всегда сопряжено с уменьшением диаметра гифы и образованием шпильки, а затем ее увеличением в объеме при вхождении в апопласт (рис. 2.8Д). Иногда клеточная стенка при вхождении гифы может выпячиваться, что показывает роль давления при внедрении гифы (Cox, Sanders, 1974; Holley, Peterson, 1979). Однако изменения в строении мембраны при проникновении гиф гриба в межклеточное пространство указывают на участие в этом процессе грибных ферментов, таких как пектиназы (Kinden, Brown, 1975b; Gianinazzi-Pearson et al., 1981b), что подтверждается биохимическими свидетельствами их образования в спорах и свободном мицелии (García-Romera et al., 1990, 1991). Активность других гидролитических ферментов, таких как целлюлазы и ксилоглюканазы, также возрастает в АМ корнях, хотя их непосредственное участие в проникновении сквозь растительную клеточную стенку отмечено не было (García-Garrido et al., 1992, 2000).

Внедрение в наружные слои клеток корня (ризодерму и экзодерму) — ключевой момент колонизации. Контроль, осуществляемый растением над этим этапом, выражается в изменении морфологии гриба по мере прохождения гиф через клетки и в существовании большого количества АМ-дефицитных мутантов, которые не позволяют грибу проникнуть в кору корня (Giovannetti, Sbrana, 1998; Bonfante et al., 2000; Gao et al., 2001). Недавнее исследование, показывающее быстрое развитие аппарата, предваряющего проникновение (АПП; PPA в англоязычной литературе), способствующего проходу гиф через ризодермальные клетки (Genre et al., 2005) описано в гл. 3.

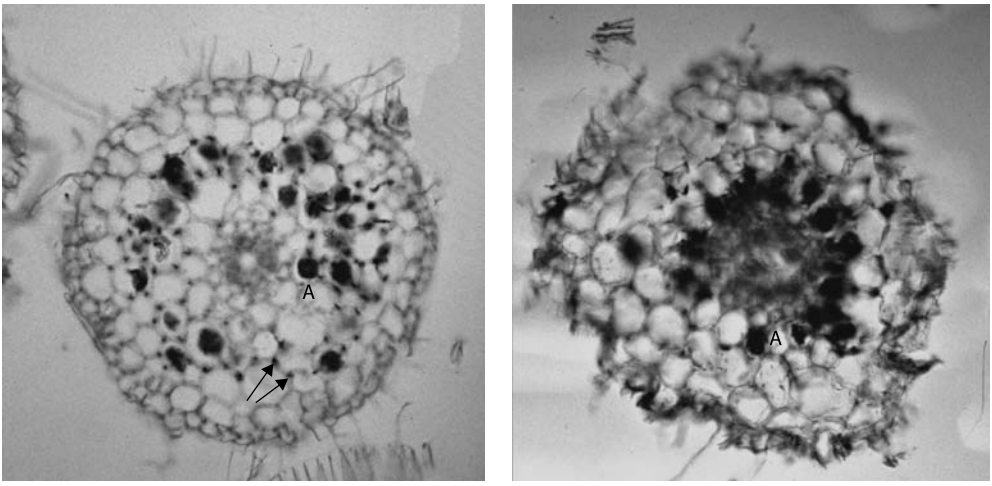
У многих растений, в том числе хорошо изученного рода *Allium,* для слоя клеток сразу под ризодермой характерно наличие поясков Каспари на тангентальных стенках и, по мере роста корня, отложение суберина на тангентальных и радиальных стенках (Shishkoff, 1986; Peterson, 1988; Enstone et al., 2002). У некоторых видов этот слой экзодермы диморфный: многочисленные удлиненные клетки быстро опробковевают, но с короткими пропускными клетками этого не происходит. Пояски Каспари на тангентальных стенках не являются преградой для входа гиф АМ грибов, в отличие от опробковения радиальных стенок. Следовательно, гриб проникает через пропускные клетки и всегда образует гифальные клубки между ними (Gallaud, 1905; Kinden, Brown, 1975a; Brundrett et al., 1985; Smith et al., 1989; Brundrett, Kendrick, 1990a, b). Взаимодействие грибов с экзодермальным слоем представляется важным, так как может влиять на восприимчивость корня (см. ниже) и контроль над составом апопластного раствора в коре, что сказывается на процессах транспорта питательных веществ между симбионтами (Smith, Read, 1997).

Развитие инфекционных структур в микоризах *Arum*- типа

Вслед за образованием аппрессориев и проникновением в ризодерму и клетки экзодермы, ветви гиф проходят в среднюю и внутреннюю части коры корня, и, в микоризах *Arum*-типа, растут продольно в межклеточном пространстве. Затем гифы веерообразно ветвятся среди наружных клеток коры (см. рис. 2.8А, Б), рост мицелия внутрь происходит от одной или нескольких близко расположенных друг от друга точек внедрения в ризодерме. Такие независимые колонии или мицелии получили название «единицы инфекции» («infection units» по Cox, Sanders, 1974), этого термина мы придерживаемся в тексте. Каждая единица инфекции развивается в продольном и, в некоторой степени, радиальном направлении в коре корня. Ответвления продольных гиф дают начало арбускулам в клетках. Поэтому самые ста-

рые арбускулы расположены наиболее близко к месту внедрения, а молодые и недозревшие — в отдалении от него (см. рис. 2.5Б). Скорость роста межклеточных гиф возможно измерить, и, в зависимости от применяемого метода, вида растения и условий окружающей среды, она может составлять от 0,13 до 1,22 мм/день (Smith, Walker, 1981; Walker, Smith, 1984; Brundrett et al., 1985; Tester et al., 1986; Brundrett, Kendrick, 1990a; Bruce et al., 1994). Максимальное продольное измерение единицы инфекции — около 5–10 мм в каждом направлении от простой или сложной точки внедрения. Межклеточные гифы могут ветвиться, анастомозировать и образовывать состоящие из множества гиф тяжи в некоторых особенно крупных межклеточных участках. При использовании электронной микроскопии и подходящего окрашивания можно увидеть, что гифы содержат много ядер, плотную цитоплазму и множество органелл, бактериеподобных организмов (БПО, BLO в англоязычной литературе) и вакуолей, а также запасы гликогена и липидов (Scannerini, Bonfante-Fasolo, 1983; Bonfante-Fasolo et al., 1984; Peterson, Bonfante, 1994; Bago et al., 1999b). Распределение ядер достаточно равномерное (Bonfante-Fasolo et al., 1987; Cooke et al., 1987; Bécard, Pfeffer, 1993; Bianciotto, Bonfante, 1993), гифы, по сравнению с арбускулами, являются долгоживущими структурами, по крайней мере, у быстрорастущих культурных растений (Holley, Peterson, 1979; Smith. Dickson, 1991). Так, в микоризах *Arum*-типа межклеточные гифы, вероятно, являются путями сообщения для микоризных единиц инфекции, в чьи функции входит перенос питательных веществ к свободному мицелию и обратно, а также, возможно, транспорт между симбионтами.

Особенности единиц инфекции могут различаться у разных видов растений и грибов. У некоторых растений, например, *Allium*, арбускулы рассеяны в клетках всех слоев коры (рис. 2.9А), в то время как у *Medicago* и *Cucumis* они развиваются плотным слоем в клетках внутренней коры вблизи центрального цилиндра, а наружная кора относительно свободна от внутриклеточных грибных структур (рис. 2.9Б).



А Б

Рисунок 2.9. Расположение арбускул в коре корня. А — арбускулы (А) и межклеточные гифы (отмечено стрелкой), распространяющиеся в коре корня *Allium porrum*. Б — арбускулы (А), образующие кольцо, непосредственно примыкающее к эндодерме, во внутренней коре *Cucumis sativus* (огурец). Любезно предоставлено С. Диксоном.

Развитие и жизненный цикл арбускул

Арбускулы в микоризах *Arum*-типа живут сравнительно недолго, их развитие, созревание и разрушение наблюдалось при помощи как световой, так и электронной микроскопии у многих комбинаций гриб–растение, поэтому возможно дать некое общее заключение об изменениях, которые происходят в клетках обоих симбионтов (Scannerini, Bonfante-Fasolo, 1983; Bonfante-Fasolo et al., 1984; Peterson, Bonfante, 1994). Подробное изучение развития арбускул и их отмирания у нескольких видов растений проводили с использованием морфометрических методов (Toth, 1992).

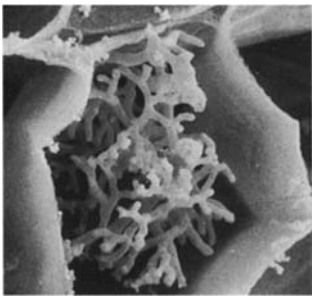
Когда ответвление гифы проникает через стенку растительной клетки и формирует главный ствол арбускулы (рис. 2.10А, Б, В), цитоплазматическая мембрана не разрушается, а инвагинирует таким образом, что внедряющаяся гифа и все ее разветвления остаются окружены ей, и грибные структуры всегда локализованы снаружи от цитоплазмы клетки растения в апопластном компартменте (рис. 2.10Г, Д). Растительная мембрана, окружающая арбускулу (периарбускулярная мембрана или ПАМ), явно функционально изменена, хотя и сохраняет реакцию на красители и некоторые активности, аналогичные периферической плазмалемме клетки, в которой она образовалась (Dexheimer et al., 1979, 1985). На специализацию ПАМ указывают ее реакции на моноклональные антитела (Gianinazzi-Pearson et al., 1990) и активность ферментов, транспортеров элементов питания и аквапоринов (Gianinazzi-Pearson et al., 2000; Rausch et al., 2001; Harrison et al., 2002; Glassop et al., 2005; Porcel et al., 2006; Aroca et al., 2007). Исследований аналогичной подробности, посвященных мембранам, окружающим внутриклеточные гифальные клубки, проведено не было, но явным свидетельством специализации может служить нахождение около них индуцируемых микоризообразованием транспортеров фосфата (Karandashov et al., 2004; Glassop et al., 2005).

Вместе с грибной плазмалеммой ветвей арбускулы ПАМ определяет границу контактной зоны (межфазного матрикса или апопласта), которая является высоко специализированной по составу находящихся там молекул и играет важную роль в транспорте питательных веществ между симбионтами (Smith S.E., Smith, 1990; Bonfante-Fasolo et al., 1992; Balestrini, Bonfante, 2005). При основании ствола арбускулы имеется слой материала (см. рис. 2.10Г, Д), сходного по химическому составу с первичной стенкой растительной клетки. Он толстый в основании, где непрерывен с клеточной стенкой, но выше вдоль стволовой гифы постепенно истончается и отсутствует на тонких ветвях арбускулы. Для исследования макромолекуляр-

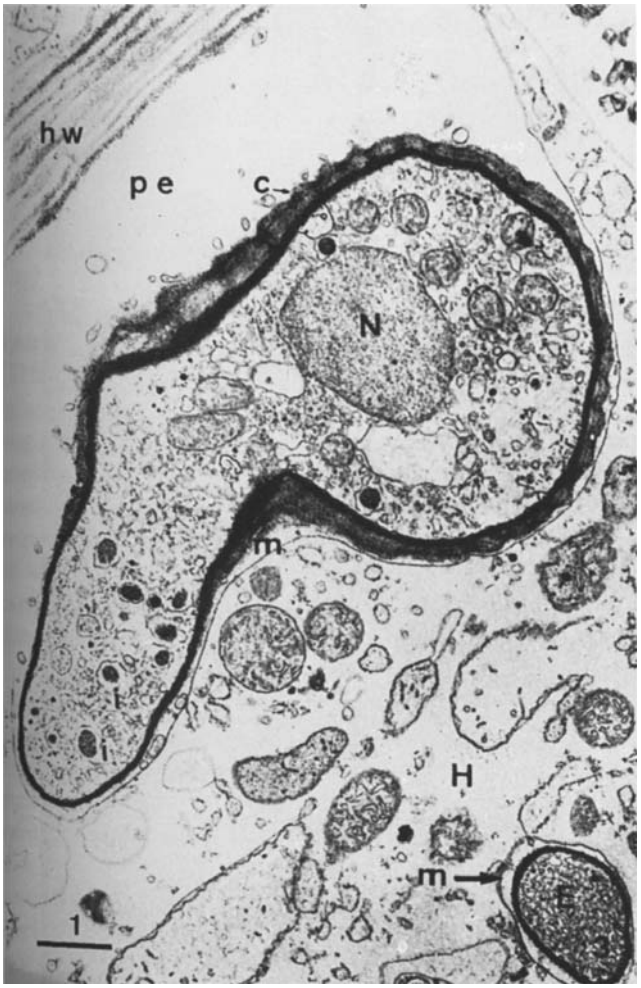
Рисунок 2.10. Стадии развития арбускул *Glomus mosseae* в клетках *Liriodendron tulipifera*. Сканирующая электронная микроскопия. А — молодая арбускула, показана точка внедрения и дихотомическое ветвление. Б, В — более поздние стадии развития арбускулы, ветви гифы заполняют клетку. Из Kinden, Brown, 1975, с разрешения. Г — срез через ствол арбускулы, дающий начало ветви. Межфазный матрикс (m), как видно, является расширением периплазмы растения-хозяина (pe). Хорошо окрашиваемая стенка грибных гиф четко отличается от окружающего покрова из фибрилл, а также от клеточной стенки растения (hw). Различимо строение цитоплазмы гриба и растения, в обоих случаях имеются митохондрии и ядро. Масштаб 1 мкм. Из Dexheimer et al., 1979, с разрешения. Д — строение точки внедрения гифы (E) в клетку растения-хозяина (H). Цитоплазматическая мембрана растительной клетки (hp) инвагинирует под действием стволовой гифы арбускулы, и гриб оказывается окружен продолжением периплазмы хозяина (pe), формирующей межфазный матрикс (m). К матриксу прилегает слой из фибриллярного материала (c), непрерывный с клеточной стенкой растения (hw), явно отличающийся от темноокрашенной оболочки грибной гифы. Масштаб 0,5 мкм. Из Dexheimer et al., 1979, с разрешения.

А

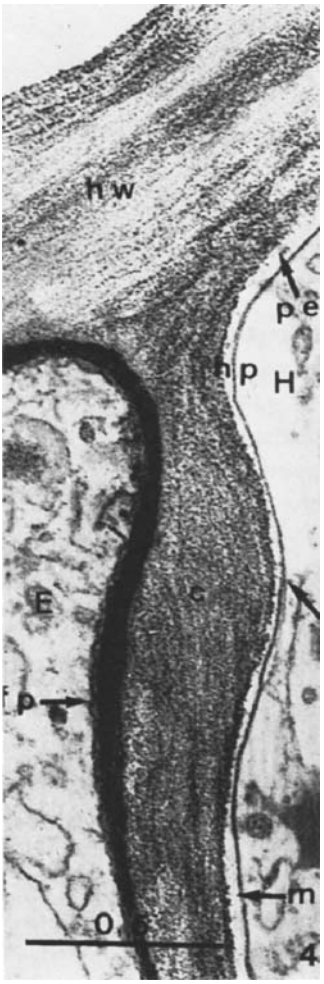
Б



В



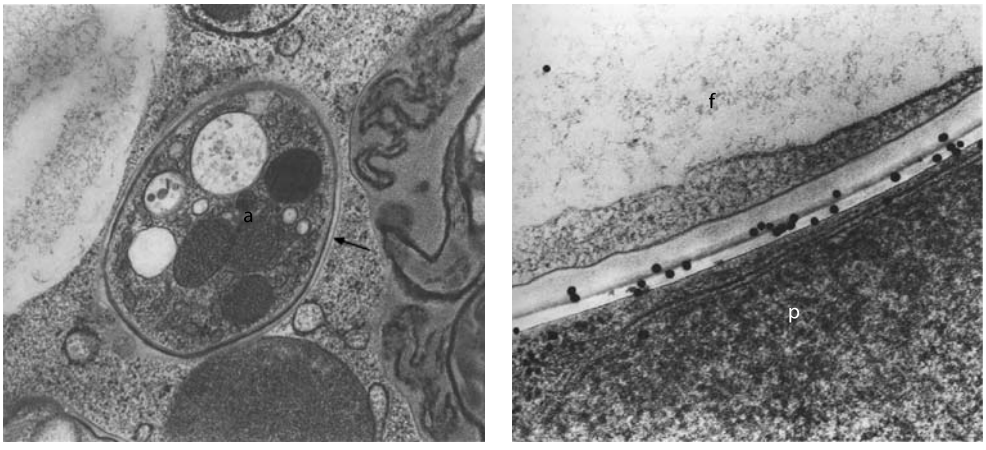
Г



Д

ного состава клеточных стенок симбионтов и межфазного апопласта был применен целый ряд аффинных зондов, таких как антитела, лектины и ферменты. Клеточные оболочки обоих симбионтов отчетливо утончаются в тонких ветвях арбускулы. Структурные молекулы растительного происхождения, такие как β (1–4) глюканы, неэстерифицированные полигалактуронаны и богатые гидроксипролином гликопротеины (HGRP) присутствуют, но не полимеризованы, как в типичной клеточной стенке. Количество хитина сильно снижено в тонких ветвях арбускулы, что и отражается в изменениях толщины и состава грибной клеточной стенки по мере развития колонизации.

Споры имеют толстые, сложного состава клеточные стенки, содержащие высокую долю хитина, отлагающегося в виде сложных спиралей (Bonfante-Fasolo, Grippiolo, 1984; Bonfante-Fasolo, 1988; Grandmaison et al., 1988). Свободный мицелий, внутриклеточные гифальные клубки и межклеточные гифы также имеют сравнительно толстые (около 500 нм) стенки с хитиновыми волокнами. Стенки гиф в межклетниках могут стать еще толще по мере старения и вторичного утолщения корня. Клеточные стенки ветвей арбускул, напротив, утончаются до порядка 50 нм, тогда как сами гифы уменьшаются в диаметре до 1–2 мкм. Никакой фибриллярной структуры не заметно, хотя молекулы хитина были обнаружены, по меньшей мере, у *Glomus versiforme* (Bonfante-Fasolo et al., 1992; Bonfante-Fasolo, Perotto, 1992). Как показано на рисунках 2.11А и Б, изображающих препараты, приготовленные методом замораживания, ПАМ и грибная клеточная стенка очень плотно прижаты друг к другу. О составе раствора в межфазном апопласте известно очень мало, он



А Б

Рисунок 2.11. Строение зоны контакта между АМ грибами и клетками коры корня на срезах, выполненных методом замораживания. А — микориза, образованная *Gigaspora margarita* и *Trifolium*. Ветви арбускулы (а) окружены инвагинировавшей плазмалеммой растения, образующей периарбускулярную мембрану (отмечено стрелкой). Тонкая грибная стенка плотно смыкается с периарбускулярной мембраной (отмечено стрелкой). Б — строение грибо-растительной контактной зоны после обработки агглютинином из проростков пшеницы с золотом для выявления N-ацетилглюкозаминовых остатков (•) в аморфной грибной клеточной стенке. Растительная клетка — p; гифа гриба — f. Фотографии любезно предоставлены П. Бонфанте.

имеет относительно низкое значение pH (Güttenberger, 2000), как можно предположить, исходя из активности протон-зависимой АТФазы, участвующей в мембранном транспорте. Концентрации других растворенных веществ, таких как фосфор, сахара, аминокислоты, одно- и двухвалентные катионы, определены не были. Однако, подобная информация необходима, так как они весьма важны в транспортных процессах между симбионтами.

Факт того, что арбускулы существенно увеличивают площадь поверхности контакта между грибом и растением, предопределил утверждение об их участии в транспорте питательных веществ и, по прочим свидетельствам, очень вероятно, что они являются зоной перемещения полученных из почвы элементов, таких как фосфор и цинк, в сторону растения. Тем не менее, арбускулы не единственная зона контакта, где может происходить этот процесс. Менее понятно, являются ли они местом транспорта углеводов к грибному партнеру; дискуссия о возможной роли межклеточных гиф и гифальных клубков в микоризах *Paris*-типа, а также арбускул будет приведена ниже. Сейчас важно отметить, что и старые гипотезы (Cox, Tinker, 1976), и новые данные о наличии протон-зависимой АТФазы и фосфатных транспортеров (Gianinazzi-Pearson et al., 1991a, 2000; Rausch et al., 2001; Harrison et al., 2002; Karandashov, Bucher, 2005) (см. гл. 5), указывают на то, что разрушение и предполагаемое «переваривание» арбускул вряд ли является важным для переноса питательных веществ от гриба к растению.

На стадии роста и созревания арбускулы во внутриклеточном апопласте микоризу можно рассматривать как ассоциацию метаболически активных грибных структур и живых клеток корня (Dexheimer et al., 1979). Имеются данные о возрастающей физиологической активности растительных клеток, в том числе, увеличении содержания мРНК (гл. 3) и белков (Delp et al., 2003). Ядро и ядрышко увеличиваются в размерах, и ядро перемещается из периферического положения вблизи клеточной стенки к центру и оказывается окруженным ветвями арбускулы. Основные изменения в цитоскелете связаны именно с этими движениями, а также с внедрением арбускулы в клетку (Bütehorn et al., 1999; Timonen et al., 2001; Timonen, Peterson, 2002; Delp et al., 2003; Timonen, Smith, 2005). Объем цитоплазмы, содержащей полный набор органелл, также возрастает, а вакуоли фрагментируются. Увеличение размеров ядра растения связано с ростом количества деконденсированного хроматина, что отражает более высокую активность и задержку старения, а также, в некоторых случаях, увеличение плоидности (Berta et al., 1988, 1990a, b, 1991, 1993, 1995, 2000; Blair et al., 1988).

Короткий цикл развития арбускул существенно отличает их от межклеточных гиф и внутриклеточных гифальных клубков. Именно ранние исследователи впервые обратили внимание на то, как арбускулы растут в клетках и со временем разрушаются, превращаясь в комки, в то время как растительная клетка сохраняет жизнеспособность (Gallaud, 1905) (см. рис. 2.5A). В течение этой фазы грибной хроматин конденсируется, и происходит разрушение ядра (Balestrini et al., 1992). Остатки разложившейся арбускулы содержат много кальция, а в остальном состав несколько отличается от того, который характерен для активной жизнеспособной структуры (Ryan et al., 2003). В редких случаях клетка может быть повторно заселена грибом, и тогда в ней будет содержаться несколько комков, оставшихся после переваривания. Вслед за работой 1976 г. (Cox, Tinker, 1976) был проведен целый ряд превосходных исследований цикла развития арбускул на разных видах растений с использованием морфометрического метода в применении к микрофотографиям, полученным при электронной микроскопии арбускул на разных стадиях роста и разрушения (Toth,Toth, 1982; Alexander et al., 1989; Toth et al., 1990, 1991; Toth, 1992). Важно отметить, что вначале отношение поверхности к объему у растительных клеток существенно возрастало: до 2–4-кратного увеличения за счет инвагинации

мембраны арбускулой. Рисунок 2.12 демонстрирует, что видовая принадлежность растения-хозяина в значительной степени влияет на изменение объема и отношение поверхности к объему растительных протопластов во время развития арбускул G*lomus fasciculatum*. Арбускулы у злаков обычно крупнее, чем у других растений, что сказывается на увеличении объема растительной цитоплазмы и площади контактной поверхности между симбионтами (табл. 2.1).

Таблица 2.1 Влияние развития арбускул на площадь поверхности протопластов, S(p), и отношение поверхности к объему клеток, Sv (p,c), у различных видов растений, колонизированных *Glomus fasciculatus*.

Вид растения	Объем клетки	S(p)1 клетка без инвагинации (мкм^2)	Sv (p,c)2 клетка без инвагинации (мкм^2/мкм^3)	S(p) клетка с инвагинацией (мкм^2)	Sv (p,c) клетка с инвагинацией (мкм^2/мкм^3)	Площадь арбускулярной зоны контакта на клетку (мкм^2)
Пшеница	212874	23416	0,11	83012	0,39	59605
Овес	221875	22188	0,10	73219	0,33	51031
Кукуруза	177328	19506	0,11	79798	0,45	60292
Среднее для злаков			0,11	78679	0,39	56978
Лук	340468	34074	0,10	64688	0,19	30614
Бобы	146574	16123	0,11	49835	0,34	33712
Томат	147910	16270	0,11	42894	0,29	26624
Среднее для незлаков			0,11	52472	0,27	30316

Значения усреднены по всему циклу развития. По таблице из Toth et al., 1990.

Длительность цикла развития арбускул также может быть различной. У *Triticum aestivum* формирование арбускул занимает 2–3 дня, и полный цикл арбускулы длится около 7 дней, что хорошо согласуется с более ранними оценками (Bevege, Bowen, 1975; Brundrett et al., 1985) и, по-видимому, это характерно для микориз быстро растущих видов злаков (Alexander et al., 1988). Однако у медленно растущих лесных растений арбускулы не только существуют гораздо дольше, но и также имеют более широкие и мощные ветви (Brundrett, Kendrick, 1990a). Неизвестно, почему арбускулы у многих растений живут так недолго. Ни одно из существующих предположений не подтверждается данными, но (оставляя в стороне гипотезу «переваривания» как транспорта питательных веществ) в целом сводятся к тому, что это проявление защитной реакции растения на дальнейшее распространение гриба и ответ на сильное понижение pH в апопласте в результате транспортных процессов на мембране. Данные об активном вмешательстве растительной клетки практически отсутствуют (см. гл. 3), и запрограммированная гибель грибной структуры, подвергающейся автолизу в клетке коры, условия в которой стали стрессовыми, возможно, является лучшим объяснением (Harley, Smith, 1983; Peterson, Bonfante, 1994). Эта гипотеза согласуется также с тем, что каждая разрушающаяся арбускула отделяется от несущей ее межклеточной гифы поперечной перегородкой, что похо-

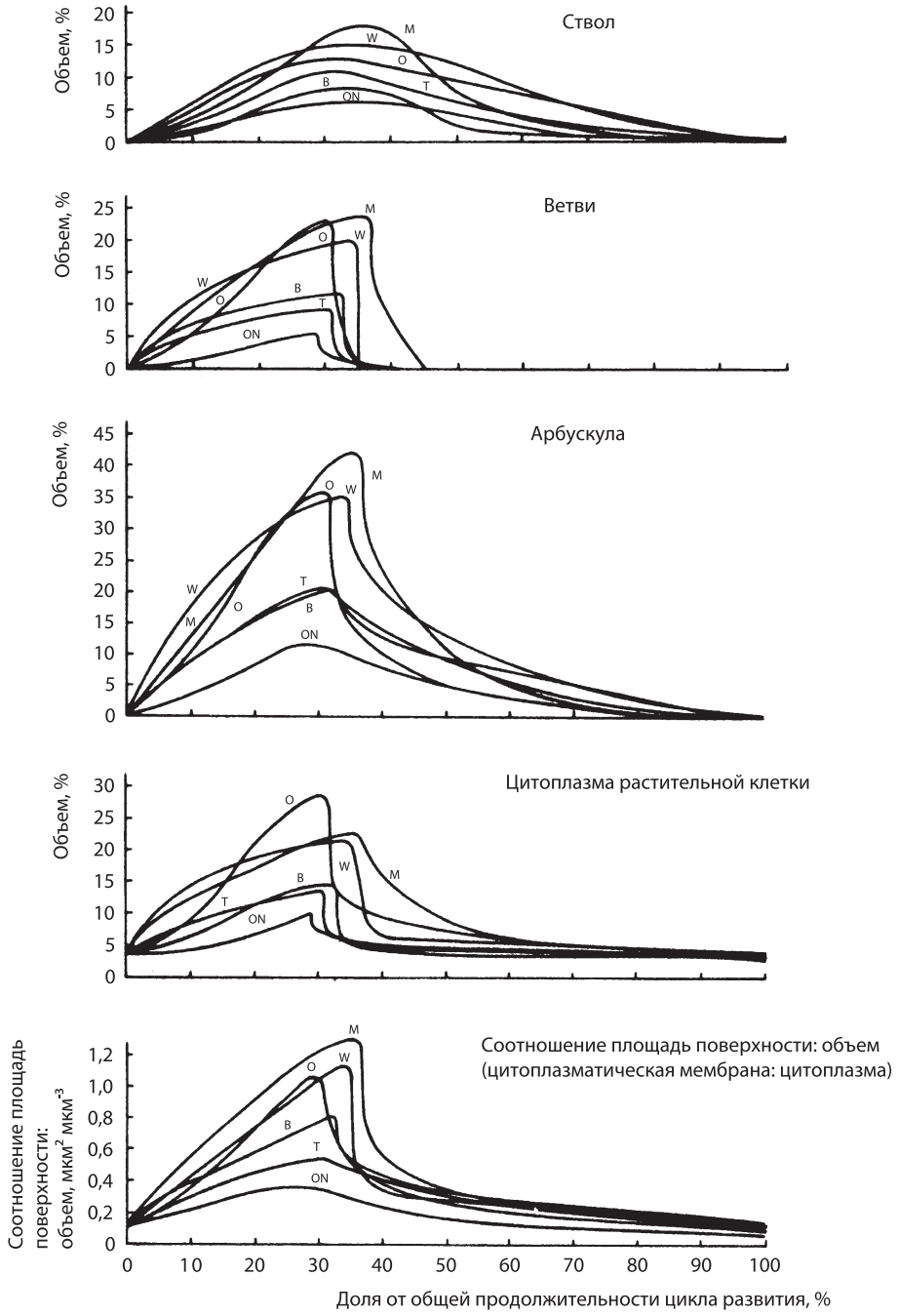


Рисунок 2.12. Цикл развития арбускул в растениях *Zea mays* (M), *Triticum aestivum* (W), *Oryza sativa* (O), *Phaseolus vulgaris* (B), *Lycopersicon esculentum* (T) и *Allium cepa* (ON). Объемные доли различных структур приведены на графике в виде процента от объема растительной клетки, занятого каждой структурой, и соотношения площадь поверхности/объем клетки, мкм^2 мкм$^{-3}$. Из Alexander et al., 1989, с разрешения.

же на реакцию на стресс и препятствует оттоку веществ, содержащихся в арбускуле, в межклеточную гифу (Dickson, Smith, 2001).

Развитие внутриклеточных структур в микоризах *Paris*-типа

Зачительно меньше известно о развитии единиц инфекции при формировании внутриклеточных структур в микоризах *Paris*-типа. В общем, создается впечатление, что колонизация протекает медленнее, чем в АМ *Arum*-типа, но имеются данные о сходных скоростях развития микориз *Arum*-, *Paris*- и промежуточного типа у ряда растений-хозяев (Dickson, 2004). Тем не менее, единицы инфекции часто плотные и компактные, что указывает скорее на непосредственный рост гриба от одной клетки коры к другой, чем на продвижение «путем наименьшего сопротивления» через межклеточные пространства. Отсутствие межклеточного развития гриба у некоторых растений вначале считали следствием отсутствия межклетников (Gallaud, 1905; Brundrett, Kendrick, 1990a, b), но это не может служить универсальным объяснением, так как микоризы *Paris*-типа могут формироваться в корневых системах с вполне крупными межклеточными пространствами (Imhof, Weber, 1997), а также у одного и того же растения могут образовываться оба морфологических типа АМ, что, вероятно, зависит от вида грибного симбионта (Smith, Smith, 1996). К примеру, у томата микоризу *Arum*-типа формирует группа грибов, включающая *Glomus intraradices* и *G. mosseae*, а *Paris*-типа — *G. coronatum*, *Scutellospora calospora* и *Gigaspora margarita* (Cavagnaro et al., 2001a). Морфотип микоризы не связан непосредственно с диаметром гиф, как можно было бы ожидать в случае, если именно отношение размеров гиф и межклеточных пространств определяют, какой тип АМ будет развиваться (Toussaint, Cavagnaro, неопубликованные данные).

При изучении формирования микориз *Paris*-типа выявлено, что простые клубки развиваются до образования арбускулярных ветвей (Cavagnaro et al., 2001c) и, как и в случае арбускул, ядро клетки коры растения перемещается из периферического положения в центр, к гифальному клубку (Cavagnaro et al., 2001b). У *Asphodelus* (одного из немногих растений, изученных детально), простые гифальные клубки были обнаружены в наружных слоях коры и арбускулярные клубки ближе к центральному цилиндру (Cavagnaro et al., 2001c). С помощью конфокальной микроскопии с трехмерной реконструкцией было показано, что площадь поверхности зоны контакта гифальных клубков с клетками коры может быть такой же большой, как и при образовании арбускул (Dickson, Kolesik, 1999). Это подчеркивает тот факт, что оба типа структур существенно увеличивают площадь поверхности зоны контакта, в которой может происходить транспорт питательных веществ. Гифальные клубки, формируемые *Glomus intraradices* в *A. fistulosus* физиологически активны, там отмечена активность сукцинатдегидрогеназы и кислой и щелочной фосфатаз (van Aarle et al., 2005). Авторы предполагают, что и простые и арбускулярные клубки могут участвовать в транспорте фосфора к растению, о чем свидетельствует обнаружение активности протон-зависимой АТФазы на растительной мембране, окружающей арбускулярные клубки, и экспрессии в содержащих гифальные клубки клетках коры, индуцируемых микоризой фосфатных транспортеров (Marx et al., 1982; Karandashov et al., 2004). Образование АМ *Paris*-типа может вызывать положительные ответные реакции растения, например, у *Asphodelus fistulosus* показано улучшение фосфорного питания, и во всех случаях в транспорте фосфора принимали участие гифальные клубки (Cavagnaro et al., 2003). В целом, накапливаются данные о широком распространении и функциональной значимости морфологических разновидностей микориз, отличных от хорошо изученного *Arum*-типа АМ. Поэтому необходимо проведение сравнительного исследования, направленного на другие внутриклеточные структуры, такие как гифальные клубки. Если мы призна-

ем наличие разнообразия среди АМ и их значимость в экосистемах, очень важно расширять изучение структурных и функциональных вариаций, которые сейчас открываются заново.

Образование везикул

По мере старения единиц инфекции могут формироваться толстостенные везикулы, их образование частично зависит от видовой принадлежности грибного симбионта. Представители семейства Gigasporaceae (*Scutellospora* и *Gigaspora)* никогда не образуют везикулы, вместо этого продуцируя ауксилярные клетки на свободном мицелии. Виды всех прочих родов в той или иной степени способны к формированию везикул или внутри клеток коры или между ними (Abbott, 1982). Условия окружающей среды заметно влияют на развитие везикул, например, высокое содержание фосфора или слабая освещенность подавляет их образование, так же как и арбускул. Везикулы представляют собой толстостенные структуры различной формы, от яйцевидной, неправильно лопастной до коробчатой, в зависимости от вида гриба и места расположения везикулы. Они содержат большое количество липидов и многочисленные ядра и, вероятно, являются важными органами запасания, играющими значительную роль как пропагулы в корневых фрагментах. Однако, об их биологии, например, прорастании или мобилизации запасных веществ, известно мало.

Грибная биомасса в корнях

Самые ранние оценки биомассы АМ грибов, ассоциированных с корнями, были основаны на определении содержания хитина в корне или объема грибных структур (Harris, Paul, 1987; Toth et al., 1991). По содержанию хитина были получены оценки сухой массы гриба внутри корней от 4 до 17% от общей (Hepper, 1977). Дж. Бетленфелви с соавт. подсчитали содержание хитина в свободном и внутрикорневом мицелии *Glomus fasciculatus* в культуре с *Glycine max* и выявили, что оба типа мицелия достигают максимума приблизительно через 8 недель, когда гриб составляет 20% биомассы микоризованных корней, причем около трети приходится на внешние гифы или споры (Bethlenfalvay et al., 1982a). Более поздние работы в общем подтвердили эти оценки, хотя требуется дополнительная информация о вкладе свободного мицелия (Bethlenfalvay et al., 1982a; Kucey, Paul, 1982; Toth et al., 1991). Изменения биомассы АМ грибов можно также отследить по изменению накопления специфичных жирных кислот (16:1ω5) (Olsson, 1999; Olsson et al., 2002). Как количественный маркер АМ колонизации также был предложен эргостерин (Hart, Reader, 2002a), но у симбионтов АМ отсутствуют отличия от других грибов по этому признаку, что ограничивает применение метода в полевых условиях, где наряду с микобионтами АМ в корнях растений могут встречаться другие виды (Olsson et al., 2003). Сравнительный вклад растения и гриба в активность корневой системы оценивали по накоплению рРНК, но полученные данные очень разнородны (Maldonado-Mendoza et al., 2002; Delp et al., 2003; Isayenkov et al., 2004).

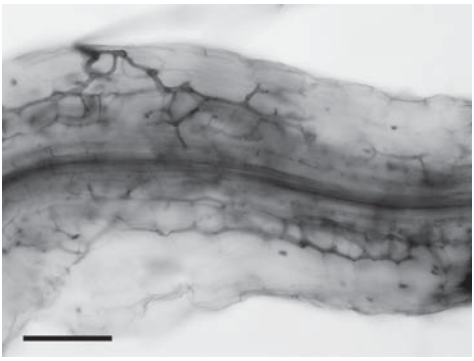
Совместная колонизация корня различными видами грибов

Разнообразие видов в сообществах АМ грибов в почве и низкая специфичность образуемых ими симбиозов подразумевают, что одна корневая система может быть колонизирована одновременно несколькими различными видами грибов. Для понимания сложных связей между растениями и грибами в природных условиях очень

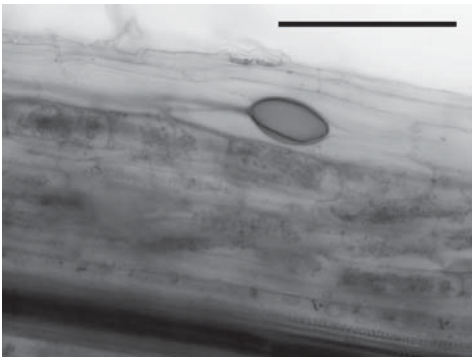
важно знать, насколько каждый из этих видов занимает и эксплуатирует пространство внутри корня и как активно растет в почве. Было проведено сравнение конкурентоспособности 4 видов АМ грибов, которую оценивали после множественной инокуляции по образованию спор (Daft, Hogarth, 1983). Было показано, что *Glomus mosseae* подавляет спорообразование у *G. caledonium* в культуре как с кукурузой, так и с луком. Дж. Уилсон применила метод микроскопии для изучения конкурентной борьбы разных видов грибов за пространство внутри корня (Wilson, Trinick, 1983; Wilson, 1984; Wilson, Tommerup, 1992). Исследуя различия в развитии разных АМ грибов на корнях *Trifolium subterraneum*, она выявила влияние соотношений инокулюма в парах грибов на продолжительность и степень грибной колонизации и пришла к выводу, что смешанная инокуляция обычно приводит к колонизации в той же степени, что и образуемая аналогичным общим количеством инокулюма наиболее агрессивного вида гриба. Тем не менее, результаты конкуренции могут различаться в зависимости от видовой принадлежности грибов, из которых одни более инфекционны (агрессивны), чем другие. Некоторые виды грибов вытесняют прочие из определенных участков корня, таким образом предотвращая «совместное пользование». Тем не менее, двойная или множественная колонизация наблюдается достаточно часто. Обнаружение четырех видов АМ грибов специфичным молекулярным фингерпринтингом в окрашенных фрагментах корня *Allium* и анализ значений частоты встречаемости на фрагментах показали, что в присутствии других грибов чаще встречались *Gigaspora rosea* и *Scutellospora castanea* (van Tuinen et al., 1998).

Я. Янза с соавт. предложили более современный способ количественного учета с применением ПЦР в реальном времени для определения числа копий генов большой субъединицы рибосомы (LSU) трех видов АМ грибов, внесенных поодиночке или совместно в корневые системы *Medicago* и *Allium* (Jansa et al., 2007). Как показано на рисунке 2.13, степень колонизации *Medicago* единственным видом гриба варьировала в пределах от 50 до 95% длины корня. При совместной инокуляции с другими грибами такой вид как *Glomus mosseae* оказался наиболее конкурентоспособным. Он занимал около 75% корневой системы при внесении инокулюма в равных долях с *G. intraradices* или *G. claroideum* или смеси всех трех АМ симбионтов. Вид *G. intraradices* также вытеснял *G. claroideum* при двойной инокуляции *Medicago* и *Allium*, а также при внесении трех видов в корневую систему *Allium*. Эти примеры демонстрируют, что даже у тех растений, для которых показана быстрая и обширная колонизация, доля пространства внутри корня, занимаемого грибами, может сильно различаться из-за конкурентных взаимоотношений. Возможным механизмом, лежащим в основе этих различий, является не непосредственная борьба за пространство внутри корней, которые часто могут быть не полностью ко-

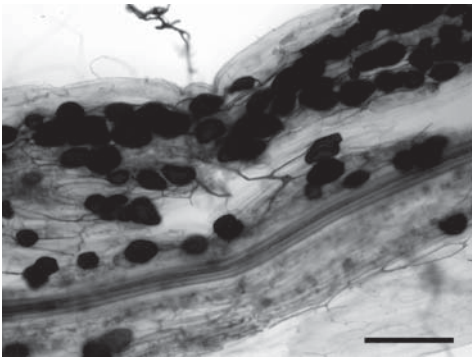
Рисунок 2.13. Состав сообщества АМ грибов на корнях *Medicago truncatula* через 8 недель после посадки в зависимости от конкуренции между видами грибных симбионтов. Растения были инокулированы *Glomus mosseae*, *G. claroideum* и *G. intraradices* поодиночке или в смеси. Общий процент колонизации был вычислен по методу пересечений (McGonigle et al., 1990). Морфология колонизирующих структур у *Glomus mosseae* (А), *G. claroideum* (Б), *G. intraradices* (В) и при внесении смеси трех видов (Г). Вклад разных видов АМ грибов выявлен путем подсчета копий гена большой субъединицы рибосомы, полученных методом ПЦР в реальном времени с видоспецифичными праймерами (Д). Круговые диаграммы над каждым из столбцов гистограммы отражают состав АМ грибного инокулюма, состоящего из одного, двух или трех видов. Темно-серый — *Glomus mosseae*; черный — *G. claroideum*, и светло-серый — *G. intraradices*. Изображения любезно предоставлены Я. Янзой.



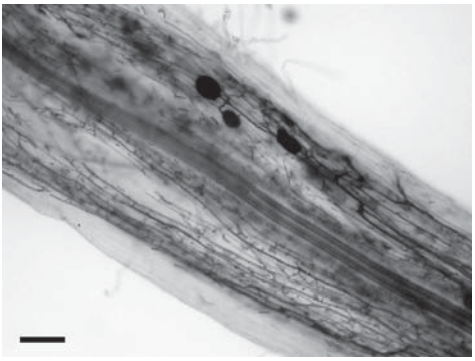
А



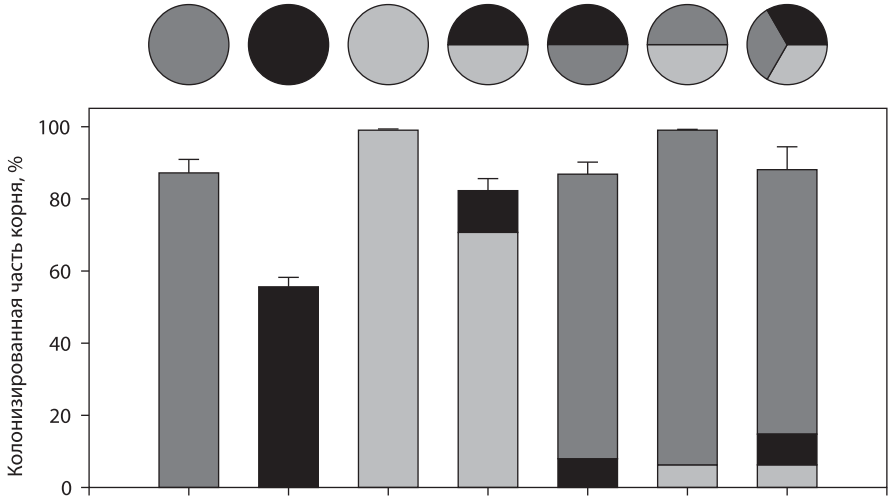
Б



В



Г



Д

лонизированы, и два вида нередко встречаются в пределах одного небольшого корневого фрагмента, а, скорее, разность типов колонизации корня (Wilson, Tommerup, 1992). Доступ к сахарам, как предполагают, также влияет на исход конкурентной борьбы, что было продемонстрировано на примере растворимых углеводов в корнях *Trifolium subterraneum* (Pearson et al., 1994). Различия в силе всасывания органического углерода, межвидовые или определяемые растением-хозяином, также могут служить вероятным фактором, влияющим на исход конкуренции (Lerat et al., 2003a). Однако действием этого механизма не удалось объяснить результаты эксперимента, в котором наблюдали снижение уровня колонизации в одной половине разделенной корневой системы ячменя при предварительном внесении во вторую половину *G. mosseae*, так как сила всасывания не была функцией степени колонизации (Vierheilig, 2004b). Здесь предполагается влияние защитных механизмов самого растения, которые, кроме того, запускались сигналами из надземной части.

Рост свободного мицелия и образование спор

Свободный мицелий

Как описано выше, когда гриб колонизирует корень и активно растет в почве, внешние свободные гифы представляют собой важный источник инокулюма для продолжающейся колонизации той же самой корневой системы или корней других растений. Обширный рост обусловлен поисковым поведением гриба, направленным на новые источники органического углерода, а также питательные вещества почвы. Большинство исследователей придерживаются мнения, что развитие мицелия происходит путем роста и ветвления гиф, уже имеющихся за пределами корня. Почти отсутствуют прямые, полученные с помощью микроскопии, свидетельства того, что гифы из коры корня растут наружу, проникая сквозь растительные клеточные стенки. В идеале, для того, чтобы увидеть выход гифы из внутрикорневого мицелия наружу и проследить ее путь через различные слои клеток, необходима электронная микроскопия.

На поздних стадиях симбиотического развития на свободном мицелии образуются споры и ауксилярные клетки, иногда в очень больших количествах, поэтому транспорт органического углерода от корня в почву должен быть весьма активным, а высвобождающаяся энергия расходуется как на поглощение и перемещение элементов питания, так и на рост гриба и дыхание. Развитие свободного мицелия отражает значительный отток органического углерода в почву, где он может оказаться в точках далеко за пределами той зоны, которую обычно называют ризосферой (Jakobsen et al., 1992a) (рис. 2.14A).

Мощный рост свободного мицелия не начинается прежде, чем грибные гифы проникнут в корень, но пока неясно, на какой именно стадии колонизации начинается его развитие. Заметный рост был обнаружен после формирования аппрессориев (Mosse, Hepper, 1975). В дальнейшем эти результаты были подтверждены, и появились данные, что рост гиф вне корня может предварять развитие арбускул внутри клеток (Hepper, 1981). Это предполагает, что питательные вещества могут передаваться от растительных клеток к межклеточным гифам и без контактной зоны, представляемой арбускулами, в пользу чего свидетельствуют и мутантные растения *Pisum*, у которых развиваются межклеточные гифы, но формируется очень мало арбускул (Gianinazzi Pearson et al., 1994a). Тем не менее, при последовательных наблюдениях моноксеничных органных культур корня, был сделан вывод, что образование арбускул — необходимое условие для роста свободного мицелия (Bécard, Piché, 1989b). В пользу этого мнения свидетельствует и то, что большое

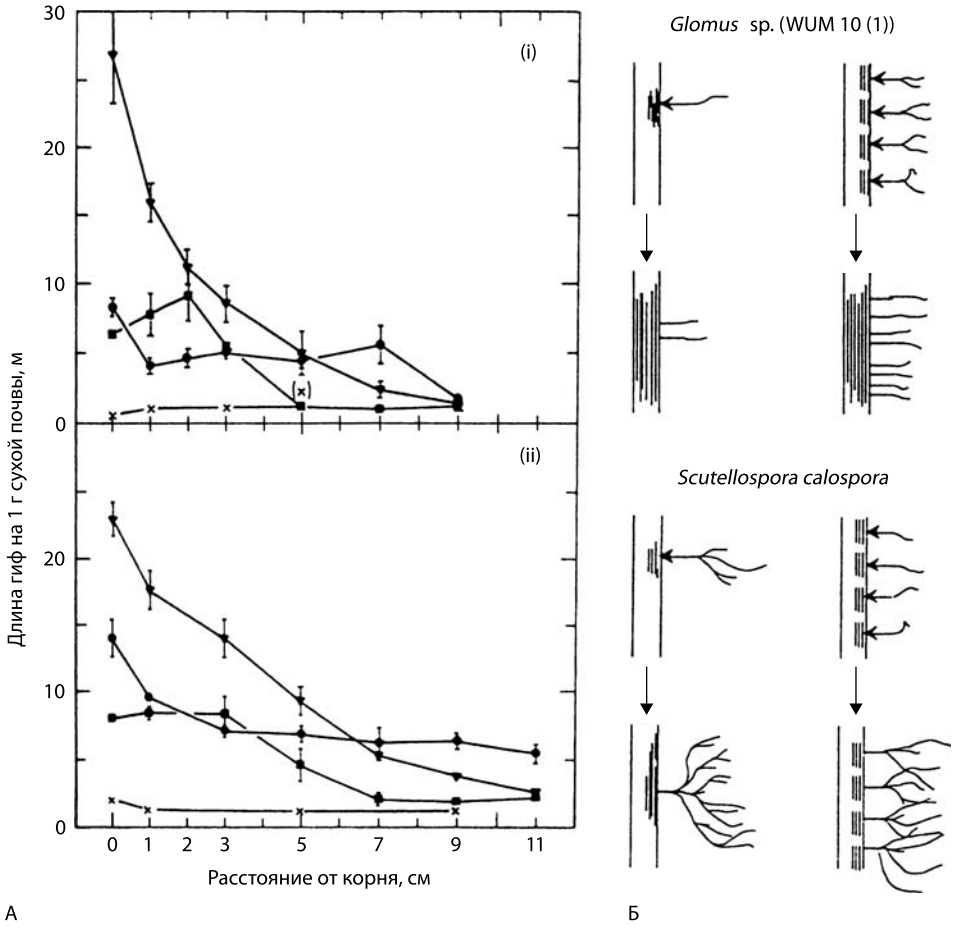


Рисунок 2.14. Развитие свободного мицелия АМ грибов. А — длина гиф свободного мицелия, распространяющихся от микоризованных корней *Trifolium subterraneum* через 28 дней (вверху) и 47 дней (внизу). Почвенные пробы были отобраны на увеличивающемся расстоянии от «корневого отсека», вплоть до 11 см. Приведены средние значения и стандартная ошибка среднего. ● — *Acaulospora laevis*; ■ — *Glomus* sp.; ▼ — *Scutellospora calospora*; × — контроль. По Jakobsen et al., 1992a, с разрешения. Б — предполагаемые модели развития гиф внутри корня и за его пределами у двух видов АМ грибов. Из Abbott et al., 1992, с разрешения.

количество видов АМ грибов вообще не образуют свободный мицелий в симбиозе с микориза-дефицитными мутантами, даже в том случае, если показана некоторая степень колонизации корня (Kling et al., 1996; Poulsen et al., 2005; Manjarrez-Martinez, 2007). Опять же, если арбускулы или подают сигнал к началу роста внешнего мицелия или являются зонами поглощения грибом углерода, то логично предположить, что внутриклеточные гифальные клубки в микоризах *Paris*-типа выполняют те же функции.

За пределами корня осевая гифа дает начало характерным разветвленным мицелиальным системам, показанным на рисунках 2.1 и 2.3. Измерение гиф проводили в стеклянных прозрачных боксах, и было показано, что образуется до восьми поряд-

ков ветвления, причем ветви последовательно уменьшаются в диаметре, достигая около 2 мкм в тонких ветвях пятого-восьмого порядков (Friese, Allen, 1991). Сходные данные были получены в моноксеничных культурах (Bago et al., 1998a, 1998b). Тонко разветвленные веерообразные мицелии хорошо приспособлены к внедрению в почвенные поры, и диаметр гиф может меняться в зависимости от размера пор (Drew et al., 2003). Гифы постоянно ассоциированы с органическими веществами в почве, они пролиферируют в местах, где может происходить минерализация элементов питания (Nicolson, 1959; Hepper, Warner, 1983; St John et al., 1983a, 1983b). В нескольких исследованиях было показано, что на рост свободного мицелия АМ грибов не оказывает влияние внесение неорганического фосфора в свободные от корней отсеки (Li et al., 1991a; Olsson, Wilhelmsson, 2000), но Т. Каваньяро с соавт. выявили, что рост различается у разных видов грибов, и такой вид, как *Glomus intraradices*, отвечает на увеличение концентрации фосфора усилением роста гиф (Cavagnaro et al., 2005). Между АМ грибами также были выявлены различия в степени пролиферации на разных расстояниях от корня, в свободных от корней отсеках и в почвах с разным размером и извилистостью пор (Jakobsen et al., 1992a; Smith F.A. et al., 2000; Smith S.E., 2004a; Drew et al., 2003, 2005). В результате пролиферации гиф образуется мицелиальная сеть, играющая важную роль как в поиске новых источников органических и неорганических питательных веществ, так и в стабилизации почвенных агрегатов (Tisdall, Oades, 1979, 1982; Miller, Jastrow, 2002).

Так как свободный мицелий очень важен во многих отношениях, к преодолению сложностей в его исследовании прилагались серьезные усилия. Ранние работы включали в себя сбор гиф и определение их массы или оценку их распространения по массе почвы, прилипающей к корням. Были опробованы методы иммунофлуоресценции (Hahn et al., 1994, 2001; Hahn, Hock, 1994), но широкого применения они не получили. Весьма многообещающими являются методы, основанные на ДНК, особенно для различения мицелиев, принадлежащих разным видам АМ грибов, но пока они не количественные. Большинство опубликованных данных о развитии гиф были получены или с использованием мембранных фильтров для улавливания фрагментов гиф, которые впоследствии могут быть измерены методом пересечений с сеткой (Jakobsen et al., 1992a), или, в последнее время, путем качественного определения специфичных жирных кислот, таких как 16.1ω5, в нейтральных липидах или фосфолипидах из корней или почвы (Olsson, Wilhelmsson, 2000; Olsson et al., 2002). Применение этих широко используемых и достаточно разрушительных методов обычно сопровождается различными способами получения изображений, в том числе авторадиографии при внесении $^{14}CO_2$ в качестве метки для выявления гиф, активно участвующих в транспорте в интактных мицелиальных сетях (Francis, Read, 1994) и фосфовизуализации (Nielsen et al., 2002). Истощение питательных веществ (Li et al., 1991a), поглощение меченого изотопами фосфора (Jakobsen et al., 1992b; Smith et al., 2000; Jansa et al., 2003) и колонизация удаленных растений (Drew et al., 2005) также дают информацию о распределении активности свободного мицелия в экспериментальных системах.

В целом, имеющиеся данные свидетельствуют о том, что гифы активно пролиферируют в почве и отходят на значительное расстояние от колонизированных корней. Значения плотности гиф в горшечных экспериментах колеблются от 0,06 (Schubert et al., 1987) до примерно 40 м/г почвы (Sanders et al., 1977; Smith SE et al., 2004a), а расстояние до корня может быть более 15 см (Jansa et al., 2003). Существенные различия в значениях плотности гиф могут возникать за счет видовой принадлежности гриба, условий в почве и разницы в расстоянии от корня (Jakobsen et al., 1992a; Hart, Reader, 2002b). На рисунке 2.14A приведены результаты одного из первых и наиболее детальных экспериментов, показавшего различные модели развития гиф у разных видов грибов. Подобные различия выявлялись неоднократно, что позво-

лило выделить некие общие типы мицелиального развития (Abbott et al., 1992), изображенные на рисунке 2.14Б.

Некоторые грибы, например, *Scutellospora calospora*, постоянно образуют обширный свободный мицелий, который увеличивается по мере колонизации корня. У этого вида плотность гиф снижается более или менее линейно при увеличении расстояния от корня. У других грибов способности к мицелиальному росту более ограниченны, что не обязательно соответствует степени внутрикорневой колонизации (Abbott, 1982; Jakobsen et al., 1992a; Smith et al., 2000, 2004) (рис. 2.14Б). До некоторой степени прослеживается общая зависимость между способностью к поглощению фосфора и распространением и плотностью свободного мицелия (Jakobsen et al., 1992b; Smith S.E. et al., 2004a), но это бывает не всегда ввиду двойственности его функций: поиска новых растений и поглощения питательных веществ из почвы. При сравнении двух грибов-симбионтов *Medicago* вид *S. calospora* вновь продемонстрировал способность к образованию обильного свободного мицелия, намного превосходящего формируемый изолятом *G. caledonium*, но менее эффективный в отношении поглощения и транспорта ^{33}P на некоторое расстояние (Smith F.A. et al., 2000). Подобные различия между видами грибов или даже изолятами, принадлежащими к одному виду, отмечены во многих исследованиях (Smith F.A. et al., 2000; Smith S.E., 2004a; Drew et al., 2003; Munkvold et al., 2004).

Имеется очень мало информации о влиянии почвенных условий на развитие свободных гиф. Показано, что высокое содержание фосфора (Abbott et al., 1984; de Miranda, Harris, 1994), изменение значений pH (van Aarle et al., 2002a), структуры (Drew et al., 2003) или плотности питательной среды (Schüepp et al., 1987; Li et al., 1997; Nadian et al., 1998) и присутствие корней (Smith S.E. et al., 2004a) снижает длину или биомассу гиф, но отмеченных эффектов недостаточно для того, чтобы сделать корректные выводы. Как видно из рисунка 2.15, *Gigaspora rosea* дает слабый рост в почве и не проникает в свободные от корней отсеки. *Glomus intraradices* растет одинаково и при наличии и в отсутствие корней, в то время как *G. caledonium* активно пролиферирует в свободных от корней отсеках. Также была показана пролиферация гиф в органических веществах (St John et al., 1983a; Warner, 1984; Ravnskov et al., 1999; Gavito, Olsson, 2003). Влияние присутствия корней на снижение пролиферации гиф у некоторых видов грибов нуждается в дальнейшем изуче-

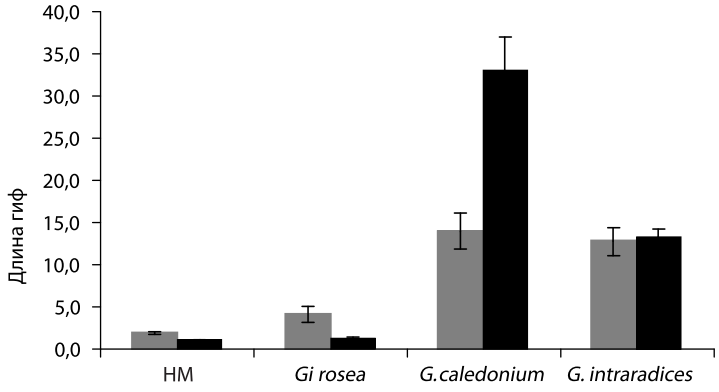


Рисунок 2.15. Влияние наличия корней на развитие свободного мицелия трех видов АМ грибов в симбиозе с *Solanum lycopersicum*. Длина гиф в почве в корневых отсеках — серый, в свободных от корней, гифальных отсеках — черный. Данные взяты из Smith et al., 2004.

нии с исследованием такого аспекта как конкуренция за доступный фосфор. Также следует отметить, что большинство измерений плотности гиф были получены в горшечных системах с почвенными отсеками, доступу корней в которые препятствовала сетка.

Количественное изучение развития мицелия в природных условиях значительно сложнее, чем в горшечных культурах. В парке Серенгети, Танзания, длина мицелия, ассоциированного с С4 травянистыми растениями, колебалась от 0,03 до 6,95 м/г почвы и в этом местообитании отрицательно коррелировала с содержанием органических веществ в почве и плодородием (McNaughton, Oesterheld, 1990). Прочие измерения плотности гиф в природных почвах демонстрировали взаимосвязь со стабильностью почвенной структуры, и значения заметно менялись в зависимости от вида растения-хозяина. Например, при симбиозе с *Lolium perenne* и *Trifolium repens* они составляли 13,9 и 3,1 м/г соответственно (Tisdall, Oades, 1979), что соответствует диапазону, полученному при экспериментах с горшечными культурами.

Образование спор

Свободный мицелий важен для образования спор и транспорта к ним относительно больших количеств углеводов и, особенно, липидов, что существенно повышает биомассу находящейся в почве части гриба. Были получены такие значения как 28 спор/г (и эти цифры не запредельно высокие) для АМ гриба, ассоциированного с маниокой, и вычислена биомасса до 919 кг/га, что выше, чем некоторые оценки биомассы плодовых тел эктомикоризных грибов (Sieverding et al., 1989). Плотность спор может дать представление о количестве запасаемого грибами углерода в почве, но это будут минимальные оценки, как потому что не учитываются гифы, так и вследствие различий между спорами разных видов по содержанию липидов (Madan et al., 2002).

В горшечных экспериментах образование спор, как и колонизация корневых систем, зависит от таких факторов как рост растения, внесение удобрений, интенсивность освещения и т.д. Низкая освещенность или листопад, снижающие эффективность фотосинтеза, и, следовательно, поступление углерода в растения, как было неоднократно отмечено, также подавляют спорообразование (Furlan, Fortin, 1977; Daft, El Giahmi, 1978). Внесение высоких концентраций фосфора в растения *Solanum lycopersicum* снижало не только долю корневой системы, колонизируемую видом *Glomus*, но также и число спор, ассоциированных с каждым растением через 84 дня роста (Daft, Nicolson, 1972). С этими результатами согласуются данные о снижении споровой продукции у нескольких видов грибов при внесении полного питательного раствора Хогланда по сравнению с применением того же раствора, но без фосфора (Douds, Schenck, 1990). Было выявлено аналогичное влияние фосфора, а также азота, на спорообразование в природных почвах (Ross, 1971; Hayman et al., 1975; Porter et al., 1978; Egerton-Warburton, Allen, 2000; Burrows, Pfleger, 2002). Низкие концентрации питательных веществ благоприятны для активной колонизации, так что возможно наличие связи между степенью внутрикорневой колонизации и образованием спор. Это было однозначно показано для двух видов *Acaulospora*, для которых были необходимы различные определенные значения длины колонизированного микоризного корня, чтобы произошло спорообразование, и для ‘*Gigaspora*’ (*Scutellospora*) *calospora*, вида, у которого количество спор, образованных через 119 дней четко коррелировало с колонизацией корней *Trifolium subterraneum* на 91 день (Scheltema et al., 1987a; Gazey et al., 1992). Тем не менее, также наблюдается слабая зависимость между образованием спор и степенью колонизации (Daniels Hetrick, Bloom, 1986). В тропиках мало влияние сезонности, и четкая корреляция между факторами окружающей среды и изменениями в численности спор не была получена (Louis, Lim, 1987).

Влияние вида растения на споровую продукцию было отмечено как в горшечных культурах, так и в природных условиях. К примеру, было показано, что четыре вида *Glomus* и один вид *Gigaspora* всегда слабо спороносили в симбиозе с соей, и каждый вид с разной интенсивностью спорулировал в присутствии *Zea*, *Paspalum* и *Sorghum* (Struble, Skipper, 1988). Такой вид как *Glomus clarum* лучше образовывал споры в симбиозе с кукурузой и сорго, чем с нутом, и в случае первых двух видов растений этот процесс продолжался, пока рост растения не достигал максимума (Simpson, Daft, 1990). Ни один из трех исследованных видов *Glomus* не спорулировал нормально в присутствии *Asparagus*, и споровая продукция была выше в симбиозе с *Sorghum*, чем с двудольными *Tagetes*, *Trifolium* или *Lycopersicon* (*Solanum*) (Daniels Hetrick, Bloom, 1986). На совместно встречающихся луговых растениях были показаны различные типы влияния на спорообразование (Bever et al., 1996; Bever, 2002a). Такие различия, определяемые видом растения-хозяина, могут служить примером разной симбиотической эффективности и благополучия грибного партнера в микоризе.

Степень колонизации корня (процент колонизации)

Процент колонизации корневой системы

Окрашивание остается наиболее широко используемым методом оценки доли или процента длины корня, колонизированной АМ грибами. Это относительное значение, имеющее определенные ограничения, которые будут обсуждены ниже. Подготовка препарата для световой микроскопии включает осветление ткани (обычно с помощью 10%-ного раствора KOH), промывку и окрашивание трипановым синим (Phillips, Hayman, 1970), кислым фуксином (Merryweather, Fitter, 1991) или хлоразоловым черным (Brundrett et al., 1984). Нестабильность эффекта красителей, а также их токсичность привели к продолжающейся и в настоящей момент работе по их улучшению. Трипановый синий, возможно, все еще остается наиболее широко используемым красителем, но в настоящее время его считают канцерогеном. Анилиновый синий, или хлопчатобумажный синий, как его часто называют, не менее эффективен (Grace, Stribley, 1991) и безопасен. Два других красителя дают прекрасные результаты, особенно в сочетании с эпифлуоресценцией (Merryweather, Fitter, 1991; Brundrett et al., 1994, 1996). Более того, кислый фуксин очень эффективен для выявления грибных структур в корнях растений при конфокальной микроскопии (Dickson, Kolesik, 1999). Новый и очень простой по составу краситель, особенно хорошо пригодный для обычной микроскопии светлого поля, получил название «уксусные чернила» (Vierheilig et al., 1998b). Он дает хорошие результаты для большинства опробованных АМ грибов во многих растениях и может помочь в решении проблемы окрашивания растительных тканей, с которой сталкиваются достаточно часто (Dickson et al., неопубликованные данные). Витальное окрашивание свежего материала для выявления активности различных ферментов, таких как сукцинатдегидрогеназа и щелочная и кислая фосфатазы, также применяется для определения активной части грибных структур (Smith, Gianinazzi-Pearson, 1990; Smith, Dickson, 1991; Tisserant et al., 1993; van Aarle et al., 2002b, 2005). Недостатки этих методов заключаются в различной проницаемости тканей для реактивов (особенно, если грибные клеточные стенки толстые, как в случае везикул) и окрашивании также и растительных тканей. Тем не менее, их применение внесло существенный вклад в накопление знаний об активной в данный момент части грибного симбионта в почве или внутри корня и цикле развития различных структур (Dickson, Smith, 2001; Dickson et al., 2003).

Наиболее широко используемый метод для определения процента колонизации – модификация метода пересечений с сеткой в применении к длине корня (Newman, 1966). Было проведено сравнение этого метода с прочими и сделан вывод, что стандартная ошибка при расчете процента колонизации ниже, чем при монтировке фрагментов корня на препарат (Giovannetti, Mosse, 1980). Метод пересечений с сеткой имеет еще одно преимущество — он позволяет поводить расчеты для сравнительно крупных образцов корней, и при использовании выборки из корня известной массы дает отношение длины к массе, что позволяет получить очень важные данные об общей длине корня растений. Более того, этот метод, как уже было упомянуто выше, можно применить для измерения длины гиф на мембранных фильтрах.

Помимо процента колонизации выявлены такие важные показатели как интенсивность колонизации коры и степень развития внутрикорневых структур (межклеточных гиф, арбускул, гифальных клубков и везикул). Обычно их вычисляют с помощью метода пересечений с сеткой при большом увеличении, позволяющем рассмотреть различные структуры (McGonigle et al., 1990; Cavagnaro et al., 2001c), или несколько субъективным методом оценки по шкале при наблюдении фрагментов корней (Trouvelot et al., 1986).

Процесс колонизации в корневой системе

Колонизация корневой системы АМ грибами — динамичный процесс, при котором и растительный и грибной симбионты растут и развиваются. Корень растет апикально путем клеточного деления, элонгации и дифференциации и образует боковые корни. Одновременно с этим гриб образует первичные и вторичные единицы инфекции, которые растут и колонизируют кору корня. Скорость колонизации корневой системы (и, следовательно, процент колонизации) зависят не только от скорости формирования и роста единиц инфекции, но также и скорости роста корневой системы (Sutton, 1973; Smith, Walker, 1981; Sanders, Sheikh, 1983). В данной книге невозможно обсудить роль факторов окружающей среды при росте и развитии корня, но, очевидно, что доступность питательных веществ, температура, плотность почвы и т.п. оказывают косвенное влияние как на апикальный рост, так и на ветвление, что, в свою очередь, повлияет на степень колонизации.

Непосредственное влияние АМ колонизации на рост корня было изучено у нескольких видов растений и, хотя в некоторых работах не отмечены изменения в скорости апикального роста или инициации ветвления (Buwalda et al., 1984), хорошо известно, что изменения происходят даже при относительно слабой колонизации корня АМ грибами. Продемонстрировано, что скорость роста корневого апекса замедляется после колонизации видом *Glomus*, и это связано со снижением митотического индекса из-за удлинения фаз G1, S и метафазы и заметным сокращением продолжительности фазы G2 (Berta et al., 1990a, 1991). В то же время наблюдалось усиление ветвления, как предполагается, вызванного утратой активности апексов основных придаточных корней (Barker et al., 1998b). Влияние *G. mosseae* на рост корня мутанта кукурузы с сильно ослабленным развитием корневой системы (*lrt-1*) в основном заключалось в стимуляции образования нового типа боковых корней, которые, поглощая фосфор через свободный мицелий, поддерживали рост мутантного растения на почве с низким содержанием этого элемента (Paszkowski, Boller, 2002). Механизмы, обусловливающие подобные изменения в развитии корня, неясны и явно действуют не непосредственно в точке колонизации, но есть мнение, что усиливающееся ветвление корней, равно как и гиф, способствует повышению вероятности встречи симбионтов (Koske, Gemma, 1992).

Очень трудно определить прямое влияние факторов окружающей среды на грибной симбионт, применяя степень колонизации корневой системы, если не прини-

мать за данность, что влияние на рост корня при этом отсутствует. Представить такую ситуацию очень сложно. Любой фактор, влияющий на скорость роста корня, например, температура, наличие питательных веществ или повышение концентрации CO_2, будет неминуемо отражаться на степени колонизации. Кроме того, различия по степени колонизации у разных видов или разных генотипов в пределах одного вида растений могут быть обусловлены разницей в скорости роста их корней и не должны служить примером различий корневых систем по восприимчивости к АМ колонизации. Этот момент часто ускользает от внимания, но он очень важен при оценке влияния условий окружающей среды, сравнении разных видов или сортов растений и в проверке растительной зародышевой плазмы на предмет различий в колонизации. Вычисление исключительно процента колонизации без исследования растения, особенно, скорости роста корня, малоинформативно. Оценка динамики колонизации требует наличия множества данных, в том числе о скорости роста корня и соотношении корень : побег. При этом не вызывает сомнений, что процент колонизации — очень удобный для использования показатель. Он может быть измерен на репрезентативной выборке из корневой системы, большое количество образцов может быть подготовлено относительно быстро, а результаты возможно с разумной осторожностью сравнить с многочисленными данными других исследователей. Однако, стоит отметить, что другие параметры, такие как грибная биомасса, длина колонизированного корня на особь растения или на единицу массы или объема для некоторых исследований могут быть более пригодны. Как и в других случаях, метод должен определяться поставленной задачей.

Зависимость процента длины колонизированной части корня от времени обычно представлена сигмовидной кривой (рис. 2.16). Сходные кривые могут быть получены как для одного вида АМ гриба в горшечной культуре с разными видами расте-

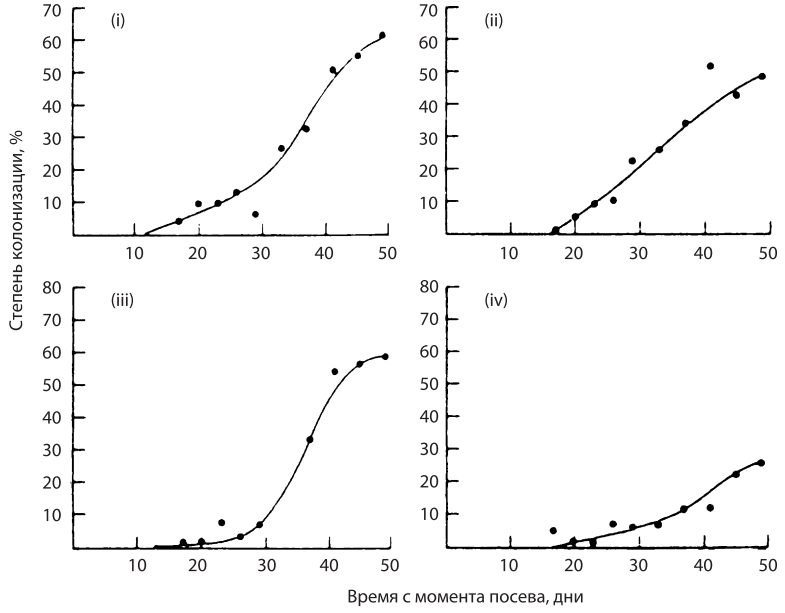


Рисунок 2.16. Развитие грибной колонизации в корнях *Allium cepa*, инокулированных четырьмя видами микоризных грибов: (i) *Glomus mosseae*; (ii) *Glomus macrocarpus*; (iii) *Gigaspora* (*Scutellospora*) *calospora*; (iv) *Glomus microcarpus*. Из Sanders et al., 1977, с разрешения.

ний, так и для сообществ из почвы. Основные этапы развития взаимоотношений — это лаг-фаза перед колонизацией, фаза быстрого увеличения степени колонизации, в течение которой скорость распространения гриба превышает скорость роста корня, и фаза плато, в которой распространение гриба и рост корня постоянны друг относительно друга, хотя оба симбионта остаются активными. В некоторых исследованиях может быть также указан спад на поздней стадии, когда скорость роста корня превышает скорость распространения гриба. Очевидно, что для получения данных о процессе колонизации как в полевых условиях, так и в горшечных культурах необходим многократный отбор образцов. Излишне напоминать, что подобная информация необходима для интерпретации данных о таких показателях, как рост и поглощение фосфора. Типичная сигмовидная кривая показывает, что происходит во время развития и растения и гриба в типе из дискретных пропагул в почве (Fitter et al., 2000). В природных условиях ближайшая параллель — развитие однолетних злаков. В ненарушенных экосистемах ситуация будет сложнее из-за существования микоризных сетей и сезонности роста корневых систем.

Сигмовидные зависимости к тому же обычно получают на основе образцов, окрашенных не витальными красителями, а, следовательно, не учитывается возможная гибель грибных гиф или клеток корня. Во всех исследованиях, где использовали различные витальные красители, было показано, что в то время как в молодых растениях все гифы и арбускулы активны, по мере старения гриба и растения все меньшая часть внутрикорневого мицелия сохраняет жизнеспособность (Smith, Dickson, 1991; Toth et al., 1991). С помощью анализа изображений фрагментов корней было продемонстрировано, что снижение активности гриба сопряжено с уменьшением количества арбускул, в то время как межклеточные гифы оставались живыми дольше (Smith, Dickson, 1991). Разные «витальные» красители не всегда дают одну и ту же оценку активности гриба, поэтому необходимо быть очень аккуратным при интерпретации полученных данных и их сравнении (Tisserant et al., 1993). Далеко не всегда наблюдается четкая корреляция между степенью колонизации и влиянием на рост растения и поглощение фосфора (Fitter, Merryweather, 1992). Причинами могут быть постепенная утрата активности грибным симбионтом и изменение качества или интенсивности колонизации, а также участие грибов в поглощении фосфора без явного эффекта в отношении роста или содержания этого элемента в растении (см. гл. 5). В любом случае, если колонизацию определять только на финальной стадии разрушения, вероятность мощной корреляции с ответной реакцией растения становится еще меньше, так как ранняя, быстрая колонизация (короткая лаг-фаза и быстрое распространение), как показано, больше влияет на поглощение питательных веществ и рост, чем финальная стадия плато.

Довольно существенные отличия в проценте колонизации, часто наблюдаемые у разных комбинаций гриб–растение, нередко относят на счет разности скоростей роста корня или восприимчивости растения, а также разных стратегий грибной колонизации. Повторимся, что низкий уровень колонизации не обязательно является индикатором слабого влияния симбиоза на рост растения. Например, злаки с высокой скоростью роста корней обычно имеют более низкие значения процента колонизации в фазе плато, чем растения с менее быстрым ростом корневой системы, как например, клевер или лук. При сравнительном анализе взаимодействий трех видов АМ грибов с тремя растениями было показано, что с двумя видами симбионтов лен имел более низкий процент колонизации, чем люцерна или томат, но его рост был не слабее, а то и активнее, чем у других растений (Smith et al., 2004). Сравнение грибов проводить сложнее, так как трудно стандартизировать инокулюм, но в тех работах, где это сделано, отмечены значительные различия в скорости распространения внутри корня (Daniels et al., 1981; Bowen, 1987; O'Connor, 1994; Nadian et al., 1998; Hart, Reader, 2002a, c; Smith S.E. et al., 2004a; Jansa et al., 2007).

Влияние факторов окружающей среды на процент колонизации

Существует целый ряд факторов окружающей среды, значительно влияющих на степень колонизации, из них наиболее подробно изучены плотность инокулюма, температура, доступность питательных веществ (в особенности, фосфора), свет и повышенная концентрация CO_2 (eCO_2). Высокая плотность пропагул, в том числе, наличие инфекционных мицелиальных сетей, сокращает продолжительность лаг-фазы у зависимости процента колонизации от времени (рис.2.17А) и может также быть связана с высокой скоростью распространения гриба внутри корней. После того, как произошла первичная колонизация из пропагулы, рост свободного мицелия приводит к активному расселению гриба в почве, что способствует образованию вторичных единиц инфекции, увеличивающих количество соединений грибных структур внутри корня с наружным мицелием (Wilson, Tommerup, 1992). В условиях эксперимента практически невозможно различить первичные и вторичные точки внедрения гриба, и данные о факторах, влияющих на их образование, почти всегда суммарные. Малое количество пропагул в почве (например, на участках, подвергшихся эрозии) может повлечь за собой низкий уровень колонизации, поэтому для того, чтобы предсказать влияние симбиоза на поглощение фосфора и рост растений или на восстановление растительности, необходимо оценивать инфекционность или плотность пропагул в почвах (Reeves et al., 1979; Jasper et al., 1988; Allen, 1989; Abbott, Robson, 1991; Miller, Jastrow, 1992a).

Влияние температуры на скорость и степень колонизации неоднозначно, ответные реакции различаются у обоих симбионтов. В экспериментальных системах обычно наблюдается увеличение процента колонизации в интервале между 10 и 30 ºС, но некоторые пары гриб–растение могут развиваться нормально только при более высоких или более низких температурах (Bowen, 1987). Существование нормально развитых АМ симбиозов в биомах от тропиков до субантарктики предполагает наличие значительной приспособляемости (Janos, 1980; Frenot et al., 2005). Было исследовано влияние температур от 6 до 24 ºС на рост трех видов АМ грибов в симбиозе с органной культурой корней моркови (Gavito et al., 2005). В результате показано прямое влияние температуры на грибную колонизацию корней и рост свободного мицелия, а также косвенные эффекты, заключавшиеся в измененном росте корня. Скорее всего, прямое влияние, хотя бы частично, является результатом ослабления транспорта углерода в сторону гриба при низких температурах, что было установлено при измерениях с использованием глюкозы, меченой ^{13}C. Большинство горшечных экспериментов проведено при температуре почвы свыше 15 ºС, но многие растения в умеренной зоне, как дикорастущие, так и культурные, растут и образуют микоризы при более низких температурах. Установлено, что ячмень не колонизируется *Glomus etunicatum*, если температура корней поддерживается на уровне 10 ºС, хотя при 15 ºС колонизация происходит (Baon, 1994). Тем не менее, сорта ячменя, выращиваемые на поле в штате Монтана, США, колонизировались при 11 ºС, что позволяет предполагать у АМ грибов из данного местообитания устойчивость к низким температурам (Grey, 1991). Некоторые эффекты могут быть связаны с сезонностью развития растений в определенных сообществах. Например, максимальная активность микоризы у злаков, растущих в холодный сезон, была показана при относительно низких температурах (Bentivenga, Hetrick, 1992). М.Дж. Дафт с соавт. приводят сходные данные, что корни *Endymion non-scripta* колонизируются во время зимнего периода роста, когда температура почвы около 5 ºС (Daft et al., 1980). Позднее Дж. Мерриветер и А. Фиттер подтвердили эти результаты и выявили, что колонизация видом *Scutellospora dipurpurescens* происходит почти исключительно в этот период, хотя прочие грибы способны колонизировать корневую систему в другое время года (Merryweather, Fitter, 1998b). Менее холодоу-

стойчивые растения демонстрируют другие ответные реакции, опять же существуют разные варианты в зависимости от видовой принадлежности грибного симбионта. Были показаны различия между видами АМ грибов по способности к колонизации *Capsicum* при температурах 20–25 ºС по сравнению с 32–38 ºС, которые заключались в ростовых реакциях (Martin, Stutz, 2004). Колебания температуры также могут оказывать разного рода влияние на внутрикорневую и внешнюю колонизацию. Колонизация корней гороха происходила как при 10, так и при 15 ºС и почти удваивалась с увеличением температуры, но при 10 ºС не формировался свободный мицелий, что вело к существенным различиям во вкладе микоризы в поглощение фосфора (Gavito et al., 2003).

Обобщить имеющиеся данные достаточно сложно, необходимо проведение исследований, направленных на объяснение влияния температуры на выживание пропагул, их прорастание и колонизацию корня, а также на функции микориз в определенных сообществах. Это, как недавно подчеркнул целый ряд авторов, очень важно для понимания грибо–растительных взаимоотношений и изменений в экосистеме в ответ на глобальное потепление климата (Rillig et al., 2002a, b; Gavito et al., 2003; Heinemeyer et al., 2004, 2006).

Часто утверждают, что высокие концентрации фосфора в почве явно снижают или элиминируют микоризную колонизацию, подразумевая, что ситуацию контролирует растение, а гриб «больше не требуется для усиления поглощения питательных веществ». Такой фитоцентристский подход является серьезным упрощением ситуации и во многих случаях непригоден. Кроме того, большинство работ представляет собой манипуляции с АМ грибами в сельском хозяйстве, где внесение удобрений приводит к поступлению в почву фосфора в концентрациях, намного превышающих естественные. Хорошо известно, что доступность фосфора оказывает влияние на процент колонизации и образование арбускул, но сила эффекта в большой степени зависит от вида растения и других факторов окружающей среды, в особенности, освещенности. Типичная зависимость процента колонизации от внесения фосфора показана на рисунке 2.17Б. Как видно, очень низкая доступность фосфора может ингибировать колонизацию, поэтому внесение небольших концентраций приводит к увеличению степени колонизации (Tinker, 1975a; Bolan et al., 1984; de Miranda, Harris, 1994). Дальнейшее внесение фосфора часто ведет к ее снижению, и восприимчивость у разных видов растений-хозяев может существенно различаться. Это можно проиллюстрировать двумя примерами, хотя на самом деле среди литературных данных их гораздо больше. Доля колонизированной части корня у пшеницы, ячменя и ржи, растущих в почве с содержанием 5 мг/кг бикарбонат-экстрагируемого фосфора, достигала 40%, но внесение 5 мг/кг фосфора значительно сокращало колонизацию, а при концентрациях 30 или 60 мг/кг вообще элиминировало ее (Baon et al., 1992). Более того, разные сорта ячменя были не только в различной степени колонизированы *Glomus intraradices*, но и восприимчивость колонизации к внесению фосфора тоже различалась (Baon et al., 1993). С другой стороны, в случае *Trifolium subterraneum*, внесение количества фосфора, необходимого для максимального роста, снижало колонизацию всего лишь с 74 до 53% (Oliver et al., 1983). Освещенность взаимосвязана с количеством фосфора, после его внесения у *Allium cepa* заметно снизился процент колонизации только у растений, находящихся при явно слабой освещенности (Graham et al., 1982a; Son, Smith, 1988; Smith, Gianinazzi-Pearson, 1990) (рис. 2.18).

Вероятно, влияние повышения концентрации фосфора частично обусловлено усилением роста корня. Показано, что внесение фосфора вызывает у микоризованных растений *Cucumis* ускорение инициации и апикального вытягивания боковых корней (Bruce et al., 1994). Однако, эти события происходят не настолько быстро, чтобы ими возможно было полностью объяснить снижение процента колонизации,

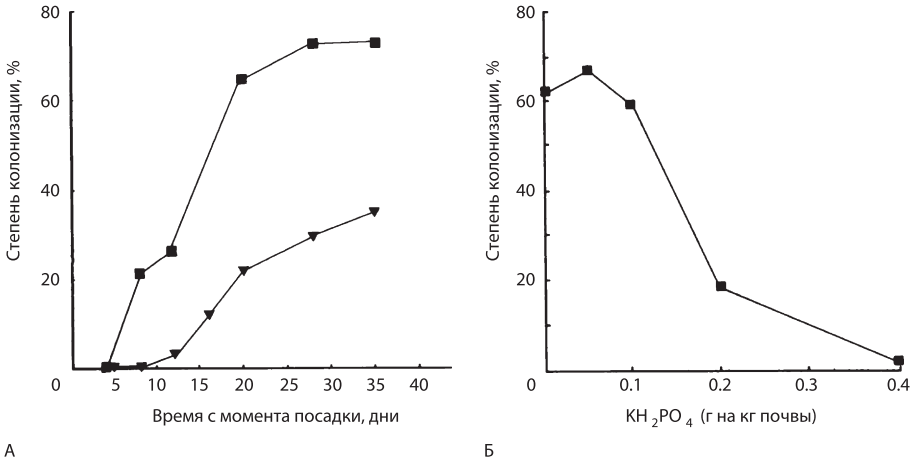


Рисунок 2.17. А — влияние процесса колонизации *Trifolium subterraneum* на плотность пропагул. Растения выращены в нестерильной почве с плотностью пропагул (определенной по методу наиболее вероятных чисел) 4,0 пропагулы на 1 г (■) или в почве с примесью пропаренного песка с плотностью пропагул 0,4 на 1 г (▼). Из Smith, Smith, 1981, с разрешения. Б — влияние внесения KH_2PO_4 в почву на процент колонизации АМ грибами *Allium cepa* через 8 недель роста. Перерисовано из Sanders, Tinker, 1983.

которое впервые наблюдается уже через 10 дней. Результаты более поздних исследований предполагают, что на начальную колонизацию, особенно из спор, повышение концентрации фосфора влияет путем подавления образования фактора ветвления гиф (Tawaraya et al., 1998) и, следовательно, образования точек внедрения (см.

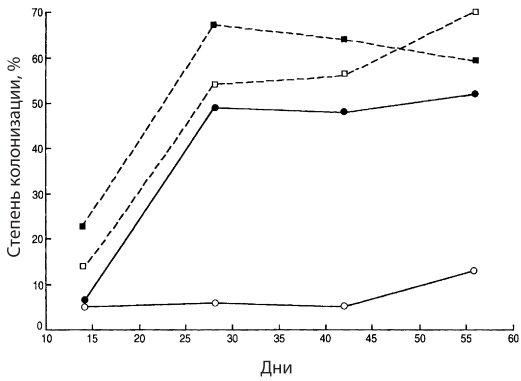


Рисунок 2.18. Влияние освещенности и внесения фосфора (Р) на АМ колонизацию корней *Allium cepa* в почве с низким содержанием фосфора. Высокая освещенность, низкое содержание Р — ■; высокая освещенность, добавление Р — ●; низкая освещенность, низкое содержание Р — □; низкая освещенность, добавление Р — ○. Обратите внимание на совместный эффект внесения Р и низкой освещенности, заключающийся в снижении процента колонизации. Данные предоставлены К. Соном и С. Смит (см. Son, Smith, 1988).

гл. 3). В другой работе выявлено, что рост единиц инфекции также снижается при добавлении фосфора примерно на восьмой день, и, хотя протяженность лаг-фазы колонизации остается без изменения, скорость образования точек внедрения сильно снижается (двадцатый день или позднее) (Bruce et al., 1994). Возможно, это происходит из-за подавления вторичной колонизации, так как, по некоторым наблюдениям, высокое содержание фосфора в почве отрицательно влияет на рост свободного мицелия (Abbott et al., 1984). Влияние фосфора на развитие арбускул может носить разный характер. Ф.Э. Сандерс и П.В. Тинкер (Sanders, Tinker, 1973), а также многие последующие исследователи показали снижение плотности арбускул в корнях (Hayman, 1974; Graham et al., 1982a; Amijee et al., 1989; Smith, Gianinazzi-Pearson, 1990; Braunberger et al., 1991; Bruce et al., 1994). Однако Л.К. Эбботт и А.Д. Робсон (Abbott, Robson, 1979), отметив уменьшение степени колонизации у *Trifolium subterraneum*, *Erodium botrys* и *Lolium rigidum*, не обнаружили влияния на развитие арбускул. Наиболее вероятно, что в основе разнородности эффектов в данном случае, как и во многих других, лежит видовая принадлежность растения и гриба.

Влияние фосфора на АМ грибы проявляется на нескольких этапах процесса колонизации. Высокие концентрации фосфора в среде снижают рост проростковых трубок и таким образом могут влиять непосредственно на начало колонизации. Также они подавляют образование корневых экссудатов, стимулирующих ветвление гиф по мере приближения к корням и рост свободного мицелия, что сказывается как на первичной, так и на вторичной колонизации. Высокое содержание фосфора в корнях, по всей вероятности, напрямую влияет на скорость внутрикорневого роста гриба и на свободный мицелий, что возможно связано со снижением поступления углеводов к грибному симбионту (Jasper et al., 1979; Graham et al., 1981).

После ранних работ, продемонстрировавших снижение колонизации при слабой освещенности и возбудивших дебаты о взаимосвязи с транспортом углеводов, изучение влияния света и опадания листьев было продолжено. Установлено, что процент колонизации почти обязательно снижается в случаях, когда есть возможность ограничения поступления сахаров. Для двух видов *Glomus* в симбиозе с различными растениями показано, что опадание листьев и затенение или малая продолжительность светового дня приводят к снижению процента колонизации и количества вторичных спор (Daft, El Giahmi, 1978). При более высокой освещенности степень колонизации выше, и это коррелирует с концентрацией сахаров в корнях (Hayman, 1974). Снижение колонизации при низкой освещенности выражено более резко при внесении больших количеств фосфора (Hayman, 1974; Daft, El Giahmi, 1978; Graham, 1982; Son, Smith, 1988; Smith, Gianinazzi-Pearson, 1990; Thomson et al., 1990a). Существует целый ряд исследований, посвященных тому, как свет и добавление фосфора связаны с пулом растворимых углеводов в корнях и количеством и составом корневых экссудатов, и направленных на поиск влияния этих взаимосвязей на микоризную колонизацию.

Освещенность и концентрация фосфора необязательно действуют одинаково, снижая степень колонизации. Не было обнаружено влияния слабой освещенности на скорость роста единиц инфекции у *Trifolium* (Tester et al., 1986), в то время как на этот показатель у *Allium* и *Cucumis* влияло внесение фосфора (Amijee et al., 1989; Bruce et al., 1994). Таким образом, несомненно, что и низкая освещенность и высокие концентрации фосфора снижают колонизацию, но механизмы этих процессов остаются неизвестными. Результаты, полученные в разных исследованиях, нестабильны, и кажется маловероятным, что изменения пула углеводов играют основную роль в контроле развития грибного симбионта.

Интерес к глобальному изменению климата (см. гл. 15) породил большое количество экспериментов по изучению влияния повышенной концентрации CO_2 (eCO_2)

на АМ колонизацию. Полученные данные освещены во множестве обзоров (Hodge, 1996; Diaz, 1996; Treseder, Allen, 2000; Rillig et al., 2002a; Staddon et al., 1998, 2002; Fitter et al., 2004; Alberton et al., 2005), поэтому здесь приводится только краткое обобщение. В различных экспериментах показано, что процент АМ колонизации или возрастает или остается неизменным при eCO_2, и существует очень мало данных о его снижении. Рост растений часто также усиливается, поэтому интерпретация результатов как свидетельства прямого влияния на рост АМ грибов как таковой, затруднительна и требует экспериментов с повторным отбором образцов и учета скорости роста и гиф АМ гриба и растения. О. Албертсон с соавт. указали на недостаточность использования процента колонизации как параметра для оценки влияния этого фактора (Albertson et al., 2005). Проведя мета-анализ большого количества различных исследований АМ и эктомикоризных симбиозов (см. также гл. 8), они пришли к выводу, что оба партнера дают положительную ответную реакцию на eCO_2; растения на 25% и АМ грибы на 21%, что предполагает отсутствие серьезных изменений в распределении углерода между ними. Различия типов влияния на симбиозы, образованные разными грибными и растительными партнерами мало изучены, но их можно ожидать ввиду того, что разные виды АМ грибов, возможно, имеют различные потребности в органическом углероде. В пользу этого предположения свидетельствуют данные о том, что eCO_2 изменяет структуру АМ грибного сообщества. Однако было показано, что более сильное влияние наблюдалось, когда концентрация CO_2 повышалась скачкообразно, чем когда она постепенно нарастала на протяжении развития 21 поколения растений (Klironomos et al., 2005). Из этого можно сделать вывод, что симбиотические сообщества способны адаптироваться к постепенным изменениям.

Заключение

Пропагулы, которые могут инициировать АМ колонизацию, представляют собой споры, фрагменты корней и гиф или (что более важно) сформировавшийся мицелий в почве. Эти сложные сети соединяют корни растений одного или разных видов, и инфекционность мицелия очень высока. Мицелиальные сети, вероятно, способны выживать и в засушливых и в холодных условиях, что может быть очень существенно для инициации колонизации в начале вегетационного сезона. Процессы, ведущие к колонизации корней, и способ развития АМ грибов в корневой системе исследованы для очень немногих видов растений. В результате колонизации гриб занимает два различных апопластных компартмента в корне, межклеточные пространства среди клеток коры и более специализированный внутриклеточный апопласт, окружающий арбускулы или гифальные клубки. Эти контактные зоны играют важную роль в двунаправленном транспорте питательных веществ между симбионтами (см. гл. 4 и 5). Морфологические структуры, образуемые грибами, особенно в коре корня, очень разнообразны и включают как «классические» арбускулы, так и менее изученные внутриклеточные гифальные клубки и арбускулярные клубки. Таким образом, имеется несколько контактных зон между симбионтами, имеющих разную специализацию, и, возможно, выполняющих различные функции. Ситуация осложняется тем, что одна корневая система может быть заселена несколькими различными видами грибов, которые конкурируют между собой, и каждый образует собственный набор контактных зон.

За пределами корня АМ грибы развивают обильный мицелий, который претерпевает дифференциацию, так что разные типы гиф потенциально способны выполнять разные функции в процессе колонизации, поглощения элементов питания и,

возможно, переживания неблагоприятных условий. Поисковое поведение, как сейчас установлено, включает в себя как поиск новых растений, так и источников органического углерода и минеральных питательных веществ. Несмотря на то, что разнообразие типов колонизации было описано уже в начале двадцатого века, сравнительное изучение микориз *Arum*- и *Paris*-типа и других морфологических вариаций было возобновлено совсем недавно. Увеличение количества исследований растений вместе с продолжающимися работами по изучению структур, развития и физиологии микоризы необходимы для понимания биологии этих разнообразных симбиозов в природе, а также для учета вклада микориз в первичную продукцию (см. гл. 17). Общеизвестна сложность исследований, проводимых в слабо изученных природных условиях, где сосуществуют многие виды грибов и растений, а также другие почвенные организмы, но такие работы нужны, так как в результате могут предоставить очень важную информацию.

3
Генетические, цитологические и молекулярные взаимоотношения при формировании арбускулярных микориз

Введение

Издавна считается, что развитие арбускулярных микориз (АМ) включает в себя точно синхронизированную последовательность событий, во время которых происходят морфогенетические изменения как гриба, так и растения, что обеспечивает установление совместимого биотрофного симбиоза (см. гл. 2). Во втором издании этой книги мы сделали предположение, что арбускулярные микоризы могут представлять собой состояние совместимости между грибами и растениями (мутуалистическое или паразитическое), в основе которого лежат таксон-специфичные механизмы устойчивости. В среде фитопатологов вновь возник интерес к контролю совместимости, поэтому успехи в изучении арбускулярных микориз могут предоставить важную информацию и для исследований патогенов растений (Heath, 1981; Paszkowski, 2006; Mellersh, Parniske, 2006).

То, что процессы установления АМ симбиоза строго запрограммированы и включают в себя обмен сигналами между партнерами и координированную экспрессию генов, предполагали уже давно, но подробности этих процессов выявлялись очень медленно. Некоторые ключевые моменты в программе колонизации растений были давно известны, но исследование грибов затруднено тем, что они являются облигатными симбионтами, несинхронно развивающимися в тканях корня, и их генетика изучена очень слабо (см. гл. 1 и 2). В 1997 г. молекулярно-генетические методы только входили в употребление, поэтому второе издание «Микоризного симбиоза» предсказывало, что «при использовании новых методов и подходов можно ожидать быстрых успехов в исследовании молекулярно-генетической регуляции симбиоза». Этот прогноз подтвердился, в настоящее время работа ведется очень активно, и подробности роли как грибного, так и растительного партнера в установлении симбиоза выявляются очень быстро. Достижению успеха способствовало также открытие общих симбиотических путей развития у азотфиксирующих симбиозов (АФС) между бобовыми растениями и ризобиями и арбускулярных микориз. Несмотря на то, что АФС охватывают гораздо меньшее число видов растений, чем арбускулярные микоризы, и возникли значительно позднее, они легче поддаются

Таблица 3.1 Фенотипические стадии нормального развития АМ грибов в период колонизации типичных видов растений-хозяев (подробности см. в тексте).

Стадия развития	Ответ/стимул гриба	Ответ/стимул растения	Источники
Прорастание споры	Усиление прорастания	Возможно образование стимулирующих соединений корнями	Elfstrand et al., 2005; David-Schwartz et al., 2001; Besserer et al., 2006
Пресимбиотический рост гиф	Неизвестный диффундирующий фактор, образуемый грибом (MYC фактор)	Индукция генной экспрессии (*MtENOD11-GUSA*) в корнях *M. truncatula*	Kosuta et al., 2003
		Активация генов сигнальной трансдукции у растения	Weidman et al., 2004
	Ингибирование роста экссудатами мутанта томата *pmi* M161		Gadkar et al., 2003
	Высокий уровень экспрессии гена H^+-АТФазы (*GmPMA1*) на преинфекционных стадиях; при симбиозе снижение экспрессии		Requena et al., 2003
Пресимбиотическое ветвление гиф	Обильное ветвление мицелия	Необходимость присутствия растения	Powell, 1976; Glenn et al., 1988; Giovannetti et al., 1993 a,b
	Увеличение активности дыхания	Экссудаты/стриголактоны, образуемые корнями	Buee *et al*., 2000; Tamasloukht et al., 2003; Akiyama et al., 2005; Besserer et al., 2006
Образование аппрессориев	Вздутые структуры, часто между клетками растения	Стимул неизвестен (не тигмотропный)	См. гл. 2
		Разнообразные утолщения стенок растительных клеток	Albrecht et al., 1998; Roussel et al., 2001
		Повышающая регуляция/специфичная экспрессия генов-	Blilou et al., 2000; Brechenmacher et al., 2004; Weidman et al., 2004

Таблица 3.1 (*продолжение*)

Стадия развития	Ответ/стимул гриба	Ответ/стимул растения	Источники
	Мощная индукция гена H^+-АТФазы (*GmHA5*)		Requena et al., 2003
Вскрывание ризодермы	Разделение ризодермальных клеток, способствующее внедрению гриба	Наблюдадось у *M. truncatula*. Задействован ген *MtSym15*	Novero et al., 2002; Demchenko et al., 2004
Проникновение	Сужение гифы с образованием инфекционной шпильки		Garcia-Romera et al., 1990, 1991
	Давление и продуцируемые грибом гидролитические ферменты		См. гл. 2
		Образование аппарата, предваряющего проникновение	Genre et al., 2005
		Усиление DAPI флуоресценции у растительных ядер	Sgorbati et al., 1993
		Экспрессия *MtENOD 11*	Chabaud et al., 2002
Клубки гиф в экзодермальных пропускных клетках	Рост гриба сквозь неопробковевшие клетки, часто с формированием клубков	Возможно, ответная реакция вызвана веществами растительной клеточной стенки	Bonfante Fasolo, 1988
Межклеточные гифы	Рост гиф между клетками в коровой паренхиме	У видов растений с микоризой *Arum*-типа	Гл. 2
Клубки гиф в коровой паренхиме		Контроль со стороны растения, как у видов растений с микоризой *Paris*-типа	Гл. 2
		Ядра принимают центральное положение рядом с клубком	Cavagnaro et al., 2001b
		Экспрессия генов индуцируемых АМ фосфатных транспортеров на растительной цитоплазматической мембране	Karandashov et al., 2004
Арбускулы (*Arum*-тип)	Ветвление внутриклеточных гиф	Инвагинация растительной цитоплазматической мембраны	Гл. 2 и 5
	Угнетение синтеза клеточной стенки		
	Возможное увеличение проницаемости для фосфора		

Таблица 3.1 (*окончание*)

Стадия развития	Ответ/стимул гриба	Ответ/стимул растения	Источники
		Растительные ядра принимают центральное положение между ветвями арбускулы	Balestrini et al., 1992
		Изменения в активности цитоскелета	Timonen, Peterson, 2002
		Накопление HRGP в зоне контакта	Bonfante Fasolo et al., 1992
		Кратковременные защитные реакции	Harrison, Dixon, 1994; Salzer et al., 2000; Bonanomi et al., 2001; Elfstrand et al., 2005
	Цикл развития арбускул	Изменения в организации пластид, и накопление продуктов распада каротиноидов	Fester et al., 2001, 2002a,b
Периарбускулярные мембраны		Повышающая регуляция генов растительной H^+-АТФазы, возрастание активности H^+-АТФазы	Gianinazzi-Pearson et al., 1991, 2000; Requena et al., 2003; Murphy et al., 1997
		Индукция растительных Pht1 транспортеров на мембранах, окружающих арбускулу или клубок гиф	Rausch et al., 2001; Harrison et al., 2002; Pazksowski et al., 2002; Karandashov et al., 2004; Glassop et al., 2005
Свободный мицелий	Быстрый рост только после колонизации	Природа влияния растения-хозяина неизвестна, но, возможно, важна доступность сахаров	Гл. 2 и 5
	Экспрессия *GvPT*, *GiPT* и *GmosPT*; экспрессия *Ginmyc1* и *Ginhb1* только в свободном мицелии; экспрессия *Ginmyc2* в свободном мицелии и в корне		Harrison, Van Buuren, 1995; Maldonado Mendoza et al., 2002; Requena et al., 2003; Benedetto et al., 2005; Delp et al., 2003

изучению, частично из-за возможности поддержания бактериальных симбионтов в чистой культуре. Детали сигнальной системы и генетической программы АФС к настоящему моменту исследованы лучше, чем таковые у АМ симбиозов и, следовательно, могут быть использованы для трактовки процессов, происходящих в микоризах. Быстрое развитие молекулярно-генетических методов, применение модельных видов растений, особенно, представителей бобовых *Medicago truncatula* и *Lotus japonicus*, и их включение в проекты секвенирования генома, в большой степени способствовали исследованию обоих типов симбиоза. Кроме того, появление методов, позволяющих анализировать образцы очень малого объема, сделало возможным идентификацию ключевых метаболитов и сигнальных молекул. Однако не следует забывать, что эти успехи стали возможными только потому, что работы сопровождались тщательными исследованиями взаимоотношений симбионтов на клеточном уровне с применением микроскопии, а также в ряде случаев получением подробных данных о функциональности этих отношений. Фиксирование цитологических изменений в живых клетках в настоящее время предоставляет возможность выявить последовательность взаимодействий между грибным и растительным симбионтами.

В этой главе освещены некоторые достижения в исследовании АМ за последнее время, преимущественно касающиеся выявления ключевых моментов регуляции колонизации, цитологических изменений, особенно происходящих в цитоскелете, генетических подходов, в том числе, использования мутантов, изменения транскрипции генов и обмена сигналами у симбионтов при внедрении АМ грибов в корень. За последние два десятилетия было опубликовано несколько обзоров, отражающих развитие и перспективы подобных исследований (Koide, Schreiner, 1992; Gianinazzi-Pearson, 1996; Gianinazzi-Pearson et al., 1996; Kapulnik et al., 1996; Harrison, 1999, 2005; Gadkar et al., 2001; Kistner, Parniske, 2002; Timonen, Peterson, 2002; Bécard et al., 2004; Vierheilig, 2004b; Genre, Bonfante, 2005; Oldroyd et al., 2005; Smith et al., 2006).

Ключевые этапы колонизации

Изменения, происходящие в каждом из организмов в процессе АМ колонизации, указывают на то, что в процессе установления совместимого биотрофного симбиоза происходит целый ряд «переключений», для которых необходим обмен сигналами, ведущими к изменению генной экспрессии и характера развития. Выявление точек регуляции основано на морфологических и цитологических изменениях в развитии гриба и растения, что подтверждается физиологическими и молекулярными данными, а также исследованиями мутантов с дефектной АМ колонизацией (Gianinazzi, 1991; Bonfante-Fasolo, Perotto, 1992; Giovannetti et al., 1994; Smith, 1995; Giovannetti, Sbrana, 1998). Как отмечено в гл. 2, основные этапы развития грибного симбионта — это прорастание споры, рост и развитие пресимбиотического мицелия, образование аппрессорий, проникновение в ризодерму и экзодерму корня, колонизация коры корня и рост свободного мицелия (табл. 3.1). Наконец, образование жизнеспособных и инфекционных спор завершает жизненный цикл гриба.

Проникновение гриба в корень также вызывает изменения в растительных клетках, в том числе, в строении клеточной стенки, перемещении ядра, активности цитоскелета, а также пролиферацию и модификацию мембраны, и образование сложной структуры — аппарата, предваряющего проникновение (АПП; рис. 3.1; см. приложение 3.1) (Genre et al., 2005). На всех стадиях развития гриб остается в апопласте растительной клетки, поэтому симбиотические зоны контакта ограничены

цитоплазматическими мембранами гриба и растения и содержат разные количества материала клеточной стенки грибного и растительного происхождения, а также различные специфичные отложения. Межфазные апопластные компартменты участвуют в переносе питательных веществ и, вероятно, в передаче сигналов и стимулов, индуцирующих изменения в развитии на различных этапах колонизации.

Цитологические изменения в процессе колонизации корня

Ответные реакции на вторжение гриба у клеточных стенок ризодермы могут различаться в зависимости от комбинации гриб–растение. В некоторых случаях стенки клеток утолщаются (рис. 3.2А), таким образом демонстрируя узнавание контакта с грибным партнером. В норме при колонизации в месте соприкосновения симбионтов не обнаруживается никаких специфических соединений, связанных с защитной реакцией на вторжение патогенов. В настоящее время известно, что основ-

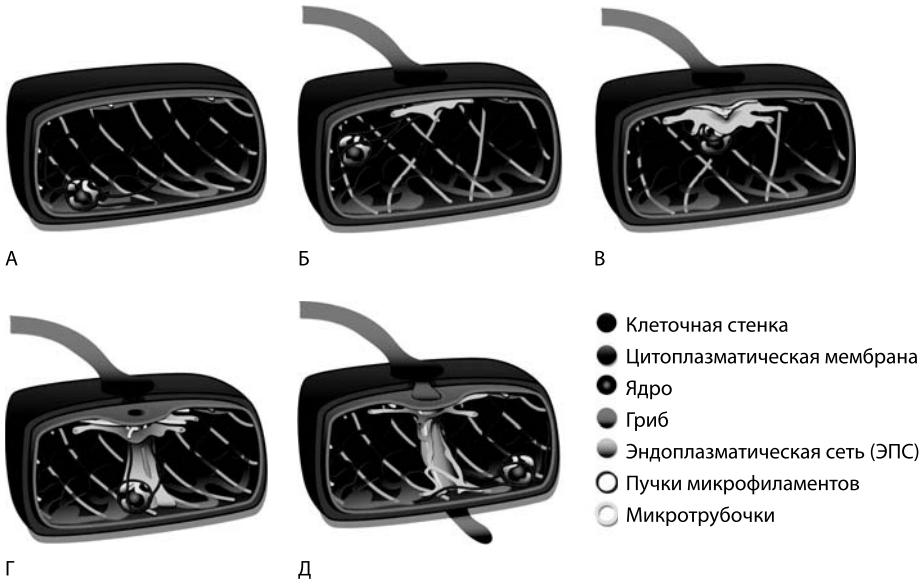
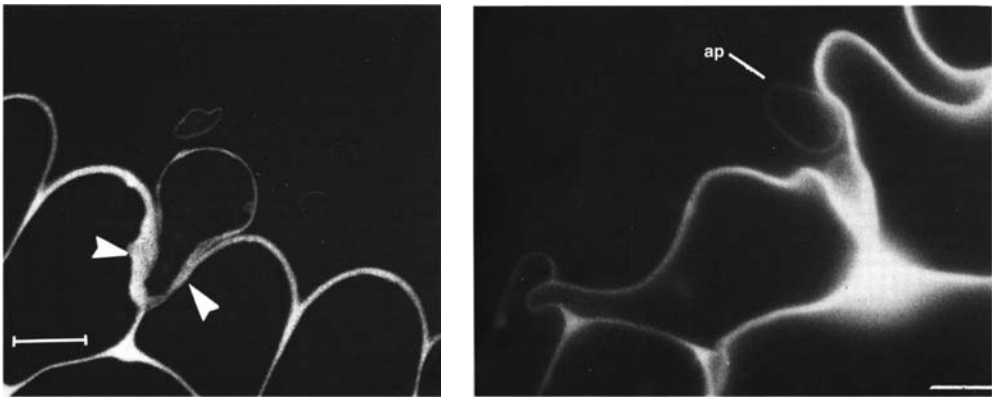


Рисунок 3.1. Образование аппарата, предваряющего проникновение (АПП), способствующего прохождению АМ грибов через клетки ризодермы корня. А — клетка ризодермы до контакта с грибным партнером. Отмечено ядро, занимающее периферическое положение, расположение элементов цитоскелета и эндоплазматической сети (ЭПС). Б — образование аппрессориев на наружной поверхности клетки растения-хозяина приводит к заметным изменениям в расположении микротрубочек, пучков микрофиламентов и ЭПС, с чем связано движение ядра к поверхности аппрессория. В, Г — образование временного АПП в цитоплазматической столбчатой структуре и последующая миграция ядра через клетку. Д — АМ гифа проникает через клеточную стенку и проходит сквозь ризодермальную клетку по апопластному компартменту, образованному столбчатой структурой. Обозначения различных структур см. в легенде. Любезно предоставлено А. Жанром. Также см. приложение 3.1.



А Б

Рисунок 3.2. Клеточные реакции при проникновении АМ грибов в ризодерму корня. А — акрифлавин-положительные утолщения стенок ризодермальных клеток *Allium porrum*, возникающие при нормальной колонизации *Glomus versiforme*. Масштаб 10 мкм. Из Garriock et al., 1989, с разрешения. Б — содержащие каллозу утолщения стенок ризодермальных клеток myc^{-1} мутантов *Pisum sativum* сорта «Фриссон», возникающие как ответная реакция на колонизацию. Масштаб 10 мкм. Из Gollotte et al., 1993, с разрешения.

ные события на клеточном уровне происходят до внедрения АМ гриба в растительную клеточную стенку (Genre et al., 2005). Контакт между аппрессорием гриба и клеточной стенкой ризодермальной клетки *Medicago truncatula* вызывает быстрое (менее чем за 2 ч) перемещение ядра растительной клетки от клеточной стенки в положение непосредственно под аппрессорием (см. рис. 3.1А, Б и приложение 3.1). Микротрубочки быстро реорганизуются, и толстые актиновые пучки расходятся от ядра в сторону зоны контакта с грибом. Продолжающаяся перестройка цитоскелета и эндоплазматической сети (ЭПС) приводит к образованию кольцевидной структуры под местом прикрепления аппрессория (МПА) (см. рис. 3.1В и приложение 3.1). Теперь ядро растительной клетки вновь меняет положение, двигаясь со скоростью 15–20 мкм/ч в сторону нижележащего слоя клеток. С миграцией сопряжено образование сложной цитоплазматической столбчатой структуры, которая связывает мигрирующее ядро с точкой под МПА. Эта структура представляет собой собрание микротрубочек и пучки микрофиламентов, а также цистерны ЭПС, которые формируют полую трубку, соединяющую ядро с МПА (см. рис. 3.1Г и приложение 3.1). Вслед за образованием столбчатой структуры инфекционная гифа пронизывает стенку наружной ризодермальной клетки непосредственно над кольцевидной структурой и прорастает сквозь клетку ризодермы, следуя точно по пути, проложенному столбчатой структурой (см. рис. 3.1Д и приложение 3.1.). Столбчатая структура, скорее всего, образует новый апопластный компартмент, в котором находится внедряющаяся гифа. Возможно, что аппарат, предваряющий проникновение (АПП), сходен с инфекционными нитями, проводящими клетки ризобий через корневые волоски к коре корня бобовых, но исследования этого симбиоза в данном контексте пока не были проведены.

Во время проникновения и колонизации ризодермальных и экзодермальных клеток растение может давать разнообразные ответные реакции, отличающиеся у разных пар гриб–растение. Размеры ядра и DAPI флуоресценция увеличиваются, возможно, указывая на редупликацию генома или увеличение скорости транскрипции

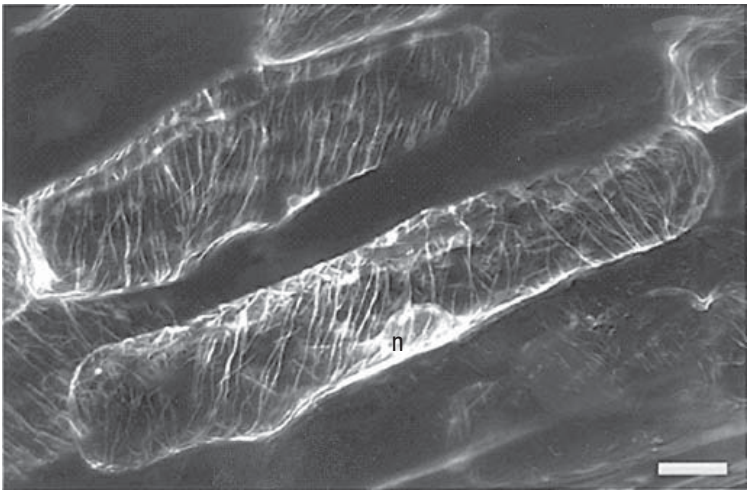
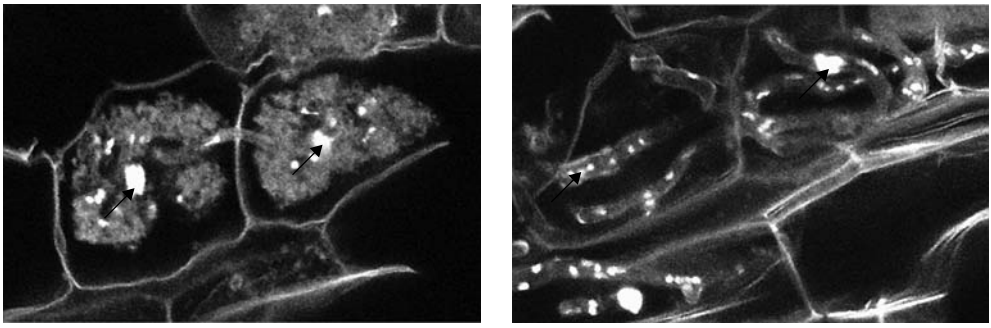


Рисунок 3.3. Расположение микротрубочек в клетке паренхимы *Nicotiana tabacum* до колонизации АМ грибами. В цитоплазме отчетливо видны микротрубочковые спирали. Другие пучки микротрубочек окутывают ядро (n), остающееся в периферическом положении, примыкая к клеточной стенке. Из Genre, Bonfante, 1998, с разрешения.

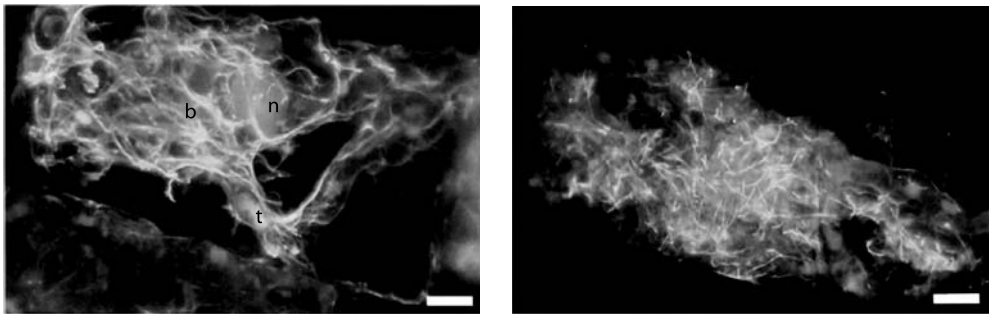
(Berta et al., 1991; Sgorbati et al., 1993). После проникновения сквозь наружные тангентальные стенки ризодермальных клеток происходит образование аппрессориев и сужение внедряющейся гифы для образования инфекционной шпильки, которая пронизывает ризодерму или подстилающую ее экзодерму перед тем как снова расшириться в апопластном пространстве. У *Medicago truncatula* этот ключевой этап сопровождается расхождением радиальных стенок двух соседних клеток ризодермы, что позволяет грибным структурам прорастать между ними. Проникновение через стенку растительной клетки, вероятно, обусловлено локальным выделением грибом гидролитических ферментов, разрушающих клеточную стенку, а также созданием гидростатического давления в кончике гифы (табл. 3.1, см. гл. 2).

Колонизация коры корня сопровождается образованием межклеточных и внутриклеточных гиф, внутриклеточных гифальных клубков и/или арбускул. Грибо-растительные взаимоотношения были исследованы путем изучения последовательных изменений в составе молекул в межклеточных и внутриклеточных зонах контакта, в том числе грибных и растительных клеточных стенках (Bonfante-Fasolo, 1988; Lemoine et al., 1995) и явных изменений морфологии гриба при формировании арбускул или гифальных клубков. В клетках коры, содержащих арбускулы или клубки, растительные ядра мигрируют из периферической части (рис. 3.3), принимая центральное положение и окружаясь грибными структурами (рис. 3.4А, Б; рис. 3.5) (Balestrini et al., 1992; Cavagnaro et al., 2001b). Ядра увеличиваются в размерах, и хроматин деконденсируется, как показано путем мечения антителами (Balestrini et al., 1992). На этой стадии актиновые филаменты проходят вдоль плазмалеммы и вокруг ядра, и образуются спирали из микротрубочек (Genre, Bonfante, 1998). Образование как арбускул, так и гифальных клубков сопровождают явственные изменения в организации цитоскелета клеток коры (рис. 3.5; см. приложение 3.2). Микрофиламенты окружают каждую ветвь арбускулы, ядро растительной клетки и даже разрушившиеся арбускулы (рис. 3.5; см. приложение 3.2) (Genre,Bonfante, 1997, 1998, 1999; Armstrong, Peterson, 2002; Timonen,Peterson, 2002). Дальнейшее исследование АПП-подобных структур, которые, вероятно, образуются при про-



А Б

Рисунок 3.4. Расположение ядра в клетке коры корня *Asphodelus fistulosus* при АМ колонизации *Paris*-типа *Glomus coronatum*. Конфокальная микроскопия с увеличенной глубиной резкости, изображены клетки, содержащие (А) арбускулярные клубки и (Б) гифальные клубки. Корни окрашены кислым фуксином, получена серия оптических срезов толщиной 2 мкм по оси z, которые были использованы для оценки размеров и расположения ядер. Растительные ядра в колонизированных клетках были существенно больше, чем в свободных от грибных структур, и располагались дальше от ближайшей клеточной стенки (т.е., имели центральное расположение). Из Cavagnaro et al., 2001, с разрешения.



А Б

Рисунок 3.5. Расположение микротрубочек в клетках *Nicotiana tabacum*, содержащих арбускулы *Gigaspora margarita*. А — пучки микротрубочек, проходящие через ветви арбускулы (b), вдоль ствола арбускулы (t) и около ядра (n). Б — более короткие пучки видны среди ветвей арбускулы, соединяя их между собой. Масштаб 10 мкм. Из Genre, Bonfante, 1998, с разрешения. См. также приложение 3.2.

никновении в клетку арбускулы, было бы очень интересным, но технически оно весьма трудновыполнимо.

В недавних работах было показано, что во время цикла развития арбускул у многих видов растений сильно меняется поведение пластид и связанный с этим метаболизм каротиноидов. Т. Фестер с соавт. выявили, что внедрение гифы в клетки коры корня и развитие арбускул сопровождается образованием обширной сети пластид, окружающей зрелую арбускулу (Fester et al., 2001). Позже, когда арбускула разрушается, сеть исчезает, и накапливаются продукты распада каротиноидов (включая «микоррадицин») (Fester et al., 2002a, b; Hans et al., 2004). Это те самые желтые пигменты, которые часто наблюдают в обильно колонизированных АМ корнях (Becker, Gerdemann, 1977). Роль этих изменений пока не выяснена.

Значительно меньше известно об изменениях цитоскелета грибных гиф, но существенных различий в организации микротрубочек у свободного мицелия, межклеточных гиф и арбускул у *Glomus intraradices* в симбиозе с томатом не наблюдалось (Timonen et al., 2001). Тем не менее, отмечены происходящие в процессе колонизации изменения в генах, кодирующих элементы цитоскелета (Delp et al., 2003).

Генетические подходы к пониманию арбускулярно–микоризной колонизации — взаимодействие арбускулярно–микоризных грибов с мутантами и несовместимыми растениями

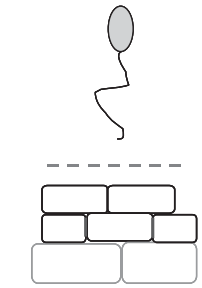
Значительный прогресс был достигнут в области выявления генетически управляемых точек контроля, стимулирующих или подавляющих развитие симбиоза, и идентификации растительных и грибных генов, вовлеченных в эти процессы. Ранние попытки выяснить, какие этапы колонизации находятся под генетическим контролем, были затруднены отсутствием в природе несовместимых взаимоотношений между АМ грибами и растениями, близкородственными с АМ растительными симбионтами. Отторжение АМ грибов обычно для корневых систем большинства представителей немикоризных таксонов, таких как семейства Brassicaceae и Caryophyllaceae (Gianinazzi-Pearson, 1984), поэтому приходилось проводить сравнения между отдаленно родственными растениями, и большого успеха достигнуто не было. Модельное растение *Arabidopsis thaliana* не может быть применено для исследования АМ, так как не образует микоризу. Тем не менее, начиная с 1989 г., когда были выявлены первые мутантные АМ растения (Duc et al., 1989), было обнаружено большое количество мутантов в норме микоризных растений, у которых развитие АМ блокировано на разных стадиях грибной колонизации, что дало возможность поиска точек контроля установления симбиоза (рис. 3.6) (Peterson, Bradbury, 1995; Marsh, Schultze, 2001; Barker et al., 2002). Генетический анализ в том виде, в котором он применялся для изучения, имеет некоторые ограничения. С его помощью возможно установить стадии симбиотического развития, на которых какая-либо важная функция растения кодируется одним геном, но если задействовано несколько генов, то подобный подход не дает результатов. Кроме того, мутанты с блокировкой микоризообразования на ранних и на поздних стадиях фенотипически немикоризны. По целому ряду причин работа была направлена в большей степени на исследование ответных реакций и генов растения, чем грибного симбионта. Во-первых, последовательность стадий развития в микоризах *Arum*-типа хорошо изучена, и при сравнении различных видов и сортов показано, что генотип растения может влиять на степень колонизации и характер ответной реакции при формировании симбиоза. Во-вторых, растительный геном хорошо исследован, и несколько АМ растений являются модельными, а в случае *Oryza sativa* (рис), геном полностью секвенирован. В-третьих, растения могут существовать и при наличии и в отсутствие АМ инокулюма, поэтому их развитие и генная экспрессия могут быть изучены как в безмикоризном, так и в АМ состоянии.

Первые выявленные растения-мутанты с ненормальным АМ фенотипом принадлежали к не образующим клубеньки генотипам представителей бобовых *Pisum sativum* и *Vicia faba* (Duc et al., 1989). Во всех случаях эти так называемые myc$^-$ растения блокировали колонизацию на стадии образования аппрессориев (рис. 3.6, 3.7A), поэтому гриб не мог внедриться в корень (в настоящее время их называ-

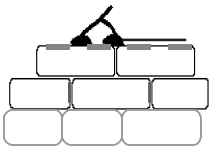
ют Pen$^-$). Ответные реакции клеточной стенки в ризодерме у таких мутантов усилены, имеются утолщения с увеличенными отложениями фенольных соединений и β-1,3-глюканов (возможно, каллозы) под аппрессориями (Gollotte et al., 1993), и гифы неспособны проникнуть в клетку (см. рис 3.2Б). При более позднем анализе 66 мутантов *P. sativum* с изменениями образования клубеньков был выявлен второй АМ фенотип, у которого гриб способен сформировать аппрессории, пройти сквозь ризодерму и расти в межклеточном пространстве коры, но арбускулы образуются в очень ограниченных количествах и очень слабо разветвлены (ard$^-$, от «arbuscules defective» — дефектные арбускулы, рис. 3.6) (Gianinazzi-Pearson et al., 1991b). Эти находки дали стимул к поиску среди других видов и основой для последующих открытий. АМ-дефицитные мутанты в настоящее время найдены у представителей бобовых *Medicago truncatula*, *M. sativa*, *Lotus japonicus*, *Glycine max* и *Phaseolus vulgaris* (а также у *Pisum sativa* и *Vicia faba*) и у видов из других семейств *Solanum* (*Lycopersicon) esculentum* и *Zea mays*. Все известные на данный момент мутации, за единственным исключением, рецессивные, следовательно, подобная утрата, или, по крайней мере, изменение функции, скорее всего, приведет к изменению фенотипа. Мутант кукурузы *Pram1* обладает способностью к более быстрой колонизации грибом *Glomus mosseae*, но как действует эта доминантная мутация «приобретения функции», остается пока невыясненным (Paszkowski et al., 2006).

Почти все известные мутанты бобовых были обнаружены среди дефектных по образованию клубеньков генотипов. С помощью недавно проведенного генетического анализа выявлено, что развитие АМ и клубеньков, по меньшей мере, частично, управляется одними и теми же генами, и это привело к осознанию, что путь развития АФС почти наверняка эволюционировал от более древнего АМ пути (Gianinazzi-Pearson, Denarie, 1997; van Rhijn et al., 1997). Недавно полученные данные, в основном из экспериментов с *Medicago truncatula* и *Lotus japonicus*, подтвердили наличие как минимум семи общих симбиотических генов наряду со специфичными только для АФС или АМ (Harrison, 2005; Kistner et al., 2005). Не у всех дефектных по образованию клубеньков мутантов проявлялись изменения в фенотипе при тестировании АМ грибами, что указывает на расхождение путей развития в АФС и АМ. Предполагают, что все образующие АМ виды растений, вне зависимости от таксономического положения, содержат сходные наборы генов, способствующих колонизации, но только часть из них была выявлена у бобовых. Для того, чтобы выяснить подробности этапов развития, различные у двух типов симбиоза, требуется проведение многих дополнительных исследований с растениями из других семейств, такими как рис, кукуруза, томат. Разумеется, древность происхождения АМ предполагает возможность обнаружения многих из этих генов и у несовместимых растений. Возникновение безмикоризного состояния вряд ли произошло путем одновременной утраты всех генов, участвующих в формировании микоризы, более вероятно, что оно основано на наличии одного или нескольких генов, отвечающих за устойчивость, или на утрате гена «переключателя» или рецептора, в норме запускающего программу колонизации. Исходя из появления немикоризных растений в различных филогенетических линиях (см. гл. 1), имеется несколько разных механизмов, ответственных за отсутствие колонизации АМ грибами. Они еще не были изучены посредством молекулярно-генетических методов, но *Arabidopsis thaliana* может послужить хорошим объектом для подобной работы.

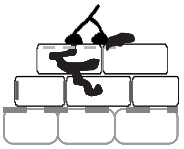
Существование мутантов с различными типами колонизации (см. рис. 3.6) подтверждает выявленные ключевые этапы внедрения гриба, часть которых управляется более, чем одним геном растения. Самое первое из известных событий происходит до контакта между симбионтами, и *pmi* мутанты томата (M20 и M161 *S. lycopersicum* сорт «Микротом») снижают колонизацию спорами у *Glomus intraradices* (David-Schwartz et al., 2001, 2003). Достаточно странно, что мутация не пре-



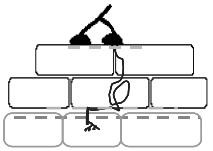
Мутанты, у которых мутация проявляется до
контакта с растением,
обнаружены только у томата
отсутствует колонизация путем спорового инокулюма
корневые экссудаты ингибируют рост проростковых трубок



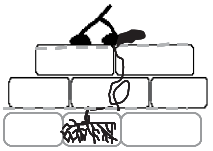
Pen^{-} мутанты, у которых ингибируется проникновение в ризодерму
блокировка на стадии ризодермы,
иногда сопровождается усиленным образованием поверхностных гиф
аппрессории часто нормально сформированные,
могут включать вздутые поверхностные гифы (см. рис. 3.2Б, 3.7А)



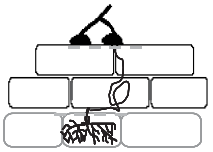
Coi^{-} мутанты, у которых не происходит колонизация коры
блокировка на границе между экзодермой и корой
часто происходит проникновение в ризодерму и кору,
включая образование вздутых, пузыревидных гиф



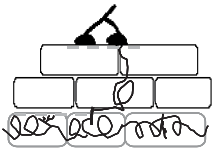
Ard^{-} мутанты, у которых колонизация достигает коры
внутриклеточная колонизация коры включает
образование дефектных неветвящихся арбускул,
что обнаружено только у *Pisum* RISNod24
блокировано развитие полноценных ветвящихся арбускул и ПАМ



«Myc^{+}» фенотип у rmc мутанта томата
ненормальное ветвление гиф наблюдается на поверхности
корня по мере того, как в результате Coi- колонизации в клетках коры
корня формируются полноценные функциональные арбускулы



Myc^{+} микориза *Arum*-типа



Myc^{+} микориза *Paris*-типа

Рисунок 3.6. Схематические изображения и краткие описания микоризных фенотипов мутантов и дикого типа, с общепринятыми сокращениями. В корне представлены три основных типа тканей (сверху вниз на каждом из рисунков): ризодерма, экзодерма с опробковевшими радиальными стенками и коровая паренхима. Основные точки, на которых возможна блокировка колонизации, отмечены горизонтальными пунктирными линиями. Разработано по концепции Marsh, Schulze, 2001.

дотвращает колонизацию более сложными типами инокулюма, включающими фрагменты корня и гифы наряду со спорами, что явно показывает различия стимулов или сигналов, управляющих разными типами пропагул. Экссудаты корней M161ингибируют преколонизационный рост проростковых трубок *Gigaspora gigantea* и *Glomus intraradices* (Gadkar et al., 2003), следовательно, мутация или меняет состав сигнального соединения или вызывает появление вещества-ингибитора. Последнее менее вероятно, так как мутация рецессивная. Для того чтобы уточнить полученные данные и увеличить количество информации, требуются дополнительные исследования, особенно ввиду того, что сигнальные соединения растений уже идентифицированы.

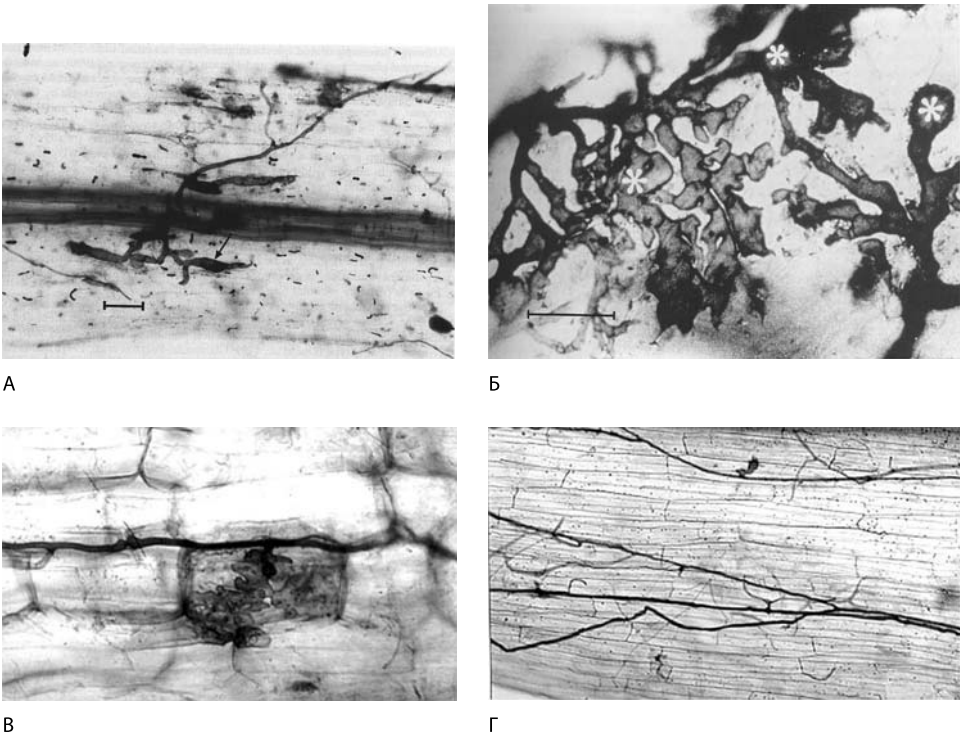


Рисунок 3.7. Фенотипы мутантов с измененной моделью микоризной колонизации. А — первый выявленный мутант: Мус$^{-1}$ мутант (P6) *Pisum sativum* сорт «Фриссон», у которого аппрессории развиваются нормально (apr^{+}, отмечено стрелкой), но не происходит проникновения в ткани корня. Масштаб 50 мкм. Из Duc et al., 1989, с разрешения. Б — гипертрофированные аппрессории, образующиеся у «немикоризных» генотипов *Medicago sativa*. Масштаб 50 мкм. Из Bradbury et al., 1993, с разрешения. В — Coi^{-} фенотип в ассоциации между *rmc* мутантом *Solanum lycopersicum* и *Scutellospora calospora*. Гриб часто проникает в ризодермальные и гиподермальные клетки, стенки которых утолщаются. Колонизация коры никогда не происходит. Из Gao et al., 2001, с разрешения. Г — Pen^{-} фенотип в ассоциации между *rmc* мутантом *Solanum lycopersicum* и *Glomus intraradices*. Гифы активно растут на поверхности корня, но формируется малое количество аппрессориев, и проникновение в клетки корня случается очень редко. Из Gao et al., 2001, с разрешения.

Большинство мутантов *Pisum* (Pen$^-$) не влияют на образование аппрессориев: они имеют нормальную морфологию и появляются с обычной частотой (Giovannetti et al., 1993b; Gollotte et al., 1993). Тем не менее, ряд растительных генов оказывает влияние на эту стадию колонизации, так как иногда аппрессории вообще не обнаруживаются (Gao et al., 2001; Paszkowski et al., 2006), или имеется большое количество деформированных структур (рис. 3.7Б, Г) (Bradbury et al., 1991; Barker et al., 1998a; Gao et al., 2001). Различия ответных реакций у различных АМ грибов могут вносить существенный вклад в наблюдаемое фенотипическое разнообразие. Избыточное образование аппрессориев может быть ответной реакцией гриба на невозможность колонизации ткани (Bradbury et al., 1993) и указывает на продолжение попыток преодолеть защиту растения. Второй возможный вариант, что утолщенные гифы могут являться не аппрессориями, а эквивалентом более разветвленных структур, формируемых АМ грибами, когда непосредственный контакт с корнем предотвращен искусственными преградами, как в экспериментах М. Джованнетти с соавт. (см. гл. 2). В этом случае можно предположить, что Pen$^-$ генотипы продолжают образовывать соединения, стимулирующие рост и ветвление гиф АМ грибов, но не дающие стимула, достаточного для образования аппрессориев. Такое стимулирующее вещество не было точно определено, но, вероятно, оно специфично для стенок ризодермальных клеток (Nagahashi, Douds, 1997).

Невозможность достижения АМ грибами клеток ризодермы корня обычна для ряда различных мутантов нескольких видов растений, что демонстрирует наличие еще одной точки контроля взаимодействий симбионтов. У Pen$^-$ мутантов *Pisum* реорганизация цитоскелета и изменение размеров ядра происходят в меньшей степени, чем у растений дикого типа (Berta et al., 1991; Sgorbati et al., 1993). У мутанта *Ljsym4–2* (Pen$^-$), цитоскелет дезорганизован и до и во время попыток внедрения гриба. Клетки утрачивают актин и тубулин, цитоплазма приходит в хаотическое состояние, и клетки погибают (Bonfante et al., 2000; Genre, Bonfante, 2002). В то же время внедряющаяся гифа может утолщаться, образуя пузыревидные структуры, которые наблюдались при взаимодействиях с несколькими видами растений (см. рис 3.7В), но затем также отмирает. АПП, способствующий проникновению гиф через ризодермальные клетки, не образуется у мутантов *Mtdmi2* (Genre et al., 2005). У *Lotus japonicus* мутация *Ljsym-15* одного из общих SYM генов, полностью предотвращает проникновение *Glomus intraradices* между клетками ризодермы, вход в экзодерму или кору или внутриклеточное развитие. Однако гриб дает ответную реакцию на присутствие корня в виде образования обильных поверхностных гиф и слабо утолщенных аппрессориев (Demchenko et al., 2004; Kistner et al., 2005). Подобный тип развития обнаружен также у некоторых других Pen$^-$ мутантов, например, у *dmi2 Medicago truncatula* (Calantzis et al., 2001). У *Lotus japonicus* мутации общих SYM генов SYMRK (*Ljsym2/Ljsym21*), CASTOR (*Ljsym4*), POLLUX (*Ljsym22*), *Ljsym3*, *Ljsym6* и *Ljsym24* позволяет несколько более глубокое проникновение гриба, так как пузыревидные структуры формируются в ризодерме и экзодерме (Wegel et al., 1998; Novero et al., 2002; Demchenko et al., 2004; Kistner et al., 2005). Тем не менее, внедрение в кору обычно блокируется (Coi$^-$), возможно, за счет гибели растительных клеток и/или включения защитных систем, как показано для мутаций CASTOR (*Ljsym4*) (Bonfante et al., 2000) и некоторых *rmc* взаимодействий у томата (Gao et al., 2004), соответственно. Несмотря на эти общие закономерности, иногда АМ грибы, колонизирующие мутантные растения, достигают коры и образуют арбускулы, хотя и медленнее, чем в растениях дикого типа. Единственный пример мутаций, регулярно блокирующих колонизацию коры и формирование арбускул (arb$^-$) полностью, это CASTOR (*Ljsym4*) и *Ljsym15*. Про *Ljsym15* мало что известно помимо указанного влияния на колонизацию, но о функционировании других генов информации существенно больше. Она частично получена в параллельных исследова-

ниях *Medicago truncatula* и *Pisum sativum,* направленных на выяснение роли этих генов в пути развития АФС (рис. 3.8). Группа из по меньшей мере семи общих SYM генов активно участвует в сигнальной системе на ранних стадиях формирования АМ, в том числе, ген рецептор-подобной киназы, выделенный из нескольких видов бобовых (NORK, SYMRK/DMI 2/PsSYM19), который расположен слева от гена каналообразующего белка (DMI1/POLLUX/CASTOR) и кальмодулин-киназы (DMI3, PsSYM19 и PsSYM30) (Harrison, 2005; Kistner et al., 2005). В АФС эти гены участвуют в изменении кальциевого статуса корневых волосков (отток кальция или кальциевый пик) в ответ на сигналы nod факторов, выделяемых бактерией.

По аналогии с АФС, участие этих генов подразумевает, что кальций может являться ключевым вторичным мессенджером в сигнальном каскаде на ранних стадиях АМ симбиоза, и что «myc факторы», образуемые АМ грибами, могут быть важны в запускании ответных реакций (Ané et al., 2004; Levy et al., 2004; Bersoult et al., 2005; Harrison, 2005; Oldroyd et al., 2005). Тем не менее, расположение CASTOR и POLLUX в пластидах нуждается в объяснении, хотя есть предположение о роли пластид как депо кальция (Imaizumi-Anraku et al., 2005). Пластиды также активно участвуют в контроле над изменениями метаболизма каротиноидов, происходящими во время цикла развития арбускул. Как возможно связанные с кальцием сигналы принимаются и расшифровываются, способствуя развитию АМ, еще предстоит выяснить. Общие SYM гены при АФС расположены справа от генов рецептора nod фактора (*NFR1* и *NFR5*). Мутации NFR генов не затрагивают АМ колонизацию, что показывает их непричастность к узнаванию предполагаемых «myc факторов» (см. ниже). Существование «myc факторов» и их рецепторов следует из изменений экспрессии других связанных с образованием микоризы генов, но что они собой представляют, до сих пор неизвестно.

Когда АМ гриб попадает в кору корня, он может развиваться в межклеточных пространствах, образуя простые гифы с внутриклеточными арбускулами (*Arum*-тип АМ), или расти напрямую от клетки к клетке, образуя внутриклеточные гифальные и арбускулярные клубки (*Paris*-тип АМ) (см. гл. 2). Взаимодействия с мутантами были детально изучены только для *Arum*-типа. В этом случае образование арбускул в *Lotus japonicus* блокировалось мутациями CASTOR (*Ljsym4*). Аллель этого гена *Ljsym4–1* часто допускает межклеточную колонизацию коры, но арбускулы никогда не образуются. Это предполагает, что мутации предотвращают внутриклеточное развитие или в коре, или (в случае *Ljsym4–2*) в ризодерме или экзодерме. Мутант *Pisum sativum* по *RisNod24* позволяет внутриклеточную колонизацию коры корня, но гриб не образует полноценных арбускул (ard$^-$), а также ослаблен рост свободного мицелия (Gianinazzi-Pearson et al., 1996; Kling et al., 1996). Этот тип взаимодействий, отличный от того, который имеется у дикого типа *P. sativum*, был исследован для выявления генов, экспрессия которых связана с развитием арбускул (Grunwald et al., 2004). Генетический контроль растения за образованием арбускул также подтверждается данными о том, что у мутантов *Medicago truncatula* и *Pisum sativum* со сверхпродукцией клубеньков (Morandi et al., 2005) и мутанта кукурузы *Pram1* (Paszkowski et al., 2006) развитие арбускул усилено. Значительные усилия в работе с бобовыми были приложены для минимизирования возможности того, что изменения в росте корня в ответ на проникновение гриба являются основной причиной наблюдаемого усиления колонизации (см. гл. 2). Предположение о взаимосвязи между сверхпродукцией клубеньков и АМ колонизацией было сделано в исследовании сои, в котором также была выявлена связь наблюдаемых эффектов с гормонами растения (Meixner et al., 2005).

Еще большее количество мутантов с дефектным образованием АМ было создано или обнаружено при помощи таких подходов как RNAi (RNA interference, интерференция РНК) и TILLING (target-induced local lesions in genomes, индуциро-

ванные мишенью локальные повреждения генома). Нокаут- или нокдаун-мутации, затрагивающие регулируемые АМ фосфатные транспортеры *MtPT4* (из *Medicago truncatula*), *LePT4* (*Solanum lycopersicum*) и *LjPT3* (*Lotus japonicus*), первоначально были использованы для изучения роли этих переносчиков в транспорте фосфата от гриба к растению (Nagy et al., 2005; Maeda et al., 2006; Javot et al., 2007; см. гл. 5). Однако и у *M. sativa*, и у *L. japonicus* мутации повлияли на колонизацию корней грибами, особенно, на развитие арбускул. В настоящее время о механизмах, обусловливающих эти эффекты, можно только строить догадки.

Роль грибного партнера в обмене сигналами при развитии АМ изучена в меньшей степени. В немногочисленных исследованиях фенотипа мутантных растений в основном использовали *Glomus intraradices* и *G. mosseae*. Однако работа с томатом (*Solanum esculentum*) с применением большого количества разных видов грибов показала, что мутант по *rmc* может демонстрировать по меньшей мере три типа развития, в том числе pen^- и coi^- (отсутствие колонизации коры), а также полностью функциональный симбиоз myc^+. Два первые фенотипа весьма сходны с таковыми у *Lotus japonicus* и *Medicago truncatula*, управляемыми различными мутациями растения, где гриб или блокируется на поверхности (см. рис 3.7Г), или формирует вздутые структуры в клетках ризодермы или экзодермы (см. рис 3.7В) (Barker et al., 1998a; Gao et al., 2001; M. Manjarrez, неопубликованные данные). Хотя томат образует микоризы и *Arum*- и *Paris*-типа (см. гл. 2), не показана корреляция между фенотипами мутанта и дикого типа при взаимодействии с разными видами грибов. Фенотип myc^+ у этого в остальном дефектного по микоризообразованию мутанта был получен в присутствии единственного изолята *Glomus intraradices* WFVAM23. У него образовались нетипичные структуры для внедрения, развитие в коре протекало очень медленно, но сформировались полноценные арбускулы, и были отмечены экспрессия генов индуцируемых микоризой транспортеров фосфора и транспорт этого элемента в растение из свободного мицелия (Gao et al., 2001; Poulsen et al., 2005). Кроме того, замедленная, но типичная колонизация, следующая за развитием необычно толстых аппрессориев, наблюдалась у нескольких мутантов *Medicago truncatula*, включая *Mtdmi2*. Функциональность подобных «замедленных» арбускулярных микориз пока не была исследована.

В целом, полученные данные свидетельствуют о наличии контроля каждого из этапов развития симбиоза в определенных слоях клеток корня. Различная способность грибов проходить через эти «контрольно-пропускные пункты» демонстрирует возможную специфичность и сложность АМ симбиозов, что отражает также ситуацию в АФС. Самые ранние этапы передачи информации между партнерами, вероятно, различны в двух типах симбиоза (см. рис. 3.8), но вполне возможен параллелизм линий передачи сигнала, приводящих к общим рецепторам.

Сигналы между симбионтами в арбускулярной микоризе

Стремительно нарастает количество свидетельств важности обмена сигналами между симбионтами АМ во время формирования микоризы, и было показано, что имеется несколько уровней сигнальных систем. Хотя большинство работ указывает на то, что экссудаты растений не обязательны для прорастания спор АМ грибов, есть несколько сообщений о стимулирующем действии корневых экссудатов совместимых АМ видов (Graham, 1982; Gianinazzi-Pearson et al., 1989; David-Schwartz et al., 2001) и отрицательном влиянии немикоризных растений, таких как крестоцветные (Tommerup, 1984c; Vierheilig, Ocampo, 1990a; Schreiner, Koide, 1993a, b). Действующие вещества не были выявлены, но могут включать флавоноиды, CO_2 и стриголактоны (Gianinazzi-Pearson et al., 1989; Bécard et al., 1992, 1995; Chabot et al., 1992; Besserer et al., 2006).

Явно продемонстрировано, что после прорастания пресимбиотический рост и ветвление мицелия стимулируется сигналами, поступающими от корней широкого круга растений-хозяев (см. гл. 2, рис. 2.7А, табл. 3.1). Фактор ветвления (BF), выделенный из *L. japonicus,* недавно был очищен и идентифицирован как стриголактон, 5-деокси-стригол (Akiyama et al., 2005). Это соединение принадлежит к группе сесквитерпенов лактонов, ранее известных как стимуляторы прорастания семян корневых паразитов *Striga* и *Orobanche*. Были отмечены параллели между АМ симбиозом и паразитическими взаимоотношениями *Striga* (Koide, Schreiner, 1992). Недавно полученные весьма интересные данные предполагают, что коммуникация между этими растениями-паразитами и их хозяевами может служить еще одним примером заимствования появившейся раньше стратегии АМ. В любом случае, не только 5-деокси-стригол, но также и другие природные стриголактоны и их синтетические аналоги активно стимулируют ветвление проростковых трубок у *Gigaspora margarita* при очень низких, хотя и различных концентрациях. Таким образом, вполне возможно, что целый ряд близких по составу соединений может принимать участие в обмене сигналами между растением и АМ грибом, и что различия как в активности, так и в чувствительности, могут играть роль в избирательности в отношении партнера по симбиозу.

Исследование влияния корневых экссудатов АМ растений из нескольких семейств, а также очищенных веществ позволило выявить, что для индуцирования ветвления мицелия и сопровождающего его деления ядер достаточно очень низкой концентрации. Экссудаты несовместимых растений из семейств Brassicaceae и Chenopodiaceae не оказывали никакого влияния (Buee et al., 2000). И экссудаты из органной культуры корней моркови, и стриголактоны сами по себе индуцировали транскрипцию грибных генов, участвующих в дыхательной цепи и регуляции митохондриальной активности, в течение 0,5–1,0 ч после применения. Это влекло за собой изменения физиологии, связанные с расходом кислорода и восстановлением тетразолиевых солей через 1,5–3 ч, и морфологии и расположения митохондрий через примерно 4 ч. Первые морфологические изменения в ветвлении были отмечены через 5 ч после применения экссудатов (Tamasloukht et al., 2003; Besserer et al., 2006). В других работах также подчеркиваются существенные изменения грибного симбионта в ответ на внесение корневых экссудатов или экстрактов, в том числе, очень быстрое снижение мембранного потенциала (Ayling et al., 2000), относительно медленное повышение pH цитоплазмы (Jolicoeur et al., 1998) и отчетливую модификацию актиновых филаментов во вновь образованных сильно разветвленных гифах (Åström et al., 1994). Предполагают также изменение процессов мембранного транспорта, который у проростковых трубок, возникающих из спор, может быть еще не вполне эффективным. В некоторых ранних исследованиях, изучавших этот вопрос, показано, что активность протон-зависимой АТФазы на грибной цитоплазматической мембране очевидно зависит от колонизации (Lei et al., 1991; Thomson et al., 1990b). Позднее Н. Рикена с соавт. обнаружили изменения в экспрессии генов, кодирующих протон-зависимую АТФазу гриба, заключающиеся в мощной индукции *GmHA5* по мере развития аппрессориев и сопутствующую понижающую регуляцию гена *GmPMA1*, активно экспрессирующегося в пресимбиотических гифах (Requena et al., 2003). Ветвление сопровождается заметными изменениями метаболической активности, что связано с переходом в состояние готовности к колонизации. Отмечена также очень интересная взаимосвязь между увеличением поступления фосфора к растению и снижением образования фактора ветвления (BF) и колонизации (Tawaraya et al., 1996). Очень заманчивым возможным объяснением физиологических и морфологических модификаций является образование «myc факторов», которые сигнализируют о присутствии гриба, способного к колонизации корня (рис. 3.8).

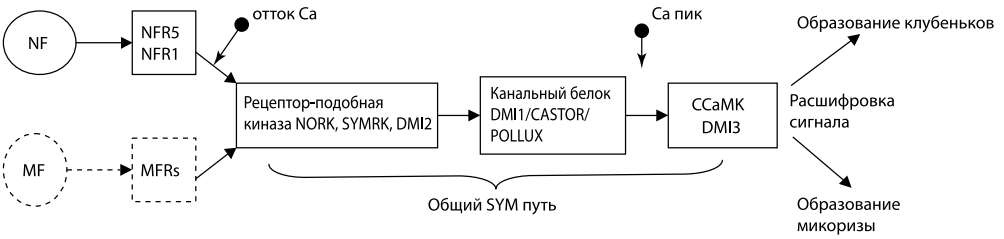


Рисунок 3.8. Схематическое изображение предполагаемых путей передачи сигнала в арбускулярно-микоризном и азотфиксирующем симбиозах, отражающее черты общего SYM пути. Предполагаемые «myc факторы» (MF) и рецепторы myc факторов (MFR) отмечены пунктиром. Показано значение кальциевого статуса для АФС, но не для АМ взаимоотношений. Из Oldroyd et al., 2005.

«Myc факторы», выделяемые АМ грибами не были идентифицированы, но свидетельства их существования накапливаются, и показано, что они могут быть задействованы на нескольких этапах колонизации. Используя модель *pMtENOD11*–GUSA, С. Косута с соавт. продемонстрировали, что способные к диффузии факторы из пресимбиотического мицелия четырех видов АМ грибов индуцировали повышающую регуляцию гена в коре *Medicago truncatula* дикого типа (Kosuta et al., 2003). Сходные результаты были получены для трех nod^-/myc^- мутантов (*dmi1*, *dmi2* и *dmi3*), у которых АМ колонизация останавливается на стадии образования аппрессориев. Все три мутанта не дают ответную реакцию на nod факторы, продуцируемые ризобиями, следовательно, эти данные представляют важное свидетельство того, что АМ и АФС пути не полностью перекрываются (см. рис. 3.8).

Образование аппрессориев в ризодерме корня — следующий этап, на котором происходят явственные изменения морфогенеза у гриба (Giovannetti, Sbrana, 1998). Стимул в этом случае также неизвестен, но, вероятно, он связан с химическими сигналами ризодермы корня (см. гл. 2). Происходящий контакт индуцирует образование АПП у *Medicago truncatula* дикого типа, но не у мутантов *dmi2* или *dmi3*. Проникновение в ткани и формирование и функционирование характерных внутриклеточных структур, особенно арбускул, требует продолжения обмена сигналами. В клетках коры корня, содержащих арбускулы или гифальные клубки, происходит локальная индукция генов протон-зависимой АТФазы, транспортеров фосфора и некоторых других (Gianinazzi-Pearson et al., 2000; Rausch et al., 2001; Harrison et al., 2002; Karandashov et al., 2004; Glassop et al., 2005) (см. гл. 5). В некоторых случаях для внедрения в ткань коммуникация не требуется, так как изменения цитоскелета наблюдаются в клетках коры, не содержащих грибные структуры, а просто находящихся рядом с колонизированными клетками или межклеточными гифами (Blancaflor et al., 2001). Таким же образом два гена (*MtScP,* серин-карбоксипептидаза и *MtGst,* глутатион-S-трансфераза) экспрессируются в неколонизированных клетках, соседних с инфицированными участками (Liu et al., 2003; Wulf et al., 2003). Эти данные не только предполагают наличие сигнальных систем, в которых могут принимать участие молекулы, образуемые грибом как таковым или колонизированными клетками, но также показывают активную роль цитоскелета, способствующего внутриклеточному проникновению. Обмен сигналами в растении на больших расстояниях показан на примере изменения экспрессии *Mt4*, гена, на который путем понижающей регуляции влияет АМ колонизация и фосфат (P). С использованием разделенной корневой системы было продемонстрировано снижение экспрессии как в колонизированной, так и в свободной части корня, что подразумевает на-

личие обмена сигналами на длинных дистанциях через побег (Burleigh, Harrison, 1999). Образование аппрессориев на ризодерме Pen- мутанта *Medicago sativa* оказалось достаточным для генерации сигнала. На передачу сигналов на большие расстояния в корнях также указывает частичная авторегуляция степени АМ колонизации, осуществляемая побегом растения (Vierheilig, 2004a; Meixner et al., 2005), и перенос системной приобретенной устойчивости к *Phytophthora parasitica* в томате от колонизированных *Glomus mosseae* участков корня (Cordier et al., 1998). Природа и происхождение подобных сигналов неизвестна ни в одном из упомянутых случаев.

Изменение транскрипции генов в процессе арбускулярно–микоризной колонизации

Растение

Гипертрофия растительного ядра, усиление окрашивания DAPI и восприимчивость к разрушению ДНКазами издавна считались свидетельствами того, что колонизация индуцирует ускорение генной транскрипции в АМ корнях, что ведет к увеличению накопления мРНК (Schellenbaum et al., 1993; Franken, Gnädinger, 1994; Murphy et al., 1997). Можно ожидать, что подобные изменения дают значительное повышение активности колонизированных клеток, связанной с пролиферацией органелл, модификацией поведения пластид и другими событиями в цитоплазме, выявленными с помощью электронной микроскопии и наблюдений за цитоскелетом растительной клетки. Изменения в экспрессии определенных генов в процессе развития АМ были впервые изучены с использованием таких методов, как дифференциальный скрининг библиотек цДНК и ПЦР (Lapopin, Franken, 2000), в том числе ПЦР в реальном времени (RT-PCR), *in situ* гибридизации и других техник для определения и локализации генной экспрессии. Подходы, использующие мишени, были разработаны для выявления АМ симбиотических активностей, которые, как показывают данные, полученные другими методами, являются важными аспектами грибо–растительных взаимодействий. Они включают исследование защитных реакций растения, процессов мембранного транспорта и сходства с образованием клубеньков при АФС. Методы без мишеней применяют для изучения изменений генной экспрессии, которые не могут быть предсказаны по результатам предыдущих работ, и для идентификации специфичных для АМ генов. Оба типа исследований привели ко многим открытиям и некоторым «сюрпризам» (см. табл. 3.1), которые обсуждаются ниже, а в случае транспорта питательных веществ — в гл. 4 и 5. На многие выявленные в ранних исследованиях гены, регулируемые АМ симбиозом, влияют также и другие факторы, например, P, образование клубеньков или внедрение патогенов. Несколько связанных с АМ генов, как было показано, могут участвовать в специфичном контроле симбиотического развития. Тем не менее, в ранних работах по скринингу библиотек цДНК могли быть пропущены симбиоз-специфичные представители многочисленных семейств генов из-за того, что использованные образцы не обладали необходимой специфичностью.

Были идентифицированы гены, экспрессия которых меняется на определенных этапах колонизации, в том числе, ряд генов, связанных с образованием аппрессориев, которые, наряду с клеточными функциями, могут быть вовлечены в обмен сигналами (Weidmann et al., 2004). Несколько генов ранней стадии образования клубеньков индуцируются в АМ корнях бобовых, в том числе, *MtENOD11*, который участвует в ответных реакциях на сигналы АМ грибов (Kosuta et al., 2003), а так-

же индуцируется во время формирования арбускул (van Rhijn et al., 1997; Albrecht et al., 1998; Journet et al., 2001), демонстрируя уже отмеченное перекрывание двух симбиотических программ. Также на стадии арбускул отмечена кратковременная экспрессия генов из семейств, впервые выявленных при ответных реакциях на фитопатогены, но отсутствуют доказательства того, что функцией этих генов является защита от АМ грибов (Harrison, Dixon, 1994; Salzer et al., 2000; Bonanomi et al., 2001; Brechenmacher et al., 2004; Elfstrand et al., 2005). Индуцируемые АМ транспортеры и протон-зависимые АТФазы локализованы на мембранах растения, окружающих гифальные клубки и арбускулы в клетках коры (Rausch et al., 2001; Gianinazzi-Pearson et al., 2000; Harrison et al., 2002; Paszkowski, Boller, 2002; Karandashov et al., 2004; Glassop et al., 2005). У. Грюнвальд с соавт. идентифицировали еще семь генов, экспрессия которых связана с арбускулами, методом запрещающей субтрактивной гибридизации (SSH) с использованием *Pisum sativum* дикого типа и ard$^-$ мутанта *RISNod24* (Grunwald et al., 2004). Помимо генов, участвующих в клеточных функциях, для которых в подобных активных клетках можно ожидать повышающую регуляцию, и одного гена, связанного с модификациями клеточной стенки и также экспрессирующегося в инфекционных нитях ризобий, еще один принимал участие в регуляции клеточного цикла, и несколько — в ответе на стресс. Неожиданностью оказалась экспрессия в АМ корнях генов растительного гемоглобина, обычно встречающихся в АФС клубеньках и считающихся важным элементом для поступления кислорода к бактероидам (Fedorova et al., 2002; Vieweg et al., 2004, 2005). Роль растительного гемоглобина в клетках, содержащих арбускулы, как предполагается, заключается в утилизации NO и, таким образом, подавлении защитных реакций в клетках (Uchiumi et al., 2002; Vieweg et al., 2004). Более полная и подробная картина изменений процессов транскрипции во время формирования АМ симбиоза начала складываться в результате масштабных исследований с применением запрещающей субтрактивной гибридизации (SSH), анализа макро- и микроматриц (microarrays) ДНК и других методов, выявляющих различия в экспрессии больших наборов генов (Gianinazzi-Pearson, Brechenmacher, 2004). Цель работы заключалась в идентификации АМ-специфичных генов, а также генов, общих для АФС и АМ, ответственных за фосфорное питание и взаимоотношения растения с патогенными грибами. В общих чертах представление было получено, но для уточнения роли в симбиотических процессах индивидуальных АМ-регулируемых генов необходим более детальный анализ. Полученные результаты подтверждают, что происходит серьезная перестройка транскрипционной программы, и намечают направления, в которых необходимо вести дальнейшие исследования. При выборе представителей семейства бобовые *Medicago truncatula* и *Lotus japonicus* в качестве модельных объектов открылись широкие возможности для изучения симбиотической генной экспрессии. Несмотря на то, что геном ни одного из этих видов не был секвенирован полностью, доступно огромное количество информации. До настоящего времени глобальные транскриптомные подходы были сфокусированы в основном на *M. truncatula* (Journet et al., 2002; Liu et al., 2003, 2004; Wulf et al., 2003; Hohnjec et al., 2005), но также проводилось изучение *L. japonicus* (Kistner et al., 2005) и риса (Güimil et al., 2005). В целом, примерно от 1 до 4% экспрессирующихся растительных генов, как выяснилось, различным образом регулируется АМ симбиозом, чаще повышающим, чем снижающим их транскрипцию. При анализе доступных данных для *M. truncatula* методом учета маркерных экспрессирующихся последовательностей (EST) была выявлена группа генов, которая с некоторой долей уверенности может быть отнесена к генам с АМ-повышающей регуляцией, а, следовательно, участвующим в симбиотических программах АМ (Journet et al., 2002). Среди генов, функции которых можно предполагать, многие связаны с синтезом и процессингом белков, первичным метаболизмом, ответом на абиотические

стимулы и защитными реакциями. Затруднения, возникающие при *in silico* исследованиях, мешают сделать однозначные выводы, но в ходе анализа были предсказаны изменения в экспрессии генов фосфатного транспортера и MIP-белка (membrane intrinsic protein, внутренний мембранный белок), которая, как уже было продемонстрировано с помощью других методов, регулируется в АМ корнях, что подтверждает корректность метода. В последующих работах для идентификации связанных с АМ генов была использована комбинация *in silico* анализов, микроматрицы и SSH, в совокупности с количественным методом ПЦР в реальном времени и/или анализами экспрессии в тканях. Во всех случаях выявлялось значительное количество подобных генов, включая ряд таких, которые ранее не ассоциировались с АМ симбиозами и, следовательно, являются потенциально АМ-специфичными или связаны с неожиданными функциями, а также группы генов, функции которых известны. Для генов, кодирующих ионные и сахарные транспортеры, регулярно отмечалась повышающая регуляция, особенно для индуцируемых АМ генов Р транспортеров *MtPT4* и *OsPT11*, а также для второго Р транспортера у риса (*OsPT13*) и переносчиков нитрата, аммония и сахара *M. truncatula*. Другие часто отмечаемые группы включают лектины, гены, связанные с сигнальным обменом и защитными реакциями, а также симбиотические гены.

К настоящему времени только в одном исследовании проведено прямое сравнение транскрипционных профилей растения (*M. truncatula*), инокулированного двумя видами АМ грибов (Hohnjec et al., 2005). Как и следовало ожидать, между профилями существовало значительное перекрывание, но также и некоторые интересные отличия, включая степень понижающей регуляции Р транспортеров *MtPT1* и *MtPT2*. Это наблюдение можно объяснить различиями во вкладе прямого и опосредованного АМ путей поглощения Р, но, к сожалению, в статье не описаны ростовые ответы растения и влияние поступления Р, которые могли бы пролить свет на физиологическое значение различий в генной экспрессии. Профили транскрипции применяются все более широко, и сопутствующие физиологические исследования растительного материала стандартными методами должны стать обычной практикой обеспечения важного функционального контекста для интерпретации транскрипционных изменений.

Единственное растение, к настоящему моменту использованное в исследованиях АМ транскрипционных профилей, не принадлежащее к бобовым, это рис. Его геном полностью секвенирован, поэтому возможно сравнить экспрессию генов в АМ взаимоотношениях с таковой при контакте с двумя видами фитопатогенных грибов, также принимая в рассмотрение различия, на которые может влиять фосфорное питание (Güimil et al., 2005). Было обнаружено много общего у трех программ развития, причем в большей степени для АМ и взаимодействий с гемибиотрофом *Magnoporthe grisea*, чем с некротрофным *Fusarium moniliforme*. Предполагается, что общие гены участвуют в поддержании совместимости гриба и растения. Эта проблематика может быть очень интересной и привести к лучшему пониманию механизмов, обеспечивающих совместимость в грибных симбиозах в целом. Как и ожидалось, также была обнаружена некоторая взаимосвязь между ответной реакцией на внесение Р и АМ колонизацией. Новаторским аспектом в этой работе было выявление того, что 34% ассоциированных с АМ генов были связаны с АМ также и у двудольных. Это подтверждает предположение, что ответные реакции сохранились одинаковыми у обоих классов покрытосеменных растений, но есть свидетельства дивергенции в ходе эволюции цветковых. К примеру, промоторные участки АМ-индуцируемых генов транспортеров Pht1 у двудольных томата (*StPT3*) и люцерны (*MtPT4*) запускали экспрессию GUS у групп двудольных Asteridae и Rosidae, но промотор из риса (*OsPT11*) не был способен к этому (Karandashov et al., 2004; Karandashov, Bucher, 2005). Предполагаемые регуляторные элементы в промотор-

ных участках различных Pht1 генов транспортеров, а также АМ-индуцируемого гена *MtGst,* были идентифицированы, и некоторые, из них, вероятно, определяют активность корней и/или арбускулярных микориз.

Гриб

Сведения о регуляции генной экспрессии у АМ грибов более скудны. Предпринят проект секвенирования генома *Glomus intraradices*, что значительно пополнит имеющиеся данные (Martin et al., 2004). Как и в случае растений, были применены подходы, использующие или не использующие мишени. С применением мишеней была выявлена экспрессия генов, участвующих в мембранном транспорте и минеральном питании, в том числе, генов фосфатных транспортеров *GvPT*, *GiPT* и *GmosPT* (Harrison, van Buuren, 1995; Maldonado-Mendoza et al., 2001; Benedetto et al., 2005), протон-зависимых АТФаз (Ferrol et al., 2000; Requena et al., 2003), нитратредуктазы (Kaldorf et al., 1998; Hildebrandt et al., 2002), кислых и щелочных фосфатаз (Aono et al., 2004; Ezawa et al., 2005), а также генов, участвующих в углеродном метаболизме (Franken et al., 1997; Harrier et al., 1998; Lammers et al., 2001) и цитоскелетной активности (Bonfante et al., 1996; Bütehorn et al., 1999; Delp et al., 2003). Методами, не использующими мишени, как и для растительных партнеров, идентифицированы гены с неизвестными функциями, а также гены, предполагаемо отвечающие за основной метаболизм, сигнальный обмен, цитоскелетную активность и клеточный цикл (Sawaki, Saito, 2001; Jun et al., 2002). Для некоторых из них, включая гены протон-зависимых АТФаз (Requena et al., 2003) супероксиддисмутазы (Lanfranco et al., 2005) и ряда генов с возможными регуляторными или сигнальными функциями (Requena et al., 1999, 2002; Delp et al., 2003), была показана различная регуляция на разных стадиях симбиоза. Случайным секвенированием инсертов из библиотеки цДНК прорастающих спор *G. intraradices* были созданы маркерные экспрессирующиеся последовательности (EST), возможно, кодирующие белки с широким набором функций, в том числе опять же связанные с транспортом и метаболизмом, цитоскелетной активностью и клеточным циклом и функционированием ядра. С использованием метода SSH для подготовки библиотеки цДНК, обогащенной генами, для которых показана повышающая регуляция во время образования аппрессориев, было выявлено, что 63% из них не имеют известных гомологов и, следовательно, должны быть специфичны для АМ симбиоза (Breuninger, Requena, 2004). Также были обнаружены гены, общие с теми, которые участвуют в других растительно-микробных взаимодействиях, в том числе, предположительно ассоциированные с Ca^{2+}-передачей сигналов, обнаруженные при образовании клубеньков. Вероятно, вскоре последует лавина информации, и интеграция данных будет способствовать пониманию вклада грибного партнера в развитие и функционирование АМ симбиоза.

Протеомика

Генная экспрессия представляет собой только один шаг к выявлению того, как процессы, происходящие у грибного и растительного партнеров, программируются в АМ симбиозе. Для окончательного анализа требуется изучение того, что происходит с синтезом и локализацией белков, регуляцией метаболизма и физиологией растения в целом. Белковые профили — важный шаг в этом направлении, этот метод применялся в целом ряде исследований. При анализе состава растворимых белков (Pacovsky, 1989; Arines et al., 1993; Schellenbaum et al., 1993; Dumas-Gaudot et al., 2004) выявлено образование в АМ корнях новых полипептидов, и некоторые из них явно были грибной природы, в то время как другие представляли собой растител-

ные белки, относящиеся к определенной стадии колонизации. Позднее, благодаря появлению более чувствительных методов, были разработаны подробные протеомические подходы (Bestel-Corre et al., 2004; Canovas et al., 2004). Пока существенный прогресс не был достигнут, но в ближайшем будущем такого рода исследования могут стать важным дополнением как к генетическим, так и к хорошо разработанным физиологическим методам.

Влияние колонизации арбускулярно–микоризными грибами на защитные реакции растения

В течение многих лет интерес исследователей вызывали причины, по которым АМ грибы, имеющие так много общего с повреждающими растения патогенами, не запускают у хозяев защитные реакции. Конечно, грибы не растут в корнях неограниченно, они следуют четко запрограммированными путями через ризодерму, субризодерму и клетки коры, никогда не внедряясь в стелу. Сравнение защитных реакций растения при взаимодействии с биотрофными паразитами и АМ грибами позволило получить некоторые весьма важные данные. Следует понимать, что, хотя совместимые взаимоотношения двух указанных типов на первый взгляд сходны, между ними имеются существенные различия. При АМ взаимодействиях с растениями-хозяевами дикого типа единственным примером утраты биотрофного статуса является регулярно происходящая деградация арбускул (см. гл. 2); именно гриб в этом симбиозе разрушается и погибает. Напротив, в биотрофных симбиозах с фитопатогенными грибами отмирает растительная клетка, или быстро, в ходе реакции сверхчувствительности, или более медленно при совместимых взаимоотношениях. АМ симбиозы схожи, скорее, с совместимыми биотрофными взаимодействиями, но проводить прямые аналогии следует очень осторожно. Тем не менее, АМ симбиозы представляют собой базовое состояние совместимости между грибом и растением, которое, возможно, лежит в основе всех таксон-специфичных механизмов устойчивости. Имея столь древнее происхождение, АМ симбиозы обладают системами узнавания и передачи сигналов, которые могли предшествовать эволюции специфичных механизмов устойчивости растений к болезням, которые так хорошо изучены у покрытосеменных. Это предположение подтверждает перекрывание генетических программ, наблюдаемое на примере риса при взаимодействии с АМ грибом и двумя корневыми патогенами (Güimil et al., 2005). Прогресс в изучении сигнальных систем в АМ симбиозе наряду с идентификацией молекул-рецепторов, вероятно, даст возможность для прямого сравнения программ, включающих одновременно устойчивость и совместимые ответные реакции, запускаемые биотрофными патогенами. Тем не менее, для мутантных растений с различными нарушениями АМ колонизации к настоящему времени не было показано исключение или снижение возможности инфекции какими-либо патогенами, атакующими корни, в том числе галловыми нематодами, *Rhizoctonia solani*, двуядерными ризоктониями, *Fusarium oxysporum* и луковичными или картофельными тлями (David-Schwarz et al., 2001; Morandi et al., 2002; Barker et al., 2005; Gao et al., 2006). Напротив, было показано, что мутант томата *rmc* более восприимчив к *F. oxysporum* f. *lycopersici* и способствует более активному размножению нематоды *Meloidogyne incognita*, чем дикий тип (Barker et al., 2005). Заманчивые предположения о сходстве генетических программ АМ колонизации и развития галловых нематод нуждаются в подтверждении (Tahiri-Alaoui, Antoniw, 1996). Кроме того, мутации общих симбиотических генов у *Lotus japonicus* не влияли на инфекцию побегов биотрофным патогеном *Uromyces loti* (Mellersh, Parniske, 2006).

В АМ симбиозах, очевидно, возникают кратковременные защитные реакции, но позже они подавляются. При типичных АМ взаимодействиях не происходит серьезных изменений в синтезе лигнина или каллозы у растительных клеток. Меняется вторичный метаболизм, в том числе синтез флавоноидов, но в меньшей степени, чем при внедрении патогенов. В отношении транскрипции и активности были исследованы ферменты фенилпропаноидного пути, в особенности, у бобовых. Во время АМ развития у *Medicago* и *Phaseolus* отмечена ранняя стимуляция как транскрипции, так и активности фенилаланин-аммонийлиазы (ФАЛ), халконсинтазы (ХС) и изофлавонредуктазы (ИФР). У *Medicago* также наблюдалось усиление транскрипции халконизомеразы (ХИ) (Harrison, Dixon, 1993; Lambais, Mehdy, 1993; Volpin et al., 1994, 1995). У *M. sativa* увеличение активности ФАЛ и ХС кратковременно (Volpin et al., 1994), но у *M. truncatula* накопление ФАЛ и ХС транскриптов поддерживается на уровне, в 1,75 и 2,25 раз превышающем неинокулированный контроль, однако, количество транскриптов ИФР снижается. Эти изменения несравнимы с таковыми при взаимоотношениях с патогенами, но отмечаются регулярно. Транскрипция ИФР коррелирует с изменениями в накоплении фитоалексина медикарпина и, вероятно, свидетельствует о защитных реакциях микоризных растений, которые не наблюдаются у nod$^-$myc$^-$ генотипа *M. sativa* (Harrison, Dixon, 1993). У *Glycine max* отмечено небольшое увеличение образования глицеоллина после инокуляции видами *Glomus*, но оно либо происходит очень медленно, либо незначительно превышает уровень неинокулированного контроля (Morandi et al., 1984; Wyss et al., 1991). Следует помнить, что значения усреднены между разными типами клеток корня, и не все из них демонстрируют повышение уровня транскриптов. Остается невыясненным, индуцируют ли АМ грибы те же семейства генов, что и патогены, и одинаковы ли функции этих генов.

При *Arum*-типе взаимодействий у *M. truncatula* и *Phaseolus vulgaris*, с помощью *in situ* гибридизации показано, что увеличение количества связанных с защитными реакциями мРНК ассоциировано с клетками, содержащими арбускулы, что, возможно, указывает на локальный ответ на стресс или на наличие механизма, контролирующего или даже обусловливающего внутриклеточную колонизацию (Harrison, Dixon, 1994; Blee, Anderson, 1996). В случае межклеточных гиф подобный эффект не отмечен. Связанная с формированием арбускул экспрессия также указывает на повышающую регуляцию ряда генов, участвующих в защитных реакциях и ответе на стресс. Эти данные могут помочь в объяснении короткого жизненного цикла арбускул, но факторы, запускающие процессы, приводящие к их разрушению, неизвестны. Микоризы *Paris*-типа изучены в меньшей степени. Однако при сравнении экспрессии генов, связанных с защитными реакциями, у микориз *Arum*- и *Paris*-типа, образованных разными видами грибов у томата, был выявлен значительно более высокий уровень экспрессии в *Paris*-типе АМ, образованной *Scutellospora calospora*, сравнительно с *Arum*-типом при симбиозе с двумя изолятами *Glomus intraradices* (Gao et al., 2004). Эти результаты привели к предположению, что активное проникновение через клеточные стенки в микоризах *Paris*-типа увеличивает высвобождение фрагментов клеточной стенки, которые могут функционировать как эндогенные элиситоры. Более высокий уровень экспрессии генов, участвующих в защитных реакциях, у микориз *Paris*-типа не связан с меньшей степенью колонизации корня. Это указывает на то, что генные продукты не регулируют внедрение в кору, а их подавление, в свою очередь, не является предпосылкой успешной колонизации. Эти данные подтверждают результаты предыдущей работы, демонстрирующей, что конститутивная экспрессия нескольких генов, относящихся к защитным реакциям, не влияла на конечную степень АМ колонизации у табака (Vierheilig et al., 1995).

Расположение гликопротеинов, обогащенных гидроксипролином (HPRG), в арбускулярной зоне контакта также предполагает активацию слабых и локальных за-

щитных реакций (Bonfante-Fasolo et al., 1992). Несмотря на то, что в течение микоризной колонизации *Petroselenium crispum* наблюдалось стабильное увеличение накапливания транскриптов гена, кодирующего HPRG, предварительная *in situ* гибридизация показала, что в этом процессе задействованы ткани стелы и апекса корня, а не те клетки, в которых развиваются арбускулы (Franken, Gnädinger, 1994). У микоризованных особей этого растения, широко изучаемого в контексте взаимоотношений с фитопатогенными грибами, не обнаружено существенных изменений в накоплении фенольных соединений или транскриптов генов ФАЛ, ХС или 4-кумарат:КоА лигазы (*4CL*), или генов, кодирующих другие белки, отвечающие на обработку элиситорами из *Phytophthora megasperma* f. sp. *glycinea*, в том числе, пероксидазу.

Хитиназы и *β*-1,3-глюканазы также участвуют в ответных реакциях растений в отношении паразитов, так как пероксидаза необходима на финальных этапах отложения лигнина, что также является проявлением защитного ответа. Иногда в колонизированных АМ грибами корнях наблюдается кратковременное увеличение активности хитиназы и пероксидазы (Spanu, Bonfante-Fasolo, 1988; Spanu et al., 1989; Lambais, Mehdy, 1993; Vierheilig et al., 1994; Volpin et al., 1994; Salzer et al., 2000; Bonanomi et al., 2001; Elfstrand et al., 2005), в то время как активность *β*-1, 3-глюканаз или остается без изменений или снижается сравнительно с неинокулированным контролем (Lambais, Mehdy, 1993; Vierheilig et al., 1994). Опять же, активность этих ферментов, вероятно, не связана с контролем колонизации, так как микоризообразование у трансгенных растений *Nicotiana* с экспрессией разных форм хитиназы протекает нормально. С использованием меченых золотом антител к хитиназе показано, что у *Allium porrum* эти белки локализованы в вакуолях и межклеточных пространствах и у АМ и у немикоризных растений и никогда не связываются со стенками гиф *G. versiforme* (Spanu et al., 1989). Конечно, отсутствие реакции может объясняться тем, что хитин недоступен ферментам из-за наличия в грибных стенках других компонентов. У несовместимых растений *Brassica*, *Spinacea* и *Lupinus* в ответ на присутствие АМ грибов наблюдалось увеличение активности хитиназы и *β*-1, *3*-глюканазы, а также образование этилена, но все реакции были слабыми или кратковременными и не отличались существенно от таковых у АМ растений (Vierheilig et al., 1994). У myc^{-1} мутанта *Pisum* защитные реакции проявляются сильнее, сопровождаясь образованием фенольных соединений и каллозы, что предотвращает проникновение грибов в корень (Gollotte et al., 1993). Наличие белка, связанного с патогенезом (Pbr1), в утолщениях клеточной стенки мутантов myc^{-1} указывает на то, что активируются и прочие элементы защиты растения от патогенов (Gollotte et al., 1994). Ответные реакции, связанные с защитой, у мутанта томата *rmc* различаются при сочетании с разными видами АМ грибов. При Pen^{-} взаимодействии с *G. intraradices* у АМ гриба наблюдается низкий уровень генной экспрессии, при взаимодействии Coi^{-} фенотипа, распространение которого ограничено ризодермой и гиподермальным слоем, с *S. calospora* ответные реакции гораздо сильнее. У мутантов *L. japonicus LjSym 4* блокировка на этом этапе связана с гибелью растительной клетки, напоминающей ответ при реакции сверхчувствительности (Bonfante et al., 2000).

Таким образом, АМ колонизация вызывает не мощные ответы растения, а, скорее, слабые, кратковременные защитные реакции, которые обычно быстро подавляются. Это согласуется с наличием совместимости, постоянно наблюдаемой в арбускулярных микоризах. К настоящему времени нет свидетельств того, что отсутствие АМ колонизации у несовместимых растений обусловлено механизмами, сходными с теми, которые вызывают устойчивость к фитопатогенам. Тем не менее, небольших изменений может быть достаточно для того, чтобы дать растению «прививку», которая снизит действенность последующей атаки паразитическими гри-

бами (Cordier et al., 1998; Barker et al., 2005). Подобные механизмы могут способствовать процветанию растений как в естественных экосистемах, так и в агроценозах. Существует предположение, что АМ симбиозы возникли из паразитических взаимоотношений. Обоснование этого непонятно, особенно, при том, что ЭМ грибы, вероятнее всего, произошли от сапротрофов (см. гл. 6). Изучение эволюции АМ грибов — более сложная задача, так как у представителей отдела Glomeromycota нет близких родственных форм. Тем не менее, смена эволюционной концепции может оказаться продуктивной.

Заключение

За последнее десятилетие произошли революционные изменения в представлениях о генетической программе и контроле АМ колонизации, хотя многие подробности еще предстоит уточнить. Известно, что развитие арбускулярных микориз регулируется генами обоих симбионтов, и их слаженные действия приводят к образованию характерных биотрофных совместимых взаимодействий в АМ растениях. С помощью растущего числа мутантов возможно точно описать процесс колонизации, выявить ключевые моменты регуляции и некоторые гены, их контролирующие. В настоящее время подтверждено наличие обмена сигналами между симбионтами, особенно, на стадии, предшествующей контакту. Идентификация участвующих в нем молекул, вероятно, повлечет за собой выявление как рецепторов для этих сигналов, так и их роли в стимуляции симбиотического развития, а также избирательности или специфичности партнеров по симбиозу. У модельных объектов из бобовых было установлено сходство микоризного симбиоза с АФС, и выявлена общая генетическая программа, в которой расшифрованы некоторые функциональные элементы. Большие успехи также были сделаны в исследовании того, как изменяется генная экспрессия у обоих симбионтов; можно ожидать данные о том, какую роль играют те или иные гены, а также о сопутствующем изменении белкового синтеза, метаболизма и физиологии. Очень существенным пробелом является отсутствие информации о том, каким образом симбиоз делает возможным завершение цикла развития АМ грибов. Ответ на этот вопрос может быть связан с растительными сигналами, ведущими к изменению углеводного и липидного метаболизма.

Сейчас изучение находится на такой стадии, когда основные черты АМ симбиоза установлены, и получена общая картина взаимоотношений. В будущем важно выявить разнообразие, касающееся как структурных, так и функциональных аспектов колонизации, и установить связь этих явлений с генной экспрессией. Продолжая исследования, следует обратить особенное внимание на АМ мутации, не связанные с образованием клубеньков, и на растения, не являющиеся признанными модельными объектами как бобовые. Таким путем более вероятно обнаружить процессы и гены, уникальные для АМ симбиоза, и элементы симбиотической программы, ведущие к появлению разнообразия АМ структур, функций и специфичности. Понимание процессов регуляции структурно и функционально различных АМ симбиозов на генетическом и клеточном уровне поможет дать ответы на вопросы, связанные с их эволюцией и ролью в современных природных сообществах.

.

4
Рост и углеродный обмен между симбионтами арбускулярных микориз

Введение

Эта глава первая из двух посвященных физиологии взаимодействий между симбионтами в арбускулярных микоризах (АМ). В ней освещены основы симбиотических взаимоотношений в контексте реципрокного транспорта органического углерода (С) и питательных веществ из почвы между симбионтами, а также С баланс симбиозов и ростовые ответы растений на колонизацию АМ грибами. Представлена новая работа, посвященная С метаболизму у АМ грибов, и сделано предположение о значении мицелиальных связей между растениями, так как они влияют на разделение С между членами группы АМ растений. Взаимодействия между АМ грибами и нефотосинтезирующими (микогетеротрофными) растениями вкратце упомянуты ввиду их необычного способа С питания, более подробно эти вопросы освещены в гл. 13.

Симбиозы АМ грибов и автотрофных растений обычно считаются мутуалистическими, и в основе мутуализма лежит двунаправленный транспорт веществ между симбионтами. За исключением немногих бесхлорофилльных видов, АМ растения — автотрофы и, хотя в природных условиях они в норме колонизируются грибами, многие способны к росту при отсутствии колонизации, если доступны минеральные вещества. Такие виды считают факультативными симбионтами. Прочие, рассматриваемые как облигатные симбионты, менее способны к получению питательных веществ в безмикоризном состоянии и гораздо больше зависимы в своем благополучии от симбиоза. Все более широко выявляются различия между растениями по степени зависимости или восприимчивости к АМ грибам, таким образом, существует континуум симбиотических взаимоотношений от мутуализма до паразитизма, на положение в котором заметно влияют видовая принадлежность партнеров и условия окружающей среды (Johnson et al., 1997; Jones, Smith, 2004). Вступающие в симбиоз грибы, в отличие от растений, без исключений экологически облигатные симбионты. Нет убедительных доказательств того, что какие бы то ни было виды АМ грибов обладают достаточной сапротрофной активностью, и ограниченная способность пропагул образовывать мицелий при отсутствии симбиоза основывается на мобилизации резервов, заключенных в спорах или других пропагулах. Следовательно, АМ грибы зависят от поставляемых автотрофами продуктов фотосинтеза и, как будет описано ниже, утилизируют значительную часть ассимилируемого С. Они имеют доступ к веществам в почве, и некоторые из соединений поступают к растению-хозяину.

Простые представления о мутуализме, основанные преимущественно на оценке роста растения по вегетативной биомассе или общему поглощению питатель-

ных веществ, не учитывают ни изменений в количественном балансе транспорта веществ между симбионтами в разные периоды развития растения, ни того факта, что связанные с питанием взаимодействия в пределах разновозрастного растительного сообщества, слагаемого различными видами, могут быть очень сложными. Кроме того, эти представления игнорируют другие аспекты симбиоза, не относящиеся к питанию. Большая стабильность физико-химических условий в апопласте корня (например, водный потенциал, концентрация растворенных веществ, pH) могут делать его более благоприятным местообитанием для гриба, чем почва, даже не принимая во внимание поступление органического С. Увеличивается количество данных, что у растений АМ колонизация может повышать устойчивость к патогенам и выеданию насекомыми, а также переносимость засушливых условий. Является ли общее улучшение состояния обоих партнеров (помимо увеличения биомассы или поглощения питательных веществ) наиболее подходящим критерием для отнесения симбиоза к мутуалистическим, вопрос спорный. Грибы, очевидно, не способны завершить свой жизненный цикл без растительного партнера, а последствия АМ симбиоза для благополучия растения на протяжении всего цикла развития были изучены на очень немногих примерах. Следовательно, продемонстрировать мутуалистичность симбиоза может быть очень сложно, особенно в природных сообществах, и термин «мутуализм» следует применять с осторожностью (см. Jones, Smith, 2004). Важно, что было признано то, что значительное разнообразие восприимчивости к грибному партнеру является нормой, и предпринимаются попытки выяснить, как симбиозы действуют в природных условиях.

Вопросы, которые будут обсуждены в этой главе, преимущественно касаются транспорта органического С от растения к грибу; С метаболизма АМ грибов, области, в которой за последнее десятилетие были сделаны существенные открытия; ростовых процессов АМ растений, в особенности разделения продуктов фотосинтеза между корневой системой, побегом и грибным симбионтом; и различиям в восприимчивости растения в разных сочетаниях с микоризными грибами. Для понимания физиологических связей, в том числе ростовых ответов, необходимо наличие представлений о роли, которую играют АМ грибы в минеральном питании, а также их запросов в отношении органического С. Здесь эта тема будет затронута кратко, в подробностях интеграция процессов поглощения веществ у гриба и растения и транспорт соединений из почвы между симбионтами обсуждаются в гл. 5.

Влияние арбускулярно–микоризной колонизации на питание и рост растения

Взаимосвязь между развитием арбускулярных микориз и усилением роста хозяина была впервые установлена Т. Асаи (Asai, 1944) при изучении АМ колонизации и образования клубеньков у большого количества видов из семейства бобовых. Он пришел к выводу, что колонизация важна как для роста растения, так и для образования клубеньков. Впоследствии различными исследователями был поставлен ряд экспериментов, в которых показано, что у многих растений колонизация сопровождается заметной стимуляцией роста. Эту раннюю работу часто упоминают в обзорах, особенно подчеркивая значение арбускулярных микориз в улучшении фосфорного (P) питания растения (Gerdemann, 1968, 1975; Mosse, 1973; Tinker, 1975a, b; Gianinazzi-Pearson, Gianinazzi, 1983; Hayman, 1983; Koide, 1991a; Smith, 1980; Smith, Gianinazzi-Pearson, 1988). Пионерные работы, посвященные возможному значению микориз в питании растений, были выполнены с использованием таких объектов как яблоня (Mosse, 1957), *Griselinia* (Baylis,1959, 1967), *Liquidambar* и ку-

куруза (Gerdemann, 1965). Впоследствии, М.Дж. Дафт и Е.Г. Николсон (Daft, Nicolson, 1966, 1969a, 1969b, 1972) и Д.С. Хейман и Б. Моссе (Hayman, Mosse, 1971, 1972; Mosse, Hayman, 1971) независимо открыли основы ростовых ответов у ряда видов растений, особенно их связь с условиями в почве и плотностью грибного инокулюма. Они продемонстрировали, что развитие АМ корней и их влияние на рост растения активнее в почвах с низким или несбалансированным уровнем питательных веществ, особенно, если имеется нехватка P, и сделали ценные замечания об интерпретации механизмов, лежащих в основе выявленных эффектов, которые описаны в гл. 5.

Углеродный баланс АМ растений необходимо обсуждать в контексте влияния АМ колонизации на минеральное питание и относительную «стоимость» углеродных затрат на поддержание грибного симбионта в сравнении с выгодой, приносимой большим притоком питательных веществ. Хорошо известно, что АМ корни часто более эффективно поглощают элементы питания в пересчете на единицу длины, чем неколонизированные. Большинство данных, свидетельствующих об этом, получено в горшечных экспериментах, выполненных с АМ-восприимчивыми растениями, при заданных условиях в теплице или камере для выращивания растений, но некоторые полевые исследования дали сходные результаты (Jakobsen, 1986, 1987; Dunne, Fitter, 1989; Merryweather, Fitter, 1995a, b). Кроме того, даже в случае, когда увеличение эффективности поглощения питательных веществ не отражается на их концентрациях в тканях или не повышается их общее содержание в растении, установлено, что грибной партнер вносит существенный вклад в питание растения. Наиболее сильно образование АМ влияет на P питание. Фосфор не только необходим обоим симбионтам в относительно больших количествах, он к тому же малоподвижен в почве и встречается в почвенном растворе в очень низких концентрациях, быстро переходя в фосфат железа, алюминия или кальция или иммобилизуясь микробной биомассой. Имеются также убедительные свидетельства об увеличении поглощения цинка (Zn), который тоже малоподвижен и во многих почвах находится в недостаточном количестве, и меди (Cu). Сравнительно недавно внимание исследователей привлек азот, который, помимо органических соединений, встречается в виде малоподвижного аммония или нитрата. Во влажной почве, но не в сухой, последний более подвижен, чем другие формы соединений. Накапливаются данные о том, что АМ грибы, возможно, играют значительную роль в N питании растений, и что усвоение как аммония, так и нитрата у микоризных растений увеличивается (см. гл. 5).

АМ растения имеют два возможных пути поглощения питательных веществ, напрямую из почвы или посредством АМ грибного симбионта. АМ путь зависит от трех основных процессов: поглощения элементов питания мицелием в почве; переноса их на некоторое расстояние по гифам к грибным структурам внутри корня (гифы, арбускулы, гифальные клубки); и транспорта к растительным клеткам через сложную зону контакта между симбионтами (рис. 4.1). Грибной мицелий в почве всасывает питательные вещества за пределами зоны истощения, образуемой корневым поглощением, поэтому повышается задействованный объем почвы. Кроме того, гифы могут проходить сквозь почвенные поры, на порядок меньшего диаметра, чем те, которые доступны для корней (табл. 4.1). Следовательно, влияние АМ колонизации на P питание зачастую очень сильно и может включать косвенные эффекты в отношении других аспектов растительного метаболизма, маскирующие прямое воздействие симбиоза на поглощение других питательных веществ. На протяжении многих лет, невзирая на предположения об обратном (напр., Jakobsen, 1995), считалось, что поглощение P по АМ пути всегда сопровождается продолжающимся прямым поступлением этого элемента через корневые волоски и ризодерму. Иногда это может происходить, но из экспериментов с меченым изотопами P

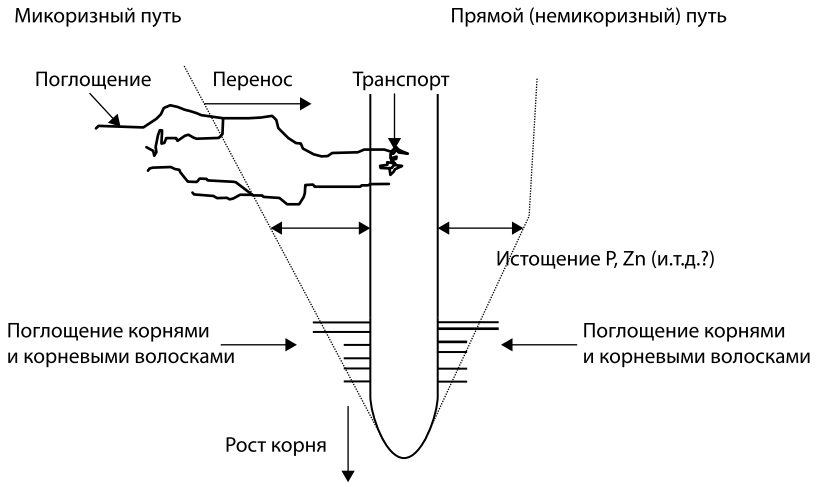


Рисунок 4.1. Схематическое изображение возможных путей поступления питательных веществ из почвы в арбускулярно-микоризный корень. Микоризный путь включает поглощение через свободный мицелий АМ гриба, перенос по гифам к грибным структурам внутри корня и транспорт через симбиотические контактные зоны к клеткам корня растения. Прямой путь включает поглощение через корневые волоски и ризодерму. Также отмечено истощение относительно неподвижных элементов питания в почве, таких как P, вслед за их быстрым поглощением по тому или иному пути.

становится очевидным, что АМ поглощение, вероятно, основной путь, которым доставляются питательные вещества, и не только при явно выраженной выгоде симбиоза, но и в тех случаях, когда повышение содержания P в растении в целом не отмечено. Участие прямого усвоения веществ корнями у многих АМ растений может быть сведено к минимуму или вообще отсутствовать из-за истощения P в ризосфере и/или понижающей регуляции экспрессии гена P транспортера в корневых волосках и ризодерме. Как будет описано далее, в гл. 5, при оценке суммарного баланса выгоды и затрат в АМ симбиозе необходимо учитывать тот факт, что даже невосприимчивые растения могут зависеть в отношении поступления питания от своих симбиотических партнеров, особенно в случае P и, возможно, других макро- и микроэлементов питания.

Таблица 4.1. Репрезентативные показатели размеров и зоны влияния корней и ассоциированных с ними гиф арбускулярно-микоризных (АМ) грибов в почве.

Показатель	Гифы	Корни
Диаметр (мкм)	2-10	>300
Длина (м/г почвы)	2-40	<0,10[1]
Радиус зоны влияния (м от корня)	0,25	<0,01[2]
Расстояние между гифами или между корнями (мкм)	~130	2000

[1]без учета корневых волосков; [2]с учетом корневых волосков.

Когда доступность P в почве низкая, немикоризные корневые системы могут оказаться неспособны эффективно поглощать этот элемент, у растений возникает де-

фицит фосфора, и они растут слабо. АМ колонизация и поглощение Р приводят к снятию стресса и усилению роста растения. Это хорошо известный микоризный ростовой ответ (эффект «большого и маленького растения»), который был продемонстрирован на огромном количестве видов преимущественно в горшечных экспериментах. Помимо увеличения скорости роста, у восприимчивых АМ растений иногда более высокая концентрация Р в тканях, чем у немикоризных, выращенных в почве с аналогичным содержанием Р, и более низкое отношение общего веса растения к корневой системе (табл. 4.2). Когда количество Р в почве возрастает, усиление роста восприимчивых растений в ответ на АМ колонизацию снижается, поэтому, когда имеется достаточное для поддержания максимального роста немикоризных (НМ) растений количество доступного Р, колонизированные растения могут расти слабее, чем НМ. Тем не менее, хотя имеет место негативная ответная реакция на колонизацию, гриб продолжает оказывать влияние на физиологию растения. Его степень зависит от чувствительности симбиоза к поступлению Р (см. гл. 2), но АМ корни продолжают функционировать как эффективные органы поглощения, пропорция корень: побег снижается, и растения накапливают Р в больших количествах (см. Smith, Gianinazzi-Pearson, 1988). Поглощение питательных веществ грибом продолжается, но не приводит к положительному ростовому ответу, так как другие факторы, в том числе, поступление С в результате фотосинтеза, ограничивают скорость роста. Конечно, отрицательный ростовой ответ у АМ растений может быть обусловлен низким уровнем освещенности и чаще наблюдается в экспериментах в условиях теплицы в зимний период или в ростовых камерах со слабым освещением. Это еще одно указание на то, что существует тонкий баланс между выгодой, получаемой от симбиоза в виде усиления поглощения питательных веществ, и затратами на поддержание гетеротрофного грибного партнера (Buwalda, Goh, 1982; Bethlenfalvay et al., 1983; Bethlenfalvay, Pacovsky, 1983; Koide, 1985a; Modjo, Hendrix, 1986; Smith F.A. et al., 1986; Modjo et al., 1987; Son, Smith, 1988).

Таблица 4.2. Влияние АМ колонизации и Р питания на рост и концентрации Р в корнях и побегах *Trifolium subterraneum* (возраст 31–35 дней*)*. Приведены средние значения из трех повторностей, в скобках стандартная ошибка среднего.

Внесение Р (ммоль/кг)	Колонизация (%)	Сухой вес (мг/растение)			Корень/побег	Концентрация Р (мкг/мг сухого веса)		Ответная реакция (%)
		Корень	Побег	Итого		Корень	Побег	
0	0	36 (6)	39 (4)	75 (9)	0,92	0,53	0,79	
0	74	51 (1)	58 (3)	109 (2)	0,88	1,34	1,98	45
0,2	0	57 (4)	63 (6)	120 (10)	0,90	0,75	1,02	
0,2	72	57 (3)	90 (3)	147 (5)	0,63	2,12	2,83	22
0,4	0	70 (8)	97 (6)	172 (14)	0,72	1,20	1,29	
0,4	63	60 (2)	104 (3)	164 (5)	0,58	3,00	3,11	0
0,67	0	87 (11)	132 (8)	218 (20)	0,66	1,77	1,57	
0,67	53	67 (1)	120 (2)	187 (2)	0,56	2,33	2,83	-14

Данные из Oliver et al., 1983 и неопубликованные. Процентная доля ответной реакции

(подсчитанная по сырому весу) = $100 \frac{АМ–НМ}{НМ}$.

Усиление роста было показано для очень большого числа видов растений, в том числе многих сельскохозяйственных культур и древесных пород. Оно часто выражается в приросте биомассы как корней, так и побегов, сокращении отношения корень/побег и возрастании концентрации P в тканях (табл. 4.2). У нескольких видов растений также было показано более активное цветение и плодоношение. Образование клубеньков и фиксация азота у АМ бобовых и актиноризных растений с двумя типами симбиоза также возрастают, и, как показано в некоторых экспериментах, происходит увеличение концентрации N в тканях (Barea, Azcón-Aguilar, 1983). Горшечных экспериментов с самыми различными растениями было выполнено столько, что упомянуть все из них не представляется возможным. Большая часть положительных эффектов в отношении роста может быть прямо или косвенно отнесена на счет улучшения минерального питания и, в случае факультативно АМ растений сходные изменения наблюдались при внесении удобрений при отсутствии АМ колонизации. Однако, необходимо подчеркнуть, что при оценке C баланса у АМ растений и использования углерода грибным партнером важно отличать непосредственное влияние микоризы от тех эффектов, которые неминуемо возникают при изменениях размера, формы или концентрации питательных веществ и могут не зависеть от колонизации как таковой. Несмотря на частое упоминание, многие исследователи продолжают игнорировать важность этого момента.

Повышенное внимание к положительным ростовым реакциям растения, особенно в ранних работах, привело к тому, что данные об отрицательном влиянии не принимались в рассмотрение. Вследствие этого разнообразие ответных реакций и «мутуалистически-паразитический континуум» (Johnson et al., 1997) в течение долгих лет оставались неизвестными. Восприимчивость растений к АМ колонизации очень сильно различается у разных видов и сортов и заметно зависит от доступности питательных веществ. Эта чувствительность (иногда называемая «микоризной зависимостью») может быть выражена в процентах как разность между сухой массой АМ и немикоризных растений, выращенных в одной и той же почве (табл. 4.2). Восприимчивость сильно зависит от концентрации питательных веществ в почве и освещенности (Gerdemann, 1975). Иными словами, и способность растения самостоятельно поглощать элементы питания, и его способность поддерживать существование гетеротрофного симбионта «избыточными» продуктами фотосинтеза равно важны и могут зависеть от генетических и экологических факторов. Современные исследования направлены на выявление основных симбиотических процессов и решение вопросов, связанных с экологическими и эволюционными преимуществами АМ как для облигатно микоризных видов, так и для тех, которые не получают очевидной выгоды в терминах усиления роста или поступления питательных веществ. В большинстве случаев выгода или ее отсутствие оценивается в очень сильно упрощенных горшечных экспериментах, без учета сложных взаимосвязей, существующих в природных условиях. Необходима подробная информация о зонах, механизмах и объемах транспорта органического C к грибному партнеру, а также выявление физиологических основ различий в ответных реакциях растений на колонизацию.

Транспорт углерода к грибному партнеру

Контактные зоны между грибом и растением

Транспорт гексоз от растения к грибу, равно как и противоположно направленный перенос минеральных веществ, происходит в симбиотических зонах контакта. Они

могут быть межклеточными, когда гифы растут в межклетниках коры корня, или внутриклеточными, включая арбускулы, гифальные клубки или арбускулярные клубки. Эти контактные зоны различаются по специализации, площади поверхности, количеству материала клеточных стенок и модификациям мембран (см. гл. 2), но в основе они все имеют одинаковое строение. Как показано на рисунке 4.2, они включают мембраны обоих партнеров, разделенные апопластным межфазным компартментом, содержащим разное количество материала клеточной стенки или подобных веществ. Следовательно, внутрикорневая часть гриба всегда расположена в более или менее специализированном апопластном компартменте растения. Между симбионтами нет непрерывного цитоплазматического соединения, и транспорт в любом направлении требует оттока питательных веществ от одного из партнеров и следующего за ним поглощения другим симбионтом, что контролируется на каждом этапе. Однако нет причин *a priori* полагать, что прямой обмен органического С и минеральных соединений происходит двунаправленно через одну и ту же зону(-ы) контакта. Процессы мембранного транспорта в контактных зонах могут происходить по общим «правилам», которые действуют у растений, согласно (электро)химическим градиентам определенных растворимых веществ между компартментами и необходимости поддержания баланса зарядов и pH цитоплазмы. Так, транспорт незаряженных гексоз от растения к грибу через контактную зону может быть пассивным (облегченная диффузия), по градиенту концентрации, поддерживаемому разностью в образовании и усвоении растворенного вещества (Shachar-Hill et al., 1995). Также возможно наличие пассивного оттока из растения, сопровождающегося активным протон-сопряженным транспортом к грибу, требующим поддержания протонной движущей силы (ПДС) на грибной мембране. В данный

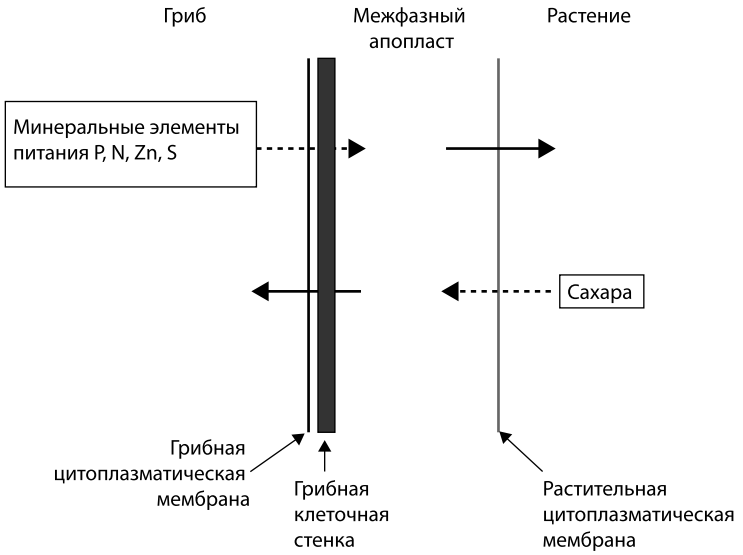
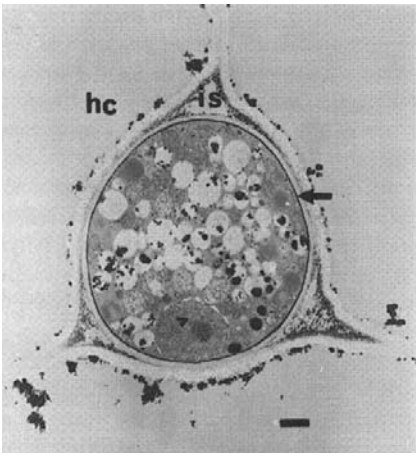
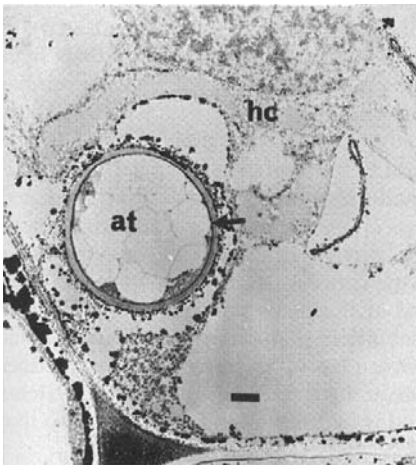


Рисунок 4.2. Схематическое изображение условной микоризной контактной зоны с указанием основных структурных компонентов: грибной цитоплазматической мембраны, материала грибной клеточной стенки, межфазного апопласта и растительной цитоплазматической мембраны. Стрелками отмечено направление движения питательных веществ из почвы от гриба к растению и сахаров от растения к грибу. Отток обозначен пунктирными линиями, а поглощение — сплошными.

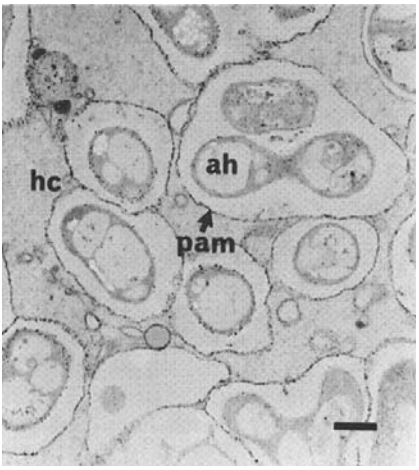
А



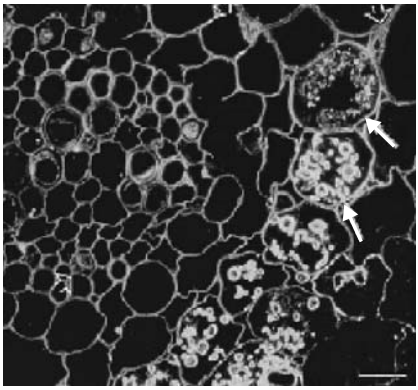
Б



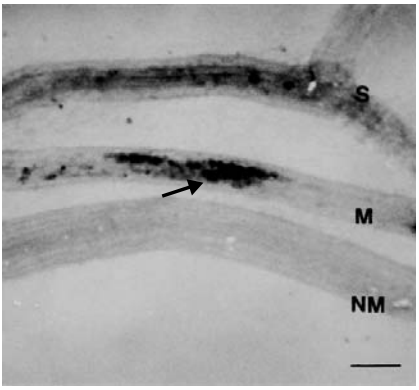
В



Г



Д



Е

Рисунок 4.3 А–Г — структуры арбускулярной микоризы *Allium cepa* и *Glomus intraradices*. Трансмиссионная электронная микроскопия. Срезы корня были фиксированы и окрашены для выявления АТФазной активности по отложению тонкого электроноплотного осадка фосфатов. А–В — без ингибиторов; Г — в присутствии молибдата, ингибирующего неспецифичные фосфатазы, но не H^+ -АТФазы. А — свободная гифа на поверхности корня; Б — межклеточная гифа; В — стволовая гифа арбускулы в клетке коры; Г — тонкие ветви арбускулы в клетке коры. Стрелками показано наличие АТФазной активности на грибной (А–В) и растительной (Г) мембранах. Масштаб 0,5 мкм. Рисунки воспроизведены из Smith, Smith, 1996, с разрешения. Оригиналы рисунков: А–В — В. Джанинацци-Пирсон (V. Gianinazzi-Pearson), неопубликованное; Г — из Gianinazzi-Pearson et al., 1991.
Д — поперечный срез корня *Nicotiana tabacum*, колонизированного *Glomus fasciculatum*. Иммунолокализация H^+-АТФазы (яркое серебристое свечение) в клетках коры корня, содержащих арбускулы (сплошные стрелки), световая микроскопия. В неколонизированных клетках коры или в стеле сигнал отсутствует (контурные стрелки). Масштаб 15 мкм. (е) Активность GUS в содержащих арбускулы клетках недавно колонизированного участка корня (M) *N. tabacum* трансформированного *pma4*-gusA конструктом (стрелкой отмечено синее окрашивание). Никакой активности GUS не было отмечено в немикоризных корнях (NM) или в корнях, содержащих стареющие арбускулы (S). Масштаб 0,5 мм. См. также приложение 4.1.

момент нет свидетельств, позволяющих выбрать одну из двух приведенных гипотез, но быстрое превращение гексоз в специфичные грибные метаболиты способно поддерживать градиент, благоприятный для микобионта.

Вопрос о том, какие контактные зоны участвуют в транспорте С от растения к грибу, остается открытым. Общепринято предположение, что в микоризах *Arum*-типа это арбускулы, но точные доказательства все еще отсутствуют, и можно полагать, что зона контакта между внутриклеточными гифами и клетками коры корня также играет важную роль. В пользу этого мнения говорит то, что срок жизни гиф продолжителен (Smith, Dickson, 1991; Tisserant et al., 1993), и они поддерживают постоянную связь с внешним мицелием, даже когда по мере старения растения число арбускул сокращается. Наличие H^+ -АТФаз на грибных цитоплазматических мембранах указывает на возможность создания ими ПДС, необходимой для протон-сопряженного транспорта сахаров, абсорбируемых из межклеточного апопласта (Gianinazzi-Pearson et al., 1991a, 2000) (рис. 4.3). Кроме того, косвенным свидетельством того, что арбускулы могут являться не единственным местом поступления С от растения-хозяина, может служить факт начала роста свободного мицелия в момент колонизации корня межклеточными гифами, т.е., до формирования арбускул (Mosse, Hepper, 1975). Некоторая кратковременная пролиферация свободного мицелия происходит при Pen^+ Coi^- взаимодействиях между *rmc* мутантом томата (см. гл. 3) и *Scutellospora calospora*. Тем не менее, гриб не был способен завершить свой цикл развития и образовать нормальные споры. Это показывает, что, хотя и имеется возможность транспорта некоторого количества С через редуцированную зону контакта, оно значительно ниже в сравнении с имеющимся при нормальных myc^+ взаимодействиях (Manjarrez-Martinez, 2007).

Расположение H^+ -АТФаз в арбускулярных зонах контакта согласуется скорее с ролью арбускул в направленном переносе Р к растению, чем в двустороннем транспорте одновременно С и Р (Gianinazzi-Pearson et al., 1991a, 2000). Местом транспорта С в АМ *Paris*-типа, где межклеточных гиф мало или они отсутствуют, следует считать внутриклеточные клубки (Smith, Smith, 1996). Необходимо проведение дальнейших исследований для выяснения путей и механизмов поступления орга-

нического С к грибам.

Углеродный метаболизм арбускулярно-микоризных грибов

АМ грибы полностью зависимы от своего растительного партнера в получении органического С и не способны завершить свой жизненный цикл без формирования симбиоза. Имеются как прямые, так и косвенные доказательства зависимости АМ грибов от С растительного происхождения. Косвенные свидетельства заключаются преимущественно в усилении роста свободного мицелия и образовании спор, которые происходят только после установления симбиоза, а также в действии освещенности на колонизацию корневой системы (см. гл. 2). Прямые доказательства транспорта С были впервые получены в экспериментах с меченым $^{14}CO_2$. Несколько групп исследователей показали быстрый перенос меченых ^{14}C продуктов фотосинтеза в корневую систему АМ растений и переход их части во внутриклеточные грибные структуры и свободные гифы (Ho, Trappe, 1973; Bevege, Bowen, 1975; Cox et al., 1975; Hirrel,Gerdemann, 1979; Francis, Read, 1984). Экспериментальным путем было продемонстрировано, что происходит транспорт С, и что липиды являются основным пулом органического ^{14}C у АМ грибов (Cooper, Lösel, 1978), но не было получено количественных данных и информации о составе переносимых соединений. Два подхода способствовали достижению значительных успехов в изучении данных вопросов. Во-первых, изотопный метод с применением ^{14}C меток был расширен и, помимо подтверждения ранних данных, предоставил информацию о количествах веществ, переносимых от растения к грибу. Во-вторых, использование ^{13}C и ^{1}H ЯМР-спектроскопии, вместе с ВЭЖХ и ГХ в корне изменило наши представления о метаболических путях С и транспорте в АМ корнях (Pfeffer et al., 2001). Большая часть этих работ была проведена на моноксеничных культурах АМ с трансформированными корнями моркови. Хотя эта биологическая система достаточно искусственна, на ней оказалось возможным проследить судьбу меченых ^{13}C веществ в корнях и свободном мицелии и, что особенно важно, расположение меток, что дает представление о биохимических путях, задействованных как при прорастании спор, так и в симбиозе. Очень важно подтвердить эти результаты, в особенности, количественные аспекты, на более реалистичных модельных системах, включающих растение целиком, с нормальным поглощением, сигнальной системой побега и гормональным балансом.

Между пресимбиотической и симбиотической фазами развития гриба имеются значительные различия. АМ споры и проростки гриба, выращенные без стимуляции корневыми экссудатами, быстро расходуют запас трегалозы и липидов для поддержания роста (рис. 4.4). Высокая скорость распада липидов с формированием гексоз и трегалозы сопряжена со значительной темновой фиксацией CO_2, согласующейся с наличием промежуточных соединений цикла трикарбоновых кислот (ЦТК). И ферментный анализ, и профиль ^{13}C меток свидетельствуют о наличии процессов гликолиза, ЦТК и пентозофосфатного пути (ПФП). В пресимбиотический период гриб может поглощать небольшие количества гексозы или ацетата, и оба соединения трансформируются в трегалозу и включаются в метаболизм. Важно то, что нет свидетельств наличия синтеза липидов, и это может быть основным различием между пресимбиотическим и симбиотическим развитием гриба (Beilby, 1980; Beilby, Kidby, 1980; Amijee, Stribley, 1987; Bécard et al., 1991; Schubert et al., 1992; Bago et al., 1999a, 2000).

Заметные изменения в грибном С метаболизме происходят по мере установления симбиоза с корневой системой (рис. 4.5). Внутрикорневая часть грибного симбионта обладает высокой способностью к усвоению гексоз, глюкозы в большей степени, чем фруктозы (Shachar-Hill et al., 1995). Данных о скорости транспорта сахаров через контактные зоны немного. Однако количественные оценки С, потребляемого *Glomus fasciculatum* в симбиозе с *Cucumis* (Jakobsen, Rosendahl, 1990), наряду с данными о микоризном развитии того же растения (с *Glomus mosseae*) (Smith, Dickson, 1991) мо-

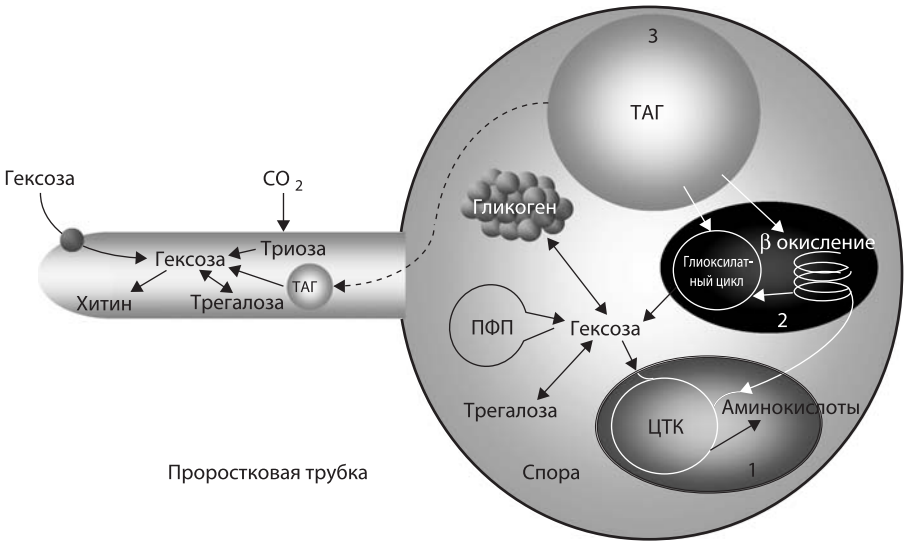


Рисунок 4.4. Предполагаемая схема путей углеродного (С) метаболизма и транспорта в асимбиотических спорах и ростковых трубках арбускулярно-микоризного гриба. Пунктирными стрелками отмечен транспорт между различными пулами С. (1) Митохондрия, (2) глиоксисома и (3) липидное тельце. Воспроизведено из Bago et al. Plant Physiology, 124, 949–957 (2000), с разрешения Американского общества фитопатологов.

гут быть использованы для учета С потока (глюкоза) через зону контакта, при допущении, что только гифы, или арбускулы, или оба типа структур вместе участвуют в транспортных процессах (табл. 4.3). Если предположить, что зоной транспорта являются только гифы, то примерная величина потока С будет равна 28 нмоль/м^2/с; если участвуют только арбускулы или арбускулы вместе с межклеточными гифами, то значения будут 5,5 и 4,5 нмоль С /м^2/с, соответственно. Эти оценки носят предварительный характер, но они показывают, что путем объединения измерения поглощения С грибом методом ^{14}С мечения с изучением развития арбускул и межклеточных гиф можно получить точные данные об углеродных потоках в отдельных экспериментах.

Предполагаемые пути транспорта С у грибного симбионта показаны на рисунке 4.5. Поступающие к грибу гексозы быстро переводятся в форму трегалозы и гликогена, почти наверняка создавая буфер, препятствующий избыточному накоплению глюкозы в цитоплазме (Shachar-Hill et al., 1995; Solaiman, Saito, 1997). Внутри корня также происходит основной синтез липидов, которые вместе с гликогеном транспортируются в свободный мицелий (Pfeffer et al., 1999; Bago et al., 2002a, b, 2003). Механизм переноса гексоз через контактную зону между симбионтами пока неизвестен. Тем не менее, можно предполагать, что растение поставляет в АМ корни сахарозу, и ее гидролиз растительными ферментами поддерживает пул доступных для транспорта гексоз. В пользу этого предположения свидетельствует то, что в нескольких исследованиях показано повышение уровня экспрессии генов как инвертазы, так и сахаросинтазы в АМ корнях (Blee, Anderson, 2002; Ravnskov et al., 2003), хотя экспрессия и не связана напрямую с объемом пула углеводов. Активность щелочной инвертазы у АМ сои была значительно выше, чем у немикоризных растений, так что этот фермент может принимать участие в обеспечении АМ грибов гексозами (Schubert et al., 2004). Тем не менее, быстрое превращение сахарозы в гексозы в растении и гексоз в липиды и трегалозу в грибных структурах помо-

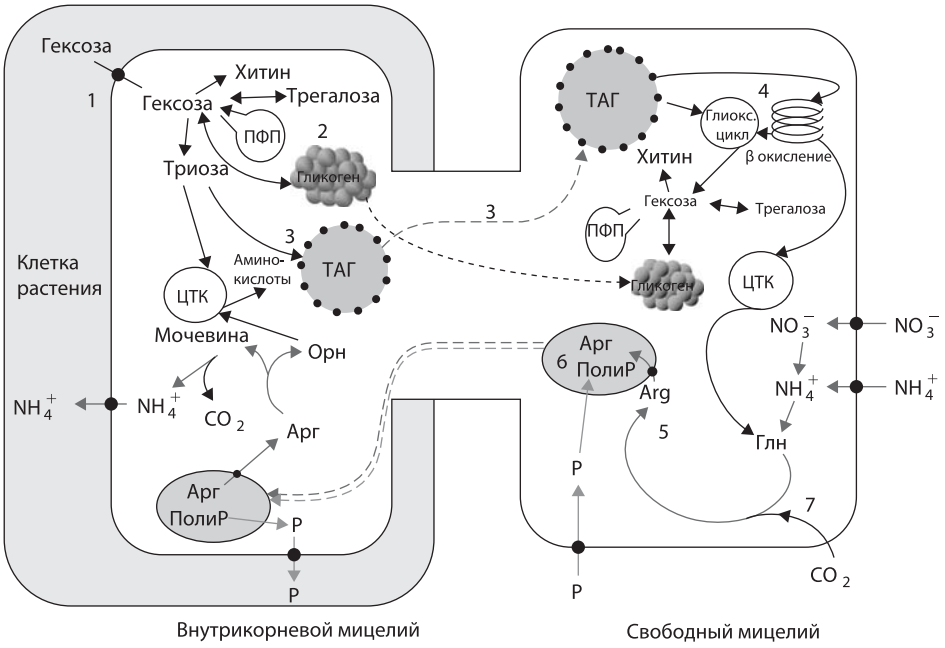


Рисунок 4.5. Предполагаемая схема метаболизма органического углерода (C), N и P в AM симбиозах. Пути прохождения и направления потоков приведены на основе данных, полученных методом ЯМР. Названия метаболических путей обозначены курсивом. Цифры относятся к результатам экспериментов, поставленных с использованием ЯМР: (1) поглощение гексозы грибными структурами внутри корня; (2) образование гликогена и трегалозы из гексозы в корне растения; (3) место синтеза липидов для хранения (ТАГ) в грибных структурах внутри корня; затем липиды экспортируются в свободный мицелий; (4) в глиоксилатном цикле экспортируемые липиды активно трансформируются в глюконеогенические предшественники для синтеза гексоз в свободном мицелии; (5) AM грибы активно синтезируют аргинин по обычному метаболическому пути; (6) аргинин (Арг) может связываться с полифосфатами (полиР) в микоризных вакуолях; (7) активная темновая фиксация CO_2 AM грибами. Воспроизведено из Pfeffer et al. New Phytologist, 150, 543–553 (2001).

гает поддерживать градиент концентраций, способствующий диффузии через контактную зону (Smith et al., 1969; Patrick, 1989; Smith F.A., Smith, 1990; Smith S.E., Smith, 1990). Повышение экспрессии растительного гена транспортера гексоз в AM корнях (Harrison, 1996) может быть связано или с экспортом сахаров из клеток растения, или с обратным всасыванием гексозы из межфазного апопласта, что может быть механизмом контроля оттока C к грибному симбионту.

Поступающие в свободный мицелий липиды распадаются и переходят в форму гексоз и трегалозы. Вновь отмечен значительный уровень гликолиза, глиоксилатного цикла и ПФП, последний преимущественно участвует в поставке восстановительных эквивалентов и пентоз для синтеза нуклеиновых кислот. Свободный мицелий не обладает или обладает очень слабой способностью к утилизации сахаров из внешних источников для катаболизма, запасания или транспорта к растению, а также к синтезу каких-либо липидов. Поступление C в эту важную для симбиотического развития

Таблица 4.3. Потоки С (в глюкозном эквиваленте) от *Cucumis sativus* к *Glomus fasciculatum*.

С, использованный *G. fasciculatum* (мг С/растение/день)	7,4
Эквивалент транспорта глюкозы (нмоль/с)	1,16
Длина АМ корня на растение (м)	36
Гифальная зона контакта ($м^2$/м)	$1,2 \times 10^{-3}$
Гифальная зона контакта на растение ($м^2$)	$41,4 \times 10^{-3}$
Арбускулярная зона контакта ($м^2$/м)	$5,9 \times 10^{-3}$
Арбускулярная зона контакта на растение ($м^2$)	212×10^{-3}
Общая зона контакта на растение ($м^2$)	253×10^{-3}
Поток (нмоль/ $м^2$/с)	
только гифы	28
только арбускулы	5,5
общая зона контакта	4,5

Вычислено по данным относительно С, используемого грибом, и процента колонизации корней из Jakobsen, Rosendahl, 1990. Данные о развитии межклеточных гиф и арбускул (у *G. mosseae*) в растениях того же вида из Smith, Dickson, 1991.

часть осуществляется в основном в форме липидов или, в меньшей степени, гликогена из внутрикорневого мицелия. По цитоплазме липиды передвигаются в виде липидных телец, состоящих из триацилглицериновой (ТАГ) сердцевины, окруженной фосфолипидным монослоем, в который встроены стабилизирующие белки. Визуализация размеров и движения липидных телец предполагает их последовательное расходование после выхода из растения, но профили меток указывают и на некоторый обратный отток, совпадающий с транспортом путем двунаправленного тока цитоплазмы. Переносимые количества С весьма существенны, их объемы 0,26 мкг ТАГ/ч для поисковой гифы *Glomus intraradices* и 1,34 мкг/ч для поисковой гифы *Gigaspora margarita*, что достаточно для образования спор в моноксеничной культуре в условиях эксперимента (Bago et al., 2002b). Зависимость АМ грибов от очевидно очень малоэффективной системы синтеза липидов из сахаров во внутрикорневых структурах, экспорта их в свободный мицелий и ресинтеза углеводов из них, представляется довольно странной. Б. Баго с соавт. предположили, что липидный транспорт - способ мобилизации больших количеств органического С в форме, не вызывающей осмотического стресса и гарантирующей его доставку во все части грибного симбионта (Bago et al., 2002b). Этот процесс свидетельствует также о том, что доступность органического С не является основным лимитирующим фактором роста и метаболизма АМ грибов, и что «экономия» у организма, постоянно обитающего в фотосинтезирующем растении, не может служить приемлемым объяснением. На поздних стадиях развития гриба большие количества липидов запасаются в АМ корнях, особенно в везикулах, а также в спорах в почве.

Хотя есть информация о некоторой циркуляции С в форме липидов между внутрикорневой и свободной частью грибного мицелия, нет никаких доказательств транспорта С из внутрикорневых структур гриба обратно в растение. Данные были получены путем внесения меченых субстратов (ацетата, глицерина и CO_2) в свободный мицелий, а также при использовании объединенных общей мицелиальной сетью (ОМС) двух моноксеничных культур корней, в одну из которых вносили метку. Ни в одном случае метка не наблюдалась в сахарозе (сахар, характерный для растений) (Pfeffer et al., 2004). Существенно, что так как в моноксеничных систе-

мах не было никаких фотосинтезирующих тканей, транспорт меченого С в растение путем фотосинтетической фиксации CO_2 был исключен. Кроме того, хотя в настоящее время в моноксеничных системах показан транспорт N от гриба к растению, он передается в неорганической форме (Govindarajulu et al., 2005; Jin et al., 2005) (см. гл. 5). Это очень важный результат, так как теперь уже нельзя утверждать, что транспорт органического N от гриба к растению может способствовать передвижению С между растениями, объединенными ОМС (Smith F.A., Smith, 1990).

Количества органического углерода, используемые грибными симбионтами

Грибная биомасса, ассоциированная с корнями, оценивается как 3–20% от массы корня (Harris, Paul, 1987; Douds et al., 2000), но большинство ранних работ не учитывает свободный мицелий и споры. Они вносят существенный вклад, составляя в некоторых системах до 90% биомассы АМ гриба (Sieverding et al., 1989; Olsson et al., 1999). При изучении 26-дневной культуры *Cucumis* с 95%-ной колонизацией *Glomus fasciculatum*, сухой вес свободных гиф составил 2,6% от сухого веса корня (Jakobsen, Rosendahl, 1990). Споровая продукция не влияет значительно на общее потребление С у молодых растений, но на поздних стадиях развития, споры, как отмечено в гл. 2, могут образовываться в больших количествах, и грибной симбионт будет требовать большее количество С ресурсов.

Баланс распределения С у АМ и немикоризных растений, с учетом их роли в Р питании и росте, дает достаточно стабильные данные о доле продуктов фотосинтеза, используемой грибным симбионтом для роста и дыхания. Путем внесения $^{14}CO_2$ в АМ и немикоризные растения для учета концентрации Р в побегах или в единственное растение с разделенной на АМ и НМ части корневой системой и анализа распределения метки в разных фракциях, было подсчитано, что АМ корни целого ряда древесных и травянистых растений получают на 4–20% больше от общего количества продуктов фотосинтеза, чем безмикоризные (Koch, Johnson, 1984; Harris, Paul, 1987; Douds et al., 1988, 2000; Jakobsen, Rosendahl, 1990; Eissenstat et al., 1993). Углерод задействован в росте внутрикорневого и свободного мицелия и в дыхании, а также отмечено значительное увеличение оттока С в почву. К настоящему моменту немного известно о причинах таких различий в оценках, но они могут зависеть от вида гриба и растения, грибной биомассы и степени колонизации, а также метаболической активности гриба. В табл. 4.4 и 4.5 (Jakobsen, Rosendahl, 1990) представлены данные о включении ^{14}C в АМ корни молодых растений *Cucumis* и ассоциированный с ними свободный АМ мицелий *Glomus fasciculatum*. Потребление С (мкг С/растение/день) свободным мицелием в этом случае составляло 6% от потребления корнями, а специфическое ^{14}C включение (мкг С/мг сухого веса/день) было в 2,4 раза больше, чем в корнях. В гифах содержится 26% экстрарадикального органического ^{14}C, что указывает на их роль в переносе органических веществ в почву (табл. 4.4). Используя целый ряд вполне обоснованных предположений о росте гриба, специфичном включении С в свободный внутрикорневой мицелий и грибную биомассу внутри растения, И. Якобсен и Л. Розендаль (Jakobsen, Rosendahl, 1990) подсчитали, что гриб может использовать до 20% от общего $^{14}CO_2$, фиксируемого растением, что эквивалентно 7,4 мг ^{14}C в день. Используемые в эксперименте растения в возрасте 26 дней были уже обильно колонизированы (95%), следовательно, большая часть грибных структур была жизнеспособна и активна (Smith, Dickson, 1991), чем, возможно, и объясняется высокий уровень потребления С. Вклад грибов в дыхание почвы отдельно не определяли, но в недавнем исследовании в природных условиях было показано, что от 5до 8% С, утраченного луговыми растениями, было использовано в дыхании свободного АМ мицелия в почве (Johnson et al., 2002b). Позднее методом мечения ^{13}C были получены данные о том, что затраты углерода на свободный мицелий вида

Glomus, ассоциированного с *Plantago lanceolata*, были менее 1% от общей продукции фотосинтеза (Heinemeyer et al., 2006). Освещенность заметно влияла на дыхание гиф, но влияние температуры было слабым.

Таблица 4.4. Распределение С у растений *Cucumis sativus*, колонизированных *Glomus fasciculatus*. Растения были выращены в горшках, разделенных сеткой на отсеки для отделения гиф от корней. Поглощение С и распределение ^{14}C у 26-дневных АМ растений *Cucumis sativus* через 80 ч после мечения побегов $^{14}CO_2$ в течение 16 ч.

Поглощение С	
Общее (мг С/день)	37,0 ± 0,5*
Специфичное (мг С/ дм^2/ч)	1,36 ± 0,03
^{14}C распределение (%)	
Побег	54,1 ± 0,6
Дыхание побега	2,5
Корень	13,2 ± 0,8
Свободные АМ гифы†	0,8 ± 0,1
Органический С почвы	2,3 ± 0,1
Подземное дыхание	27,0 ± 1,1
Отношение ^{14}C потери корней: ^{14}C поступления в корни	0,70 ± 0,09

Данные из Jakobsen, Rosendahl, 1991. *Средние значения ± ошибка среднего для пяти растений. †Предполагается, что плотность гиф одинакова в гифальном (ГО) и корневом (КО) отсеках.

Таблица 4.5. Распределение С у растений *Cucumis sativus*, колонизированных *Glomus fasciculatus*. Растения были выращены в горшках, разделенных сеткой на отсеки для отделения гиф от корней. Длина, сухой вес и включение С гифами в гифальном отсеке (ГО) и длина, АМ колонизация и включение С корнями в корневом отсеке АМ *Cucumis sativus* через 80 ч после мечения побегов $^{14}CO_2$ в течение 16 ч.

Гифы в ГО	
Длина (см/г сухой почвы)*	2708 ± 206†
Диаметр (мкм)	2,6 ± 0,1
Сухой вес (мкг/г сухой почвы) ‡	34 ± 3
Включение С	
Общее (мкг С/растение/день)	125 ± 14
Специфичное (мкг С/ мг сухого веса/день)	41 ± 3
Корни	
Общая длина (см/г сухой почвы)	24 ± 1
АМ длина (см/г сухой почвы)	23 ± 1
Включение С	
Общее (мкг С/растение/день)	4965 ± 301
Специфичное (мкг С/ мг сухого веса/день)	17 ± 1

*Данные скорректированы с учетом гиф в ГО НМ растений. †Средние значения ± ошибка среднего для пяти растений. ‡Сухой вес =объем × 0,23 (Bakken, Olsen, 1983). Отсеки содержали 150 г почвы, так что возможно было вычислить абсолютное значение длины колонизированных корней (3450 см на растение).

Существует предположение, что основной возможный путь передачи веществ от АМ грибов в почву осуществляется посредством «гломалина», гликопротеина, в больших количествах образуемого АМ грибами (напр., Wright, Upadhyaya, 1998). Однако в ходе недавних исследований было установлено, что гломалин, наиболее вероятно, является белком теплового шока (Gadkar, Rillig, 2006). Он остается очень прочно связанным с грибными клеточными стенками и выходит в почву только после гибели и разложения гифы, поэтому его вклад в С ресурсы при краткосрочных экспериментах представляется маловероятным (Driver et al., 2005). В любом случае, большие количества С, используемые АМ грибами, могут, как будет описано ниже, отражать затраты растения на поддержание симбиоза, так как углерод в противном случае мог быть использован для усиления роста или повышения общего благополучия. Тем не менее, затраты могут быть щедро вознаграждены множеством способов, в том числе, путем повышения активности фотосинтеза, снижения роста корня или изменений в соотношении корень/побег.

Разные виды грибов используют различные количества продуктов фотосинтеза растения. В симбиозе с *Cucumis* доля от общего фиксированного ^{14}C при подземном дыхании составляла 16,3, 17,3 и 26,2% при колонизации корней *Glomus caledonium*, *Glomus* spp. WUM 10(1) и *Scutellospora calospora* соответственно. Дыхание немикоризных корней (контроль) составляло только 9,7% (Pearson, Jakobsen, 1993a). В том же эксперименте изучали транспорт ^{32}P к растению через грибной мицелий, и было показано, что вид *Scutellospora calospora* был наименее, а *Glomus caledonium* — наиболее эффективным симбионтом по поглощению гифами ^{14}C на единицу переносимого ^{32}P. Причины таких различий пока не выяснены в точности, но могут включать разнообразие типов колонизации, когда эффективность зависит от более высокой доли грибной биомассы в арбускулах (участвующих в транспорте Р), по сравнению с межклеточными и свободными гифами (участвующими в поглощении Р и транспорте и распределении С). Другими причинами могут являться различия в симбиотических функциях на уровне скорости транспорта через контактные зоны или разность метаболической активности. В этом случае дальнейшее изучение того факта, что внесение N в моноксеничные органные культуры корней влияет на передачу С к *Glomus intraradices*, а также экспрессию генов Р транспортеров АМ грибов, может дать ответы на некоторые имеющиеся вопросы (Olsson et al., 2005). Дальнейшее изучение различий симбиотической эффективности микобионтов в разных сочетаниях гриб-растение и при различных условиях окружающей среды также может способствовать открытиям в области функционального разнообразия симбиозов.

Баланс выгоды и затрат

Углерод, фиксируемый растением в период вегетации, распределяется между надземной фотосинтезирующей частью и подземной, всасывающей питательные вещества и включающей в себя арбускулярные микоризы. Обе части важны для поддержания роста растения. Тем не менее, часто предполагают, что С, используемый грибом, является значительной затратой для растения, которая может быть компенсирована (или не компенсирована) преимуществами в поглощении питательных веществ (Stribley et al., 1980a, b; Fitter, 1991). АМ растения иногда могут быть ограничены в своем развитии в большей степени количеством С, чем других элементов питания, что прямо подтверждается отрицательным ростовым ответом при низкой освещенности (см. выше) и косвенно — повышением концентрации питательных веществ в тканях и/или увеличением отношения сырого веса к сухому (Stribley et al., 1980a, b; Snellgrove et al., 1982; Smith et al., 1986; Son, Smith, 1988).

Однако стоимость симбиоза или его выгода, определенная как разница в сухом весе (или восприимчивость), это оценки результирующего эффекта, не дающие информации о валовых показателях, таких как общее количество фиксированного С и его истинное поглощение грибным симбионтом, которое, как показано выше, может составлять до 20% от общего количества С. Эти издержки будут «стоимостью» симбиоза только в том случае, если использованный грибом С в противном случае был бы усвоен растением для наращивания биомассы или других целей. Кроме того, большой вклад АМ грибов в питание растения, даже в случае, когда нет заметного результата в виде усиления роста или улучшения состояния, осложняет интерпретацию результатов.

Р.Т. Койде и Дж. Эллиотт (Koide, Elliott, 1989) были одними из первых, кто рекомендовал использовать единую «валюту» (С) для «экономического» анализа эффективности АМ симбиоза. Они определили симбиотическую стоимость как количество С, затрачиваемое на поддержку симбиоза, валовую выгоду как количество С, дополнительно фиксируемого вследствие АМ колонизации, а результирующую выгоду — как разницу валовой выгоды и стоимости. Эффективность симбиоза была определена как отношение результирующей выгоды к валовой. П.Б. Тинкер с соавт. модифицировали этот подход и предложили ряд хороших методов для анализа баланса выгоды-затрат при различных условиях (Tinker et al., 1994). Анализ С баланса важен для определения прямого влияния АМ симбионта на растение, количества продуктов фотосинтеза, используемых грибом для роста и дыхания и относительной эффективности поглощения Р корнями или мицелием при тех или иных условиях в почве. Очень важно расширять применение этого подхода для сравнения эффективности разных пар гриб-растение и, особенно, для определения различий в использовании С разными видами грибов в симбиозе с быстро и медленно растущими растениями. Такие данные могут быть полезны при создании модельных экспериментальных систем для выявления, какие свойства грибов или растений приводят к образованию эффективного или неэффективного симбиоза и, возможно, при выборе грибных симбионтов для использования в сельском хозяйстве. До сих пор было проведено немного систематических исследований подобного рода, поэтому сравнения основаны преимущественно на более простом, но менее точном измерении АМ восприимчивости или зависимости.

Проще говоря, АМ колонизация корневой системы и участие грибного симбионта в процессах, требующих затраты вещества и энергии, таких как поглощение питательных веществ, вегетативный рост и образование спор, при отсутствии компенсации, естественно, будет затратой для растения. Такая ситуация характерна для взаимоотношений растений с фитопатогенами. У АМ растений участие гриба в приобретении питательных веществ может прямо или косвенно усиливать способность растения к фиксации CO_2 и, следовательно, «стоимость» гриба окупается (Allen et al., 1981; Snellgrove et al., 1982; Koch, Johnson, 1984; Brown, Bethlenfalvay, 1988; Fredeen, Terry, 1988; Wang et al., 1989; Eissenstat et al., 1993; Schwob et al., 1998; Wright et al., 1998b).

При сравнении АМ растений *Citrus*, выращенных при низких концентрациях Р, с немикоризными, выращенными при внесении Р, было показано, что у АМ растений скорость фотосинтеза выше, чем у безмикоризных. Это заметное повышение происходит в период (7–8 недель после посадки), когда грибная колонизация развивается особенно быстро, и возрастает концентрация Р в тканях (Eissenstat et al., 1993). АМ растения в почве с низким содержанием Р сильно зависели (в строгом смысле этого слова) от симбиоза, поэтому, хотя грибом и использовалась значительная доля фиксированного С, увеличение поглощения питательных веществ, проявляющееся в более активном фотосинтезе и общем усилении роста, явно компенсировало расходы. Увеличенная сила всасывания АМ корней, как было показано, свя-

зана с повышением скорости фотосинтеза и активности ферментов, разлагающих сахарозу (Ravnskov et al., 2003). Обычно, хотя и не обязательно, АМ корни содержат более низкие концентрации сахара и крахмала, и получается, что «дополнительный» С, образующийся при фотосинтезе, не используется для накопления биомассы, а утилизируется грибным симбионтом, демонстрируя внутреннюю компенсацию поддержания симбиоза, не зависящую от Р или N питания или размера растения (Wright et al., 1998a, b). Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что различия в силе всасывания могут быть обусловлены видовой принадлежностью как гриба, так и растения (Lerat et al., 2003a, b). Усиление фотосинтеза и/или изменения в распределении С также могут определяться повышением доступности неорганического Р в листьях (Sivak, Walker, 1986) и, таким образом, зависеть от увеличения поглощения Р как за счет АМ грибов, так и за счет внесения этого элемента (Eissenstat et al., 1993; Peng et al., 1993; Fay et al., 1996; Grimoldi et al., 2005).

Когда скорость фотосинтеза и роста ограничены доступностью питательных веществ, С «стоимость» образования корней может быть существенна. Напротив, образование гиф микобионта аналогичной длины (около 2–10 мкм в диаметре), примерно на два порядка более тонких, чем корни (>300 мкм в диаметре), растение может «позволить себе» даже в неблагоприятных условиях (см. табл. 4.1). Однако при высоком содержании Р общие затраты на поддержание микоризы могут быть больше, чем на развитие неколонизированного корня (Eissenstat et al., 1993; Graham, Abbott, 2000). У *Citrus* влияние АМ на распределение подземного ^{14}C (внесенного в виде $^{14}CO_2$), независимого от Р, заключалось в сокращении «корневого компонента» на ранних стадиях роста и усилении «почвенного компонента» (включая гифы) и почвенного дыхания (Eissenstat et al., 1993). В общем, авторы пришли к выводу, что при одинаковом Р статусе АМ растения обладали более низкой эффективностью С продукции (отношение изменения количества С, поступающего в растение целиком, к изменению количества С, израсходованного в почве) и, что удивительно, сравнительно с немикоризными несколько менее эффективно поглощали Р.

Р.Т. Койде с соавт. (Koide et al., 1999, 2000) предположили, что более разумным подходом к учету вклада в АМ симбиоз может быть, в случае ограниченной доступности Р для растения, учет расходования Р при большем поступлении. Они опробовали использование такого параметра как индекс эффективности фосфора (ИЭФ, PEI в англоязычной литературе) или dP/dt (1/P)) на двух восприимчивых к АМ и одном несовместимом видах растений и показали, что АМ инокуляция увеличивала ИЭФ у АМ латука и абутилона, но не влияла на несовместимое растение (*Beta*). Этот подход был расширен и применен для выделения влияния на поглощение Р тех особенностей симбионтов, которые, вероятно, связаны с высокой восприимчивостью к АМ (перечислены в табл. 4.6) (Smith, 2000). Проведение подобных анализов выявило влияние как АМ колонизации, так и Р питания на распределение С и рост. Однако они неизбежно основываются на биомассе и общем поглощении Р и, следовательно, не учитывают снижение вклада прямого поступления Р у АМ растений и реальное значение эффекта АМ в отношении поглощения Р. Осознание того, что существуют значительные изменения путей поглощения Р у всех АМ растений вне зависимости от их восприимчивости, полностью изменило представления о том, как следует учитывать затраты и выгоды в симбиозе.

В итоге, если Р легкодоступен в почве в любое время, НМ корни часто могут поглощать его более эффективно, чем АМ из-за высокой С стоимости поддержания грибного симбионта, если отсутствуют компенсаторные изменения в скорости фотосинтеза или увеличения биомассы у растения. Однако если количество Р недостаточно, или он доступен только в короткие периоды, немикоризные корни не могут абсорбировать его со скоростью, необходимой для поддержания фотосинтеза и роста. Вложение С в быстрый рост тонких корней с длинными корневыми воло-

Таблица 4.6. Признаки растений и грибов, которые могут быть связаны с высокой восприимчивостью растения к АМ колонизации.

Гриб	Контактная зона	Корень	Растение
Свободный мицелий	Быстрое развитие	Малая длина	Постоянная [P] в побеге
Высокая скорость роста	Большая площадь контакта	Низкое соотношение корень/побег	Флуктуации неструктурных углеводов
Обширное распространение в почве	Долговечность	Слабое ветвление	
Высокая способность к поглощению питательных веществ	Активный отток питательных веществ к корням	Большой диаметр	
Высокая способность к транспорту питательных веществ		Малочисленные/ короткие корневые волоски	
Низкое поглощение C		Избирательно гибкое соотношение корень/ побег	
Внутрикорневые гифы		Неспособность модифицировать ризосферу	
Высокая скорость роста		Низкая способность к поглощению питательных веществ	
Быстрая доставка питательных веществ к зоне контакта			

сками, которые помогут решить проблему возникновения зоны истощения, невозможно (см. гл. 5), и растение зависит от гриба, так как АМ корни могут получать доступ к таким ресурсам, которые недоступны для корней самих по себе. Даже факультативно микоризные виды растений, способные поглощать P более эффективно в НМ состоянии, могут получать значительную долю P через АМ симбионтов, что может отражаться или нет в результирующем увеличении поступления P или приросте биомассы.

Различия в восприимчивости растения к арбускулярной микоризе

Несмотря на то, что широко известно положительное влияние микоризы на рост и/или суммарное поглощение P растением, некоторые виды очевидно невосприимчивы к АМ колонизации даже в почвах с низким содержанием фосфора. Выявлен и изучен широкий круг ответных реакций, обычно наблюдаемых в горшечных экспериментах, как у дикорастущих, так и у культурных растений (Wilson, Hartnett, 1998; Klironomos, 2003; Tawaraya, 2003). Пример такого разнообразия приведен на

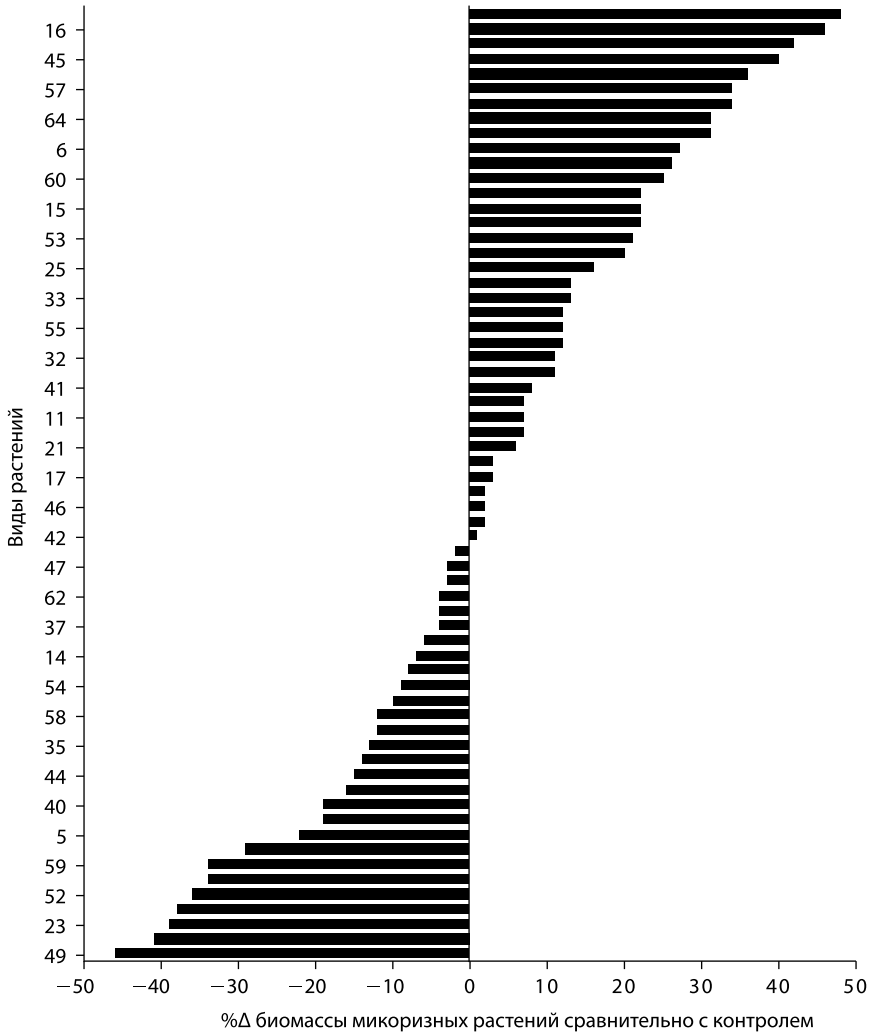


Рисунок 4.6. Влияние *Glomus etunicatum* на рост 64 видов растений из одного местообитания, выращенных в той же почве, из которой был получен АМ гриб. Приведены данные об изменении биомассы (%) у АМ растений сравнительно с немикоризным контролем. Средний 95% доверительный интервал — 17%. Виды растений указаны в табл. 1 в источнике. Воспроизведено из Klironomos, Ecology, 84, 2292–2301 (2003), с разрешения Экологического общества Америки.

рисунке 4.6 (Klironomos, 2003). Шестьдесят четыре вида растений из старого лугового сообщества в Канаде были выращены по отдельности с изолятом *Glomus etunicatum* из того же местообитания, и их рост сравнили с неинокулированными растениями в том же типе почвы. Ростовые ответные реакции (в виде биомассы растения в целом) различались между видами в диапазоне от –46 до +48%. Эти данные демонстрируют, что у обитающих рядом растений могут иметься очень разные АМ стратегии. К сожалению, в исследовании не было сделано попыток соотнести восприимчивость с изменениями в поглощении P, свойствами корней, различиями в

грибной колонизации корней или ростом гиф в почве. Понять, почему разные виды растений дают различающиеся ответные реакции и роль этих различий в экологии, можно только в результате очень тщательных исследований, некоторые примеры таковых будут обсуждены далее.

Восприимчивость также значительно меняется с изменением доступности питательных веществ в почве, и это не только указывает на возможные причины наблюдаемых различий, но и влияет на схему экспериментов, направленных на определение количества С, передаваемое АМ грибам, и баланс симбиоза в плане двустороннего обмена Р и С. При измерении скорости фотосинтеза и распределения его продуктов у активно растущих растений необходимо принимать во внимание влияние симбиоза на Р питание, поэтому следует проводить сравнения между АМ и немикоризными растениями, сколь возможно более сходными по скорости роста и содержанию питательных веществ (сопоставимые растения). Иными словами, если целью является определение влияния гриба напрямую на физиологию растения, не имеет смысла сравнивать мелкие немикоризные растения с недостатком элементов питания с крупными микоризными с легким доступом к питательным веществам, так как косвенное влияние поступления Р на АМ растения будет невозможно отличить от эффекта присутствия гриба как такового. Это означает, что АМ и НМ растения следует выращивать в почвах с разными концентрациями Р и, в идеале, получить полную кривую реакции на Р без микоризы для того, чтобы провести корректное сравнение с АМ растениями, выращенными при низком или высоком содержании Р в почве (Stribley et al., 1980a; Eissenstat et al., 1993; Peng et al., 1993; Graham, Eissenstat, 1994; Tinker et al., 1994; Wright et al., 1998b). Альтернативой может служить использование растений с разделенной корневой системой, с АМ колонизацией и без нее, или внесение разных количеств Р (Koch, Johnson, 1984; Douds et al., 1988; Lerat et al., 2003a).

При планировании эксперимента также необходимо учитывать онтогенез растения и скорость колонизации корневой системы; для получения подробной информации о симбиотических взаимоотношениях, в том числе, относительной скорости роста и поглощения питательных веществ, предпочтителен многократный сбор образцов на разных стадиях развития растения. Биомасса грибного симбионта и относительная частота встречаемости арбускул, гиф, везикул, а также развитие свободного мицелия в почве важны для выявления механизмов, обусловливающих ответные реакции, но подобные параметры были учтены всего в нескольких работах (Harris, Paul, 1987; Douds et al., 2000).

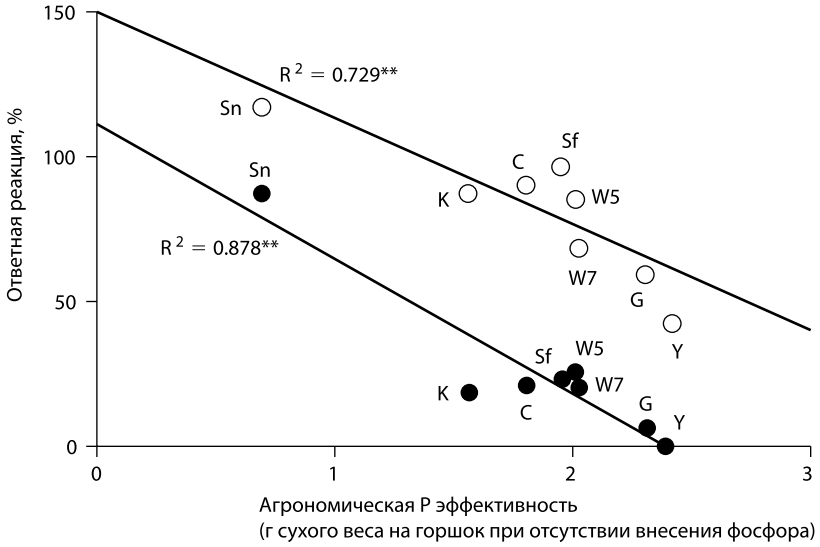
Различия в восприимчивости наблюдаются и у культивируемых, и у дикорастущих растений, в том числе, древесных, травянистых, однолетних и многолетних (Hetrick et al., 1991, 1992; Wilson, Hartnett, 1998; Tawaraya et al., 2001; Klironomos, 2003; Tawaraya, 2003). Свойства растений, которые, как принято считать, связаны с высокой восприимчивостью, приведены в табл. 4.6. Они включают черты, указывающие на слабую способность к добыванию питательных веществ, например, короткие корни, низкая скорость роста корней, толстые (магнолиоидные) корни с немногочисленными короткими корневыми волосками, а также исходно низкую способность к поглощению элементов питания и отсутствие механизмов их мобилизации из недоступных форм (Smith, 2000; Smith et al., 2001; Jakobsen et al., 2002). Исходно присущая скорость роста и гибкое соотношение корень: побег иногда могут быть важны для баланса растения между поглощением через корни и через АМ гифы в зависимости от условий, таким образом получая преимущества при АМ пути питания. Р.Т. Койде (Koide, 1991a) установил, что другим важным фактором, определяющим восприимчивость, является дефицит фосфора. Это различие между потребностями в Р для роста и поглощением Р для удовлетворения этих потребностей, при том, что на последний параметр влияет содержание Р в почве и такие ме-

ханизмы регуляции эффективности поглощения как скорость роста корня и образования микоризы. Опять же, при анализе должен учитываться вклад прямого и АМ поглощения при дефиците питания.

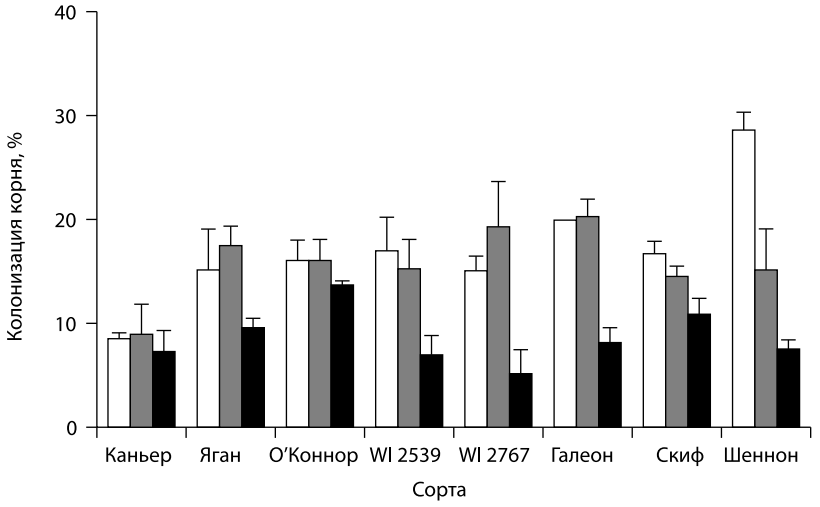
Исследование различий в восприимчивости у *Citrus* и близких видов включало учет С, используемого грибным симбионтом, а также степень и скорость колонизации и АМ восприимчивость в почвах с низким и высоким содержанием Р. У этих растений в отношении использования С и восприимчивости скорость распространения гриба была важнее, чем максимальная степень колонизации. Виды *Citrus* с низкой восприимчивостью к АМ колонизировались медленнее, чем виды с более сильной реакцией, что привело к предположению об эволюционном отборе, направленном на эту особенность, так как гриб в значительной степени потребляет продукты фотосинтеза во время быстрой колонизации корня (Graham et al., 1991, 1997; Graham, Eissenstat, 1994). Предположение подтверждается тем фактом, что у невосприимчивых разновидностей регуляция неструктурных углеводов более жесткая, чем у восприимчивых, и поэтому они, вероятно, способны ограничивать развитие АМ грибов в корневой системе (Graham, Eissenstat, 1994; Jifon et al., 2002). У высоковосприимчивых видов, которые должны быть характерны для местообитаний с малой доступностью фосфора, расход С будет компенсирован более активным освоением питательных веществ и не станет неблагоприятным в эволюционном контексте. У этих растений с высокой восприимчивостью скорость и степень колонизации коррелирует с медленным ростом и слабым ветвлением корней (Graham, Syvertsen, 1985) и, в противоположность восприимчивому сорту ячменя «Шеннон» (Baon et al., 1993) (рис. 4.7), не снижается при внесении больших количеств Р по сравнению с менее восприимчивыми сортами (Eissenstat et al., 1993; Peng et al., 1993).

На примере нескольких злаков были исследованы эволюция и возможное влияние селекции на восприимчивость растения. При сравнении сортов ячменя по восприимчивости к внесению Р и АМ колонизации, было выяснено, что эти свойства взаимосвязаны (Baon et al., 1993) (рис. 4.7а). В работе также были продемонстрированы различия степени зависимости АМ колонизации от содержания Р в почве (рис. 4.7Б). Сравнение 22 природных популяций (*Triticum aestivum*) с 22 высокопродуктивными сортами показало, что природные популяции были значительно более восприимчивы к колонизации по параметрам образования побегов и колоса (Manske, 1989). По данным этого исследования, ростовые ответы не были связаны ни с процентом колонизации, ни с длиной корня, но стройную картину нарушает факт наличия у некоторых из природных популяций большей длины корня, чем у высокопродуктивных сортов и, следовательно, большей длины его колонизированной части. Внесение Р удобрений снижало процент колонизации в обеих группах, при этих условиях не наблюдались положительные ростовые ответы на колонизацию. Сходным образом, восприимчивость новых сортов пшеницы по уровню поглощения Р была ниже, чем у давно введенных в культуру (Zhu et al., 2001), но у ячменя, напротив, улучшенный сорт («Клиппер») был более восприимчивым и поглощал большее количество Р от грибного симбионта, чем природная форма (Zhu et al., 2003). Предки пшеницы — носители D генома (напр., *Aegilops squarrosa* или *Triticum tauschii*) демонстрируют больше различий в восприимчивости, чем генотипы с А или В геномами, что предполагает, что именно D геном может быть источником разнообразия ответных реакций (Kapulnik, Kushnir, 1992; Hetrick et al., 1996).

Реакции, отмеченные в горшечных экспериментах с единственным видом, дают очень ограниченный объем информации о естественных сообществах, так как интерпретация преимуществ АМ колонизации по критериям восприимчивости, скорости роста и потребности в Р усложняется разновозрастной структурой и видовым разнообразием грибов и растений. Дополнительные сложности создает то, что



А



Б

Рисунок 4.7. Взаимодействия арбускулярно-микоризных грибов с сортами *Hordeum vulgare*, отличающимися по эффективности поглощения P. Из Baon et al., 1993, с разрешения Kluwer Academic Publishers. А — взаимосвязь между агрономической P эффективностью ячменя (*Hordeum vulgare*) и ответной реакцией на колонизацию *Glomus etunicatum* или внесение P удобрений (10 мг/кг P). Сорта: Sn — Шеннон; K — Каньер; C — O'Коннор; Sf — Скиф; W5 — WI 2539; W7 — WI 2767; G — Галеон; Y — Яган. ● — ответ на микоризацию; ○ — ответ на внесение фосфора. Регрессионный анализ достоверен при 0,01 уровне значимости. Б — влияние внесения P удобрений на процент микоризной колонизации сортов *H. vulgare Glomus etunicatum*. Разброс — стандартная ошибка среднего из трех повторностей. Внесение P (мг/кг): □ — ноль; ■ — 10; ■ — 20.

АМ грибы могут играть значительную роль в питании растений и обеспечивать другие преимущества, которые не выражаются в ответе всего растения целиком. Непосредственное влияние на питание было изучено, но оно может заключаться и в предоставлении преимуществ в конкурентной борьбе (см. гл. 15 и 16). Разумеется, можно ожидать наличие выгоды от симбиоза, так как иначе трудно объяснить, как АМ состояние могло сохраниться в ходе эволюции у такого большого числа факультативно АМ растений, которые явно не восприимчивы к колонизации и, следовательно, поддерживают паразитических по существу симбионтов.

В природных экосистемах неродственные виды растений с разными стратегиями поглощения питательных веществ и различной восприимчивостью к АМ встречаются совместно. Одно из наиболее масштабных исследований, включающее и горшечные и полевые эксперименты, было проведено в высокотравной прерии. В эксперименте использовали почти 100 видов растений, и путем как естественной, так и искусственной инокуляции в горшках было показано, что развивающиеся в теплом сезоне многолетние С4 злаки и другие многолетние травы, за редким исключением, обладают высокой восприимчивостью к АМ колонизации (по критерию накопления сухого веса) вплоть до облигатной микоризности у некоторых видов. Напротив, развивающиеся в холодном сезоне многолетние С3 злаки и однолетние и двулетние травянистые растения были менее восприимчивы и в несколько меньшей степени колонизированы (Hetrick et al., 1989, 1991; Bentivenga, Hetrick, 1992; Wilson, Hartnett, 1998). Восприимчивые травы теплого сезона обычно имеют менее развитую мочковатую корневую систему, менее специфичную длину и более пластичную архитектуру корневой системы, чем травы холодного сезона. Степень ветвления корней у них снижается при колонизации, т.е., имеются все особенности, обычно свидетельствующие о высокой восприимчивости (см. табл. 4.6). Однолетние и многолетние виды с низкой восприимчивостью характерны для нарушенных местообитаний, где конкуренция сравнительно низкая. В таких условиях «вложение» в тонкие корни с высокой скоростью оборота веществ оказывается более выгодной стратегией, но факультативный АМ статус позволяет этому типу растений переживать кратковременный дефицит питательных веществ и стрессы, связанные с конкуренцией.

Горшечные эксперименты ставили в микрокосмах и при полевых исследованиях, в которых АМ колонизация успешно подавлялась регулярным внесением фунгицида беномила. Эта обработка приводила к снижению обилия доминирующих высоковосприимчивых к АМ видов злаков и повышению обилия второстепенных, менее восприимчивых, злаков и других трав (Wilson, Hartnett, 1997; Hartnett, Wilson, 1999; Smith et al., 1999). Отсюда следует, что деятельность АМ грибов оказывает значительное влияние на конкурентные взаимоотношения, которые хотя бы отчасти зависят от восприимчивости растения. Для растений в этом сообществе горшечные эксперименты позволили дать прогноз возможных исходов конкуренции после подавления развития микоризных грибов в поле, несмотря на тот факт, что АМ грибы были активны в корнях и восприимчивых, и невосприимчивых растений (Bentivenga, Hetrick, 1992). При упрощенной интерпретации почти никогда не учитывается сложность подземных взаимоотношений. Изучение поглощения ^{32}P по АМ пути показывает очень существенный вклад симбиотических грибов в усвоение Р не только у восприимчивого злака теплого сезона *Andropogon gerardii* и при низких, и при высоких температурах, но также и у вида холодного сезона *Bromus inermis*, когда его выращивали при низкой температуре (19 ºС) (Hetrick et al., 1994b).

Различия в Р транспорте при разных температурах подчеркивают тот факт, что АМ восприимчивость может варьировать также и в связи с сезонными требованиями или стадией развития растения, особенно в отношении периодов высокой потребности в Р. Укоренение сеянцев быстро растущих эфемероидов может требо-

вать высокой скорости поглощения Р до момента полного развития корневой системы. Концентрация Р в семенах влияет на приживаемость растения и зависимость от АМ колонизации (Allsopp, Stock, 1992a). Быстрая АМ колонизация у растений с мелкими семенами может быть очень важна для обеспечения количества Р, необходимого для роста, даже если высокая потребность гриба в С может привести к кратковременным ростовым задержкам (Smith, 1980), пока в распределении С не начнут принимать участие другие растения, вовлеченные в общую мицелиальную сеть (ОМС). Также Р может в больших количествах требоваться и на других стадиях развития. Например, у *Fragaria* в период плодоношения возникает высокая потребность в Р (Dunne, Fitter, 1989), и в это время на скорость поглощения фосфора может сильно влиять активность микоризы. Более того, у вида *Hyacinthoides non-scripta* корневая система очень скудна, и она растет в тот период, когда надземная часть у растения отсутствует. На этой стадии растение очень сильно зависит от АМ колонизации в получении Р (Merryweather, Fitter, 1995a).

Обильное накопление Р, следующее за АМ колонизацией в случаях, когда поступление этого элемента не ограничивает продуктивность (или ограничивает только временно), может представлять значительное преимущество для дикорастущих видов растений, обеспечивая запас, который возможно мобилизовать в период высокой потребности или временного дефицита в почве. Это было показано на растениях высокотравной прерии, описанных выше. *Andropogon gerardii* (восприимчивый вид) потребляет больше Р и растет быстрее, поддерживая относительно постоянную концентрацию Р в тканях. Напротив, *Bromus inermis* (невосприимчивый вид) накапливает большие количества Р (Hetrick et al., 1994b). Роль АМ грибного поглощения Р как механизма, гарантирующего полное использование моментов максимальной доступности питательных веществ, обычно не принимается во внимание. Это берет начало от ранних данных о том, что АМ грибы, в отличие от эктомикоризных (ЭМ), не запасают большие количества Р. Однако тот же конечный результат для растения может быть получен благодаря избыточному накоплению в корнях, листьях и семенах, и есть свидетельства того, что АМ растения «защищают» свои репродуктивные структуры от острой нехватки Р путем изменения его распределения (Koide, Lu, 1992; Merryweather , Fitter, 1996; Li et al., 2005). Другое следствие высокого уровня поглощения фосфора у невосприимчивых растений может заключаться в улавливании почвенного Р, что делает его недоступным для конкурентов (см. гл. 5).

Большинство работ, связанных с различиями в восприимчивости растений, проведены либо на единственном виде АМ грибов, либо с использованием смешанного инокулюма, полученного из почвенных скоплений. В ходе экспериментов все больше и больше выявляется влияние различных видов и изолятов АМ грибов на ответные реакции растения. С использованием комбинаций 10 видов растений и 10 видов АМ грибов, полученных из одного и того же местообитания, участка старого луга, было показано, что изменение растительной биомассы у одного вида после инокуляции может быть отчетливо положительным, отчетливо отрицательным или нейтральным в зависимости от вида гриба (рис. 4.8) (Klironomos, 2003). Направление изменений при симбиозе с определенным видом гриба не было постоянным у разных видов растений, демонстрируя высокий уровень функционального разнообразия, который может существовать в природных условиях. Опять же, не было сделано попыток определить, какие свойства гриба или растения обусловливают наблюдаемое разнообразие ответных реакций. Однако в некоторых других исследованиях они были предприняты. Дж.Г. Грэхем и Л.К. Эбботт подчеркнули значимость стратегий грибной колонизации, показав, что быстро проникающие в растение агрессивные виды грибов, способны обильно колонизировать корни и при низком и при высоком содержании Р, но в ростовом ответе существуют серьезные раз-

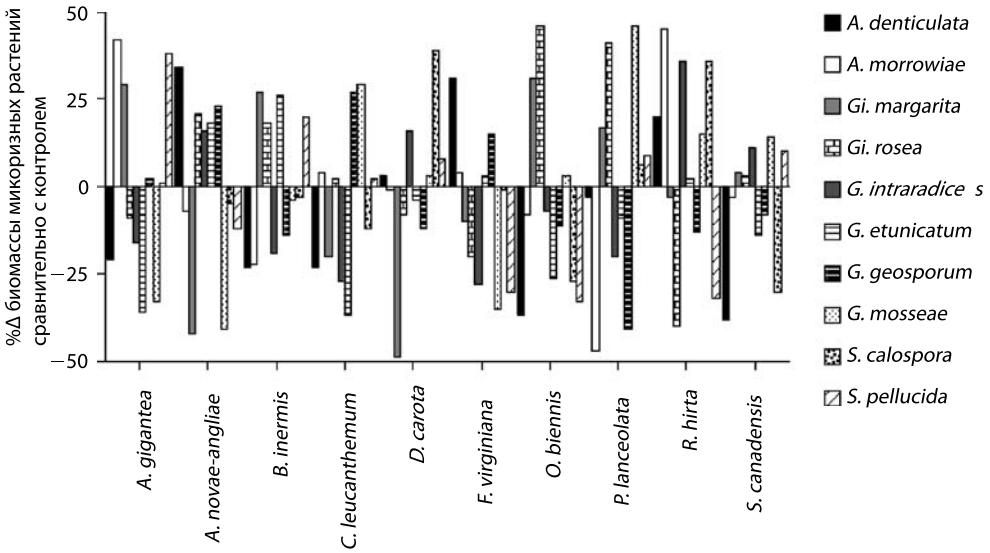


Рисунок 4.8. Влияние разных видов АМ грибов (см. легенду) на рост различных растений. Столбцы гистограммы показывают изменение биомассы АМ растений сравнительно с немикоризными, выращенными в почве того же типа. Средний доверительный интервал – 18%.

личия (Graham, Abbott, 2000). Только два агрессивных вида АМ грибов увеличивали биомассу пшеницы при низком содержании P, и ни один из протестированных видов не давал положительной ростовой реакции при высоком. Однако слабая или отрицательная ростовая реакция также была показана у растений с низкой степенью колонизации (напр., Bethlenfalvay et al., 1982a, b; Modjo, Hendrix, 1986), и, следовательно, малым расходом углерода на грибной симбионт. Изучение механизмов, лежащих в основе этих эффектов, только начато (Smith F.A., неопубликованные данные).

Значение характера роста грибного симбионта в почве в определении влияния на поглощение P растением освещено в ряде работ (Jakobsen et al., 1992a; Smith F.A. et al., 2000; Smith S.E., 2004a), в основном направленных на отдельные виды грибов. На примере такого растения как огурец наблюдали явственные различия в растительных ответных реакциях в зависимости от вида грибного симбионта (Munkvold et al., 2004). В целом, степень колонизации корня была высокой, но характер развития в почве различался не только на межвидовом, но и на внутривидовом уровне. При том, что в скорости поглощения P на единицу длины гифы внутривидовые отличия были небольшими, общее количество поставляемого к растению фосфора варьировало как внутри одного вида, так и между ними. Авторы сделали особый акцент на том, что, даже если грибное сообщество состоит из небольшого числа видов, в нем может наблюдаться значительное функциональное разнообразие АМ.

В целом, накапливаются данные о высоком разнообразии типов взаимоотношений между различными видами растений и их АМ симбионтами. Трудности, выявленные в ходе исследований, свидетельствуют о том, что, хотя и возможно делать обобщения относительно факторов, определяющих восприимчивость растения или эффективность грибного симбионта, учитываемых по увеличению биомассы или поглощению P, всегда имеются исключения. Большинство исследова-

ний основаны на простых горшечных экспериментах, поэтому информация о том, как растения отвечают на колонизацию в природных сообществах, все еще недостаточна (см. гл. 15 и 16). Только изучение механизмов, обусловливающих симбиотические взаимоотношения в растительных сообществах, могут дать ответы на поставленные вопросы.

Арбускулярно–микоризные мицелиальные связи между растениями: значение перераспределения углерода в растительном сообществе

Существование и возможное значение ОМС, связывающих воедино растения одного или разных видов, сейчас является общепризнанным фактом (Read et al., 1985; Newman, 1988; Robinson, Fitter, 1999). Вероятно, что эти сети функционируют иначе, чем в случае ЭМ растений, и дальнейшие рассуждения касаются только АМ сообществ. Свободные АМ гифы представляют собой важный источник инокулюма и, возможно, вносят очень существенный вклад в быструю колонизацию корневых систем во многих ненарушенных местообитаниях, особенно, когда условия благоприятствуют развитию многолетних растений (см. гл. 2). На распределение С между растениями гифальные связи могут влиять множеством способов и, следовательно, очень важно собрать как можно больше информации об их функционировании. Было сделано предположение, что ОМС вовлечены в перенос органического С от одного растения к другому. Данные об этом остаются противоречивыми, но это не снижает возможной значимости подобных связей для взаимоотношений между растениями. Не вызывает сомнений, что сеянец, растущий в сообществе АМ растений, будет очень быстро интегрирован в сеть и начнет получать минеральные питательные вещества из ОМС, развившейся на основе наличия избытка продуктов фотосинтеза взрослых растений. Такие взаимодействия могут обеспечить значительную экономию органического С для сеянцев и в результате повысить вероятность успешной приживаемости видов с мелкими семенами в местообитаниях под пологом, где затенение может ограничивать фотосинтетическую активность. Задержка роста у сеянцев наблюдалась в экспериментах, где все растения были одновозрастными (Smith, 1980), и она, вероятно, происходит, в результате потребления С грибным симбионтом, когда гриб быстро колонизирует корень, в период до того, когда он начинает заметно влиять на поглощение Р. Если гифы, колонизирующие корень, получают (даже временно) продукты фотосинтеза от взрослого растения, а не из ограниченного запаса дискретной пропагулы, может быть получено значительное преимущество. На более поздних стадиях роста успешно развивающийся сеянец сам может стать «донором» ОМС в отношении С, и одновременно «потребителем» в отношении Р. Данные о том, что С стоимость колонизации «потребителя» может быть «оплачена» «донором» были получены в экспериментах с *Centaurium*, в которых растения успешно колонизировались только если росли вместе с АМ видом-компаньоном (McGee, 1985; Grime et al., 1987), при наблюдениях очень быстрой колонизации в луговых сообществах (Birch, 1986) и в ряде экспериментальных систем с использованием более взрослых растений-«доноров» для инициации колонизации сеянцев (Brundrett et al., 1985; Rosewarne et al., 1997).

Распределение С расходов при образовании ОМС не обязательно зависит от транспорта фиксированного С от одного растения к другому. Все, что требуется, это поставка «донором» большей части органического С в ОМС. Влияние АМ как на встречаемость, так и на разнообразие видов в экспериментах в условиях микрокосма (Grime et al., 1987; Zabinski et al., 2002) может быть объяснено конкуренцией,

в случае, если виды отличаются по количеству С, поставляемому в систему, и восприимчивости к колонизации по критерию поглощения питательных веществ и роста. АМ эффекты не зависят от результирующего переноса органического углерода от доминантных видов растений к второстепенным (см. гл. 16). В некоторых экспериментах, в которых растения-доноры, объединенные в ОМС, получали $^{14}CO_2$, был показан ограниченный транспорт С к растениям-реципиентам из той же сети (Hirrel, Gerdemann, 1979; Francis, Read, 1984; Grime et al., 1987; Fitter et al., 1998a). Однако окончательный результат и количественные характеристики такого транспорта дискуссионны и до сих пор не вполне ясны. Необходимо получить ответ на следующие вопросы: передвигается ли органический С между растениями в ОМС, или перенос осуществляется прямо через почву или путем фиксации CO_2, высвобождающегося в ходе почвенного дыхания. Если С перемещается в сети, остается ли он в грибных структурах принимающих корней или передается через контактную зону между симбионтами в растение и далее в побег? Кроме того, достаточно ли количество транспортируемых от растений-доноров к реципиентам веществ для того, чтобы значительно повлиять на рост?

Есть мнение, что даже в случаях, когда малые количества ^{14}C появляются в побегах, это предполагает наличие транспортного пути (возможно, по гифам ОМС и через контактную зону между симбионтами) (Newman, 1988). Не показано, что происходит непосредственный перенос С между растениями, и, за единственным возможным исключением (Lerat et al., 2002), ни в одном эксперименте не были получены данные, определенно свидетельствующие о переносе С от АМ гриба к автотрофному растению через ОМС. Ни затенение, ни обрезка, которые должны были бы увеличить движущую силу транспорта С, не повысили количество метки в побегах реципиентов, хотя в корневой системе это происходило (Read et al., 1985; Newman, 1988; Fitter et al., 1998a). Д. Робинсон и А.Г. Фиттер проанализировали литературные данные по этой проблематике и заключили, что при постановке большинства экспериментов оставались другие возможности для транспорта, помимо ОМС-пути, и во многих случаях почти весь ^{14}C оставался в АМ корнях и не обнаруживался в побегах. Вероятно, углерод задерживался в грибных внутрикорневых структурах (Robinson, Fitter, 1999). Хотя А.Г. Фиттер с соавт. (Fitter et al., 1998a) обнаружили, что большое количество С передается по ОМС, не получены доказательства транспорта в побеги растений-реципиентов, и есть убедительные свидетельства того, что С накапливается в везикулах в корнях скорее как запас питательных веществ гриба, чем как основа для поглощения питательных веществ ОМС. Как упомянуто выше, меченый С не включался в метаболиты растения в моноксеничных системах, что исключает фотосинтетическую фиксацию CO_2 с возвратом метки в растительные побеги (Pfeffer et al., 2004). В целом, маловероятно, что автотрофные АМ растения постоянно делятся друг с другом значительными количествами продуктов фотосинтеза через ОМС. Скорее происходит запасание С грибами и поддержка ОМС более крупными или более активно фотосинтезирующими особями, с сопутствующими изменениями в конкурентной борьбе, возможно, имеющей в основе влияние АМ связей, наблюдаемых в сообществах автотрофных растений.

Совершенно иная ситуация возникает, если потенциальные растения-реципиенты не фотосинтезируют. Некоторые бесхлорофилльные представители семейств Polygalaceae, Gentianaceae и Burmanniaceae ассоциированы с АМ грибами, которые образуют микоризы с несептированными гифами и обильными внутриклеточными клубками (см. гл. 1 и 13). Исследователи пришли к выводу, что эти растения являются микогетеротрофами и получают органический С исключительно через грибной симбионт. Сложность заключается в том, что он должен поступать от автотрофного растения-донора через ОМС, так как АМ грибы не обладают сапротрофной активностью (Leake, 2004). Микогетеротрофы являются эпипаразитами авто-

трофных растений, и в данном случае должен иметь место чистый перенос органического С от гриба к микогетеротрофному растению. К настоящему времени нет экспериментальных данных, подтверждающих эту гипотезу, и информации о механизмах, обусловливающих такой транспорт, но очевидно, что эта область заслуживает внимания и может быть исследована в соответствующей экспериментальной системе с помощью методов, основанных на ЯМР (см. гл. 13).

Заключение

АМ грибы зависимы от поступления органического С от фотосинтезирующего партнера по симбиозу. От 4 до 20% чистого количества продуктов фотосинтеза передается грибу и используется как для образования вегетативных и генеративных структур, так и для дыхания, роста и поддержания симбиоза, в том числе, поглощения питательных веществ. Гексозы всасываются внутрикорневыми структурами гриба, быстро переводятся в липиды и гликоген и экспортируются в свободный мицелий, неспособный или имеющий слабую способность к поглощению органического С из окружающей среды или к синтезу липидов.

У различных грибов существует значительное разнообразие в С затратах при транспорте Р к растению, и пока неизвестно, зависит ли оно от разницы в типах или скорости колонизации или распространения свободных гиф в почве, или от более тонких различий мембранного транспорта или активности дыхания. Для выяснения этих вопросов необходимо большее количество информации. Расход растением фиксированного С на поддержание грибного симбионта можно трактовать как «вложение», дающее в результате более эффективное поглощение элементов питания, когда их доступность в почве низка и, иногда, избыточное накопление питательных веществ для дальнейшего использования. Выявлено весьма значительное разнообразие ответных реакций как дикорастущих, так и культурных растений на АМ колонизацию. Масштаб ответной реакции зависит и от факторов окружающей среды (например, доступности питательных веществ и освещенности), и от биотических факторов (таких как видовая принадлежность грибного симбионта), а также от взаимоотношений в сообществе. Попытки провести анализ баланса выгоды и затрат в симбиозе столкнулись с трудностями, связанными со сложными взаимоотношениями между АМ колонизацией и ростом растения и их связью с минеральным питанием.

Общепризнанно, что растения одного и того же или разных видов могут быть объединены в ОМС. Поступающий в сеть органический С может не разделяться поровну между растениями, связанными друг с другом. В результате некоторые растения могут, по меньшей мере, временно, эффективно поддерживать другие, сокращая отток С от них. На данный момент нет бесспорных доказательств того, что эта поддержка включает чистый транспорт С от одного растения к другому через ОМС. Способ получения органического углерода микогетеротрофами, ассоциированными с АМ грибами, пока неизвестен, хотя представляется вероятным, что механизм может включать эпипаразитизм через мицелиальные соединения.

5
Минеральное питание, накопление токсичных элементов и поглощение воды растениями, образующими арбускулярную микоризу

Введение

Минеральное питание арбускулярно-микоризных (АМ) растений заслужило больше внимания и стало объектом большего числа исследований, чем любой другой аспект симбиоза. Эта тенденция продолжается и в настоящее время, но подходы к изучению изменились. Общепризнан тот факт, что влияние АМ грибов на минеральное питание растений вносит значительный вклад в мутуалистическую биотрофию (Lewis, 1973), и то, что имеются выраженные различия в симбиотических взаимоотношениях между различными видами растений и АМ грибов. Функциональные характеристики взаимодействий вышли за рамки сравнения немикоризных и АМ растений, демонстрируя влияние колонизации на рост и питание всего растения в целом (см. гл. 4). В то же время, было выявлено, что многие сочетания гриб–растение не приводят к улучшению минерального питания на уровне особи растения, по крайней мере, в горшечных экспериментах. Однако, признание того факта, что АМ грибы вносят основной вклад в поглощение питательных веществ даже в такого рода экспериментах, идет достаточно медленно. В отношении значимости развития АМ гриба акценты сместились от степени внутренней колонизации корня к распространению и долговечности свободного мицелия в почве. Роль этого мицелия в доставке элементов питания к растению изучали в экспериментальных системах с отсеками, используя изотопные метки или измерение зон истощения в почве. Эти подходы привели к пополнению количественных данных о веществах, поступающих в растение через АМ грибной симбионт. На клеточном уровне были выявлены особенности фосфорного (P) и азотного (N) метаболизма гриба, что вкупе с информацией о влиянии АМ симбиоза на экспрессию генов как грибных, так и растительных транспортеров питательных веществ, позволяет постепенно получить общую связную картину интеграции процессов питания гриба и растения. Тем не менее, многие подробности еще остаются невыясненными, особенно в отношении функционального разнообразия при сочетании разных видов симбионтов.

В ранних исследованиях, посвященных минеральному питанию, главным образом подчеркивалось, как показано в гл. 4, значительное положительное влияние АМ колонизации на рост и питание многих восприимчивых видов. В 1960-е гг. был написан ряд

обзорных работ, освещающих распространение колонизированных растений и анатомию АМ корней, а также затрагивающих экспериментальные проблемы, связанные с трудностью определения грибных симбионтов и получения подходящего инокулюма (Baylis, 1962; Nicolson, 1967; Gerdemann, 1968). В этот ранний период изучения тонкости влияния симбиоза на минеральное питание не были достаточно хорошо известны, хотя начали появляться некоторые гипотезы и были поставлены ключевые эксперименты для изучения Р питания. В 1957 г. Б. Моссе опубликовала результаты эксперимента с сеянцами яблони, в котором было явно продемонстрировано увеличение количества K, Fe и Cu на единицу веса АМ растения сравнительно с неинокулированным контролем. Позднее несколько исследователей (Gerdemann, 1964; Daft, Nicolson, 1966; Baylis, 1967) установили, что концентрация Р в тканях (не измеренная Б. Моссе) иногда бывает выше у АМ растений. Вскоре были обнаружены механизм(ы), обусловливающие этот эффект у растений с положительной ответной реакцией, и появились первые публикации, показывающие увеличение поглощения Р в зависимости от длины корня (Sanders, Tinker, 1971, 1973). В это же время впервые были выявлены различия во влиянии разных видов грибов (Hayman, Mosse, 1971; Mosse, Hayman, 1971).

Позднее, к 1973 г., Б. Моссе высказала мнение, что, хотя грибы невозможно поддерживать в чистой культуре, методологические проблемы в основном решены, и произошло смещение акцентов в исследованиях в сторону изучения влияния на рост и поглощение Р растением. Эта смена концепции от изучения химии почвы к исследованию микоризы была отражена во многих обзорах и продолжает оказывать влияние даже на современные исследования (Tinker, 1975a, b, 1978). В этих ранних работах было установлено, что АМ корни восприимчивых растений поглощают P, Zn и возможно Cu и аммоний из почвы более эффективно, чем немикоризные корневые системы, и свободный мицелий играет значительную роль в увеличении объема почвы, в котором возможно эффективное поглощение этих элементов. Было сделано предположение (в настоящее время признанное неверным), что АМ грибы не вносят вклад в питание невосприимчивых растений и, соответственно, в симбиозе имеются другие преимущества, обусловливающие его эволюционную устойчивость.

Затем исследования были расширены в направлении изучения влияния симбиоза на многие аспекты физиологии растений (Smith, 1980; Harley, Smith, 1983; Smith, Gianinazzi-Pearson, 1988; Koide, 1993; Jakobsen, 1995), и появился целый ряд книг и обзорных статей, отражающих многие области фундаментальных и прикладных исследований. Кроме того, была выявлена роль именно арбускулярных микориз, а не немикоризных корней как основных органов поглощения питательных веществ у большинства видов растений, и их значимость стали рассматривать в более широком контексте.

Целью этой главы является обзор современных представлений о роли арбускулярных микориз в минеральном питании растений, но при этом возможно осветить только малую часть существенных работ по этой тематике. В центре обсуждения находятся механизмы, предполагаемо обусловливающие влияние АМ, и экспериментальные подтверждения их существования. Основное внимание уделено поглощению Р и N, а также других питательных веществ и токсичных элементов, в отношении которых установлена роль АМ гриба. Кроме того, обсуждается влияние арбускулярных микориз на водный обмен растений. Роль АМ в минеральном питании растений в природных условиях обсуждается в гл. 15 и 16.

Доступность фосфора в почве

Развитие исследования функций АМ в поглощении питательных веществ растениями неразрывно связано с накоплением знаний о химии почвы, в особенности, что касает-

ся пулов и доступности Р. Количество и форма, в которых Р находится в почве, и факторы, влияющие на его доступность, важны для определения способа влияния АМ грибов на поглощение фосфора растениями (Tinker, 1975b; Bolan, 1991; Comerford, 1998; Tinker, Nye, 2000). Р требуется в относительно больших количествах, но в почве он часто находится в малодоступной форме. Он поглощается клетками в виде неорганических ортофосфат-ионов (особенно, $H_2PO_4^-$) из почвенного раствора, где присутствует в очень низких концентрациях (обычно 0,5–10 мкМ), что регулируется преимущественно химическими реакциями в почве и, в меньшей степени, биологическими процессами (Schachtman et al., 1998). Поступление Р также может быть неравномерным как во времени, так и в пространстве, что влияет на его доступность и усвоение растениями и микроорганизмами (Lodge et al., 1994; Robinson, 1994).

Соединения фосфора в почве можно подразделить на две большие группы: неорганические (Рн) и органические (Ро). Рн может очень прочно удерживаться в кристаллических решетках преимущественно нерастворимых соединений, как, например, различные фосфаты Ca, Fe и Al, и может быть химически связан с поверхностью глинистых минералов. Некоторые Рн соединения очень медленно переходят в почвенный раствор, они представляют собой нелабильный пул, недоступный для растений. Менее прочно связанные (лабильные) соединения Р переходят в почвенный раствор сравнительно быстро, и поддерживается изотопное равновесие. Это пул лабильного Р, который, как считается, доступен растениям, хотя различные методы химической экстракции, применяемые для определения его объемов, не обязательно отражают количества, реально усваиваемые растениями (см. ниже). Рн наиболее доступен при pH почвы около 6,5. При малых значениях pH концентрацию раствора регулирует снижение растворимости фосфатов Fe и Al, в то время как при более высоких играет роль снижение растворимости фосфатов Ca. Локальные изменения pH в ризосфере могут быть важны для изменения доступности различных источников Р. Кроме того, образование хелатирующих соединений, таких как органические анионы (напр., цитрат и оксалат) повышают доступность некоторых источников Р (Marschner, 1995; Comerford, 1998).

Долгое время считалось, что наиболее часто встречающимися в почве формами Ро являются инозитол-фосфаты (фитат), фосфолипиды и нуклеиновые кислоты. Сейчас, однако, имеются серьезные сомнения в том, что фитат представляет собой основной источник Ро в почве, на самом деле, он может составлять только около 5% пула (Smernik, Dougherty, 2007). Таким образом, данные экспериментов, показывающих роль микоризных грибов в гидролизе фитата, могут мало соответствовать реальности. Тем не менее, превращение всех типов Ро в неорганическую форму и дальнейшая доступность для растений, зависит от гидролиза, осуществляемого микроорганизмами. Ро вряд ли составляет основной пул, напрямую доступный немикоризным растениям, хотя есть данные об активности фосфатаз на поверхности корней, которая может влиять на гидролиз. Некоторые АМ грибы имеют значительную способность к гидролизу некоторых источников Ро или оказывают влияние на образование фосфатаз растениями, но их количественный вклад в питание растения еще предстоит изучить. Тем не менее, следует отметить, что и эктомикоризные (ЭМ) грибы, и грибы эрикоидных микориз (ЭрМ) активно используют органические источники как Р, так и N, что отличает эти типы микориз от арбускулярной (см. гл. 9, 10 и 11).

Растворимый Рн, попадающий в почву после гидролиза (минерализации) или в результате внесения удобрений, приводит к локальному и кратковременному повышению концентрации ортофосфата в почвенном растворе. Однако большая его часть удаляется из раствора путем быстро начинающейся «фиксации», которая может длиться достаточно долго без достижения равновесия. Фиксация включает сорбцию ионов на поверхности почвы, осаждение минеральных фосфатов и использование различными организмами, в результате чего происходит иммобилизация Р в биомассе. Эти процессы фиксации оказывают значительное влияние на концентрацию ортофосфатов в почвенном

растворе, их передвижение в почве и, следовательно, поглощение корнями и микроорганизмами, в том числе, АМ грибами.

Вполне очевидно, что массовый расход раствора в почве не может обеспечивать доставку ортофосфатов к корням в таком объеме, в котором Р поглощается, и принято считать, что ортофосфаты поступают на абсорбирующие поверхности путем диффузии (Tinker, Nye, 2000). Кроме того, скорость диффузии ионов Р в почве на несколько порядков ниже (10^{-8}–10^{-11} см^2/с), чем в воде (10^{-5} см^2/с) и будет меняться в зависимости от содержания Р в почве, буферной способности и извилистости путей диффузии. Медленная диффузия ортофосфатов в почвенный раствор, сравнительно с быстрой абсорбцией, приводит к возникновению зон истощения вокруг корней (см. рис. 4.1). Поглощение ограничено в большей степени скоростью диффузии ортофосфатов в эти зоны истощения, чем скоростью транспорта через живые мембраны внутрь корня (т.е., абсорбирующей способностью). Чем дольше участок корня активно поглощает ортофосфаты из почвы со скоростью, превышающей скорость их притока, тем шире будет зона истощения, что приводит к снижению скорости поступления Р на абсорбирующие поверхности и, следовательно, его поглощения растением.

Возможно произвести приблизительный расчет притока (поглощение на единицу длины в единицу времени) в немикоризные корни, и в норме однажды вокруг корней возникает «нулевое поглощение». Величина этого притока зависит от ряда факторов почвы, в том числе, объема лабильного пула и буферной способности, что оказывает влияние на концентрацию раствора в почве, а также свойств, влияющих на коэффициент диффузии. Это концентрация растворимых веществ, pH, редокс-потенциал и ионная сила почвенного раствора, а также содержание воды и другие факторы, влияющие на извилистость диффузионных путей. По сравнению с этими свойствами почвы, влияние радиуса корня и его абсорбционной способности (зависящей от K_m и V_{max} поглощающей системы) на скорость поглощения достаточно мало. Тем не менее, чем меньше диаметр поглощающей структуры, тем слабее будет эффект истощения и больше величина абсорбционной способности. Корневые волоски эффективно повышают размеры всасывающей поверхности корня за пределами зоны истощения и значительно влияют на поглощение Р, особенно если они имеют большую длину (Claassen, Barber, 1976; Clarkson, 1985; Schweiger, Jakobsen, 1999a; Jakobsen et al., 2005a). Гифы АМ грибов распространяются в почве далеко за пределами поверхности корня или зоны корневых волосков (до 25 см). Их малый диаметр (сходный с диаметром корневых волосков или даже меньший, см. табл. 4.1) обусловливает отсутствие вокруг них выраженной зоны истощения, и, кроме того, они способны проникать в почвенные поры, недоступные для корней, имеющих гораздо большую толщину. Это обозначает, что гифы способны использовать наполненные раствором поры в почве при существенно более низких значениях водного потенциала, чем корни, и таким образом поглощать Р из менее влажной почвы.

Влияние арбускулярно–микоризной колонизации на фосфорное питание растения

Влияние АМ колонизации на усиление поглощения Р и рост многих растений было описано в гл. 4. Косвенными свидетельствами того, что АМ корни могут более эффективно поглощать питательные вещества, чем немикоризные, являются данные о том, что восприимчивые АМ растения имеют большие размеры и более высокое содержание Р в тканях, чем безмикоризный контроль. Первое предположение заключалось в том, что АМ колонизация увеличивает эффективность поглощения корневой системой, однако это не единственное возможное объяснение. Повышение общей длины корня или эффективности поглощения у АМ растений, конечно, может вносить вклад в общее по-

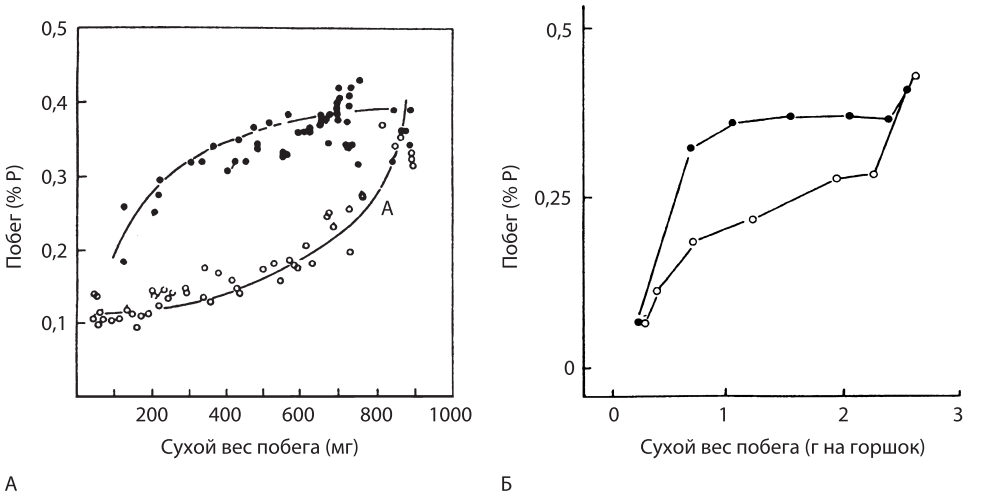


Рисунок 5.1. Соотношение между концентрацией P в побегах (доля в % от сухого веса) и сухим весом побегов у: (○) немикоризных растений, и (●) растений, колонизированных *Glomus mosseae*. А — *Allium porrum* (лук-порей) на десяти типах почвы, обработанных γ-излучением и отличающихся по исходному содержанию P, в которые вносили P удобрения в пяти разных концентрациях, что в сумме дает 50 вариантов обработки. Перерисовано из Stribley et al., 1980. Б — *Trifolium subterraneum* на почве с добавлением суперфосфата. Перерисовано из Pairunan et al., 1980.

глощение, но не обязательно приводит к повышению концентрации веществ в тканях. Если рост идет с той же скоростью, что и поглощение P, его концентрация в тканях сохраняется постоянной. Если она возрастает (как показано в табл. 4.2 и рис. 5.1), рост может быть лимитирован некоторыми другими факторами, помимо P (Pairunan et al., 1980; Stribley et al., 1980b). Как показано в гл. 4, повышение концентрации может происходить в результате увеличения расхода органического C у АМ растений, что приводит к истощению количества C и «избыточному» накоплению P. Каков бы ни был механизм, повышение концентрации P и других питательных веществ в тканях восприимчивых АМ растений давно привлекло внимание исследователей к возможной роли арбускулярных микориз в питании растений.

Прямые доказательства увеличения эффективности поглощения P были получены при выражении этого параметра через количество абсорбирующей ткани. Вклад АМ грибов был определен по разности величин поглощения P между немикоризными и АМ растениями («метод вычитания»). Большинство результатов приводится в виде расчетов на единицу длины корня (приток, моль/м/с) или единицу массы корня (скорость специфичного поглощения; моль/г/с). Измерение притока дает основания для практического сравнения поглощения неподвижных ионов с ограниченной способностью к диффузии, таких как ортофосфаты, так как линейный рост корневой системы в неистощенной почве более значим в определении уровня поглощения, чем площадь поверхности, контактирующая с почвой, где питательные вещества находятся в очень низких концентрациях. Этот подход к определению вклада грибов в поглощение веществ ограничен ситуациями, когда АМ растения имеют более высокое общее содержание P, чем немикоризный контроль. Было сделано предположение, что колонизация сама по себе не влияет на прямое поглощение питательных веществ через ризодерму и корневые волоски, так что вклады непосредственного и АМ путей поглощения (см. рис 4.1) суммируются. Как было упомянуто в гл. 4, это чересчур упрощенная интерпретация. Накапливаются данные о том, что АМ

путь играет главную роль не только в тех случаях, когда растения дают положительную ответную реакцию на колонизацию, но также и когда разница в росте и поглощении элементов питания между АМ и НМ растениями незаметна. Тем не менее, ранние вычисления эффективности поглощения питательных веществ создали надежную базу, на основе которой можно установить взаимосвязь между способностью корней и гиф к извлечению фосфора из почвы при разном уровне его доступности.

В первый раз увеличение притока Р в АМ корнях было отмечено у высоковосприимчивого растения *Allium cepa*, колонизированного *Glomus* spp. (Sanders, Tinker, 1971, 1973). Значения для АМ корней были в среднем в 3–4 раза больше, чем для немикоризных, и авторы подсчитали, что при условии одинакового поглощения АМ и НМ корнями, вклад АМ грибов составляет около 70%, так как прямое поступление будет ограничено скоростью диффузии (табл. 5.1).

Таблица 5.1. Приток Р в микоризные (М) и немикоризные (НМ) корни *Allium cepa* и расчет вклада гиф в приток к микоризным корням для двух экспериментов.

Эксперимент	Колонизация	Приток (моль Р/м/с ´ 10^{-12})				Ток в гифах (моль Р ´ 10^{-4} / $м^2$/с)
	(%)	М	НМ	Гифы	Участки, колонизированные гифами	Среднее для двух экспериментов
A	50	13,0	4,2	8,8	17,6	3,8
B	45	11,5	3,2	8,3	18,5	

Из Sanders, Tinker 1973. На колонизированных участках микоризных корней было около 600 точек проникновения на м. Диаметр проникающих гиф составлял 15 мкм, центрального просвета — 10 мкм. Площадь поперечного сечения гифы, через которую Р попадает в корни, равнялась, таким образом, 4,7 ´ 10^{-8} $м^2$/м. Эти значения, а также процент грибной колонизации (виды рода *Glomus*) были использованы для расчета тока Р, транспортируемого в корни посредством гиф.

Абсолютные значения притока, измеренные в ходе различных экспериментов, достаточно сильно различаются, предположительно, из-за разного содержания Р в почве, а также видовой принадлежности симбионтов. В одном значительном раннем исследовании было показано, что средние величины притока Р в корневую систему высоковосприимчивого растения *Allium cepa*, колонизированного тремя видами АМ грибов, были гораздо выше, чем в случае немикоризных корней (Sanders et al., 1977). Четвертый вид обладал слабой способностью к колонизации и не оказывал влияния на приток Р. Те виды грибных симбионтов, которые повышают поступление Р сравнительно с контролем, образуют достаточно стабильное количество свободного мицелия на метр колонизированного корня, поэтому можно заключить, что после формирования симбиоза скорость поглощения Р гифами будет связана с длиной свободного мицелия (Sanders et al., 1977). В нескольких более поздних исследованиях также была показана отчетливая корреляция между обилием свободного мицелия и высоким АМ поглощением (Graham et al., 1982b; Munkvold et al., 2004; Smith S.E. et al., 2004a). Однако грибы, образующие обширный мицелий, не всегда являются эффективными симбионтами (Smith et al., 2000), и, в таком случае предполагают, что плотность гиф может не отражать их истинное распределение в отдалении от корней, или что колонизация почвы связана скорее с поиском новых растений-хозяев, чем с поглощением питательных веществ (см. гл. 2).

Оценки вклада гриба в приток веществ следует рассматривать как минимальные значения, потому что они основаны на допущении, что прямое поглощение через ризодерму и

корневые волоски всегда поддерживается на одном и том же уровне, вне зависимости от АМ колонизации. Исходя из прямых свидетельств вклада АМ пути поглощения, ясно, что это не так. Данные о сокращении прямого поступления веществ накапливались в течение многих лет. В результате физиологических экспериментов установлено, что K_m и V_{max} поглощающих систем корня зависят от внутренней концентрации Р, поэтому сила абсорбции снижается в корнях с высоким содержанием Р, по меньшей мере, в хорошо перемешанных растворах (Lefebvre, Glass, 1982; Elliott et al., 1984; Jungk et al., 1990; Schachtman et al., 1998; Smith F.W. et al., 2003a), наиболее вероятно, за счет понижающей регуляции экспрессии генов ризодермальных Р транспортеров (см. ниже). Сокращение поглощающей способности может также быть вызвано прямым влиянием АМ колонизации как таковой, если она снижает экспрессию Р транспортеров в ризодерме и корневых волосках. В любом случае, при изучении поглощения $^{32/33}$Р в настоящее время установлено, что прямое поступление фосфора у АМ растений часто снижается (см. ниже).

В некоторых исследованиях наблюдалась положительная зависимость между поглощением Р через АМ грибной симбионт и степенью колонизации, но она прослеживается далеко не всегда (McGonigle, 1988; McGonigle, Fitter, 1988b; Fitter, Merryweather, 1992; Sanders, Fitter, 1992b; Smith S.E. et al., 2004a). Возможным объяснением различий может служить закономерная гибель гриба внутри корня по мере старения растения, сокращение количества арбускул и/или гибель или разрушение свободного мицелия. На самом деле степень развития и распространение свободного мицелия могут быть более значимы для ограничения поступления Р через грибной симбионт, чем площадь контактной зоны между партнерами (определяемой исходя из процента колонизации). В природных сообществах участие арбускулярных микориз в минеральном питании не всегда очевидно из сравнений поглощения АМ и немикоризными растениями. Четкая корреляция между поглощением Р и колонизацией была обнаружена у *Hyacinthoides non-scripta* (Merryweather, Fitter, 1995a, b) и *Ranunculus adoneus* (Mullen, Schmidt, 1993), но не была выявлена у *Vulpia ciliata* (West et al., 1993b) и ряда луговых видов растений (McGonigle, Fitter, 1988b; Sanders, Fitter, 1992b). Частично это может объясняться изменением доступности Р в результате применения техник для снижения или предотвращения АМ колонизации. Также корреляции могут быть основаны на неточных данных, в результате общей недооценки вклада грибов в поглощение при использовании «метода вычитания».

Так как разнообразие ответных реакций растений стало широкоизвестным (Johnson et al., 1997 и см. гл. 4), появился значительный интерес к изучению возможных преимуществ АМ колонизации, получаемых растениями, у которых не показано увеличение общего содержания Р и эффективности его поглощения (невосприимчивые или дающие отрицательную реакцию растения). Были выявлены другие «выгоды» АМ колонизации, такие как улучшение водного обмена (см. ниже) и повышение устойчивости к заболеваниям (см. гл. 16). Однако к началу 1990-х гг. произошли значительные изменения в методологии экспериментов, в том числе, начали применять контейнеры, разделенные сеткой на корневые (КО) и гифальные (ГО) отсеки, что позволило получить прямые свидетельства действия АМ пути поглощения (рис. 5.2 и 5.3). Используя подобные системы, начали изучать распределение гиф в почве и вклад АМ грибов в поглощение растениями питательных веществ или их истощение в почве в отсутствии корней как таковых. Распространение зоны истощения экстрагируемого бикарбонатом или водой Р, распределение гиф (рис. 5.3) или поглощение ^{32}Р или ^{33}Р из гифального отсека (рис. 5.4 и 5.5) были изучены во многих экспериментах. К началу 1990-х гг. появился целый ряд прямых свидетельств главной роли АМ пути поглощения не только у восприимчивых видов *Trifolium* и *Andropogon gerardii* (Li et al., 1991a, b; Jakobsen et al., 1992a, b; Hetrick et al., 1994a), но также и у сравнительно невосприимчивых пшеницы, *Bromus inermis* и *Agropyron desertorum* (Hetrick et al., 1994a, 1996; Cui, Caldwell, 1996a). Более поздними исследованиями эти закономерности были подтверждены для целого ряда видов (Hartnett, Wilson, 2002; Zhu et al., 2003). Результаты четко показывают основ-

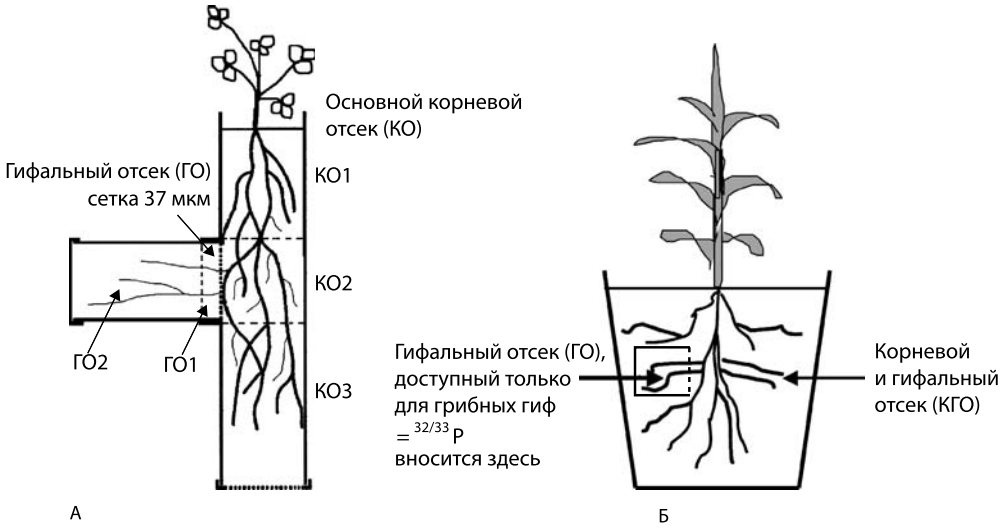
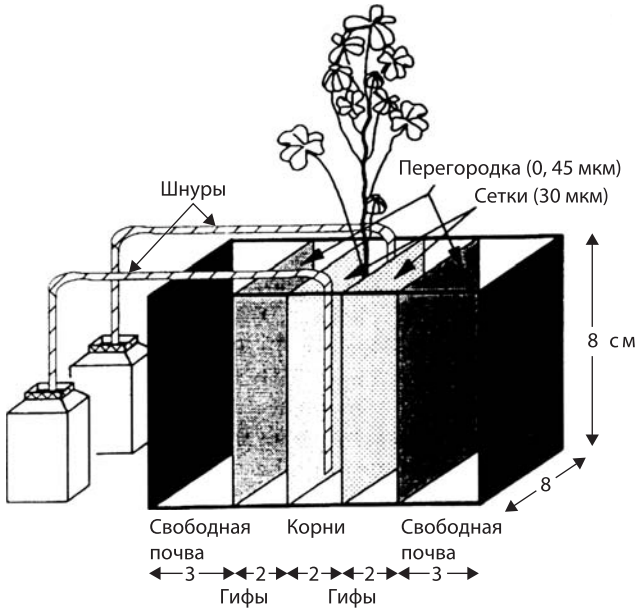


Рисунок 5.2. Разделенные на отсеки горшки, используемые для изучения влияния свободного мицелия на поглощение растениями питательных веществ. Горшки разделены сеткой, чтобы получить корневой и гифальный отсек (КГО) и отсек без корней, в котором присутствуют гифы (ГО). А — «крестообразный горшок», сконструированный И. Якобсеном из водопроводных труб, проникновение корней в большой гифальный отсек предотвращается сеткой с диаметром ячеек 37 мкм. Б — горшок с отсеками, в котором ГО представлен маленькой трубочкой, вкопанной в основном корневом и гифальном отсеке, и отделен сеткой. Перерисовано из Smith S.E. et al., 2003c.

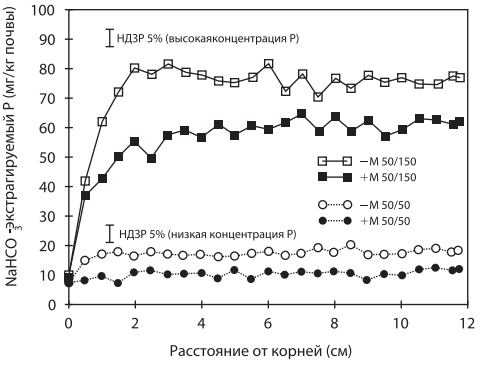
ной вклад грибного симбионта в поглощение Р из почвы и его передачу через гифы АМ растениям разной степени восприимчивости.

Истинное значение полученных данных заключается в подтверждении того, что по АМ пути растению доставляются существенные количества Р вне зависимости от восприимчивости, и в демонстрации того, что прямое поглощение Р должно снижаться у невосприимчивых растений, что долгое время не признавалось. Однако эти данные были подтверждены, и количественное определение вклада АМ грибов показало, что он может быть достаточно велик, вплоть до 100%, и при этом не связан напрямую ни с процентом колонизации корня, ни с увеличением поглощения Р (Smith S.E. et al., 2003c, 2004a) (рис. 5.5). С учетом новой информации об экспрессии генов как растительных, так и грибных транспортеров, удалось получить данные о том, что АМ колонизация значительно меняет путь поглощения Р. Необходимо принимать во внимание, что эти изменения нужно учитывать при интерпретации данных об общем поглощении Р растениями с разным уровнем восприимчивости в пределах континуума мутуализм-паразитизм и в контексте конкуренции видов в природных сообществах (см. Javot et al., 2007).

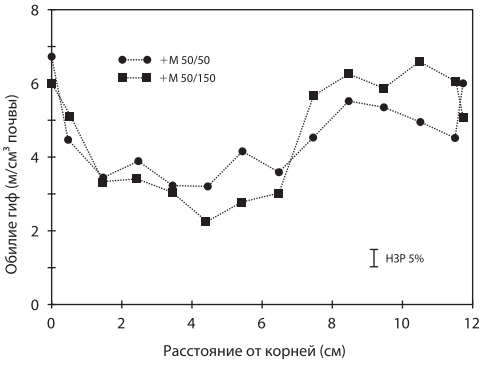
Несмотря на то, что в одной из работ (Rhodes, Gerdemann, 1975) была продемонстрирована способность гиф АМ грибов абсорбировать ^{32}P на некотором расстоянии от корней (7 см), авторы не представили информацию о зоне истощения Р в почве. Ранние наблюдения предполагают, что зона истощения гиф может простираться всего на несколько миллиметров от поверхности корня (Owusu-Bennoah, Wild, 1979), но данные, приведенные на рисунке 5.3 явно показывают влияние распространения гиф на зону истощения Р в почве при двух способах внесения фосфора в гифальный отсек (Li et al., 1991b). Степень колонизации корней и плотность гиф в ГО слабо отличалась при разных количествах вносимого фосфора (76–79% и около 5,0 м/см^3 почвы, соответственно, см. рис.



А



Б



В

Рисунок 5.3. Горшок, разделенный на отсеки, и данные об истощении P и распространении гиф при развитии АМ или немикоризных растений *Trifolium repens*. Воспроизведено из Li et al., 1991a, с разрешения издательства Kluwer Academic Publishers. А — горшок, разделенный на отсеки, в котором малый корневой и гифальный отсек с растением отделен от большого гифального отсека сеткой с диаметром ячеек 30 мкм. Крайние отсеки (свободная почва) также отделены 0,45 мкм перегородками, которые исключают проникновение и корней, и гиф. Б — профили истощения $NaHCO_3$-экстрагируемого P (метод Ольсена) в гифальных отсеках при двух концентрациях. В обоих случаях АМ растения (закрашенные значки) истощали почву в большей степени, чем немикоризные (прозрачные значки). В — обилие гиф на разных расстояниях от границы корневого отсека при тех же двух концентрациях P, которые были использованы в (Б). Обратите внимание, что P оказывал слабое влияние на развитие мицелия, поэтому различия в профилях истощения нельзя объяснить разницей в обилии гиф.

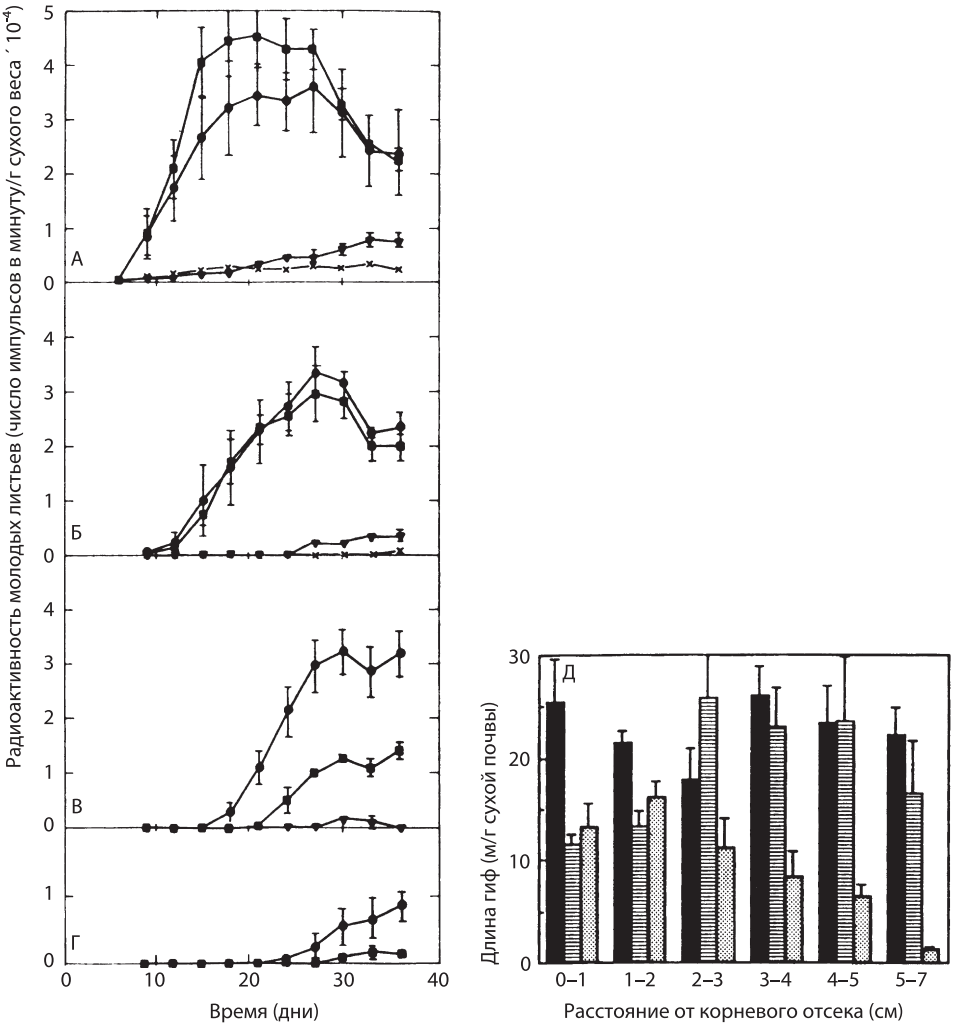


Рисунок 5.4. А–Г — сроки появления радиоактивной метки в молодых листьях *Trifolium subterraneum* в симбиозе с *Acaulospora laevis*, ●; *Glomus* spp., ■ и *Scutellospora calospora*, ▼ или немикоризных растений, х. Расстояние (см) от меченой ^{32}P почвы до корневого отсека составляло 0 (А), 1,0 (Б), 2,5 (В) или 4,5 (Г). Разброс — стандартная ошибка среднего. (Д) Длина гиф в разрезе почвы гифальных отсеков в экспериментальных системах с *Trifolium subterraneum* в симбиозе с *Acaulospora laevis* (на графике отмечено черной заливкой), *Glomus* spp. (отмечено горизонтальной штриховкой) или *Scutellospora calospora* (отмечено точечной заливкой). Данные были скорректированы с учетом незаметных гиф. Из Jakobsen et al., 1992, с разрешения.

5.3В). При допущении, что все гифы были живыми, объем притока P к гифам составлял 3,3 и 4,3 × 10^{-13} моль P/м/с для двух способов внесения P, что очень близко к значению 2,25 × 10^{-13} моль P/м/с, которое при тех же допущениях может быть получено из ранее опубликованных данных (Sanders, Tinker, 1973) (см. табл. 5.1). Зона истощения P, и, следовательно, зона поглощения гифами, простиралась по меньшей мере на 12 см в гифальном отсеке (максимум, возможный в экспериментальной системе) и заметно влияла

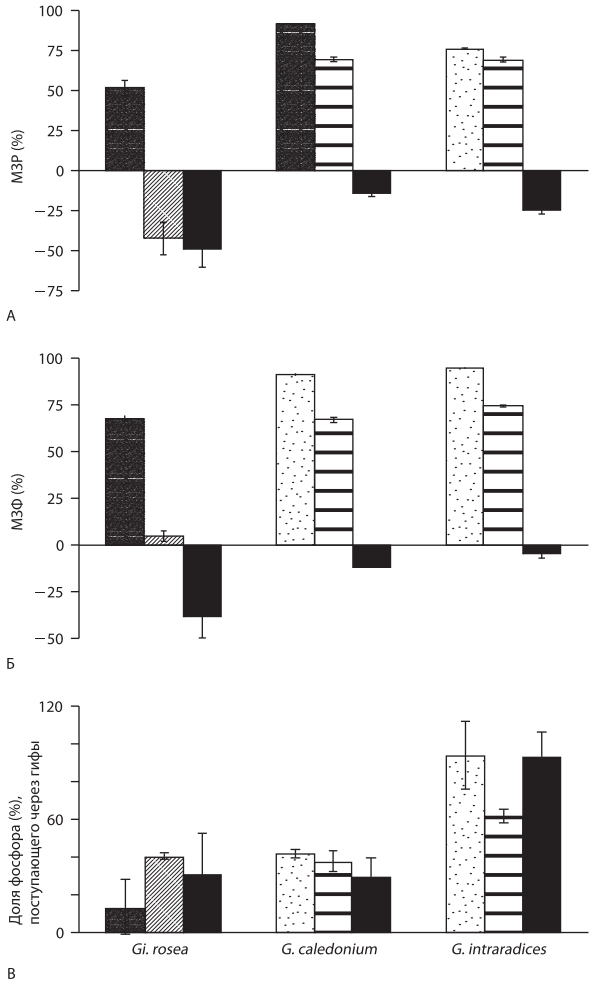


Рисунок 5.5. Различия результатов симбиотического взаимодействия трех видов растений с тремя видами АМ грибов. А — зависимость роста от микоризации (МЗР). Б — зависимость поступления Р от микоризации (МЗФ). В — доля фосфора (%), поступающего по АМ грибному пути в растения *Linum usitatissimum* (отмечено точечной заливкой), *Medicago truncatula* (отмечено перекрестной штриховкой) и *Solanum lycopersicum* (отмечено черной заливкой) после 7 недель роста при колонизации тремя указанными видами АМ грибов. Значения среднего и стандартной ошибки приведены для 3 повторностей. Данные взяты из Smith S.E. et al., 2003c и 2004a.

на АМ растения, у которых по сравнению с немикоризным контролем повышались как концентрация Р в тканях, так и сухой вес. Кроме того, пропорциональный вклад гиф в общее поглощение был несколько выше при большем количестве вносимого Р, что указывает на возможность эффективной эксплуатации АМ мицелием локальных участков почвы с высоким содержанием Р (в данном случае, почвы гифального отсека). Различное освоение богатых питательными веществами участков АМ грибами было подтверждено в нескольких исследованиях (Cui, Caldwell, 1996b; Cavagnaro et al., 2005) и, возможно, оно оказывает значительное влияние на структуру популяций растений (Facelli, Facelli, 2002).

Это очень важный момент, так как неоднородность почвы усиливается за счет поглощения грибами и растениями, а также внесения питательных веществ. Более того, хотя влияние АМ колонизации на поглощение чаще проявляется при низком содержании Р, видимый эффект может наблюдаться и при уровне, достаточном для максимального роста, особенно на поздних стадиях развития растения, когда зона истощения будет достаточно большой и большая часть изначально доступного фосфора уже усвоена (Smith, 1982; Son, Smith, 1988; Dunne, Fitter, 1989; Li et al., 2005). Степень развития гиф в почве может быть различной, она зависит от видовой принадлежности гриба и условий в почве (см. гл. 2). Существуют предположения о некоторой функциональной комплементарности, существующей между разными видами АМ грибов, колонизирующими одну и ту же корневую систему, с различным распространением мицелия и между АМ грибами и корневыми волосками (Koide, 2000). Многие растения с тонкими, быстро растущими корнями и густыми или длинными корневыми волосками менее восприимчивы к АМ колонизации, чем растения с иными особенностями строения. Недавнее исследование по сравнению дикого типа ячменя с длинными корневыми волосками с мутантной формой без корневых волосков подтвердило большой вклад АМ в эффективность поглощения Р при отсутствии корневых волосков и показало существенные межвидовые различия влияния АМ грибов (Jakobsen et al., 2005a). Между видами АМ грибов и даже изолятами одного и того же вида были выявлены значительные различия как по обилию гиф в почве, так и по поглощению и доставке к растению. В одной из ранних работ (Jakobsen et al., 1992b), поглощение гифами ^{32}P и транспорт к *Trifolium subterraneum* от источника в ГО, находящегося на разном расстоянии (0, 1,0, 2,5, 4,0 и 7,0 см) от отсека с гифами и корнями (КГО), наблюдали в течение 37 дней (см. рис. 5.4). Гифы видов рода *Glomus* (WUM 10(1)) были расположены более густо вблизи корней, и гриб транспортировал наибольшее количество ^{32}P к растениям, когда источник Р был так же близко. Напротив, вид *Acaulospora laevis* имел бо́льшую плотность гиф на расстоянии 2-5 см от корня, чем на его поверхности, и эффективно поглощал ^{32}P из более удаленных источников. Вид *Scutellospora calospora* имел сравнительно низкую плотность гиф и не транспортировал большие количества ^{32}P к растениям ни на одном из расстояний. Однако гифы этого вида содержали почти в четыре раза больше ^{32}P, чем у других, и был сделан вывод, что хотя вид *S. calospora* способен поглощать и переносить ^{32}P, транспорт к растению идет с низкой скоростью, и вследствие этого Р накапливается в гифах. Для того, чтобы этот эффект проявился, грибу нужно усвоить и удержать в мицелии относительно небольшое количество Р. Последующими экспериментами было в целом подтверждено, что грибы со скудным развитием гиф имеют слабую способность к транспорту Р (Smith F.A. et al., 2000; Smith S.E., 2004a; Munkvold et al., 2004). Однако наличие обширного свободного мицелия не всегда коррелирует с активным перемещением и транспортом Р, что указывает на роль гиф не только в поглощении этого элемента, но также и в добывании С (см. гл. 2).

Причины низкой скорости транспорта в некоторых парах гриб–растение точно неизвестны, они могут быть связаны с низким обилием активных арбускул или гифальных клубков (Smith, Dickson, 1991) или с исходно низкой способностью к транспорту через контактные зоны. Относительная эффективность тех же самых изолятов *Glomus* spp. и *Scutellospora calospora*, которые были использованы в предыдущем исследовании (Jakobsen et al., 1992b), была подтверждена в экспериментах с двойной меткой, в которых ^{33}P вносили в корни и гифы (в КГО), а ^{32}P — только в гифы (в ГО) (Pearson, Jakobsen, 1993b). Однако поглощение из ГО гифами третьего вида, *Glomus caledonium*, было столь же высоким, как и поглощение из КГО, что привело к предположению о полном ингибировании под действием неизвестного механизма корневого поглощения в присутствии гриба (Pearson, Jakobsen, 1993b; Jakobsen, 1995). Это первое свидетельство того, что по мере развития грибной колонизации АМ путь поглощения начинает преобладать над прямым.

Более точная количественная оценка вклада АМ в поглощение подтвердила исходные данные о том, что АМ грибы предоставляют существенную долю Р питания вне зависи-

мости от общей восприимчивости растения. Используя горшечную систему, изображенную на рисунке 5.2Б, и измерение специфичной активности ^{32}P в доступном для растений фосфорном пуле почвы (до того момента не учитываемом), С.Э. Смит с соавт. сравнили результаты симбиотического развития у трех видов растений с различной восприимчивостью (*Linum, Medicago* и томат) с тремя видами грибов (*Gigaspora rosea, Glomus caledonium* и *G. intraradices*) (Smith S.E. et al., 2003c, 2004a). Все грибы эффективно и обширно колонизировали корни, и два вида *Glomus* образовывали достаточно обильный свободный мицелий как при наличии корневой системы, так и в свободных от корней ГО. Однако вид *Gigaspora rosea* формировал малые количества свободного мицелия вне зависимости от растительного симбионта. Лен (*Linum*) давал положительную реакцию (рост и поглощение Р) на все виды грибных симбионтов, а люцерна (*Medicago*) — только на *Glomus caledonium* и *G. intraradices*. Томат не давал положительной реакции ни на один из видов грибов (см. рис. 5.5А, Б). Несмотря на эти общие ответы, транспорт ^{32}P и гифальных отсеков к растениям показал, что в пяти из девяти комбинаций симбионтов путь поглощения Р через гриб преобладает, а еще в двух - вносит существенный вклад. *G. intraradices* поставляет почти 100% от общего количества Р ко всем трем видам растений, в том числе невосприимчивому томату (см. рис. 5.5В). Вклад грибного поглощения опять же не был связан со степенью колонизации или положительными ростовыми или Р ответными реакциями. Низкий вклад вида *Gigaspora rosea*, возможно, связан со слабым развитием свободного мицелия в почве. Результаты согласовывались с полученными ранее на примере *Cucumis* данными (Pearson, Jakobsen, 1993b) о том, что АМ колонизация может приводить к полной инактивации прямого пути поглощения Р через корневые волоски и ризодерму, и что отсутствие положительной ответной реакции растения не обозначает отсутствия вклада АМ гриба в фосфорное питание. Полученные результаты вновь подчеркивают, что расчет АМ вклада в поглощение Р, исходя из общего содержания фосфора в растении, методом вычитания, часто может давать очень неточные результаты, и информация относительно невосприимчивых растений будет малопригодна для использования.

Эффективность симбиоза в отношении транспорта Р, как показывают данные на рисунке 5.5, зависит от видовой принадлежности обоих партнеров. Вид *Gigaspora rosea* существенно влияет на Р питание растения только в симбиозе с льном. Сходные результаты, демонстрирующие яркие различия в «функциональной совместимости» вне зависимости от совместимости на уровне колонизации как таковой, были получены для различных симбионтов (Ravnskov, Jakobsen, 1995; Burleigh et al., 2002). Было проведено несколько исследований для непосредственного изучения функционирования АМ пути поглощения в полевых условиях с применением меток. Однако был отчетливо продемонстрирован вклад встречающихся в природных условиях АМ грибов в поглощение фосфора у пшеницы даже при отсутствии ростовых реакций или повышения общего содержания Р в растении (Schweiger, Jakobsen, 2000a).

Пути поглощения фосфора арбускулярно–микоризными растениями

Общие представления

Как уже было показано, у АМ корня имеется два возможных пути поглощения из почвы Р и других элементов питания: прямой, через корневые волоски и ризодерму, как у немикоризных растений, и АМ, который заключается в поглощении веществ из почвы гифами, быстрое перемещение на большие расстояния по свободному мицелию и в конечном счете поступление в грибные структуры внутри корня и транспорт через симбиотические зоны контакта в коре корня (см. рис. 4.1). Как описано в гл. 4, контактные зоны ограничены грибной и растительной цитоплазматическими мембранами, разде-

ленными межфазным апопластным компартментом, поэтому для транспорта питательных веществ требуется и отток от грибного симбионта, и поглощение растением (см. рис. 4.2). Механизмы, обусловливающие поглощение, перенос и транспорт питательных веществ по АМ пути и его сравнительный вклад в получение растением питания, являются предметом активного изучения.

Функции свободного мицелия в поглощении фосфора

Свободный мицелий АМ грибов растет в почве, абсорбирует ортофосфаты из почвенного раствора и транспортирует Р к корням. Эти процессы, наряду с последующим транспортом от гриба к растению, происходят значительно быстрее чем диффузия в почве. Следовательно, транспорт по гифам по АМ пути помогает преодолевать снижение скорости поглощения Р растением, происходящее из-за медленной диффузии фосфора и развития зон истощения вокруг корней. Образование гиф требует меньших затрат С на единицу длины или площади поглощающей поверхности, чем развитие корней (Tinker, 1975b), и их небольшой диаметр снижает скорость развития зоны истощения, а также позволяет им проникать в почвенные поры, недоступные для корней, эффективно увеличивая объем поглощаемого почвенного раствора. Быстрое распространение гиф на многие сантиметры от корня и оборот поисковых гиф позволяет сохранять большую площадь поглощающей поверхности. П.Ф. Швейгер и И. Якобсен (Schweiger, Jakobsen, 1999a) полагали, что кинетические параметры (K_m и V_{max}) системы поглощения Р будут оказывать более сильное влияние на всасывание гифами (имеющими меньший диметр), чем корнями (диаметр которых больше), что согласуется с данными ранее прогнозами (см. выше). Существуют значительные различия в степени развития свободного мицелия у разных видов АМ грибов (см. гл. 2), и имеется небольшое количество свидетельств того, что гифы некоторых видов по-разному растут в почве, свободной от корней, и на участках, богатых как органическими, так и неорганическими питательными веществами. Это указывает на способность воспринимать внешние сигналы, которая может способствовать более эффективному усвоению Р (Maldonado-Mendoza et al., 2001; Olsson et al., 2002; Smith S.E. et al., 2004a; Cavagnaro et al., 2005).

Ортофосфат, возможно, поглощается в виде $H_2PO_4^-$, и этот процесс должен быть энергоемким, так как он направлен против градиента электрохимического потенциала между почвенным раствором и цитоплазмой (Schachtman et al., 1998). Физиологические измерения указывают на действие у АМ грибов двух систем поглощения Р (с высокой и низкой аффинностью) (Thomson et al., 1990b), так же как и в клетках высших растений и у сапротрофных грибов. Гены фосфатных транспортеров из семейства Pht1 были клонированы у *Glomus versiforme* (*GvPT*), *G. intraradices* (*GiPT*) и *G. mosseae* (*GmosPT*) (Harrison, van Buuren, 1995; Maldonado-Mendoza et al., 2001; Benedetto et al., 2005). Они оказались высокоаффинными транспортерами; все они активно экспрессируются в свободном мицелии, но в меньшей степени в структурах внутри корня, что согласуется с предполагаемой ролью почвенных гиф в поглощении Р из почвенного раствора, где этот элемент содержится в низких концентрациях. Указанное значение K_m для *G. versiforme* (около 18 мкМ) довольно высокое, принимая во внимание нормальную концентрацию Р в почвенном растворе. Оно гораздо выше, чем значения, полученные при измерениях физиологических параметров (около 0,17 мкМ; Schweiger, Jakobsen, 1999a). Экспрессия и *GiPT* и *GmosPT* в свободном мицелии зависит от концентрации Р в растворе и содержания этого элемента в микоризе, что предполагает наличие как внутренних, так и внешних механизмов распознавания для регуляции экспрессии. В случае *GmosPT*, наблюдалась постоянная слабая экспрессия во внутрикорневых грибных структурах вне зависимости от поступления Р. Свободные гифы АМ грибов также имеют активные H^+-АТФ-азы на цитоплазматической мембране, которые способны создавать протонную движущую силу, достаточную для котранспорта H^+-фосфата (Smith, Smith, 1996; Lei et al., 1991) (см. рис.4.3А). Несколько ге-

Таблица 5.2. Приток P в гифы из почвы, рассчитанный для трех горшечных экспериментальных систем с комбинациями растение–гриб, различающимися по восприимчивости растительного партнера.

Растение–гриб	В/НВ	Приток (моль/м/с)	Источник
Allium cepa/Glomus[1]	В	$2{,}25 \times 10^{-13}$	Sanders, Tinker, 1973; см. Tinker, 1975
Trifolium repens/*G. mosseae*[2]	В	$3{,}3–4{,}3 \times 10^{-13}$	Li et al., 1991
Linum usitatissimum/G. caledonium[3]	В	$0{,}1–1{,}1 \times 10^{-14}$	Smith et al., неопубликованные данные
L. usitatissimum/G. intraradices[3]	В	$1{,}1–4{,}3 \times 10^{-14}$	Smith et al., неопубликованные данные
Medicago truncatula/G. caledonium[3]	В	$1{,}1–2{,}2 \times 10^{-14}$	Smith et al., неопубликованные данные
M. truncatula/G. intraradices[3]	В	$0{,}6–2{,}6 \times 10^{-14}$	Smith et al., неопубликованные данные
Solanum esculentum G. caledonium[3]	НВ	$0{,}1–0{,}9 \times 10^{-14}$	Smith et al., неопубликованные данные
S. esculentum G. intraradices[3]	НВ	$0{,}6–3{,}2 \times 10^{-14}$	Smith et al., неопубликованные данные
T. subterraneum/G. intraradices[3]	В; данные только для побегов	2×10^{-15}	Schweiger, Jakobsen, 1999

[1] АМ и НМ (немикоризные) растения выращены в горшках. P поглощение по АМ пути определено методом вычитания (см. в тексте).

[2] Гифальное поглощение определено по поглощению АМ и НМ растениями, выращенными в горшках с отсеками. АМ растения имели доступ к большему объему почвы, чем НМ.

[3] Поглощение по АМ пути определено по транспорту ^{32}Pн из гифального отсека. См. Smith et al., 2004.

В, восприимчивое растение; НВ, невосприимчивое.

нов АМ грибных H^+-АТФ-аз были клонированы, показана их различная регуляция на разных этапах колонизации и при разном поступлении фосфата, но ясных представлений об их роли в поглощении или в транспорте к растению пока получено не было (Ferrol et al., 2000; Requena et al., 2003).

Результаты исследования поглощения P проростковыми трубками *Gigaspora margarita* остаются несколько противоречивыми. Хотя Б.Д. Томсон с соавт. (Thomson et al., 1990b) показали наличие двух систем поглощения P у 14-дневных проростков, Дж. Ли с соавт. (Lei et al., 1991) не обнаружили с помощью метода авторадиографии свидетельств накопления ^{32}P в прорастающих спорах, без стимуляции корневыми экссуда-

тами (см. гл. 2). У не простимулированных проростковых трубок не показана активность H^+-АТФ-азы на цитоплазматической мембране, в отличие от простимулированных. Рост простимулированных проростковых трубок подавлялся внесением ингибитора H^+-АТФ-азы диэтилстилбэстрина (ДЭС) (Lei et al., 1991). Эти данные свидетельствуют о важности стимуляции проростковых трубок сигналами растения для перевеления их в состояние готовности к колонизации и могут указывать на то, что неспособность накапливать питательные вещества может частично объяснять отсутствие обильного роста у АМ грибов без растения-хозяина (см. гл. 3). Требуются дополнительные исследования для подтверждения этого предположения, особенно ввиду того, что две группы ученых использовали в работе материал различного возраста.

До сих пор мало данных о скорости поглощения Р мицелием АМ грибов в ассоциации с растением. В табл. 5.2 приведены значения притока вещества для ряда АМ грибов, ассоциированных с различными растениями, определенные разными методами. Значения колеблются от ~$1{,}1\times10^{-15}$ до $4{,}3\times10^{-13}$ моль/м/с; широкий разброс, возможно, отражает разницу в методологии, межвидовые различия АМ грибов и растений, а также различия концентрации доступного Р в почве, которые явно оказывают влияние на скорость поглощения (Munkvold et al., 2004; Smith S.E. et al., 2004a). Поглощение на единицу поверхности гифы измерялось еще реже. Для вида рода *Glomus* получены такие значения площади поверхности как 12×10^{-6} м^2/м длины гифы и вычислены значения поглощения $20–40\times10^{-9}$ моль/м^2/с (Sukarno et al., 1993). Это довольно высокие значения, но они принадлежат к тому же порядку, что и для других типов клеток.

Расчеты относительной скорости поглощения свободными гифами и транспорта от гриба к растению показали, что поглощение на единицу площади абсорбирующих гиф идет порядка 10 раз медленнее, чем транспорт на единицу площади симбиотической контактной зоны (Sukarno et al., 1996). Это различие указывает на то, что свободный мицелий должен иметь большую площадь поглощения питательных веществ в почве, чтобы обеспечить поступление Р через точки входа в зоны контакта и далее в растение.

Использование арбускулярно-микоризными грибами недоступных для растения источников фосфора

Большой интерес вызывает вопрос, есть ли у АМ грибов способность получать Р из нелабильных фракций почвы. Этот вопрос возник ввиду предположения, что только лабильный Рн обменивается с ^{32}P, внесенным в почву, и представляет собой лабильный пул, из которого немикоризные растения напрямую поглощают фосфор. Хотя АМ растения лук, райграсс и соя поглощают большее общее количество Р из почвы с меченой лабильной фракцией, чем немикоризные, у двух групп растений не было отмечено различий в специфичной активности ^{32}P, что предполагает отсутствие у АМ доступа к нелабильным источникам Р (Sanders, Tinker, 1971; Hayman, Mosse, 1972; Mosse et al., 1973; Powell, 1975; Pichot, Binh, 1976; Gianinazzi-Pearson et al., 1981a). Кроме того, прогревание почвы для получения ряда концентраций «фиксированного» Р не дало свидетельств существенных различий между АМ и немикоризными растениями в извлечении Р из различных фракций (Barrow et al., 1977). В одном исследовании на примере картофеля было явственно показано, что АМ растения способны усваивать фиксированный Р (Swaminathan, 1979), но в целом считается, что не имеется существенных различий между пулами Р, доступного двум группам растений (Bolan, 1991). Тем не менее, количество типов почвы, для которых была изучена доступность Р для АМ грибов, остается сравнительно небольшим, и необходимо подтверждение полученных выводов для почв с другими значениями pH, способностью к фиксации Р и преобладающими формами фиксированного фосфора. Несмотря на сделанное много лет назад заключение, что растения и АМ грибы используют одни и те же источники Р в почве, продолжают изучать предполагаемую способность АМ корней утилизировать источники Р в

почве, в норме недоступные растениям. Эти источники включают относительно нерастворимые формы Рн, такие как каменный фосфат (КФ) и фосфаты Fe и Al, а также Ро, такие как фитат. Было убедительно показано что на рост АМ растений влияет внесение фосфатов Fe, КФ или трехкальциевого Р, при том, что удобрения в тех же концентрациях оказывали гораздо меньшее влияние на рост НМ растений (Murdoch et al., 1967; Pairunan et al., 1980; Bolan et al., 1987). Сходные результаты были получены при внесении нерастворимых фосфорных удобрений для целого ряда растений, обычно в почвах с низким значением pH. Хотя детальные исследования всего спектра ответных реакций на Р показали отсутствие абсолютных различий в доступности (что согласуется с общепринятой точкой зрения, см. выше), при умеренном уровне внесения, и при любом уровне Р эквивалента для ряда суперфосфатных удобрений, вносимых к культивируемым злакам (0–0,8 г Р/кг почвы), АМ растения более эффективно поглощали Р из КФ (Pairunan et al., 1980). Результаты, полученные с фосфатами Fe, также можно интерпретировать в контексте более эффективной эксплуатации почвенного пространства АМ гифами (Bolan et al., 1987).

Механизмы, обусловливающие возрастание поглощения, могут зависеть от объема почвы, эксплуатируемого гифами, синергистического действия АМ грибов и Р-растворяющих микроорганизмов, и возможного выделения гифами H^+, что снижает значение pH или концентрацию органических анионов с хелатирующей активностью (Smith, 1980; Comerford, 1998). Прямые экспериментальные свидетельства образования гифами АМ грибов хелатирующих агентов отсутствуют, но снижение pH почвы (вплоть до 1,0 единицы) в гифальных отсеках было показано одновременно с истощением Р, когда фосфор вносили в виде $Ca(H_2PO_4)_2$ и N в виде $(NH_4)_2SO_4$ (Li et al., 1991b) (рис. 5.6). Наиболее вероятный механизм снижения pH — путем вытеснения H^+, сопровождающим ассимиляцию аммония гифами (Raven, Smith, 1976; Smith, 1980; Bago, Azcón-Aguilar, 1997), но возможно участие и других факторов, таких как увеличение образования CO_2 (Li et al., 1991b).

Усилилась работа по изучению возможности гидролиза соединений Ро ферментами корня или АМ гиф. В раннем исследовании было показано, что фитаты представляют собой вполне достаточный источник Р для роста растения и АМ гриба в культурах на агаре, и что фитат кальция стимулирует рост гриба (Mosse, Phillips, 1971). Позднее в нескольких исследованиях была отмечена возрастающая способность АМ растений к получению Ро разной степени доступности (Gianinazzi-Pearson et al., 1981a; Jayachandran et al., 1992; Joner, 1994; Joner, Jakobsen, 1994; Koide, Kabir, 2000), но оказалось трудно доказать, что этот эффект обусловлен гидролизом за счет ферментов собственно АМ гриба, а не косвенным влиянием возрастающей микробиологической активности в почве (Joner, Johansen, 2000). Фосфатазы, образуемые свободным мицелием, как показано, имеют оптимум в кислой области, но большинство из них внутренние или связанные со стенкой, и внешняя растворяющая активность у них почти отсутствует. Тем не менее, в моноксеничной культуре был показан гидролиз искусственных Ро субстратов АМ грибами (Koide, Kabir, 2000), и это свидетельствует в пользу гипотезы о том, что возрастание активности в ризосфере может быть опосредовано грибами (Dodd et al., 1987; Tarafdar, Marschner, 1994). Однако ферменты могут быть и растительного происхождения. Кислая фосфатаза, активность которой увеличивалась в АМ корнях, была выделена из *Tagetes patula* (Ezawa, Yoshida, 1994). Она относится к растительным кислым фосфатазам и выделяется в ризосферу. Ген, кодирующий этот фермент (*TpPAP1*), подвергается повышающей регуляции при АМ колонизации корней и понижающей — при увеличении поступления Р (Ezawa et al., 2005), что привело авторов к предположению об индукции у растения АМ грибом ответной реакции на малую доступность фосфора. Взаимосвязи между образованием фермента и мобилизацией и поглощением Р остаются пока невыясненными.

Активно дискутируется гипотеза о том, что свободные гифы АМ грибов могут существенно повышать конкурентоспособность АМ корневой системы по отношению к по-

чвенным микроорганизмам в получении Р из почвенного раствора и таким образом обходить проблему иммобилизации фосфора в биомассе (Linderman, 1992). Зависимость АМ грибов от поступления продуктов фотосинтеза из растения обозначает то, что на их активность не влияет доступность источников органического С в почве или отношение С:Р, что дает им значительное преимущество над сапротрофными микроорганизмами. Х. Бареа с соавт. (Barea et al., 1975) были одними из первых, кто изучил взаимосвязь между Р-растворяющими бактериями и АМ инокуляцией при мобилизации Р из каменного фосфата (КФ). Авторы наблюдали положительные, синергистические эффекты в отношении роста и поглощения Р у *Zea mays* и *Lavendula spica*, которые в некоторых сочетаниях тип почвы–растения были статистически достоверны. Сходным образом способность Р-растворяющего гриба *Penicillium bilaji* повышать доступность КФ для *Triticum aestivum* и *Phaseolus vulgaris* зависела от АМ активности (Kucey, 1987; Kucey, Janzen, 1987). К. Джаячандран с соавт. (Jayachandran et al., 1989) использовали три типа почвы и показали, что при добавлении сильных хелатирующих железо агентов Р, высвобождающийся из фосфатов железа, оказывался доступным для АМ, но не для безмикоризных растений. Авторы не обнаружили доказательств образования хелатирующих агентов АМ грибами как таковыми и заключили, что полученный результат обусловлен эффективной эксплуатацией почвы и конкуренцией с резидентной микрофлорой. В пользу этого вывода свидетельствует и другая работа, в которой продемонстрировано, что неопределенный вид рода *Glomus* (WUM 10 (1)) и *G. caledonium* были способны улавливать Рн, высвобождающийся при минерализации Ро микроорганизмами, и предотвращать его иммобилизацию в биомассе или сорбцию на глинистых минералах (Joner, Jakobsen, 1994). Пролиферация свободных гиф в почвенных органических субстратах и отмирающих корнях (St John et al., 1983a; Warner, 1984; Ritz, Newman, 1985; Newman, 1988; Eason, Newman, 1990; Eason et al., 1991; Olsson et al., 2002) может быть подходящей стратегией для такого связанного с конкуренцией типа влияния.

Требуются дополнительные исследования для выяснения взаимосвязей между ролью почвенной микрофлоры и микрофауны в минерализации и иммобилизации Р в почве и потенциальной способностью АМ грибов к вмешательству в эту область круговорота питательных веществ. Связь между АМ колонизацией и популяциями определенных функциональных групп организмов как в ризосфере, так и в более удаленной от корня зоне, где происходит пролиферация гиф, будет обсуждена далее, в гл. 16.

Фосфорный метаболизм гриба

Ортофосфаты, попадающие из почвенного раствора в грибную цитоплазму, в первую очередь используются для синтеза ключевых молекул для нужд клетки. Впоследствии Р переводится в кислые компартменты (pH ~5,6), предположительно, вакуоли, где и ортофосфаты и полифосфаты (полиР) накапливаются в различных количествах. Запасание Р в вакуолях было наглядно продемонстрировано с помощью *in vivo* ЯМР спектроскопии по pH-зависимым химическим изменениям Р-содержащих метаболитов (Rasmussen et al., 2000).

Полифосфат представляет собой линейный полимер из варьирующего количества ортофосфатных остатков, связанных высокоэнергетическими фосфоангидридными связями. Он синтезируется широким кругом микроорганизмов и грибов и, наиболее вероятно, функционирует как запасная молекула, создавая буфер концентрации ортофосфатов в цитоплазме в физиологически приемлемых пределах и снижая осмотический стресс (Harold, 1966; Beever, Burns, 1980). Накопление полиР также может быть связано с запасанием энергии (Beever, Burns, 1980), но сейчас для АМ грибов это считается маловероятным, так как полифосфат-глюкокиназная активность, обеспечивающая путь фосфорилирования глюкозы с использованием высокоэнергетических связей в полиР, гораздо ниже, чем гексокиназная, при которой утилизируется АТФ (Ezawa et al., 2001).

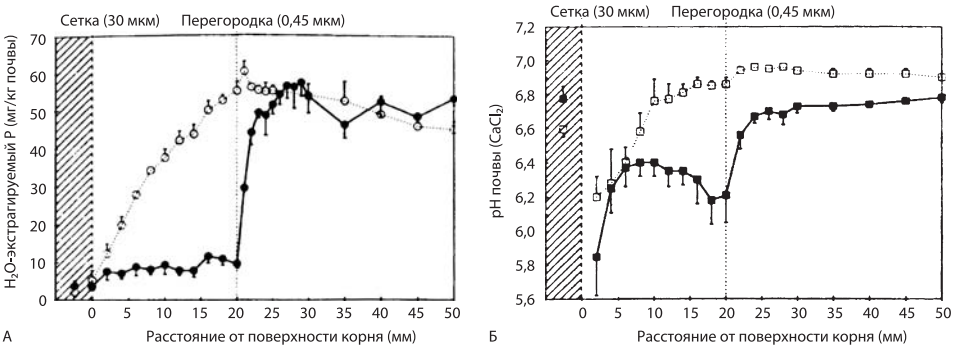


Рисунок 5.6. А — профили истощения H_2O-экстрагируемого Р и (Б) снижения pH почвы в гифальном отсеке и отсеке со свободной почвой (см. рис. 5.3А) для немикоризных (прозрачные значки) и микоризных (значки с заливкой) растений *Trifolium repens*, выращенных на буроземе. Разброс — стандартная ошибка среднего. Из Li et al., 1991b, с разрешения.

Метаболизму полиР у АМ грибов уделено значительное внимание, начиная с ранних наблюдений накопления, выявленного путем окрашивания или электронной микроскопии, и предположения, что нерастворимый полиР существует в виде гранул, которые могут транспортироваться на большие расстояния в свободном мицелии с током цитоплазмы (Cox, Tinker, 1976; Callow et al., 1978; Cox et al., 1980). И химическая экстракция, и *in vivo* ЯМР спектроскопия показали, что большая часть полиР АМ грибов представлена относительно короткими цепочками (до 17 мономеров) (Solaiman et al., 1999) и, следовательно, не находится в форме гранул. В некоторых недавних работах было сделано предположение, что «гранулы» могут быть артефактами, возникшими при приготовлении препарата (Orlovich, Ashford, 1993; Ezawa et al., 2002), но подобные структуры видели в живых гифах ЭМ грибов (Bücking, Heyser, 1999; см. гл. 10). Исследования полиР метаболизма связаны с методологическими проблемами, затруднения вызывает определение встречаемости и распространения этого соединения в гифах, варьирование длины цепочек и круговорот. Хотя эти вопросы до сих пор не решены, несомненно, что полиР, вместе с Рн, играет значительную роль в запасании и транспорте в АМ гифах, и требуются дополнительные исследования с помощью различных методов для выяснения подробностей этих процессов.

Количество полиР в свободном и внутрикорневом мицелии значительно варьирует, от необнаруживаемой до относительно большой доли от общего содержания Р, он может быстро синтезироваться, когда Р поступает к АМ корням. В одном исследовании с использованием растения *Tagetes patula*, колонизированного *Archaeospora leptotricha*, доля свободных гиф, дающих метахроматическое окрашивание толуидиновым синим О (для выявления полиР), возрастала от 25 до 44% за время от 0 до 1 ч после добавления сравнительно высокой концентрации Р (1 мМ), достигая максимума 50% за 3 ч (Ezawa et al., 2004). Накопление полиР (оцениваемое с помощью высокочувствительного теста на полифосфаткиназу (Ohtomo et al., 2004)) было очень быстрым (46,4 ± 15,1 нмоль/мин/мг), увеличиваясь вдвое в интервале между 1 и 3 ч и достигая 10,0 мкмоль Рн эквивалент/мг белка. В этой работе с применением электрофореза было показано, что некоторые из накапливаемых полиР имели длину цепочки, большую чем 300 Рн единиц (Ezawa et al., 2004) и, следовательно, не могли быть обнаружены методом *in vivo* ЯМР, верхний предел разрешения которого около 75 единиц ввиду подвижности атомных ядер. Высокая скорость накопления и большая длина полимеров могут ярко иллюстрировать способность АМ грибов быстро усваивать локальные или временно до-

ступные источники Р в почве. Длина цепочек полиР в свободном мицелии иногда больше, чем во внутрикорневом, что предполагает гидролиз, сопряженный с транспортом Р к растению (Solaiman et al., 1999), но также вероятны и различия, связанные с видовой принадлежностью грибных симбионтов и содержанием Р, так что делать выводы пока еще преждевременно.

Имеющиеся данные о метаболических путях Р у АМ грибов до сих пор не дают четкой картины. В АМ корнях лука наблюдается более высокая активность и экзополифосфатазы и эндополифосфатазы, чем в немикоризных, но в свободных гифах не наблюдается никакой полифосфатазной активности. Полифосфаткиназа была обнаружена в АМ корнях и свободных гифах, но не в немикоризных корнях, в то время как полифосфатглюкокиназа выявлена только в свободном мицелии (Capaccio, Callow, 1982). Ни полифосфаткиназа, ни полифосфатглюкокиназа не были обнаружены у каких-либо других эукариотов, и более поздние исследования не подтвердили их наличия у двух видов АМ грибов (Ezawa et al., 2002), поэтому их роль в АМ круговороте полиР подвергается сомнению. Путь синтеза полиР в вакуолях остается загадкой (Ezawa et al., 2002), но может послужить важной областью для дальнейших исследований. Гидролиз полиР в местах утилизации Р или транспорта к растению, возможно, происходит при совместном действии экзополифосфатазы, эндополифосфатазы и неспецифичных кислых фосфатаз. У АМ грибов были обнаружены, по меньшей мере, два фермента экзополифосфатазного типа, имеющие различные pH оптимум, значения K_m и специфичность к субстрату и с разными длинами цепочек. Гены этих ферментов по-разному экспрессируются во внутреннем и свободном мицелии, с чем, возможно, и связаны различия в длине цепочки полиР, наблюдаемые в двух зонах грибного симбионта.

Другие фосфатазные ферменты также могут участвовать в Р метаболизме АМ грибов. «Микориза-специфичные» щелочные фосфатазы стали предметом активного изучения после их цитохимического выявления в вакуолях зрелых арбускул и межклеточных гиф (Gianinazzi et al., 1979), а также в гифальных клубках микориз *Paris*-типа (van Aarle et al., 2005). Косвенные свидетельства связи этой активности с наличием арбускул и транспортом Р к растению (Gianinazzi-Pearson, Gianinazzi, 1978) привели к предположению о том, что фермент может быть полезным маркером эффективного Р метаболизма грибов. В ранних наблюдениях также было установлено, что активность ограничена внутренними АМ грибными структурами и не проявляется во внешнем, свободном мицелии. Активность в проростковых трубках была приурочена к зоне кончика, и имелась явная задержка в распространении активности в корне, что не было показано для активности сукцинатдегидрогеназы (СДГ) (Tisserant et al., 1993). Однако щелочные фосфатазы впоследствии были обнаружены также и в свободном мицелии (Dodd, 1994; van Aarle et al., 2002b; Aono et al., 2004), и хотя они (вместе с СДГ) могут служить хорошими цитохимическими маркерами грибной активности, их роль в Р метаболизме остается неясной. Было показано, что несмотря на ингибирование фунгицидом бенлатом поглощения и переноса Р к растению по АМ гифам, он не влиял на активность щелочных фосфатаз, что поставило под сомнение использование активности этих ферментов в качестве маркера эффективного усвоения Р (Larsen et al., 1996). Кроме того, после изучения субстратной специфичности и ингибирования щелочных фосфатаз, их способность к гидролизу пирофосфатных соединений (в том числе, полиР) представляется маловероятной, но они могут участвовать в метаболизме сахаров. Кислые фосфатазы демонстрируют слабую субстратную специфичность и являются более вероятными кандидатами на участие в гидролизе полиР, особенно, принимая во внимание то, что значение pH грибных вакуолей (~5,6), в которых локализован полиР, не благоприятствует активности щелочных фосфатаз (Ezawa et al., 1999, 2002).

Транспорт фосфора у арбускулярно–микоризных грибов

Важность транспорта по почвенным гифам в поступлении P (и других элементов питания) к растениям была прямо продемонстрирована уже в 1973 г. (Hattingh et al., 1973; Hattingh, 1975; Rhodes, Gerdemann, 1975, 1978a, c). В плексигласовых камерах, разделенных на отсеки, ^{32}P, ^{35}S и ^{45}Ca вводили на разных расстояниях от АМ растений лука и прослеживали путь метки. ^{32}P перемещался по гифам *Glomus mosseae* и *G.* "*fasciculatus*" на расстояние до 7 см по почве к корням *Allium cepa*. При перерезании гиф между источником ^{32}P и корнем транспорт к корневой системе отсутствовал. Модификации этого метода, как описано выше, широко использовались для сравнения эффективности поступления P, особенно, в разных сочетаниях гриб–растение.

Ранние гипотезы о движении полифосфатных гранул с током цитоплазмы сменило представление о том, что подвижные вакуоли, содержащие полиP, могут участвовать в транспорте P на длинные дистанции по АМ гифам (Smith, Read, 1997). К сожалению, полиP с длиной цепочки, большей, чем 75 остатков, не определяются с помощью ЯМР, поэтому этот очень перспективный метод не может быть применен для выявления участия молекул твердой фазы в динамике P. Еще больше осложняет исследования тот факт, что АМ грибы, так же как и симбионты эктомикориз, вероятно, имеют две системы вакуолей. Помимо округлых вакуолей, как при *in vivo* окрашивании, так и с помощью электронной микроскопии наблюдаются вакуолярные трубочки различной формы (Shepherd et al., 1993a, b; Rees et al., 1994; Uetake et al., 2002). У эктомикоризных (ЭМ) грибов трубочки обнаружены в свободном мицелии и грибном чехле (Allaway, Ashford, 2001), и показано, что в них содержится полиP; путем пульсации их содержимое может переноситься на небольшие расстояния. Вопрос относительно транспорта на длинные дистанции, необходимого для переноса по свободному мицелию, до сих пор остается открытым (Ashford, Orlovich, 1994). Сходная тубулярная система вакуолей, движение которых не связано непосредственно с током цитоплазмы, у АМ грибов наблюдалась в проростковых трубках, а также в свободном и внутрикорневом мицелии у вида *Gigaspora margarita*. Она может принимать участие в переносе P (Uetake et al., 2002). Действие температуры и ингибитора цитоскелета цитохалазина B, как показано, подавляет перенос (Cooper, Tinker, 1981), что является ожидаемым результатом для любой подвижной системы, как трубчатых вакуолей, так и тока цитоплазмы, поэтому не дает возможности разграничить эти два пути.

Для транспорта фосфора у *Glomus mosseae* к *Trifolium subterraneum*, определенного по перемещению ^{32}P, были получены значения в интервале от 2 до 20×10^{-6} моль/м^2/с (Pearson, Tinker, 1975; Cooper, Tinker, 1978, 1981). Более высокие значения были получены как для внедряющихся гиф в растениях, выращенных в природной почве ($3{,}8 \times 10^{-4}$ моль/м^2/с), так и для поисковых гиф в моноксеничной культуре ($1{,}3 \times 10^{-3}$ моль/м^2/с) (Sanders, Tinker, 1973; Nielsen et al., 2002). Отличительной чертой результатов, полученных с применением меток, является задержка перед достижением постоянной скорости транспорта, часто происходящая после внесения ^{32}P в зрелый свободный мицелий в разделенных на отсеки системах с агаровой средой или гифальных отсеках в почве (Cooper, Tinker, 1978; Johansen et al., 1993a; Nielsen et al., 2002). Предположения, что задержку вызывает интервал между формированием и разрушением арбускулы, и, следовательно, «перебой» в транспорте к растительным клеткам (Cox, Tinker, 1976), можно не принимать в рассмотрение, так как задержка происходит не только в появлении ^{32}P в побегах, но также и в корнях, содержащих грибные структуры (Cooper, Tinker, 1978). Вероятной причиной задержки могут служить два фактора: время, необходимое для прохождения меткой расстояния от источника до места выявления, и уравновешивание метки (^{32}P) ^{31}P, уже присутствующим на транспортном пути. Таким образом, хотя перенос общего фосфата (^{31}P+^{32}P) происходит с постоянной скоростью, это может не быть

очевидным из результатов измерения радиоактивности, если специфичная активность ^{32}P равномерна на всем транспортном пути.

Транспорт фосфора от гриба к растению

Общепризнанным является тот факт, что значительный объем переноса Р от гриба к растению включает мембранный транспорт через живые контактные зоны, состоящие из мембран обоих симбионтов и апопластного участка между ними (см. гл. 2 и 4). Ранние исследователи предполагали, что разрушение (переваривание) арбускул является механизмом, делающим Р гриба доступным для растений. Дж. Кокс и П.Б. Тинкер (Cox, Tinker, 1976) подсчитали, что арбускулы не содержат достаточного количества фосфора для того, чтобы их «переваривание» могло быть существенным для транспорта Р, но более поздние измерения свидетельствуют о том, что оценки содержания Р в арбускулах, данные этими авторами, довольно низкие, и некоторые исследователи продолжают настаивать на том, что разрушение арбускул может вносить вклад в перенос фосфора (Ф.Э. Сандерс, личное сообщение). Тем не менее, общепринятым мнением является то, что областью транспорта служит контактная зона в зрелой арбускуле у микориз *Arum*-типа и во внутриклеточных клубках в *Paris*-типе. Расположение связанных с мембраной H^+-АТФаз и АМ-индуцируемых Р транспортеров также свидетельствуют в пользу этой точки зрения (см. ниже), но все еще нет явных доказательств, позволяющих исключить из участия в транспорте межклеточные гифы.

Не вызывает сомнений, что контактная зона между симбионтами в клетках, колонизированных арбускулами, обеспечивает, как подчеркивали Дж. Кокс и П.Б. Тинкер (Cox, Tinker, 1976), поверхность относительно большой площади, через которую путем мембранного транспорта могут проходить Р и другие элементы питания. Они вычислили площадь зоны контакта в подобных клетках и получили величину потока, необходимую для осуществления транспорта Р от гриба к растению, на основании общего количества Р, накапливаемого в АМ и немикоризных растениях. Поток Р через арбускулы от *Glomus mosseae* к *Allium cepa* был равен 13×10^{-9} моль/м^2/с. Сходные вычисления были проведены для видов *Glomus coronatum* и *G. mosseae*, колонизирующих *Allium porrum* (лук-порей), и значения оказались того же порядка (Smith et al., 1994) (табл. 5.3). Для АМ *Paris*-типа аналогичные расчеты отсутствуют, но гифальные клубки обеспечивают площадь контактной зоны не меньшую, чем арбускулы (Dickson, Kolesik, 1999), АМ-индуцируемые Р транспортеры экспрессируются в клетках, содержащих клубки (Karandashov et al., 2004) и известно, что эти микоризы способны улучшать Р питание растений, у которых они образуются (Cavagnaro et al., 2003; Smith S.E. et al., 2004a).

Таблица 5.3. Транспорт Р к растению через симбиотическую контактную зону, при условии, что только зона контакта в арбускулах принимает участие в переносе.

Растение–гриб	Транспортный ток (моль/м^2/с)	Источник
Allium cepa/Glomus mosseae	13×10^{-9}	Cox, Tinker, 1976
Allium cepa/Glomus sp. WUM 16	$4–29 \times 10^{-9}$	Sukarno et al., 1996
Allium porrum/Glomus mosseae	$2{,}0–3{,}2 \times 10^{-9}$	Smith et al., 1994
Allium porrum/Glomus sp. WUM 16	$5{,}0–12{,}8 \times 10^{-9}$	Smith et al., 1994

Вклад гиф в приток, рассчитанный из общего Р поглощения у микоризных и немикоризных растений с применением метода вычитания. Площадь зоны контакта определена исходя из количества арбускул и инвагинации растительной цитоплазматической мембраны (см. Cox, Tinker, 1976; Toth и т.д.).

Объем транспортных потоков того же порядка, что и поглощение Р клетками свободноживущих растений и грибов и существенно превышает значения скорости оттока (Beever, Burns, 1980; Elliott et al., 1984). Транспорт через симбиотическую контактную зону включает как отток, так и поглощение, происходящие многократно (см. рис. 4.2), оба процесса должны идти с одинаковой скоростью. Перенос Р от гриба к растению происходит со скоростью, значительно превышающей ожидаемую при обычном оттоке (Smith et al., 1994), из чего следует заключение, что транспорт Р от гриба к растению включает специальные механизмы усиления оттока от грибного партнера и, возможно, также подавления реабсорбции (поглощения) из апопласта, затрудняющего истечение (Smith et al., 1995; Schachtman et al., 1998). Механизмы оттока не изучались у свободноживущих организмов, поэтому работы, связанные с Р метаболизмом у дрожжей, не могут служить хорошей параллелью для исследования АМ грибов в данном контексте. Необходимо выявление специальных механизмов, усиливающих отток в симбиотических системах. Возможно, они включают мобилизацию резервов Р, таких как полиР, и их высвобождение из вакуолярного пула, после чего происходит их отток в межфазный апопласт (Ezawa et al., 2002). Имеются некоторые свидетельства того, что отток Р из внутрикорневых грибных структур, отделенных от корней в процессе переваривания, усиливается при внесении извне глюкозы и дезоксиглюкозы (Solaiman, Saito, 2001; Bücking, Shachar-Hill, 2005). Низкая экспрессия АМ грибного высокоаффинного Р транспортера, *GvPT*, во внутрикорневых структурах будет предотвращать обратное всасывание грибом (Harrison, Buuren, 1995). Однако *GmosPT* экспрессируется в пределах корней на стабильно низком уровне, и это открытие привело к предположению, что грибной партнер способен регулировать количество Р, доступного для растения, путем реабсорбции фосфора, выходящего в апопласт (Benedetto et al., 2005).

Экспрессия генов транспортеров фосфора у арбускулярно-микоризных грибов

В течение последнего десятилетия произошло колоссальное увеличение количества данных о семействах белков-транспортеров, способствующих переносу Р через растительные и грибные мембраны (Schachtman et al., 1998; Raghothama, 1999; Smith F.W. et al., 2003a). Исследования активности и мест экспрессии генов, кодирующих транспортеры семейства Pht1, показали, что колонизация корней АМ грибами индуцирует очень существенные изменения. Р транспортеры были клонированы у трех видов АМ грибов, и обнаружена их экспрессия в свободном мицелии, согласующаяся с активным поглощением Р из почвенного раствора (см. выше). У растений были выявлены Р транспортеры, экспрессирующиеся исключительно в АМ корнях (АМ-специфичные) или заметно повышающие экспрессию при колонизации (АМ-индуцируемые). Подобные транспортеры были выявлены у двудольных *Solanum tuberosum* и *S. lycopersicon* (Solanaceae), *Medicago truncatula* и *Lotus japonicus* (Fabaceae) и *Populus* (Betulaceae) (см. Martin, 2007) и однодольных *Oryza sativa, Triticum aestivum, Hordeum vulgare* и *Zea mays* (Poaceae) (Rausch et al., 2001; Harrison et al., 2002; Paszkowski et al., 2002; Glassop et al., 2005, 2007; Güimil et al., 2005; Nagy et al., 2005a, b; Maeda et al., 2006). Такое широкое распространение предполагает, что подобные транспортеры, вероятно, встречаются у всех потенциально АМ растений. Три различных АМ-индуцируемых транспортера были выявлены у пасленовых, два — у *O. sativa* и один — у представителей семейства Fabaceae и у *T. aestivum, H. vulgare* и *Z. mays*. У *Populus* наблюдалась повышающая регуляция различных членов Pht1 семейства, зависящая от колонизации АМ или ЭМ грибами (Martin, 2007). При изучении локализации выяснено, что экспрессия мРНК связана с клетками коры корня, содержащими арбускулы *Arum*-типа (рис. 5.7А; см. приложение 5.1А) или гифальные клубки *Paris*-типа (рис. 5.7Б; см. приложение 5.1Б) (Rausch et al., 2001; Harrison et al., 2002; Karandashov et al., 2004; Glassop et al., 2005; Maeda et al., 2006), и, в одном случае, методом иммунолокализации было подтверждено, что белок

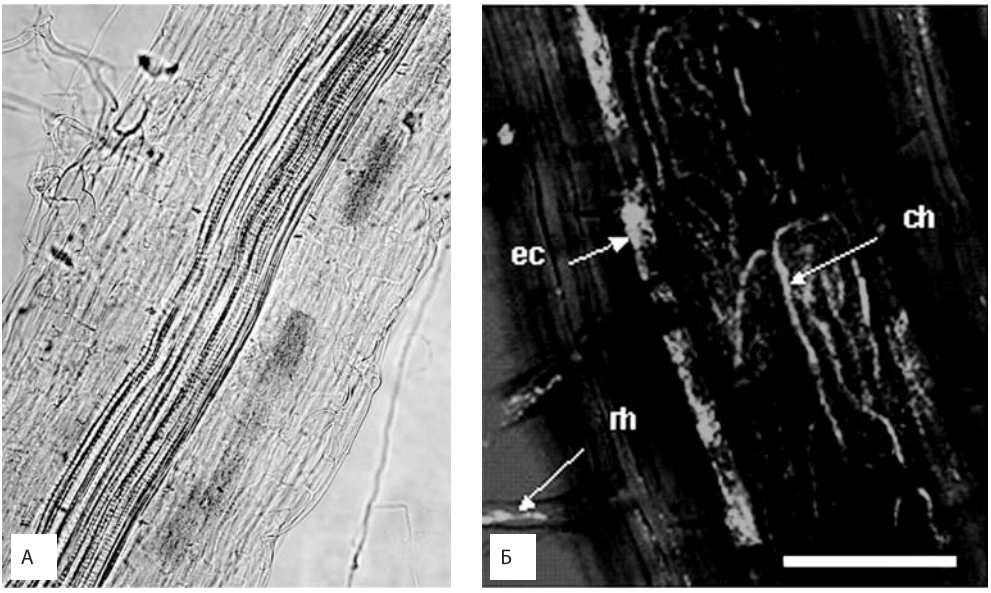
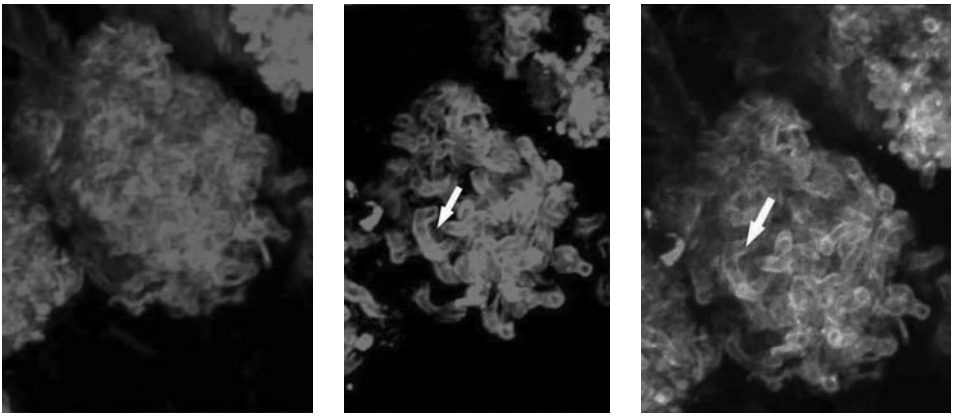


Рисунок 5.7. Специфичная к типу клеток промоторная активность индуцируемых микоризой Pht1 транспортеров. А — гистохимическое окрашивание для выявления GUS активности в корнях *Medicago truncatula* при слиянии *MtPT4* промотор-UidA. Синее окрашивание показывает активность GUS, ассоциированную с арбускулами *Arum*-типа *Glomus versiforme*. Изображение любезно предоставлено М. Харрисон. Б — волосовидный корень *Solanum tuberosum*, трансформированный *StPT3* промотор-«Fluorescent Timer» химерным геном. Конфокальная микроскопия. Зеленое свечение, возникающее под действием "Fluorescent-Timer", в клетках, колонизированных гифальными клубками Paris-типа *Gigaspora margarita*. rh, корневые волоски; ec, клетки ризодермы; ch, спиральные гифы. Воспроизведено из Karandashov et al., 2002. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **101**, 6285–6290. Права принадлежат Национальной академии наук США. См. также приложение 5.1.

связан с цитоплазматической мембраной зрелых арбускул (Harrison et al., 2002) (рис. 5.8; см. приложение 5.2) и отсутствует в клетках с разрушающимися арбускулами.

Повышение уровня экспрессии *LePT3* и *LePT4* у томата, как показано, зависит от колонизации коры корня АМ грибами и сопровождается физиологическими проявлениями АМ пути поглощения Р при использовании ^{32}P (Poulsen et al., 2005). Ни одно из этих событий не происходит в корнях мутантов томата, у которых отсутствует грибная колонизация. На уровне единичной клетки активность промотора *StPT3* в моноксеничных корнях картофеля требует наличия внутрикорневых грибных структур (арбускул или гифальных клубков), так как в соседних неколонизированных клетках никакой активности отмечено не было. Активность также регулируется различно в разные временные интервалы, так что в различных участках одной и той же единицы инфекции активность промотора неодинакова (Karandashov et al., 2004). В том же исследовании было подтверждено, что активность промотора *StPT3* индуцировалась только представителями отдела Glomeromycota, но не другими колонизирующими корни грибами, патогенными или нейтральными по отношению к растению. Наряду с различной экспрессией H^+-АТФаз на цитоплазматической мембране в АМ корнях и локализацией точек активности и белков на периарбускулярной мембране (Gianinazzi-Pearson et al., 1991a, 2000; Murphy et al., 1997) (см. рис. 4.3 и приложение 4.1), эти данные полностью соответству-



А Б В

Рисунок 5.8. Иммунолокализация MtPT4 в корнях *Medicago truncatula*, колонизированных *Glomus versiforme*. Конфокальная микроскопия. Корни прозондированы антителами, специфичными к MtPT4, они были визуализированы посредством вторичных антител, связанных с AlexaFluor 488 (зеленое свечение). Контрастирующее окрашивание корней для выявления грибных структур проведено красителем WGA-Texas red (красное свечение). А — арбускулы, окрашенные WGA-Texas red. Б — зеленое свечение, показывающее MtPT4, окружающее ветви арбускулы (отмечено стрелкой). В — объединенные изображения красного и зеленого свечения. Изображение любезно предоставлено М. Харрисон. См. также приложение 5.2.

ют функциям внутриклеточных арбускул и клубков как зон транспорта Р от гриба к растению во время поглощения по АМ пути.

Функциональная значимость множественных АМ-индуцируемых генов Р транспортеров у единичного вида до сих пор не ясна. Вероятно, что некоторые из них (например, *MtPT4, LePT4* и *OsPT11*) экспрессируются только при колонизации корневой системы АМ грибами (АМ-специфичные), в то время как другие (например, *StPT3, LjPT3*) экспрессируются на низком уровне в неколонизированных корнях, но при АМ колонизации происходит их повышающая регуляция. Нокаут *MtPT4* полностью блокирует АМ поглощение фосфата у *Medicago truncatula*, и, по всей видимости, другие АМ регулируемые Р транспортеры, которые могли бы выполнять те же функции, отсутствуют (Javot et al., 2007). Для мутантов, созданных с помощью РНК-интерференции или выявленных методом “TILLING” было характерно явно недостаточное развитие арбускул, быстрое разрушение внутрикорневых гиф и отсутствие свободного мицелия. У нокдаун-мутанта по *LjPT3* было подавлено развитие арбускул и сокращено АМ поглощение Р растением (*Lotus japonicus*) (Maeda et al., 2006). Эти гены, вероятно, имеют сложные или множественные функции, которые пока еще не выявлены. Рассуждения о том, что Р, поступающий по АМ пути, играет роль в С транспорте и правильном развитии арбускул, на данный момент преждевременны. Напротив, нокаут гена *LePT4* не препятствует АМ пути поглощения у томата, и развитие арбускул идет вполне нормально (Nagy et al., 2005a). В этом случае происходит функциональное перекрывание (избыточность) транспортеров, но, возможно, что в дальнейших исследованиях будут установлены тонкие различия в функциях, например, в значениях K_m при разных концентрациях Р в межфазном апопласте или в степени индукции у разных видов АМ грибов. В эволюционном контексте, вероятно, улавливание сигнала и трансдукция, ведущие к экспрессии АМ-индуцируемых Р транспортеров, сохранились у двудольных,

поэтому промотор *StPt3* способен направлять АМ-зависимую экспрессию не только у *Solanum tuberosum*, но также и у *Petunia hybrida, Daucus carota, Medicago truncatula* и *Lotus japonicus*. *MtPT4* промотор также запускает экспрессию в *S. tuberosum*. Тем не менее, регуляторные механизмы у однодольных и двудольных, вероятно, различаются, так как промотор *OsPT11* (рис) не мог запускать АМ-индуцируемую экспрессию у органных культур корней ни у *S. tuberosum*, ни у *M. truncatula* (Karandashov et al., 2004). Анализ филогенетического дерева, однако, показал высокое сходство белковых последовательностей между АМ-индуцируемыми транспортерами OsPT11, MtPT4, StPT4/5 и LePT4/5, а последовательности HvPT8 и OsPT13 оказались сходными в большей степени с вышеперечисленными, чем с прочими членами семейства Pht1 у различных растений. Это предполагает, что большинство АМ-индуцируемых транспортеров, известных на данный момент, происходят от одного и того же предкового белка. Однако группа белков StPT3/LePT3 близка к StPt1 и LePt1, что демонстрирует более общие принципы экспрессии и предполагает раздельное приобретение АМ индукции этими генами (Karandashov et al., 2004).

Данные физиологических исследований указывают на то, что поглощение Р по АМ пути часто сопровождается снижением прямой абсорбции Р корневыми волосками и ризодермой. Оно может быть отчасти обусловлено истощением Р в ризосфере (см. выше), но снижение экспрессии Pht1 транспортеров в клетках ризодермы и, особенно, корневых волосков, может также участвовать в этом процессе. К примеру, гены *MtPt1* из *Medicago truncatula* (Chiou et al., 2001), *HvPt1* и *HvPt2* из *Hordeum vulgare* (Glassop et al., 2005) и *StPT1* и *StPT2* из *Solanum tuberosum* (Rausch et al., 2001) иногда подвергаются понижающей регуляции, когда корни колонизируются АМ грибами. Экспрессия этих генов часто зависит от Р, так что увеличение концентрации этого элемента у АМ растений может вызывать снижение. С другой стороны, возможно, что имеет место прямое воздействие сигналов грибного партнера. Оба механизма могут действовать одновременно, и необходимы дальнейшие исследования влияния различных факторов на генную экспрессию.

Значения K_m для АМ-индуцируемых транспортеров представляют большой интерес в связи с концентрациями ортофосфата, имеющимися в межфазном апопласте. Оценки значений K_m, полученные для дрожжей в гетерологичных системах, в целом высокие (т.е., аффинность низкая). Однако значение K_m у *HvPT8*, полученное путем измерения потока Р в направлении корня ячменя при сверхэкспрессии гена, оказалось существенно ниже (Э. Грэйс, неопубликованные данные). Некоторые различия в аффинности могут служить преимуществом в контексте эффективности поставки разными видами АМ грибов фосфора в контактную зону. Таким образом, было бы весьма интересно провести сравнение кинетических свойств многочисленных АМ-индуцируемых транспортеров у одного вида, а также выявить механизмы их регуляции.

Азотное питание

Азот в почве

В почвенных азотных пулах доминирует органический азот (No), его иммобилизация и минерализация в значительной степени зависит от активности микроорганизмов почвы (McNeill, Unkovich, 2006). Микроорганизмы также осуществляют химические превращения, такие как нитрификация и денитрификация, а также имеющую большое значение реакцию перевода газообразного N_2 в аммоний посредством биологической азотфиксации. Растения и микроорганизмы (в том числе, АМ грибы) способны поглощать и нитрат и аммоний из почвенного раствора, а также некоторые растворимые формы No. Подвижность обоих основных источников неорганического N в почве считается отно-

сительно высокой, они переносятся к корням посредством массового расхода почвенного раствора. Зоны истощения N обычно не являются серьезной помехой для поглощения. Тем не менее, аммоний менее подвижен, чем нитрат, и передвижение обоих в сухой почве может быть сильно затруднено (Tinker, Nye, 2000). Следовательно, свободный мицелий АМ грибов потенциально способен играть важную роль в переносе N из почвы к растению, и следует уделить внимание количественному вкладу этого пути, не забывая о том, что азота растению требуется примерно в десять раз больше, чем фосфора.

Влияние арбускулярных микориз на образование клубеньков и азотфиксацию

У АМ растений показано более высокое содержание N. Конечно, среди них есть виды, одновременно вступающие в симбиоз с азотфиксирующими бактериями или актиномицетами, и повышение концентрации N скорее может быть связано с вторичным усилением азотфиксации, чем с прямым поглощением соединений N из почвы. Ассимиляция N_2 в корневых клубеньках с ризобиями отчетливо усиливается, если растения, обитающие в почве с низким содержанием P также колонизируются АМ грибами. Этот эффект, возможно, впервые наблюдал T. Acai (Asai, 1944), получивший подробные данные о росте, образовании клубеньков и микоризообразовании у большого количества видов бобовых. Позднее образование клубеньков и азотфиксация у АМ и немикоризных бобовых (Smith, Daft, 1977; Abbott, Robson, 1978; Abbott et al., 1979; Bethlenfalvay et al., 1982a, b, 1997; Bethlenfalvay, Newton, 1991; Bethlenfalvay, 1992a), а также у растений с клубеньками, образуемыми *Frankia* (Rose, 1980; Rose, Youngberg, 1981; Gardner, 1986; Reddell et al., 1997b; Wheeler et al., 2000; Duponnois et al., 2003) стали предметом множества исследований. В большинстве случаев усиление образования клубеньков и азотфиксации у АМ растений, вероятно, является результатом снятия P стресса и, возможно, поглощения некоторых важных микроэлементов, что ведет к общему улучшению роста, а также косвенно влияет на систему фиксации азота. Различия между АМ и НМ растениями обычно исчезают, если у последних имеется источник легкодоступного P. Более подробную информацию можно получить из множества обзорных работ, посвященных этой тематике (Bowen, Smith, 1981; Barea, Azcón-Aguilar, 1983; Bethlenfalvay, Newton, 1991; Barea et al., 1992; Bethlenfalvay, 1992a). То, что наблюдаемые эффекты, в целом, не связаны с АМ грибами напрямую, не должно снижать интерес к этим тройственным симбиозам, которые могут иметь большое значение в агроценозах, природных сообществах и при осуществлении программ восстановления растительности в условиях, где в почвах наблюдается недостаток питательных веществ (Barea, Azcón-Aguilar, 1983; Lamont, 1984; Pate, 1994).

Поглощение азота из почвы

Гифы АМ грибов, так же как и корни, способны поглощать и аммоний, и нитрат. Однако, в противоположность микоризам других типов, роль свободного мицелия АМ грибов в минерализации органических форм почвенного N остается несколько сомнительной. Несмотря на имеющиеся данные (Hodge et al., 2001), предполагающие, что АМ грибы усиливают и разложение органических соединений N и поглощение азота растением, другие исследования не согласуются с этой точкой зрения (Frey, Schüepp, 1993; Hawkins et al., 2000; Hodge, 2001). Р.Н. Эймс с соавт. (Ames et al., 1983) показали, что, хотя ^{15}N, вносимый в органической форме в свободный мицелий, достигал АМ растений *Apium graveolens* (сельдерей), транспорт требовал значительного периода времени. Авторы пришли к выводу, что минерализация, осуществляемая почвенной микрофлорой, является важным этапом перевода органического N в доступную форму, что и слу-

жит причиной задержки. Несмотря на то, что было показано усиление поглощения AM растениями ^{15}N из ^{15}N-глицина, объем транспорта был очень мал и недостаточен для того, чтобы повлиять на содержание азота в растении (Hawkins et al., 2000). С другой стороны, увеличивается количество данных о том, что AM грибы принимают участие в поглощении и транспорте неорганического N, хотя до сих пор неясно, существенен ли его объем для питания растения в целом.

Первые результаты изучения роли AM грибов в поглощении и переносе неорганического N были несколько неубедительными. Были получены данные о том, что вымывание аммония, нитрата и нитрита из почвы водой замедлялось, когда растения *Liquidambar styraciflua* образовывали AM с *Glomus mosseae* (Haines, Best, 1976). К сожалению, корневые системы AM растений были значительно больше, чем у немикоризных, поэтому результаты не могут определенно указывать на непосредственное участие AM грибов как таковых. Наблюдалось увеличение поступления N в корни AM *Trifolium subterraneum* при внесении неорганического N, но результаты разных экспериментов оказались противоречивыми (Smith et al., 1986a, b). Поглощение N гифами, вероятно, не играло значительной роли в суммарном азотном питании растения, т.к. на уровне отдельной особи усиление поглощения показано не было. В недавно проведенном исследовании способности нативных AM грибов оказывать влияние на N питание нескольких луговых многолетних растений также не было выявлено увеличение общего поглощения N ни из одного из протестированных источников, органических или неорганических (Reynolds et al., 2005).

Несмотря на подобные результаты, накапливаются свидетельства того, что AM путь вносит значительный вклад в поглощение растением N из почвы, независимо от общего N поглощения и ответных реакций. В этом случае использование в экспериментах горшков, разделенных сеткой на отсеки, опять сыграло важную роль. При внесении $(^{15}NH_4)_2SO_4$ в гифальный отсек наблюдали транспорт значительного количества ^{15}N к AM растениям (Ames et al., 1983). Переносимый объем коррелировал со степенью колонизации корней *Apium graveolens* грибом *Glomus mosseae*, длиной гиф в ГО и числом гиф, проходящих через сетку. Используя число пересечений гиф с сеткой и полагая, что все эти гифы были жизнеспособны, Р.Н. Эймс с соавт. получили значение потока N $7{,}42 \times 10^{-4}$ моль N/м^2/с (Ames et al., 1983). Это значение примерно совпадает с вычисленным для потока P через точку входа гифы (Sanders, Tinker, 1973), и, при том что потребность растения в N почти в 10 раз превышает таковую в P, это низкое значение. Подобный подход был применен для различных сочетаний гриб–растение, и получены данные, подтверждающие гифальный транспорт ^{15}N к AM растениям нескольких видов (в том числе, *Cucumis sativus, Trifolium subterraneum, Zea mays* и *Solanum esculentum*) при внесении $^{15}NH_4$ или $^{15}NO_3$ в ГО, колонизированный гифами AM грибов (Johansen et al., 1992, 1993a; Frey, Schüepp, 1993; Hawkins et al., 2000; Mader et al., 2000) (рис. 5.9). В некоторых исследованиях ^{15}N в ГО подвергался существенному истощению (Johansen et al., 1992, 1993b, 1994; Frey, Schüepp, 1993; Johansen, 1999). Однако очень немногие свидетельства переноса и транспорта N сопряжены с увеличением содержания этого элемента в растении или с усилением роста. А. Йохансен с соавт. сделали предположение, что на это могут влиять малые размеры экспериментальных систем (Johansen et al., 1992). Конечно, часто выявляемые межвидовые различия грибов по способности к добыванию ^{15}N могут быть связаны с разной степенью развития и распространением гиф в ГО, что часто, наряду с поступлением N, зависит также от условий почвы. Тем не менее, П. Мадер с соавт. (Mader et al., 2000) показали повышение концентрации N у AM томата, которое можно отнести на счет способности свободного мицелия проникать в обогащенные азотом гифальные отсеки. Авторы подсчитали, что до 42% растительного N поглощается по AM пути. Сходным образом, высокий уровень транспорта (около 30% N корней) наблюдался в моноксеничных культурах корней моркови с *Glomus intraradices* (Govindarajulu et al., 2005). Что касается значения гифального транспорта для

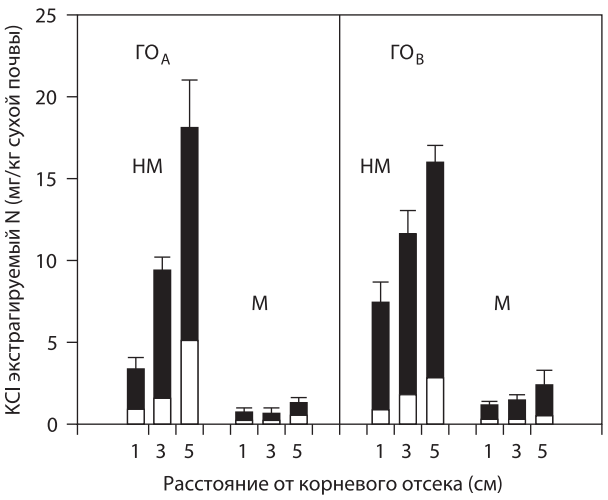


Рисунок 5.9. Влияние микоризных гиф *Glomus intraradices* на истощение KCl-экстрагируемых NH^{4+} и NO_3^- в гифальном отсеке растений *Cucumis sativus* при внесении азотных удобрений ($ГО_А$) или без него ($ГО_В$). Микоризные растения, М; немикоризные растения, НМ. Разброс показывает стандартную ошибку для среднего из 4 повторностей. Из Johansen et al., 1992, с разрешения.

сравнения поглощения аммония и нитрата, то имеющиеся данные противоречивы. В одних исследованиях показан равный перенос азота к растениям из обоих источников, в то время как в других установлен избирательный транспорт нитрата или аммония. В одной из работ не выявлено никаких различий в поступлении ^{15}N между АМ (*Glomus fasciculatum*) и немикоризными растениями *Lactuca sativa* при внесении $^{15}NO_3$ в условиях хорошего увлажнения. Однако в сухой почве обогащение АМ растений было в четыре раза выше, что, возможно, отражает значительно более низкую подвижность нитрата в сухой почве и, следовательно, сокращение прямого поглощения (Tobar et al., 1994). Вне зависимости от результирующего эффекта АМ колонизации в отношении общего содержания N в растении, накапливающиеся данные свидетельствуют о наличии значительного «скрытого» N транспорта по АМ пути.

Влияние АМ на N питание изучали в полевых условиях, и на примере *Hedysarum coronarium* были продемонстрированы усиление поглощения N из почвы и обусловленные содержанием P эффекты, связанные с азотфиксацией (Barea et al., 1987). В смешанных посадках наблюдалось двукратное увеличение транспорта ^{15}N от растений сои к кукурузе при наличии микоризы, а также относительное повышение продуктивности кукурузы (Hamel, Smith, 1991). Тип образуемой растениями микоризы также оказывает влияние на их способность усваивать нитрат, как показано для лесного сообщества с доминантом *Banksia*. На недавно подвергавшихся действию огня участках нитрат преобладает над аммонием, он накапливается и наиболее эффективно усваивается немикоризными и АМ травянистыми растениями. Древесные формы, в том числе те виды, которые могут формировать одновременно и АМ и ЭМ, вероятно, используют более широкий круг источников N (Pate et al., 1993). Также есть указания на то, что значения $\delta^{15}N$ могут различаться у АМ и НМ растений ввиду невыясненных процессов фракционирования (Handley et al., 1993). Этим может объясняться разнообразие значений $\delta^{15}N$ у растений различных жизненных форм, образующих разные типы микориз в лесном сообществе *Banksia*. Метод распространенности элементов может также помочь для выявления АМ взаимоотношений между растениями, как в случае изучения смешанных посадок сои и кукурузы (Hamel, Smith, 1991).

Усвоение азота арбускулярно–микоризными корнями

Изучение подробностей действия механизмов, принимающих участие в поглощении, переносе и транспорте N к растениям находится в самом начале. Ранние работы были сфокусированы на потенциально значимых ферментах в АМ корнях, но сейчас выяснено, что свободный мицелий, как минимум, не менее важен, и активность внутрикорневых и внешних гиф, по всей вероятности, различается. Так как аммоний часто присутствует в почве в очень низких концентрациях, считается, что его ассимиляция зависит в большей степени от активности глутаминсинтетазы (ГС) и глутаматсинтазы (ГОГАТ), чем глутаматдегидрогеназы (ГДГ) из-за высокого сродства ГС к аммонию (Miflin, Lea, 1976). Свободный мицелий обычно имеет ГС активность (Toussaint et al., 2004), как и грибные структуры, отделенные от АМ корней (Smith et al., 1985). У спор двух видов *Glomus* была отмечена активность ассимиляторной нитратредуктазы, хотя и на очень низком уровне (Ho, Trappe, 1975). Впоследствии гены, кодирующие этот фермент, были выявлены у АМ грибов (Kaldorf et al., 1994, 1998), и, как показано, они отличаются по характеру экспрессии от таковых у растения-хозяина кукурузы. Накопление мРНК транскриптов генов кукурузы было ниже в корнях и надземной части АМ растений, и ферментативная активность в побегах также была ниже. Однако в АМ корнях экспрессировался грибной ген, и образование нитрита было преимущественно НАДФ-Н-зависимым. Эти данные согласуются с тем фактом, что большинство грибов, способных к восстановлению нитрата, обладают НАДФ-Н-зависимой нитратредуктазой. Тем не менее, в других экспериментах активность НАДФ-Н-зависимой нитратредуктазы в АМ корнях *Trifolium subterraneum* могла не отмечаться, хотя проявлялась НАДФ-Н-зависимая активность, более характерная для растений, чем для грибов (Oliver et al., 1983). Таким образом, и растительные и грибные нитратредуктазы предположительно могут участвовать в ассимиляции нитрата у АМ растений.

Вслед за поглощением и начальной ассимиляцией нитрата либо аммония, согласно недавно полученным данным для моноксеничной культуры моркови с *Glomus intraradices*, происходит значительное накопление аминокислот, особенно, аргинина, в свободном мицелии гриба. Характер распределения ^{15}N метки совпадает с восстановлением нитрата и нитрита (когда нитрат доступен), и далее следует ассимиляция аммония путем действия ГС/ГОГАТ, аспарагинсинтазы и цикла мочевины (Govindarajulu et al., 2005; Jin et al., 2005). Большая часть N быстро переходит в форму аргинина, доминирующей аминокислоты в свободном мицелии (Johansen et al., 1996; Govindarajulu et al., 2005; Jin et al., 2005), и, как показано, транспортируется между гифальным и корневым отсеками в моноксеничных культурах. Удивительным открытием, сделанным на основании распределения метки в растительных и грибных метаболитах после внесения ^{13}C-ацетата или ^{15}N-аргинина в свободный мицелий, стало то, что N транспортируется от гриба к растению в форме неорганического аммония, а не аминокислоты, как предполагали ранее. Так, аргинин, поставляемый во внутрикорневой мицелий, распадается, и, в то время как высвобождающийся аммоний переносится к растению, другие продукты распада, очевидно, перерабатываются в грибных структурах (рис. 5.10). К настоящему времени роль растительных и грибных транспортеров аммония не выяснена, так же как и природа и значимость процессов, участвующих в переработке продуктов распада аргинина. Транспорт аммония к растению также имеет важные последствия для экспрессии растительных ферментов, необходимых для реассимиляции аминокислот, равно как и для механизмов регуляции pH с целью устранения избытка протонов, возникающего в процессе ассимиляции.

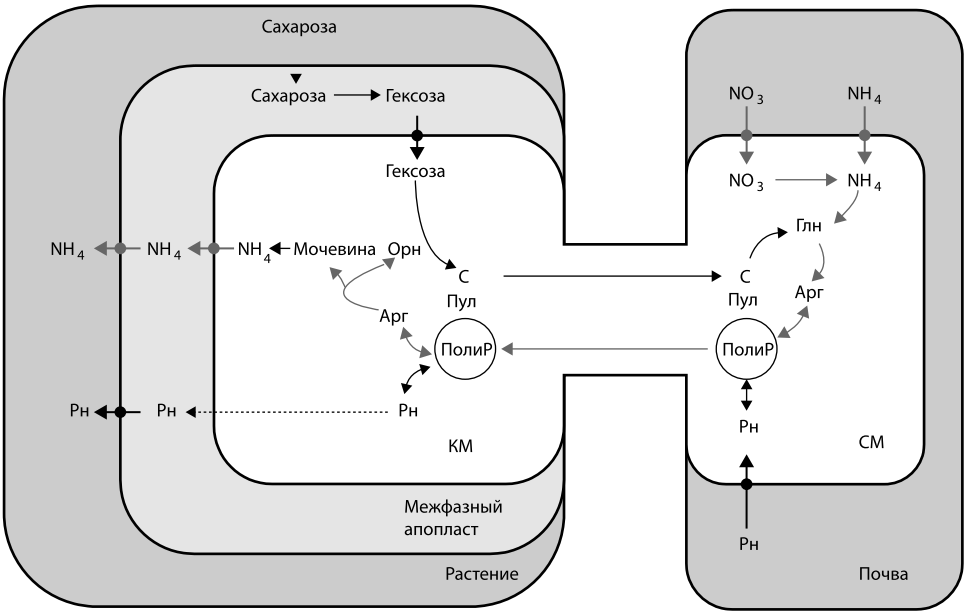


Рисунок 5.10. Рабочая модель поглощения азота, его метаболизма и транспорта в АМ симбиозе. Путь перемещения азота показан серыми стрелками. За поглощением неорганического N из почвы происходит его перевод в форму аминокислот, синтез аргинина, перенос аргинина из свободного мицелия (СМ) к грибным структурам внутри корня (КМ), распад аргинина с высвобождением аммония и оттоком в межфазный апопласт и последующее поглощение растительными клетками. Сплошными стрелками отмечены процессы активного поглощения, пунктирными — пассивный отток.
Воспроизведено из Jin et al., 2005. *New Phytologist*, **168**, 687–696, с разрешения.

Поглощение других элементов

Медь, цинк и другие микроэлементы

После ряда лет, в течение которых на значение арбускулярных микориз в поглощении микроэлементов не обращали должного внимания, появились достоверные данные о том, что у АМ растений повышается эффективность поглощения Zn и Cu. В некоторых очень старых работах показано увеличение концентрации Cu в АМ сеянцах яблони (Mosse, 1957). Впоследствии сходные результаты были получены для таких различных видов как *Zea mays* (Daft et al., 1975), *Avena sativa* (Gnekow, Marschner, 1989), *Phaseolus vulgaris* (Kucey, Janzen, 1987), *Allium porrum* (Gildon, Tinker, 1983) и *Trifolium repens* (Li et al., 1991c). С применением горшечной системы, поделенной на отсеки, было продемонстрировано поглощение и транспорт гифами Cu к растениям *T. repens* (Li et al., 1991c). Вклад грибов не только составлял до 62% от общего поглощения Cu, но также поглощение по АМ пути не зависело от влияния колонизации на P питание (см. ниже). Увеличение поглощения Cu у АМ растений было подтверждено для целого ряда пар симбионтов (Killham, Firestone, 1983; Manjunath, Habte, 1988), хотя объем транспорта от грибного партнера к растительному очень мал (Manjunath, Habte, 1988) и механизмы, регулирующие перенос, не изучены.

Как и в случае P, подвижность Zn в почве очень низка, и его поглощение живыми организмами ограничено диффузией. Следовательно, можно ожидать сходных эффектов АМ колонизации на поглощение в масштабах всего растения, но продемонстрировать их очень трудно из-за тесных взаимосвязей между этими элементами. На ранней стадии АМ колонизации было показано увеличение поглощения ^{65}Zn корнями *Araucaria* (Bowen et al., 1974), и его перенос по гифам *Glomus mosseae* к растениям *Trifolium repens*, растущим на чашке с агаровой средой (Cooper, Tinker, 1978). Скорость перемещения ^{65}Zn равнялась $2{,}1 \times 10^{-8}$ моль/м^2/с, что существенно ниже, чем скорость транспорта P, но, возможно, соответствует более низким потребностям растения в этом микроэлементе. Изучение с применением меток дало немного количественных данных о транспорте Zn к растениям и влиянии на Zn питание, но симптомы недостаточности этого элемента у персика исчезали по мере развития арбускулярной микоризы (Gilmore, 1971). Позднее в целом ряде работ было однозначно установлено, что поглощение Zn по АМ пути очень важно. Оно может помогать в преодолении дефицита этого элемента у нескольких видов растений, как в горшечных экспериментальных системах, так и в полевых условиях (Manjunath, Habte, 1988; Evans, Miller, 1988; Lu, Miller, 1989; Faber et al., 1990; Thompson, 1990; Wellings et al., 1991; Bürkert, Robson, 1994). Участие АМ в Zn питании осложняется отрицательным влиянием как вспашки (Evans, Miller, 1988; Fairchild, Miller, 1988), так и длительного пара (Thompson, 1987, 1990; Wellings et al., 1991) на рост культивируемых растений. В симбиозе с *Trifolium subterraneum* для гриба *Acaulospora laevis* было показано получение ^{65}Zn с расстояния до 40 см от растений, в то время как вид рода *Glomus* (WUM 10(1)) и *Scutellospora calospora* (WUM 12(2))

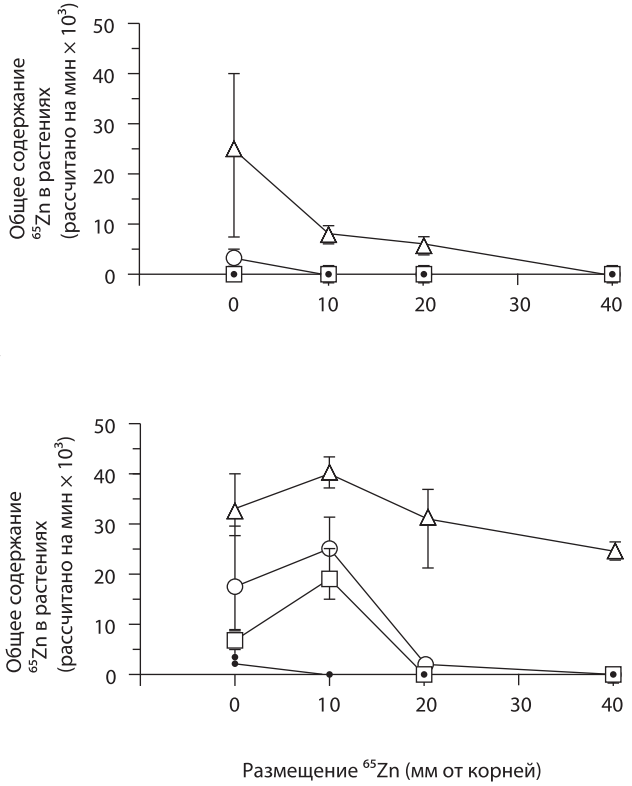


Рисунок 5.11. Влияние внесения ^{65}Zn на разном расстоянии от корней немикоризных и микоризных растений клевера на активность ^{65}Zn в растении в целом на 21-й (А) и 35-й (Б) день. Немикоризные растения — ●, *Acaulospora laevis* — Δ, *Glomus* sp. — ○ и *Scutellospora calospora* — □. Разброс — стандартная ошибка среднего. Из Bukert, Robson, 1994, с разрешения.

были менее эффективны в этом отношении. Как и при поглощении P, распределение и длина гиф в почве вносит существенный вклад в межвидовые различия грибов (Bürkert, Robson, 1994) (рис. 5.11). Эти данные были подтверждены другим исследованием, в котором продемонстрирован одновременный транспорт ^{32}P и ^{65}Zn к растениям кукурузы по гифам *Glomus intraradices* с расстояния до 14 см (Jansa et al., 2003). Неудивительно, что транспорт Zn вновь оказался слабее, чем P, но присутствовала четкая линейная зависимость между количествами переносимых P и Zn, что указывает на значимость длины гиф в почве при поглощении обоих элементов питания.

Поразительно, что АМ колонизация также принимает участие в снижении накопления Zn и, следовательно, интоксикации растений в почвах с высоким содержанием этого элемента (Li, Christie, 2001; Zhu et al., 2001; Burleigh et al., 2003). Механизм, ответственный за это, неизвестен, но, предположительно, он отличен от того, который усиливает поглощение Zn в условиях дефицита. Как минимум, в одном исследовании (Li, Christie, 2001) было показано, что защитный эффект независим от косвенного влияния усиления роста и P поглощения у АМ растений (см. ниже).

Имеется очень мало данных о молекулярных и физиологических механизмах, обусловливающих повышение или снижение накопления Zn. Транспортер цинка, клонированный у *Glomus intraradices*, обладает свойствами, которые предполагают скорее его участие в защите гриба от Zn стресса, чем в поглощении этого элемента (Gonzalez-Guerrero et al., 2005). Сходным образом, изучение растительного транспортера Zn из *Medicago truncatula* (*MtZIP2*) показало, что он локализован на цитоплазматической мембране и его экспрессия при АМ колонизации претерпевает понижающую регуляцию. Однако регуляция значительно повышается при увеличении внесения Zn (Burleigh et al., 2003). Такой характер экспрессии предполагает, что этот транспортер не участвует в поглощении Zn по АМ пути, но его функции пока еще не выяснены.

Поглощение других микроэлементов через гифы свободного мицелия изучено в меньшей степени (Marschner, Dell, 1994). Поглощение Mn у АМ растений чаще всего снижается. Этот эффект связывают с более низким восстановительным потенциалом Mn^{+IV} в ризосфере АМ растений, возможно, потому что происходит сокращение популяций ответственных за реакции микроорганизмов (Kothari et al., 1991).

Связь между внесением P удобрений и дефицитом микроэлементов хорошо прослежена на примере нескольких видов типично АМ растений (Wallace et al., 1978). В общем, при возрастании доступности P, его поглощение и рост растения усиливаются. Концентрации Cu и Zn в тканях снижаются, иногда до такого уровня, на котором становятся заметными симптомы дефицита. Показано, что АМ колонизация оказывает влияние на эти взаимоотношения (Lambert et al., 1979; Timmer, Leyden, 1980), поэтому при умеренном уровне внесения P удобрений симптомы дефицита сглажены тем, что АМ грибы усиливают поглощение микроэлементов, и их концентрация в тканях растет. При очень высоком содержании P АМ колонизация сама по себе может снижаться (см. гл. 2) с последующим сокращением АМ поглощения и возвратом симптомов дефицита. Подобные связи могут играть роль при избегании отравления цинком в загрязненных местообитаниях (Dueck et al., 1986). Если на таких участках имеется недостаток P, то его АМ поглощение может привести к усилению роста и «разбавлению» Zn в тканях. Однако, как показано выше, это объяснение пригодно не для всех случаев.

Калий

При анализе концентрации K в растительных тканях иногда отмечают усиление поглощения K у АМ растений, что можно ожидать, учитывая относительно малую подвижность этого иона в почве (Mosse, 1957; Holevas, 1966; Possingham, Groot Obbink, 1971;

Huang et al., 1985). Однако в большинстве исследований K обнаруживается в меньших концентрациях в тканях АМ растений, чем у немикоризных. Экстраполяции на основании концентрации элемента в тканях могут быть опасны, как было видно на примере других элементов, из-за одновременного влияния P питания на рост растения. Повышение концентрации K наблюдалось в побегах (но не в корнях) АМ растений *Trifolium subterraneum*, когда они были выращены в почвах с недостатком P (Smith et al., 1981). Если в почву вносили достаточное для прекращения АМ ростовых ответных реакций количество P, то содержание K у обеих групп растений было очень сходным. Это предполагает косвенное влияние арбускулярных микориз на поглощение K у растений с дефицитом P, сходное с эффектами, наблюдаемыми для сульфата (Rhodes, Gerdemann, 1978b). Однако истощение K в ГО, колонизированных гифами гриба *Glomus mosseae*, сопровождалось увеличением накопления у ассоциированного с ним АМ растения *Agropyron repens* (George et al., 1992), так что прямое влияние также возможно.

На накопление K сильно влияет доступная форма N (нитрат либо аммоний), а также и другие катионы, в особенности, Na^+. Возможно также влияние синтеза и запасания полиP, поэтому для корректной постановки эксперимента с целью изучения действия АМ колонизации на K питание следует принимать во внимание все эти потенциально задействованные факторы.

Токсичные элементы

Некоторые весьма важные элементы необходимы в очень малых количествах, и если они накапливаются, то могут становиться токсичными. Таким образом, отравление тяжелыми металлами может возникать из-за избыточного поглощения Zn, Cu, Fe и Co, а также других элементов и ионов, которые обычно считаются токсичными (напр., Pb, Cd, Cr, Ni, Ti, Ba и As). Общие аспекты взаимодействий грибов, в том числе АМ, с этими металлами приведены в обзорных работах (Gadd, 1993; Meharg, 2003). Результаты различных исследований АМ не всегда согласуются между собой, их интерпретация часто затруднена одновременно присутствующим влиянием АМ колонизации на питание и рост растения. Выявлено заметное влияние арбускулярных микориз, выражающееся в увеличении накопления Cu, Ni, Pb и Zn (Killham, Firestone, 1983), но существует множество данных обратного характера или свидетельствующих о том, что хотя в целом накопление повышается, истинная концентрация и, следовательно, потенциально токсический эффект, снижаются (Weissenhorn et al., 1995; Karagiannidis, Hadjisavva-Zinoviadi, 1998; Joner, Leyval, 2001; Andrade et al., 2003, 2004; Janouskova et al., 2005). Очевидно, что при изучении накопления токсичных элементов и устойчивости к ним следует принимать во внимание связь с P питанием и ростом, а также другие аспекты АМ физиологии. Разбавление токсичного элемента в тканях может происходить вследствие улучшения P питания и усиления роста растения, даже в случаях, когда общее поглощение возрастает (El-Kherbawy et al., 1989). Только посредством измерения притока, с использованием контрольных растений для оценки ростовых реакций и P питания или экспериментальных систем с отсеками возможно определить, участвуют ли гифы АМ грибов напрямую в поглощениеи токсичных элементов и их транспорт к растению. Интерпретация механизмов, обусловливающих эти эффекты, может быть затруднительна, если исследуемая почва содержит большие количества сразу нескольких загрязняющих веществ. Кроме того, увеличение общего поглощения можно рассматривать как потенциально выгодное явление при возобновлении растительности, а снижение концентрации – ввиду ограничения выхода токсичных металлов в цепи питания.

Свободный мицелий АМ грибов, как было показано с использованием разделенных на отсеки экспериментальных систем, обладает способностью к поглощению и пере-

носу не только Cu и Zn, но также Cd, Ni и U. Влияние на поглощение других металлов, таких как Pb, было обнаружено по изменениям в общем поглощении растением. В горшечной системе с отсеками (см. рис. 5.3А) металлы и/или P вносили в свободный мицелий *Glomus mosseae* в симбиозе с огурцом (Lee, George, 2005). Авторы выявили, что концентрации Zn и Cu, а также P, были выше у АМ растений, что вновь демонстрирует роль гиф в переносе металлов. Концентрации Cd и Ni снижались в побегах АМ растений, что предполагает сокращение транспорта из корней в надземную часть. Однако интерпретация полученных данных была сопряжена с некоторыми трудностями, так как рост АМ растений был значительно более интенсивным, чем у безмикоризных.

Поглощение АМ грибами часто приводит к повышению концентрации элементов в корнях, но при этом и к ограничению транспорта в побеги (Joner, Leyval, 1997; Rufyikiri et al., 2004; Chen et al., 2005a). В одном исследовании поглощения U и As гипераккумулирующим As растением *Pteris vittata* из загрязненной почвы (Chen et al., 2005b) было показано, что АМ колонизация повышает накопление U в корнях. Транспорт к побегам тоже незначительно возрастал, хотя его общий объем был невелик. Эти результаты контрастируют с полученными ранее данными относительно ячменя, согласно которым транспорт от корней к надземной части у АМ растений сокращался (Chen et al., 2005a). У *P. vittata* АМ колонизация не влияла на концентрации As, даже при том, что подавление роста растения могло «сконцентрировать» элемент в тканях. Общее содержание As в АМ растениях было, таким образом, ниже или одинаковым по сравнению с немикоризными, в зависимости от сухого веса растений.

Механизмы, которыми объясняется влияние АМ грибов на снижение накопления токсичных элементов в побегах, приведены в обзоре А. Мехарга (Meharg, 2003). Они включают связывание на поверхности гиф (Joner et al., 2000), изменение доступности в почве (Citterio et al., 2003) и возможность изолирования металлов в гифах без дальнейшей передачи их растениям (Christie et al., 2004). Методом спектроскопии потерь энергии электронов АМ корней *Pteridium aquilinum* показано большее накопление Cd, Ti и Ba в грибных структурах, чем в самих клетках корня (Turnau et al., 1993). Было сделано предположение, что изоляция металлов посредством полиP в грибных структурах может иметь большое значение для минимизации транспорта к растению, но оно нуждается в подтверждении. Никакого увеличения транспорта металлов не наблюдалось у *Glomus mosseae* при внесении P в мицелий и активизации переноса P к растению. Это предполагает, что прямая связь между транспортом P и металлов отсутствует (Lee, George, 2005). С применением горшечной системы с отсеками было показано, что хотя на поглощение ^{106}Cd корнями АМ статус растения не оказывал существенного влияния, АМ гриб изымал значительное количество ^{106}Cd из ГО (Joner, Leyval, 1997). Однако большая часть Cd остается в корнях и, возможно, изолируется в грибных структурах, что предотвращает транспорт к растению. Аналогично, свободный мицелий *Glomus lamellosum* способен к поглощению и переносу ^{137}Cs в моноксеничной культуре и так же, очевидно, изолирует радионуклид в гифах (Declerck et al., 2003).

Также рассматривалась возможность того, что накопление токсичного элемента может быть опасным для грибного партнера и может оказывать значительное отрицательное влияние на АМ поглощение P или Zn. Было показано, что U, по всей вероятности, не влияет на АМ колонизацию *Trifolium subterraneum* в обогащенной почве (Rufyikiri et al., 2004), но и Cd и Pb, а также присутствие в почве одновременно нескольких токсичных металлов, отрицательно влияли на колонизацию и/или рост мицелия и образование спор (Joner, Leyval, 2001; Andrade et al., 2003, 2004; Tullio et al., 2003; Janouskova, Vosatka, 2005). Неудивительно, что наблюдались различия между разными видами АМ грибов и источниками инокулюма. Имеются данные о том, что длительное присутствие Cd и других токсичных элементов может приводить к появлению устойчивости у видов рода *Glomus*, но ее механизм неизвестен (см. Weissenhorn et al., 1994; Tullio et al., 2003).

Все больше признается значение мышьяка (As) как основного загрязнителя воды и почвы, и предпринимаются попытки сократить его проникновение в цепи питания (Meharg, 2004). Весьма интересна устойчивость к арсенатам у растений, так как она, по всей видимости, зависит от изменений систем поглощения P (по которой транспортируются также и арсенаты) и, следовательно, поглощающей способности корня (Meharg, 1994). Снижение поглощения As у некоторых немикоризных растений (напр., *Holcus lanatus*) включает в себя конститутивную понижающую регуляцию экспрессии высокоаффинных P транспортеров в корнях (Meharg, Hartley-Whitaker, 2002). Поглощение P у устойчивых форм происходит, вероятно, посредством низкоаффинных транспортеров, по крайней мере, при погруженном культивировании (Meharg, MacNair, 1992). Однако эти транспортеры вряд ли имеют большое значение в почве, где высокоаффинное поглощение принципиально для абсорбции P из раствора, в котором его концентрация редко превышает 10 мкМ. Устойчивые генотипы *H. lanatus* в природных условиях в большей степени колонизированы АМ грибами, чем лишенные устойчивости, что приводит к предположению о зависимости устойчивых растений от грибов в поглощении P и дальнейшем процветании (Meharg et al., 1994). Кроме того, выживание устойчивых к As растений в загрязненных почвах указывает на возможное участие АМ симбиозов в компенсации утраты высокоаффинной системы поглощения P и скудного роста корней из-за токсичности As. Это может служить объяснением для некоторых наблюдений, в которых показана связь между устойчивостью к As и влиянием АМ на растения, и того факта, что АМ растения могут быть более устойчивы к As, чем немикоризные (Meharg et al., 1994; Fitter et al., 1998b; Wright et al., 2000; Gonzalez-Chavez et al., 2002; Liu et al., 2005a, b).

Транспорт веществ между растениями

Мицелиальные связи между растениями представляют собой потенциальные пути для передвижения питательных веществ из почвы, а также органического C растений, и могут играть важную роль во внутривидовой и межвидовой конкуренции растений и перераспределении элементов питания в сообществе. Таким образом, необходимо решить проблему определения экологической или физиологической значимости перемещения метки (Newman, 1988; Miller, Allen, 1992).

Сохранение жизнеспособности гиф в отмерших или отмирающих корнях может приводить к быстрому поглощению и транспорту высвобождающихся в результате автолиза или деятельности микроорганизмов питательных веществ, к растениям, связанным между собой общей мицелиальной сетью (ОМС). Транспорт минеральных соединений от одного живого растения к другому по ОМС представляется более проблематичным. Имеются неоспоримые доказательства транспорта следовых количеств ^{32}P и ^{15}N от растения-«донора» к «реципиенту» (Whittingham, Read, 1982; Ritz, Newman, 1985; van Kessel et al., 1985; Newman, Ritz, 1986; Haystead et al., 1988; Hamel, Smith, 1991; Johansen, Jensen, 1996), но объем переносимых веществ часто очень мал, и данные не показывают результирующего перемещения питательного вещества. В одном из исследований не использовали метки, а вместо этого вносили питательный раствор либо воду в одну половину корневой системы растения-донора (*Plantago lanceolata* или *Festuca ovina*) (Francis et al., 1986). Реципиенты были выращены вместе с другой половиной корневой системы при инокуляции АМ грибами или без нее. АМ реципиенты (*P. lanceolata* или *F. ovina*) давали положительную ответную реакцию как в отношении роста, так и содержания питательных веществ, когда элементы питания вносили к донорам. Несовместимое растение *Arabis hirsuta* и немикоризные *P. lanceolata* и *F. ovina* не давали такого ответа, что, очевидно, свидетельствует о суммарном транспорте веществ от доноров, располагающих большими количествами элементов питания, к реципиентам через ОМС.

Однако есть мнение, что эти результаты могут объясняться не прямым переносом, а изменениями в конкурентоспособности донорных растений вследствие различий в поступлении питательных веществ. Более крупные, не испытывающие недостатка в питании доноры менее активны в конкурентной борьбе, чем реципиенты (Newman, 1988). С этой точкой зрения согласуются данные, показывающие, что конкуренция может играть главную роль в перераспределении питательных веществ между крупными и мелкими растениями *Sorghum vulgare* (Ocampo, 1986). Д. Эйзенштат (Eissenstat, 1990) повторно исследовал этот вопрос, используя и внесение питания и метки ^{32}P и ^{15}N в разделенной на отсеки горшечной системе. Измерив отношение количества метки в реципиенте и в доноре, он пришел к выводу, что транспорт P между особями *Plantago lanceolata* усиливался после внесения P удобрений, в то время как N транспорт остался без изменений. В количественном отношении объем переносимого P был слишком мал для того, чтобы повлиять на рост растения, а объем транспорта N был примерно в 10 раз больше, что можно было ожидать, исходя из сравнительных потребностей растения в этих элементах, и мог оказывать влияние на растения-реципиенты при сильном недостатке питания в почве. Автор сделал заключение, что главную роль скорее играет изменение баланса в конкуренции, чем прямая передача вещества. Этот вывод в дальнейшем был подтвержден результатами других исследователей (Johansen et al., 1992). Было обнаружено, что хотя свободный мицелий *Glomus intraradices* эффективно усваивает N из почвы в гифальном отсеке (ГО) и транспортирует его к растениям *Cucumis sativus*, очень мало ^{15}N переносится через растение во второй гифальный отсек. За этой работой последовал эксперимент, в котором был изучен транспорт N и P между растениями ячменя и гороха (Johansen, Jensen, 1996). Система отсеков была сконструирована таким образом, чтобы предотвратить переплетение корней и, следовательно, элиминировать прямой перенос и предотвратить конкуренцию. Транспорт и P и N в обоих направлениях оценивали посредством долгосрочного мечения корней растения-донора ^{15}N либо ^{33}P. Между интактными растениями перенос был очень слабым и происходил двунаправленно, поэтому результирующий объем транспорта был незначителен в сравнении с потребностями растения. Если надземная часть растения-донора была удалена, транспорт несколько усиливался, наиболее вероятно, по причине того, что минерализованный N и P становился доступным для АМ гиф по мере разрушения корней. Конечно, цикл развития корней и последующее высвобождение питательных веществ могут служить объяснением слабого транспорта между интактными растениями. В совокупности данные указывают на то, что результирующий перенос P или N между растениями по ОМС, возможно, экологически пренебрежимо мал, но вовлечение в круговорот веществ из разлагающихся растительных тканей может вызывать его кратковременное усиление. Кроме того, имеющаяся информация о транспорте питательных веществ через симбиотическую зону контакта предполагает, что движение N и P сильно поляризовано и идет в направлении от гриба к растению. До сих пор не выявлены механизмы, которые могли бы обеспечивать двунаправленное движение получаемых из почвы минеральных питательных веществ через живые контактные зоны (Smith, Smith, 1990a, b). Недостаток убедительных доказательств результирующего переноса элементов питания между растениями подчеркивает необходимость очень аккуратного планирования экспериментов в этой области.

Водный обмен

Б. Моссе и Д.С. Хэйман (Mosse, Hayman, 1971) наблюдали отсутствие увядания у АМ растений *Allium cepa* после пересадки, в отличие от немикоризных. В дальнейшем было сделано несколько сходных наблюдений (Busse, Ellis, 1985; Huang et al., 1985), и не вызывает сомнений, что АМ колонизация оказывает влияние на водный обмен растений (Augé, 2001; Ruiz-Lozano, 2003). Как и в случае других аспектов физиологии АМ растений, следует различать прямое влияние грибной колонизации и косвенные эффекты,

обусловленные изменением размеров растения или содержания в нем Р. Этот предмет весьма сложен для изучения, в литературных данных имеется множество противоречий, которые не всегда легко объяснимы (Nelsen, 1987; Fitter, 1988; Koide, 1993). Связь между АМ колонизацией и водным обменом растения подробно освещена в обзорной работе (Augé, 2001), в которой сделан вывод, что влияние АМ заключается и в прямом воздействии, и в косвенных эффектах, связанных с изменением размеров растения и его питания. В природных условиях влияние размера может быть важным для выживания и благополучия растения, особенно в случае видов, которые скорее избегают засушливых условий, чем переносят засуху. В упомянутом обзоре также подчеркивается тот факт, что очень мало известно о различиях в водном обмене в разных сочетаниях гриб–растение (Augé, 2001). Однако в некоторых более поздних работах описаны исследования ответов на водный стресс у целого ряда видов АМ грибов. Было выявлено значительное разнообразие результатов симбиотического взаимодействия (Marulanda et al., 2003; Aroca et al., 2007), и этим до некоторой степени может объясняться противоречивость данных предшествующих исследований.

Влияние АМ колонизации на водный обмен растения было впервые систематически изучено на примере сои (Safir et al., 1971, 1972). В результате было показано, что АМ растения имеют более низкое сопротивление при водном транспорте, чем немикоризные и, в этом случае, вероятно, что различия в основном обусловлены изменением сопротивления в корнях, так как значения сопротивления для надземной части были малы и не различались у двух групп растений. Был сделан вывод, что этот эффект, возможно, обусловлен улучшением питания, так как различия элиминируются при внесении питательных веществ или применении фунгицидов (Safir et al., 1972). Скорость транспирации у АМ растений в целом выше, чем у безмикоризных (Allen et al., 1981; Allen, 1982; Nelsen, Safir, 1982; Huang et al., 1985; Koide, 1985b; Fitter, 1988). Как отмечено Р.Т. Койде (Koide, 1993), наиболее дискуссионный момент — является ли усиление транспирации следствием увеличения устьичной проводимости или важно также и снижение сопротивления при водном транспорте в подземной части, как предполагалось в более ранних исследованиях (Safir et al., 1971, 1972). Было проведено изучение симбиоза *Citrus jambhiri* с видами *Glomus* в условиях выращивания и внесения удобрений, позволяющих сравнение АМ и НМ растений, одинаковых по размеру и скорости роста (Levy, Krikun, 1980). Основным эффектом АМ колонизации являлось увеличение транспирационного тока и устьичной проводимости и при стрессовых и в нормальных условиях. По сопротивлению при передвижении воды в корне между двумя группами растений различий выявлено не было. Сходные результаты были получены еще для нескольких видов растений (Allen et al., 1981; Allen, 1982; Huang et al., 1985; Koide, 1985b; Fitter, 1988). Наблюдалось увеличение скорости транспирации у АМ растений, тогда как устьичное сопротивление сильно снижалось. И Р.Т. Койде (Koide, 1985b) и А.Г. Фиттер (Fitter, 1988) пришли к выводу, что высокое устьичное сопротивление у немикоризных растений при недостатке Р обусловлено влиянием питания, и на рисунке 5.12 показана четкая корреляция между устьичной проводимостью и концентрацией Р в листьях *Trifolium pratense*, вне зависимости от того, были различия в Р питании вызваны внесением удобрений, или АМ колонизацией. Однако существуют предположения, что на поведение устьиц влияют гормональные модификации растения, происходящие в результате либо изменений в Р питании, либо АМ колонизации как таковой (Allen et al., 1980, 1982; Allen, 1982; Dixon et al., 1987; Baas, Kuiper, 1989; Danneberg et al., 1993; Druge, Schonbeck, 1993).

У растения *Bouteloua gracilis* изменения устьичной проводимости не могут быть объяснены различиями в анатомии или морфологии. При АМ колонизации не происходило ни изменения размеров клеток мезофилла, обкладки или устьиц, ни изменения частоты устьиц. М.Ф. Аллен с соавт. (Allen et al., 1981) не разделяли вклад надземной и подземной части в сопротивление при водном транспорте, но они отметили, что уси-

ление ветвления корней у АМ растений может вести к значительному увеличению площади поверхности без изменения биомассы корневой системы, и это может снижать сопротивление корней при поглощении воды. Однако Р.Т. Койде (Koide, 1985b) измерил гидравлическое сопротивление при водном транспорте в почве и в листьях и в почве и в стебле под листом (сопротивление корня плюс стебля) при различных значениях скорости транспирации в хорошо увлажненной почве. При сравнении АМ и немикоризных растений, одинаковых по размеру и длине корня, различий в гидравлических свойствах выявлено не было, и влияние арбускулярной микоризы может быть полностью объяснено снижением устьичного сопротивления. Увеличение устьичной проводимости и повышение скорости транспирации у *Leucaena* сопровождались более высоким потенциалом ксилемного давления, а устьица быстрее реагировали на изменения влажности. АМ растения снижают водный потенциал почвы в горшечных системах, что указывает на более активное поглощение воды, чем в случае немикоризных растений (Huang et al., 1985). Можно заключить, что большее потребление воды АМ растениями может быть компенсировано увеличением поступления С, так как устьица остаются открытыми большую часть дня. Крупные корневые системы и быстрый ответ устьиц также важны для общего водного баланса.

Результаты ряда исследований, однако, предполагают, что АМ колонизация может снижать гидравлическое сопротивление при поглощении воды корнями (Hardie, Leyton, 1981; Nelsen, Safir, 1982; Graham, Syvertsen, 1984; Bildusas et al., 1986; Aroca et al., 2007), хотя это, вероятно, менее частый случай. На уровне растения в целом этот эффект должен проявляться в увеличении размеров или усилении ветвления корневой системы. К. Харди и Л. Лэйтон (Hardie, Leyton, 1981) смогли только отчасти отнести снижение гидравлического сопротивления в корневых системах *Trifolium pratense*, колонизированных *Glomus mosseae* на счет этого эффекта. Поэтому авторы заключили, что рост гиф в почве играет важную роль в снижении сопротивления корня току воды, и это мнение обсуждается ниже. Тем не менее, Р.Т. Койде (Koide, 1993) подчеркивал, что, так как гидравлическая проводимость корня не связана линейной зависимостью с размерами корневой системы (Ficus, Markhart, 1979), некорректно сравнивать значения, полученные для корневых систем разного размера, даже если результаты рассчитаны на единицу длины корня. Следовательно, только данные для сопоставимых АМ и НМ растений могут быть использованы для сравнения, и, если это требование соблюдается, то либо не наблюдается никакого влияния (Graham, Syvertsen, 1984; Koide, 1985b; Graham et al., 1987), либо отмечается снижение гидравлической проводимости (Levy et al., 1983). Далее Р.Т. Койде (Koide, 1985b) отметил, что явное влияние АМ колонизации на гидравлическую проводимость корня может быть зафиксировано, так как этот параметр изменяется вместе с транспирационным током, который в норме выше у АМ растений. Исследования аквапоринов цитоплазматической мембраны, которые способствуют току воды через плазмалемму, показали, что экспрессия этих белков часто ниже у АМ растений, и что такие растения отвечают на засуху дальнейшей понижающей регуляцией (Porcel et al., 2006; Ruiz-Lozano et al., 2006). Эти данные предполагают, что влияние АМ колонизации проявляется на уровне клеточной мембраны так же, как и на уровне ткани и всего растения, но, тем не менее, необходимы дальнейшие исследования.

Возможная роль гиф АМ грибов в поглощении воды и транспорте к растению требует проверки, несмотря на то, что очень мало неоспоримых свидетельств их участия в водном обмене растений-хозяев. Транспирационный ток был изучен у НМ и АМ растений *Allium porrum* и *Trifolium pratense* при отсутствии ограничения в питательных веществах (Hardie, 1985). У АМ клевера была несколько более высокая транспирация и низкое устьичное сопротивление сравнительно с безмикоризным контролем. Удаление свободного мицелия не влияло на устьичное сопротивление, но снижало транспирационный ток, хотя различия не были значительными. К. Харди использовала максимальное снижение транспирационного тока, вызванное удалением гиф и пересадкой (9,9

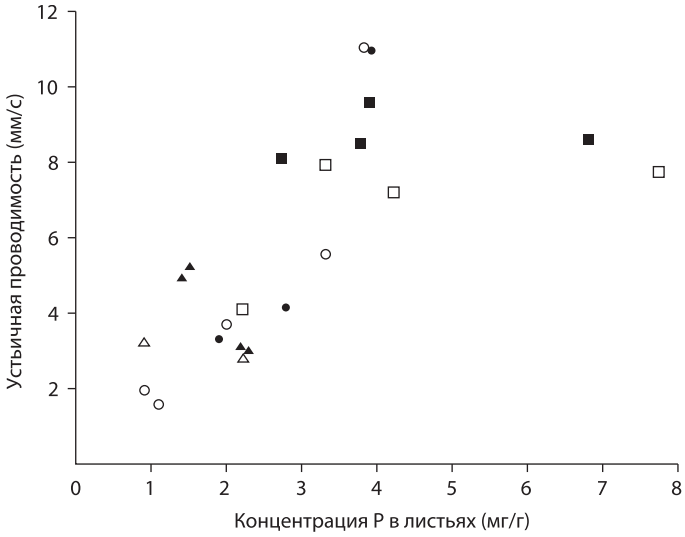


Рисунок 5.12. Зависимость между устьичной проводимостью и концентрацией P в тканях, компиляция из Fitter, 1988. Обозначения: Δ — *Rosa*, ○ — *Helianthus*, и □ — *Trifolium*. Микоризные растения отмечены закрашенными значками, немикоризные — прозрачными. Перепечатано из *Journal of Experimental Botany* с разрешения издательства Oxford University Press.

$\times 10^{-9}$ л/м длины корня/с) для подсчета, что повреждение сорока гифальных точек проникновения на метр колонизированного корня будет достаточным для такого снижения, при условии, что ток воды через точки проникновения такой же, как у *Phycomyces blakesleeanus*. Это было смелым предположением при том, что данные не были статистически достоверными. Тем не менее, существуют некоторые свидетельства истощения воды в почве и в горшках с одним отсеком, и в ГО в системах с разделением, что предполагает поглощение и транспорт воды гифами (Faber et al., 1991; Marulanda et al., 2003). Было получено значение для тока воды через гифу 375×10^{-9} л/ч на гифу, пересекающуюся с сеткой, или, при внутреннем радиусе гифы равном 5 мкм, 1,32 л/м^2/ч. С.Т. Котари с соавт. (Kothari et al., 1990) изучали эти вопросы на таком объекте как *Zea mays*. В данном случае, различие в скорости транспирации между АМ и немикоризными растениями было значительным и могло в большой степени объясняться увеличением площади листьев. Однако длина корней у АМ растений снизилась почти на 31% и, следовательно, поглощение воды на единицу длины корня было существенно более высоким, чем у НМ растений а ($\Delta 7{,}3 \times 10^{-9}$ л/м/с). Это значение сходно с полученным К. Харди (Hardie, 1985). При степени колонизации 60% и наличии 1000 точек проникновения (диаметр 10 мкм) на метр колонизированного корня (Kothari et al., 1990), площадь поперечного сечения гифы, через которую будет проходить вода, может быть оценена как $4{,}7 \times 10^{-8}$ м^2/м, а ток воды - как 0,15 л/м^2/с, что на порядок меньше, чем значение, приведенное в других работах (Faber et al., 1991). С.Т. Котари с соавт. (Kothari et al., 1990) вычислили, что если P поступает в гифы путем массового расхода раствора с концентрацией 16 ммоль/л, приток должен равняться 10×10^{-10} моль/м/с. Это число на один или два порядка выше, чем истинный приток, значения которого лежат в интервале 6,2–22,0 $\times 10^{-12}$ моль/м/с. Авторы пришли к выводу, что объемный поток воды в гифах не может, по всей видимости, вносить существенный вклад в поступление P. В пользу заключения, что массовый расход раствора в гифах не является существенным,

может свидетельствовать факт пренебрежимо малого усвоения воды из гифального отсека в экспериментах. Кроме того, Э. Джордж с соавт. (George et al., 1992) подтвердили эти данные и не выявили различий в истощении воды в гифальном отсеке, вне зависимости от наличия водного стресса у растений, или удаления гиф.

Недавно были обнаружены различные типы влияния у разных видов грибов на высыхание почвы, что может помочь объяснить разнообразие данных. На примере вида *Lactuca sativa*, для которого подобраны условия выращивания и в микоризном и в НМ состоянии, было показано, что шесть видов АМ грибов совершенно по-разному влияют на высыхание почвы, и различия связаны с развитием свободного мицелия (Marulanda et al., 2003). Результаты были интерпретированы в связи с различиями в поглощении и транспорте воды гифами. Однако существует возможность, что влияние оказывают также эффекты гиф в отношении свойств почвы. На примере дикого типа *Phaseolus vulgaris*, образующего нормальные арбускулярные микоризы, и АМ-дефектного мутанта, неспособного к микоризообразованию, было показано, что влияние АМ на устьичную проводимость и засухоустойчивость должно быть разделено на происходящее в результате колонизации корней и являющееся следствием роста свободного мицелия в почве (Augé et al., 2004). Заслуживает упоминания тот факт, что мутантным (немикоризным) растениям, выращенным в «микоризной» почве, требовалось больше времени для закрытия устьиц при засухе, чем тем, которые росли в «немикоризной» почве. Результаты этого исследования подтверждают важность свободного АМ мицелия для структуры почвы и, следовательно, водного обмена, а также отчасти объясняют связь между обилием гиф и высыханием почвы, выявленную ранее (Marulanda et al., 2003).

Таким образом, АМ колонизация может оказывать влияние на засухоустойчивость способами, не связанным напрямую с водным обменом растений. Доступность воды выше в хорошо структурированных почвах, поэтому широко известные эффекты АМ колонизации в отношении почвенной структуры и стабильности агрегатов могут быть весьма важны (Tisdall, Oades, 1982; Miller, Jastrow, 2002b; Rillig, Mummey, 2006). АМ грибы, возможно, влияют также и на проводимость почвы тем же способом, что и корневые волоски, предотвращая появление воздушных пробок и поддерживая контакт корней с порами, наполненными водой, а кроме того, посредством общего влияния на структуру почвы. При колонизации свободным АМ мицелием отмечены изменения характеристических кривых влажности почвы наряду с улучшением почвенной структуры сравнительно с «немикоризными» почвами (Augé, 2001, 2004). Питательные вещества, как уже упоминалось, становятся все менее доступными по мере высыхания почвы из-за увеличения извилистости диффузионных путей. Рост немикоризных растений, вероятно, сильнее ограничен доступностью элементов питания в засушливых условиях, и снижение роста корня лимитирует поступление воды. Вклад гиф в поглощение питательных веществ у АМ растений в таких условиях будет еще более значительным. Было показано, что АМ растения сорго способны усваивать P из сухой почвы гораздо лучше, чем немикоризные (Neumann, George, 2004). Частично наблюдаемый эффект может быт отнесен на счет более высокой влажности почвы вследствие гидравлического подъема, при котором гифы, так же как и корни, участвуют в перераспределении почвенной воды вдоль градиента водного потенциала почвы.

Заключение

Существуют убедительные доказательства поглощения свободным мицелием АМ грибов неподвижных питательных элементов (P, Zn, Cu) из почвы и их быстрого транспорта к растениям, что решает проблему зон истощения в ризосфере, возникающих вследствие корневого поглощения. Транспорт через симбиотическую контактную зону часто

приводит к увеличению поступления питательных веществ к растению. Эти процессы происходят многократно и при наличии эффективного грибного симбионта, образующего обильный свободный мицелий, ведут к истощению элементов питания далеко за пределами ризосферы. Показано, что вклад АМ поглощения в общее питание растения значителен не только у растений, дающих положительные реакции на колонизацию, но также и у невосприимчивых или реагирующих отрицательно. Активно выявляются молекулярные и физиологические механизмы, обусловливающие интеграцию растительного и грибного путей поглощения. Новые работы демонстрирующие, как механизмы поглощения Р у гриба и растения интегрируются на физиологическом и молекулярном уровнях, могут изменить наши представления о роли микориз в растительном питании не только в простых горшечных экспериментах, но также и в природных условиях. Следует признать, что симбиотическое поглощение питательных веществ играет важную роль гораздо чаще, чем полагали ранее, и при интерпретации экспериментальных данных необходимо учитывать «скрытое» АМ поглощение. Хорошим примером может служить N питание. В новых исследованиях выявлено действие АМ пути поглощения N, а также обусловливающие его механизмы, но количественные характеристики транспорта еще не получены.

Источники Р (и других элементов питания), доступные для грибов, мало изучены. Почвенный раствор, уравновешенный так называемой лабильной фракцией, должен служить основным из них. Гифы способны проникать в почвенные поры, недоступные для корней, и также могут эффективно конкурировать с почвенными микроорганизмами за недавно минерализованные питательные вещества. Быстрое вымывание фосфора из раствора в местах растворения ускоряет использование Р, быстро обменивающегося с раствором. Доказательства того, что АМ грибы напрямую используют источники Р или N, недоступные для растений, достаточно зыбки, но в этой области продолжаются исследования, особенно в отношении мобилизации источников органических питательных веществ ферментами грибов. Также вероятно, что локальные изменения pH могут влиять на повышение подвижности Р в микрозонах. Образование хелатирующих агентов, которое увеличивает доступность фосфатов Fe или Al, не было продемонстрировано, несмотря на явные различия в доступности этих источников Р для АМ и немикоризных растений.

Взаимосвязь между АМ колонизацией и накоплением тяжелых металлов и других токсичных элементов представляет большой интерес как в контексте производства безопасных продуктов питания, так и для программ биологической очистки. В этих процессах может принимать участие целый ряд механизмов, в том числе растворение токсичного элемента в тканях, связанное с Р питанием и ростом, изоляция токсичного металла в грибных структурах и развитие устойчивости у гриба.

Водный обмен растений может изменяться различными способами при АМ симбиозе. АМ и НМ растения, выращенные в почве, обширно колонизированной АМ мицелием, часто имеют более высокую устьичную проводимость и засухоустойчивость. Значительно реже наблюдается влияние на гидравлические свойства корня. Механизмы выявить сложно, но показано и непосредственное влияние, и косвенные эффекты, связанные с изменением содержания питательных веществ и свойств почвы. Четкие свидетельства водного транспорта по грибным гифам отсутствуют, но его наличие вполне возможно.

.

Раздел 2

Эктомикоризы

6
Строение и формирование эктомикоризных корневых окончаний

Введение

Эктомикоризный (ЭМ) корень характеризуется наличием трех структурных компонентов: чехла из грибных гиф, окружающего корень, лабиринтовидно расположенных гиф, растущих внутрь между клетками ризодермы и коры — сети Гартига, и системы растущих наружу гифальных элементов (свободного или внешнего мицелия), которая соединяется как с почвой, так и с плодовыми телами грибов, образующих эктомикоризы.

Почти все растения, у которых развиваются эктомикоризы, представляют собой многолетние древесные формы. Анатомические черты строения чехла и отходящего от него наружу мицелия стабильны, по крайней мере, на уровне рода, и все шире используются для характеристики микориз (Agerer, 1987–2002; Ingleby et al., 1990; Goodman et al., 1998). Этот тип четко отличается от прочих микориз отсутствием внутриклеточных грибных структур. В случае проникновения в здоровые клетки корня ЭМ-образующего гриба из сети Гартига или из чехла такую структуру относят к эктэндомикоризам (см. ниже и гл. 7). Видовая принадлежность растения может оказывать влияние на исход симбиотического взаимодействия. Некоторые грибы, например, аскомицет *Wilcoxina mikolae*, регулярно образует эктэндомикоризы у молодых растений *Pinus* и *Larix* в почвах питомников, при этом образуя эктомикоризы у *Abies*, *Picea* и *Tsuga* (Mikola, 1988). Однако большинство ЭМ грибов способно образовывать внутриклеточные структуры в стареющих участках корневого окончания или при условии нарушения симбиотического баланса. При таких обстоятельствах гриб начинает вести себя как слабый патоген. Многие виды грибов, которые образуют типичные эктомикоризы у представителей семейств Pinaceae и Fagaceae, наряду с сетью Гартига и чехлом формируют обильные внутриклеточные структуры у некоторых вересковых растений. Такой тип колонизации относят в отдельную группу арбутоидных микориз (см. гл. 7).

Несмотря на то, что эктомикоризу определяет наличие трех главных структурных элементов, по степени развития сети Гартига, чехла и свободного мицелия могут наблюдаться значительные различия. Более того, структуры, представленные неполным чехлом, как у некоторых представителей Asteraceae (Warcup, 1980), совсем без чехла, как у видов *Pinus* при колонизации *Tricholoma matsutake* (Ogawa, 1985; Yamada et al., 2006), или без сети Гартига, как в корневой системе *Pisonia grandis* (Ashford, Allaway, 1982), относят к эктомикоризам. Опасность столь сильного расширения этой категории заключается в том, что взаимосвязи между структурой и функцией, установленные на примере «типичных» форм, могут не под-

твердиться. Заслуживает внимания, что ни в одном из вышеупомянутых исследований не были приведены доказательства положительной ростовой ответной реакции на колонизацию. Из множества экспериментально созданных симбиозов *T. matsutake* с растениями только в одном случае (Guerin-Laguette et al., 2004) показана ростовая стимуляция проростка.

Филогенетические исследования, описанные ниже, уверенно предполагают, что ЭМ состояние независимо возникало неоднократно в течение значительного временного периода, когда сапротрофные грибы формировали симбиотические отношения с автотрофами. В таких условиях широкий спектр структурных и функциональных черт, наблюдаемый у ЭМ консорций, может отражать разные этапы эволюционного пути от сапротрофного к мутуалистическому образу жизни. Ввиду динамичной эволюции ЭМ состояния, а также разнообразия экологических ниш и сочетаний гриб-растение, выявление целого ряда структурных вариаций микориз не вызывает удивления. Тем не менее, важно не упускать из виду тот факт, что подавляющее большинство ассоциаций, определяемых как эктомикоризы, в общих чертах сходны по наличию чехла, сети Гартига и в той или иной степени развитого (иногда только в определенное время года) свободного мицелия, в то время как внутриклеточные структуры редки. Вероятно, этим консервативным чертам благоприятствовал отбор, так как они стали определенными функциональными атрибутами, позволяющими отличать этот тип микоризы от прочих.

Таксономические, эволюционные и географические аспекты эктомикоризных симбиозов

Растения, образующие эктомикоризы

В таблице 6.1 перечислены примеры семейств и родов растений, для которых показана ЭМ колонизация. Некоторые из них исключительно эктомикоризные, другие могут формировать также арбускулярные микоризы и, более того, этот симбиоз может являться типичным для таксона (см. гл. 1). Хотя доля ЭМ семенных растений относительно мала, вероятно, около 3% (Meyer, 1973), их глобальное значение очень велико из-за широкого распространения в наземных сообществах и экономической ценности как основных продуцентов древесины. Так, семейство Pinaceae, члены которого составляют основной компонент обширных бореальных лесов Северного полушария, семейство Fagaceae, доминанты или кодоминанты умеренных лесов в Северном и частично в Южном полушариях, а также тропических лесов Юго-Восточной Азии, представлены преимущественно ЭМ видами. Встречаемость и значение ЭМ деревьев во влажных тропиках долгое время недооценивались. Только в сем. Dipterocarpaceae, включающем более 500 видов, все представители часто образуют ЭМ (Alexander, Högberg, 1986; Taylor, Alexander, 2005) (см. гл. 1 и 15). Тропические цезальпиниевые бобовые часто также в типе ЭМ (Alexander, 1989a, b), большинство представителей трибы Amherstieae и некоторых родов, таких как *Afzelia, lntsia* и *Eperua* из трибы Detareae, образуют подобные симбиозы. Небольшие рощи, так же как и обширные монодоминантные леса, образованные представителями цезальпиниевых *Tetraberlinia, Microberlinia* и *Jubernaldia*, встречаются в дождевых тропиках Гвинео-Конголезского бассейна (Newbery et al., 1988) (см. гл. 15 и 16). Редколесья миомбо, образованные представителями ЭМ родов из цезальпиниевых *Brachystegia* и *Isoberlinia*, занимают обширные площади сухих саванн Восточной и Юго-Центральной Африки (Högberg, 1982; Högberg, Pearce, 1986; Alexander, Högberg, 1986; Alexander, 1989a; Taylor, Alexander, 2005).

В противоположность Caesalpinoideae, подсемейства Mimosoideae и Papilionoideae, за очень редкими, нуждающимися в подтверждении, исключениями, состоят из АМ видов. Имеются сведения об ЭМ колонизации у *Acacia* (Mimosoideae) (Warcup, 1985; McGee, 1986), хотя не происходит развития ни типичной сети Гартига, ни чехла. Опять же, так как виды этого рода чаще ассоциированы с АМ грибами, вряд ли его можно причислять к ЭМ.

Таблица 6.1. Роды растений, включающие, как минимум, один вид, для которого описана эктомикориза.

Семейство	Род	Семейство (подсемейство)	Род
Aceraceae	Д *Acer*	Hammamelidaceae	*Parrotia*
Betulaceae	Д *Alnus*	Juglandaceae	Д *Carya*
	Д *Betula*		Д *Juglans*
	Д *Carpinus*		*Pterocarya*
	Д *Corylus*	Fabaceae (Caesalpinoideae)	*Afzelia*
	Д *Ostrya*		*Aldina*
	Д *Ostryopsis*		*Anthonota*
Bignoniaceae	*Jacaranda*		*Bauhinia*
Caprifoliaceae	Д *Sambucus*		*Brachystegia*
Casuarinaceae	Д *Casuarina*		*Cassia*
	Д *Allocasuarina*		*Eperua*
Cistaceae	Д *Helianthemum*		*Gilbertiodendron*
	Д *Cistus*		*Julbernardia*
Compositae	Д *Lactuca* (Mycelis)*		*Monopetalanthus*
Cyperaceae	Д *Kobresia**		*Paramacrolobium*
Dipterocarpaceae	Д *Anisoptera*		*Swartzia*
	Д *Balanocarpus*	(Mimosoideae)	*Acacia*
	Д *Cotylelobium*	(Papilionoideae)	*Brachysema*
	Д *Dipterocarpus*		*Chorizema*
	Д *Dryobalanops*		*Daviesia*
	Д *Hopea*		*Dillwynia*
	Д *Monotes*		*Eutaxia*
	Д *Shorea*		Д *Gompholobium*
	Д *Valica*		Д *Hardenbergia*
Elaeagnaceae	*Shepherdia*		*Jacksonia*
Epacridaceae	*Astroloma*		*Kennedya*
Ericaceae	*Arbutus*		Д *Mirbelia*
	Arctostaphylos		Д *Oxylobium*
	Chimaphila		*Platylobium*
	Gaultheria		*Pultenaea*
	Kalmia		Д *Robinia*
	Ledum		Д *Vicia*
	Leucothoe		Д *Viminaria*
	Rhododendron	Myricaceae	*Comptonia*
	Vaccinium		*Myrica*

Таблица 6.1. (*окончание*)

Euphorbiaceae	*Poranthera*	Myrtaceae	Д *Angophora*
	Д *Uapaca*		Д *Callistemon*
Fagaceae	Д *Castanea*		Д *Campomanesia*
	Д *Castanopsis*		Д *Eucalyptus*
	Д *Fagus*		Д *Leptospermum*
	Д *Lithocarpus*		Д *Melaleuca*
	Д *Nothofagus*		Д *Tristania*
	Д *Pasania*	Nyctaginaceae	Д *Neea*
	Д *Quercus*		Д *Torrubia*
	Д *Trigonobalus*		Д *Pisonia*
Gentianaceae	*Bartonia*	Oleaceae	Д *Fraxinus*
Goodenaceae	*Brunonia**	Platanaceae	Д *Platanus*
	Д *Goodenia**	Polygalaceae	Д *Comeosperma*
Polygonaceae	*Coccoloba*	Sterculiaceae	Д *Lasiopetalum*
	*Polygonum**		*Thomasia*
Rhamnaceae	*Cryptandra*	Stylidiaceae	Д *Stylidium*
	Pomaderris	Thymeliaceae	Д *Pimelia*
	Rhamnus	Tiliaceae	Д *Tilia*
	Spyridium	Ulmaceae	Д *Ulmus*
	Trymalium		*Celtis*
Rosaceae	*Chaembatia*	Vitaceae	Д *Vitis*
	Cirocarpus	Cupressaceae	Д *Cupressus*
	Д *Crataegus*		Д *Juniperus*
	Д *Dryas*	Pinaceae	*Abies*
	Д *Malus*		*Cathaya*
	Д *Prunus*		Д *Cedrus*
	Д *Pyrus*		*Keteleeria*
	Д *Rosa*		*Larix*
	Д *Sorbus*		*Picea*
Salicaceae	Д *Populus*		*Pinus*
	Д *Salix*		*Pseudolarix*
Sapindaceae	*Allophylus*		*Pseudotsuga*
	Nephelium		*Tsuga*
Sapotaceae	*Glycoxylon*	Gnetaceae	*Gnetum*

Из Harley, Smith, 1983, с изменениями. Этот список не претендует на исчерпывающую полноту, но может иллюстрировать широту охвата семейств и родов покрытосеменных и голосеменных, у которых наблюдались эктомикоризы. Наличие эктомикоризных представителей в пределах рода не значит то, что все виды образуют эктомикоризы, или что эктомикоризная колонизация присутствует постоянно или даже является нормой для любого из видов рода.

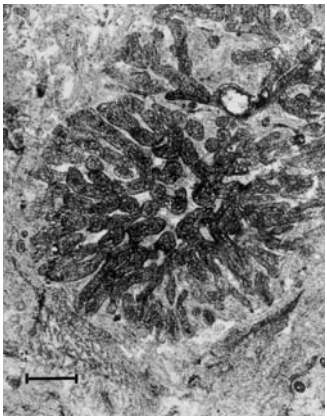
Условные обозначения: * — травянистые формы; Д — представители, способные к двойной колонизации: образованию и экто- и арбускулярной микоризы, причем последний тип симбиоза во многих случаях бывает более обычным.

ЭМ регулярно обнаруживают у некоторых родов кустарниковых растений и очень малого количества видов травянистых покрытосеменных. Среди них кустарники *Dryas* (Rosaceae) и *Helianthemum* (Cistaceae), имеющие большое экологическое значение. Из травянистых видов представитель двудольных *Polygonum viviparum* и вид из осоковых однодольных *Kobresia myosuroides* имеют типичные ЭМ короткие корни с чехлом и сетью Гартига. Ни одно из этих растений в норме не колонизируется АМ грибами.

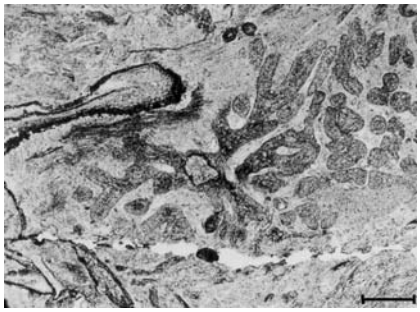
Еще одна группа древесных растений представляет значительный интерес, так как обладает факультативной способностью образовывать и АМ, и ЭМ. В эту группу входят представители семейства Myrtaceae (Lapeyrie, Chilvers, 1985; Jones et al., 1998) и Salicaceae (Lodge, Wentworth, 1990; van der Heijden, Vosatka, 1999; van der Heijden, 2000; van der Heijden, Kuyper, 2001a), а также некоторые диптерокарповые (см. гл. 1). При интенсивном изучении кустарника песчаных дюн *Salix repens* было установлено, что два типа колонизации встречались совместно у 16 различающихся по местообитанию форм, но ЭМ колонизация была всегда более обширной, чем АМ. В экспериментальных условиях проводили сравнение влияния ЭМ и АМ колонизации, и было показано, что выгода от симбиоза, выражающаяся в приросте биомассы надземной части, была в целом выше в первом случае, но даже слабая АМ колонизация была все же благоприятна для растения (van der Heijden, Kuyper, 2001a). К подобному выводу пришли также и исследователи, работавшие с сеянцами *Eucalyptus coccifera* (Jones et al., 1998) (см. гл. 8).

Небольшое количество имеющихся сведений об эволюционной истории ЭМ растений получено на основании палеонтологических свидетельств, информации о географическом и филогенетическом происхождении групп растений, образующих этот тип симбиоза, и датировок по молекулярным часам. Число палеонтологических находок очень невелико. Обнаруженные в чертах возраста пятьдесят миллионов лет хорошо сохранившиеся эктомикоризы, типичные для видов *Pinus*, явились первым бесспорным доказательством наличия этого типа симбиоза в ископаемой форме (Le Page et al., 1997). Маленькие корни, диаметром 3–5 мм каждый, несли коралловидные скопления оттянутых и утолщенных, дихотомически разветвленных веточек (рис. 6.1А, Б). На поперечных срезах между клетками коры были выявлены распространяющиеся до эндодермы грибные структуры, подобные сети Гартига (рис. 6.1В). Сохранились только следы чехла, а свободный мицелий был скудным и не имел пряжек. Среди грибных симбионтов существующих в настоящее время видов *Pinus* подобные коралловидные скопления и гифы без пряжек характерны для представителей *Rhizopogon*, образующих подземные плодовые тела и близкородственных *Suillus* (см. ниже). Если верно предположение о том, что ископаемые микоризы образованы *Rhizopogon* (Le Page et al., 1997), эти находки подтверждают точку зрения Дж. Трэппа (Trappe, 1987) о появлении базидиомицетов с подземными плодовыми телами более 50 млн. лет назад. Эти данные также согласуются с датировками по молекулярным часам (см. ниже) происхождения предковых по отношению к *Rhizopogon* форм с надземными плодовыми телами, совпадающими по срокам (около 130 млн. лет назад) с самыми ранними ископаемыми *Pinus* (Axelrod, 1986).

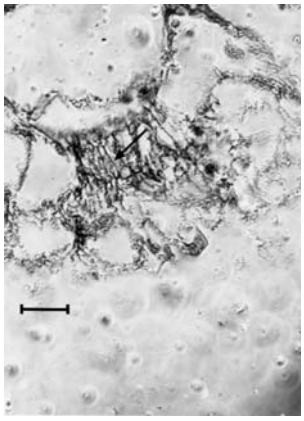
Палеонтологические свидетельства дополняет анализ возможного происхождения и расселения семейств цветковых растений, в настоящее время представленных почти исключительно ЭМ видами. Изучение одного из таких семейств, Dipterocarpaceae, оказалось особенно плодотворным. Происхождение диптерокарповых связано с Гондваной (Ashton, 1982). Хотя в настоящее время они преобладают в дождевых лесах Юго-Восточной Азии, эти растения встречаются в Южной Америке и на Мадагаскаре, где присутствует также родственное, имеющее общих с Dipterocarpaceae предков, ЭМ семейство Sarcolaenaceae (Ducousso et al., 2004). Соглас-



А



Б



В

Рисунок 6.1. Ископаемые эктомикоризы видов *Pinus* из чертов Принстона периода эоцен, Британская Колумбия. А — коралловидные скопления эктомикоризных корней. Масштаб 1 мм. Б — отдельные корневые окончания с дихотомическим ветвлением, характерным для микориз *Pinus*. Масштаб 1 мм. В — поперечный срез с грибными структурами, подобными сети Гартига (отмечено стрелкой), окружающими клетки корня и напоминающими лабиринтообразную структуру. Масштаб 20 мкм. Из Le Page et al., 1997, с разрешения.

но этим данным, появление эктомикориз у диптерокарповых клад Юго-Восточной Азии, вероятно, предшествовало отделению Индийского массива от Мадагаскаро-Восточноафриканского континента, произошедшего около 88 млн. лет назад. Так как реликтовые популяции единственного Южноамериканского рода диптерокарповых, *Pakaraimaea*, также ЭМ (Moyersoen, 2006), можно сходным образом заключить, что образование симбиоза предваряло разделение Южной Америки и Африки приблизительно 135 млн. лет назад. Те же рассуждения можно применить к почти исключительно ЭМ семейству Fagaceae, связанному в своем происхождении с Гондваной, включающему важные для лесных сообществ роды *Nothofagus* и *Quercus* в Южном и Северном полушарии соответственно. Представители Fagaceae также встречаются совместно с диптерокарповыми в Азии. Таким образом, характер распространения растений демонстрирует географические связи между двумя полушариями. Очень приблизительная датировка происхождения ЭМ растений, более 130 млн. лет назад, хорошо согласуется с данными, полученными по молеку-

лярным часам (см. ниже), и с предполагаемыми сроками возникновения базидиальных грибов, образующих большинство ЭМ симбиозов (Berbee, Taylor, 2001).

Однако происхождение ЭМ покрытосеменных оказывается очень близким по времени к возникновению этой группы растений в целом (Willis, McElwain, 2002). Хотя эти сроки существенно более ранние, чем самые древние ископаемые находки, напрямую связанные с ныне живущими ЭМ-образующими цветковыми растениями (см. ниже), они совпадают с возможными датировками появления принадлежащей к голосеменным линии Pinaceae. Как отмечено выше, сосны, для которых палеонтологические свидетельства подтверждают возникновение на Гондване, предположительно образовывали ЭМ с самого момента своего появления и, следовательно, могли служить «хранилищем» для линий грибов, способных к формированию этого типа симбиоза с ранними покрытосеменными.

Существует и альтернативное объяснение происхождения ЭМ у цветковых растений (Alexander, 2006). К примеру, возможно, что предки ЭМ диптерокарповых, буковые и бобовые, не были ЭМ до раскола Гондваны, но они принесли с собой генетическую предрасположенность к формированию симбиоза этого типа, проявившуюся позднее при обитании на отдельных континентах. Следующее предположение, которое может серьезно изменить дату происхождения ЭМ покрытосеменных около 135 млн. лет назад, заключается в том, что обособленное распространение видов, возникших предположительно на Гондване, связано с переносом пропагул через океан после того, как разделились материковые плиты Африканского и Американского континентов (Pennington et al., 2004). Эта точка зрения согласуется с датировками в молекулярной филогении, где для диптерокарповых, к примеру, установлено происхождение в период между 14 и 28 млн. лет назад, что явно исключает причастность дрейфа материков к их распространению (Wikström et al., 2001). Эти датировки оспариваются (Givnish, Renner, 2004), и очевидно, что неясность относительно возникновения ЭМ у важнейших растительных таксонов будет сохраняться до тех пор, пока продолжаются дебаты о роли тектоники и транспорта через океан в расселении растений.

Грибы, образующие эктомикоризы

Базидиальные грибы как эктомикоризообразователи

Несмотря на одинаковый план строения и четкий набор структурных особенностей, эктомикоризы характеризуются высоким разнообразием грибных симбионтов. Считается, что в их образовании принимает участие от 5000 до 6000 видов грибов (Molina et al., 1992). С тех пор, как начали применять более точные методы изучения грибных симбионтов, количество информации об их видовой принадлежности стремительно возрастает. Ранние наблюдения присутствия плодовых тел как показателя ЭМ статуса были в большой степени заменены морфологическим анализом микориз (напр., Agerer, 1987–2002) и затем молекулярными методами. Данные об ассоциации плодовых тел с растением дают основу для предположений о круге растений-хозяев и специфичности грибного партнера (табл. 6.2). Однако накапливается информация о структурном и функциональном разнообразии у ранее считавшихся ЭМ родов и видов грибов. Некоторые из подобных открытий будут обсуждены далее, основной акцент сделан на успехах, достигнутых при помощи молекулярных методов исследования. Большей частью они были применены непосредственно для изучения ЭМ корней, что устранило неясности, связанные с исследованием ассоциации плодовых тел с растениями. Так как подавляющее большинство ЭМ симбионтов относится к отделу Basidiomycota, обсуждение касается в

Таблица 6.2. Примеры эктомикоризных видов грибов со слабой специфичностью (широким кругом растений-хозяев) с указанием систематического положения и типа плодовых тел.

Тип плодовых тел, подотдел, семейство	Род	Виды
Надземные плодовые тела Basidiomycotina Amanitaceae	*Amanita*	*aspera, fulva, gemmata, inaurata, muscaria, pantherina, phalloides, rubescens, solitaria, spissa, strobiliformis, vaginata, verna, virosa*
Astraeaceae	*Astraeus*	*hygrometricus, pteridus*
Boletaceae	*Boletus*	*appendiculatus, calopus, edulis, erythropus, luridus, minatioolivaceus, pulverulentus, regius*
	Gyroporus	*castaneus, cyanescens*
	Phylloporus	*rhodoxanthus*
	Pulveroboletus	*ravenelii*
	Tylopilus	*chromapes, felleus, gracilis, porphyrosporus*
	Xerocomus	*armeniacus, badius, chrysenteron, rubellus, spadiceus, subtomentosus, truncatus*
Cantharellaceae	*Cantharellus*	*cibarius, infundibuliformis, tubiformis*
Clavariaceae	*Ramaria*	*aurea, botrytis, flava, formosa, mairei, subbotrytis*
Corticiaceae	*Byssocorticium*	*atrovirens*
	Byssoporia	*sublutea*
	Piloderma	*byssinium, croceum, sulphureum*
Cortinariaceae	*Cortinarius*	*acutus, anomalus, bicolor, bivelus everneus, hemitrichus, leucophanes, mucosus, multiformis, obtusus, phrygianus, saniosus*
	Dermocybe	*anthracina, cinnamomea, malicoria, palustris, phoenicea*
	Hebeloma	*crustuliniforme, cylindrosporum, hiemale, longicaudum, mesophaeum, minus, pumilum, sinapizans*
	Inocybe	*asterospora, bongardii, brunnea, cincinnata, dulcamara, fastigata, jurana, lacera, lanuginella, petiginosa, terrigena, umbrina*
	Rozites	*caperata*
Hydnaceae	*Dentinum*	*repandum*
	Hydnellum	*velutinum*
	Hydnum	*imbricatum, rufescens, scabrosum*
Hygrophoraceae	*Hygrophorus*	*capreolarius, camarophyllus, chrysodon, discoideus, hypothejus, karstenii, marzulus, pudorinus*
Paxillaceae	*Paxillus*	*involutus*
Pisolithaceae	*Pisolithus*	*tinctorius*
Polyporaceae	*Albatrellus*	*cristatus*

Таблица 6.2. (*окончание*)

Russulaceae	*Lactarius*	*decipiens, fuliginosus, helvus, necator, piperatus, repraesentaneus, rufus, scrobiculatus, spinosulus, uvidus, vellereus, volemus*
	Russula	*aeruginea, albonigra, amoena, anthracina, cyanoxantha, densifolia, emetica, foetens, heterophylla, lutea, nigricans, ochroleuca, odorata, olivacea, paludosa, palumbina, parazurea, vesca, virescens, xerampelina*
Sclerodermataceae	*Scleroderma*	*bovista, cepa, citrinum, laeve, polyrhizum, verrucosum*
Strobilomyceataceae	*Boletellus*	*betula, chrysenteroides*
	Strobilomyces	*floccopus*
Thelephoraceae	*Thelephora*	*anthocephala*, a*trocitrin*a, *penicillata, terrestris*
Tricholomataceae	*Laccaria*	*amethystina, bicolor, laccata, montana, proxima*
	Tricholoma	*caligatum, columbetta, flavobrunneum, flavovirens, myomyces, saponaceum, sulphureum*
Подземные плодовые тела Ascomycotina Balsamiaceae	*Balsamia*	*magnata, platyspora, vulgaris*
Elaphomycetaceae	*Cenococcum*	*geophilum*
	Elaphomyces	*anthracinus, granulatus, muricatus, mutabilis, reticulatus, variegatus*
Geneaceae	*Genabea*	*cerebriformis*
	Genea	*gardneri, harknessii, intermedia*
Helvellaceae	*Hydnotrya*	*tulasnei*
Pezizaceae	*Pachyphloeus*	*citrinus, ligericus, melanoxanthus*
Terfeziaceae	*Choiromyces*	*alveolatus, venosus*
Tuberaceae	*Tuber*	*aestivum, borchii, brumale, californicum, excavatum, melanosporum, puberulum, rapaeodorum, rufum*
Basidiomycotina Cortinariaceae	*Hymenogaster*	*Hymenogaster bulliardii, calosporus, citrinus, decorus, lilacinus, luteus, olivaceus, populetorum, tener, vulgaris*
Hysterangiaceae	*Hysterangium*	*membranaceum*
Leucogastraceae	*Leucogaster*	*nudus*
Melanogastraceae	*Melanogaster*	*ambiguus, broomeianus, eurыspermus, intermedius, tuberiformis, variegatus*
Russulaceae	*Elasmomyces*	*mattirolianus*
	Zelleromyces	*stephensii*
Sclerodermataceae	*Scleroderma*	*hypogaeum*
Strobilomycetaceae	*Gautieria*	*graveolens, mexicana, otthii*
Zygomycotina Endogonaceae	*Endogone*	*lactiflua*

Из Molina et al., 1992, с изменениями.

основном этой группы грибов. Тем не менее, накапливаются данные и об участии в образовании ЭМ аскомицетов, что освещено далее.

В первых молекулярных исследованиях (Gardes et al., 1991b; Henrion et al., 1992; Gardes, Bruns, 1993; Karen et al., 1997) для определения грибного симбионта использовали метод анализа полиморфизма длины рестрикционных фрагментов (RFLP) в применении к участку внутреннего транскрибируемого спейсера (ITS) неизвестных микориз. Однако сравнение рестрикционных профилей, полученных в разных исследованиях, было сопряжено с трудностями из-за неточной оценки размера фрагмента и часто обнаруживаемой значительной внутривидовой изменчивости. Более высокая точность в оценке размера может быть достигнута путем мечения концевых фрагментов и определения их с помощью автоматического секвенатора. Это метод TRFLP, который также упрощает полученные профили и дает возможность анализа смеси ЭМ грибов. Метод TRFLP был применен для изучения ЭМ грибов в почве (Dickie et al., 2002; Koide et al., 2005), но он может приводить к артефактам при исследовании таких сложных сообществ (Avis et al., 2006). Рассматривали возможность использования специфичных ДНК зондов для отдельных таксонов или генотипов грибов (Marmeisse et al., 1992a; Bruns, Gardes, 1993), но это направление развивается медленно, и в крупных работах зонды не применяются до сих пор. Тем не менее, использование таких зондов очень перспективно при совмещении с технологиями микромаркеров, что иллюстрирует их применение для описания бактериального сообщества (Wilson et al., 2002).

В более поздних исследованиях основным инструментом стал непосредственный анализ последовательности ДНК (сиквенс). Путем выделения ДНК из гербарных образцов и культур известных видов грибов Т. Брунс с соавт. (Bruns et al., 1998) создали базу данных для последовательностей небольшого участка гена митохондриальной рРНК большой субъединицы 80 родов гименомицетов (Basidiomycota). Эта база данных включает многие наиболее широко распространенные ЭМ роды. Филогенетические исследования с использованием ядерной рРНК большой субъединицы в настоящее время позволили создать гораздо более обширный банк данных по ЭМ и сапротрофным базидиомицетам (Moncalvo et al., 2002). Накопление последовательностей ITS по данным филогенетических и экологических работ поспособствовало более точному выявлению многих групп ЭМ грибов. Обновляемый набор последовательностей ITS ЭМ грибов из гербариев содержит база данных UNITE (http://unite.ut.ee/) (Koljalg et al., 2005).

Работы по филогении дали возможность более точно установить, какие именно группы грибов образуют эктомикоризы, и в то же время предоставили ценные данные об эволюционных связях между ними. Проведенный Т. Брунсом с соавт. (Bruns et al., 1998) анализ (рис. 6.2) позволил выявить 18 четких групп ЭМ грибов среди гименомицетов. Характерной чертой топологии дерева является то, что для нескольких групп, в особенности Болетоидной (Группа 1), Сюиллоидной (Группа 6), Russulaceae (Группа 8), Thelephorales (Группа 10) и Amanitaceae (Группа 12) (каждая представлена в анализе широким и разнообразным кругом таксонов) длина ветвей внутри группы была очень малой сравнительно с другими ветвями дерева. Короткие ветви, появившиеся из-за того, что число нуклеотидных замен невелико, указывают как на близость родственных связей в пределах группы, так и на относительно недавнее эволюционное расхождение.

Также очевидно (см. рис. 6.2), что сапротрофные и ЭМ таксоны перемешаны между собой. К примеру, Boletales (Группа 2), дереворазрушающие виды из семейства Coniophoraceae (Группы 3 и 4) и Paxillaceae (Группа 3), по всей видимости, являются близкородственными по отношению к представителям болетоидной и сюиллоидной групп. Сходным образом при более подробном анализе того же самого дерева (Bruns et al., 1998) было выявлено, что базальная по отношению к Russula-

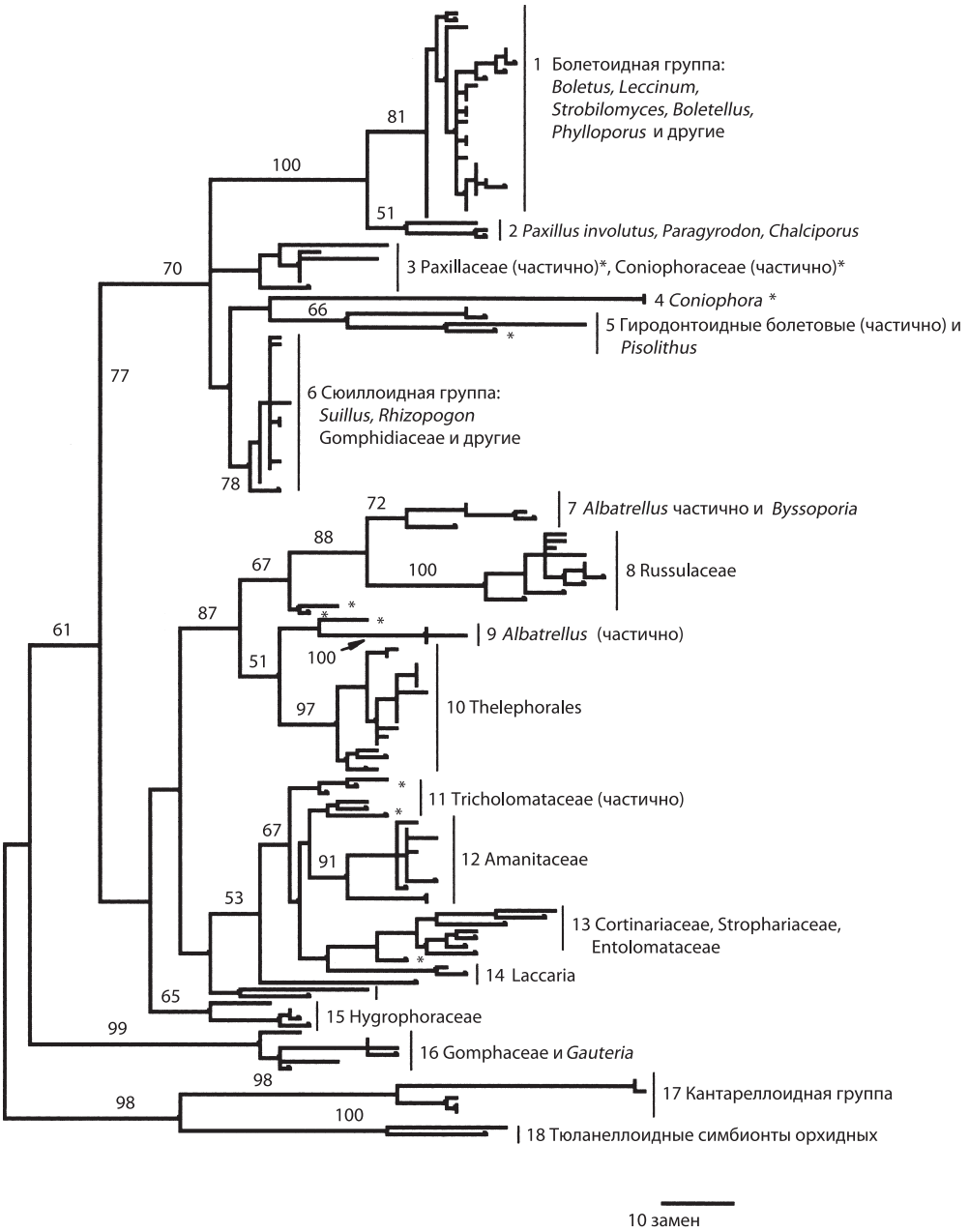
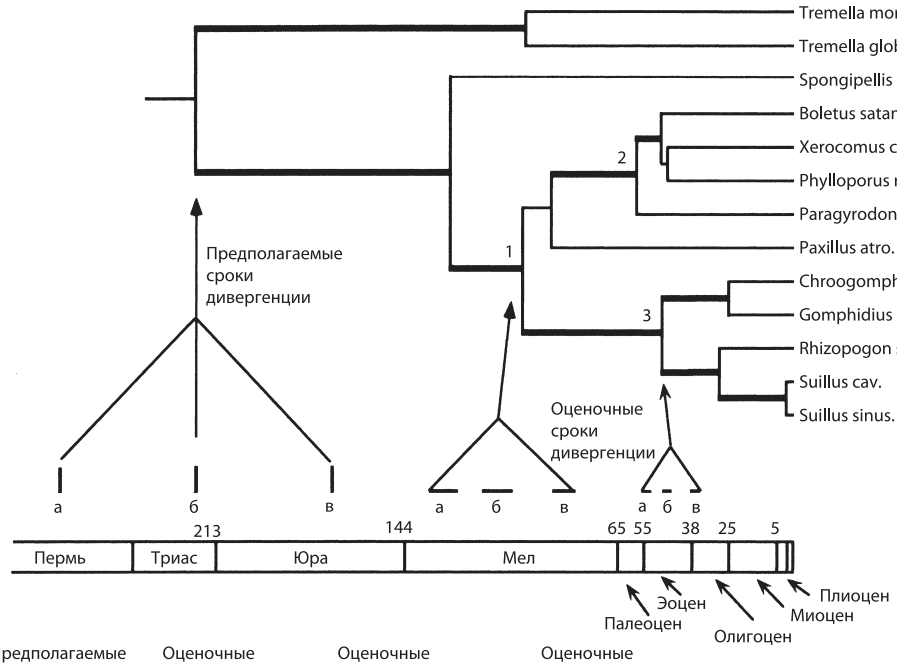


Рисунок 6.2. Дендрограмма, построенная методом ближайшего соседа, показывающая родственные отношения между некоторыми из наиболее важных групп ЭМ представителей отд. Basidiomycota. Дендрограмма основана на базе последовательностей, полученных при использовании небольшого участка гена митохондриальной рРНК большой субъединицы. Дерево построено с применением патристических дистанций, полученных в программе PAUP, отмечена поддержка ветвей свыше 50% по бутстрэп-повторностям. С изменениями из Bruns et al., 1998.



Предполагаемые сроки дивергенции Tremella spp.	Оценочные сроки расселения Boletales (1)	Оценочные сроки расселения болетоидной группы (2)	Оценочные сроки расселения сюиллоидной группы (3)
170	74–84	31–59	35–37
220	96–109	40–70	46–47
270	117–134	49–94	56–60

Рисунок 6.3. Оценочные сроки дивергенции Boletales (1), болетоидной группы (2) и сюиллоидной группы (3) на основе анализа методом максимального сходства последовательностей гена ядерной рРНК малой субъединицы. Для узла (*) предполагаемая оценка дивергенции 220 млн. лет назад, полученная М.Л. Берби и Дж.В. Тэйлором (Berbee, Taylor, 1993), отмечена (б). Оценочные сроки для Boletales и сюиллоидной группы приведены в графической форме, для всех трех линий – в виде таблицы. Разброс оценок получен с допущением интервала ±50 млн. лет назад (а и в) относительно датировки М.Л. Берби и Дж.В. Тэйлора и путем анализа 12 других топологий, несколько отличающихся от показанной. Для всех 12 деревьев внутренние ветви отмечены жирными линиями, их различия недостоверны по статистическим тестам Х. Кишино и М. Хасегавы (Kishino, Hasegawa, 1989). С изменениями из Bruns et al., 1998.

ceae и Thelephoraceae группа содержит три таксона дереворазрушающих грибов, в том числе практически значимый вид *Heterobasidion annosum*. Эти и прочие близкие родственные связи между ЭМ грибами и сапротрофами подтверждаются в нескольких более поздних исследованиях, основанных на добавлении других генов и расширении круга анализируемых таксонов (Hibbett, Donoghue, 1995; Binder, Hibbett, 2006; James et al., 2006). В совокупности эти примеры демонстрируют, что переключение с предположительно предкового сапротрофного образа жизни на симбиотический происходило конвергентно и независимо возникало несколько раз.

Данные филогенетических исследований Д. Хиббетта с соавт. (Hibbett et al., 2000) подтверждают, что ЭМ грибы неоднократно возникали от сапротрофных предков, но также предполагают существование множественных возвратов от ЭМ к свобод-

ноживущим формам. Это заключение было оспорено (Bruns, Shefferson, 2004) на основании того, что допущения, сделанные авторами (Hibbett et al., 2000), сомнительны или ошибочны. Только в случае одного вида, *Lentaria byssoides*, Т. Брунс и Р. Шефферсон безоговорочно признают доказательства возврата от ЭМ к сапротрофному образу жизни. И даже в этом случае, гриб, образуя плодовые тела на древесных субстратах, также формирует эктомикоризы. Впоследствии при более подробном изучении таксонов, близких к *Lentaria*, было подтверждено, что этот род базальный по отношению к предполагаемо ЭМ таксонам, произошедшим от него (Humpert et al., 2001). Существуют два аргумента в пользу того, что приобретение ЭМ статуса в ходе эволюции более вероятно, чем утрата (Bruns, Shefferson, 2004). Во-первых, имеются бесспорные свидетельства того, что приобретение ЭМ статуса часто происходило у грибов, как в случае базидиомицетов, у базальных клад сапротрофов. Не существует бесспорных свидетельств наличия немикоризного таксона внутри хорошо поддержанной клады ЭМ видов. Во-вторых, утрата морфологически сложного ЭМ статуса может легко произойти, но если это изменение окажется успешным, то оно должно будет сопровождаться восстановлением сапротрофных способностей. Конвергентной эволюции ЭМ образа жизни, которая, вероятно, происходила при расселении, могло способствовать наличие свободных местообитаний по мере расширения ареала потенциально ЭМ таксонов автотрофов.

При допущении, что ЭМ статус является приобретенным, большой интерес представляют возможные сроки дивергенции ЭМ грибов и их сапротрофных предков. Последовательность событий возможно восстановить по имеющейся, правда, до сих пор весьма скудной, информации об эволюции грибов в целом. На основании встречаемости АМ ископаемых и данных молекулярных часов появление отдела Glomeromycota датируют как, самое позднее, 450 млн. лет назад, и возможны гораздо более ранние сроки (см. гл. 1 и рис. 1.6). Время отделения агарикоидных и болетоидных от дрожалковых грибов (*Tremella* spp.) оценивается как 220 млн. лет назад (Berbee, Taylor, 1993). Принимая 220 (±50) млн. лет как предполагаемый срок дивергенции этих базальных групп, Т. Брунс с соавт. (Bruns et al., 1998) применили метод молекулярных часов для установления возможного времени появления пор. Boletales и последующего разделения двух четких ЭМ групп (болетоидной и сюиллоидной) (см. рис. 6.3). Предполагаемый срок возникновения Boletales — середина мелового периода, около 100 млн. лет назад. Тогда болетоидная группа появилась в раннем эоцене, 58 млн. лет назад, а сюиллоидная — в среднем эоцене, 45–50 млн. лет назад. Последняя датировка явно совпадает с оценками появления самых ранних известных ископаемых эктомикориз (Le Page et al., 1997) (см. рис. 6.1), которые, как упомянуто выше, считаются образованными сюиллоидными симбионтами. Эти датировки согласуются с мнением Т. Брунса с соавт. (Bruns et al., 1998) о том, что радиация этих групп произошла сравнительно недавно.

Ископаемые остатки растений предполагают, что распространение ранних ЭМ грибов совпадало по времени с расселением их автотрофных партнеров. Как отмечено выше, представители семейств Pinaceae, Dipterocarpaceae и Fagaceae почти наверняка появились на Гондване в меловом периоде (144–65 млн. лет назад) и впоследствии расселялись вместе со своими ЭМ грибными партнерами. Переход от эоцена к олигоцену (около 37 млн. лет назад) был периодом похолодания, во время которого леса умеренной зоны, где преобладали облигатно ЭМ древесные породы из семейств Fagaceae и Pinaceae, широко распространились в Северном полушарии (Tallis, 1991). Следовательно, в это время могло происходить особенно активное видообразование у грибов (Bruns et al., 1998).

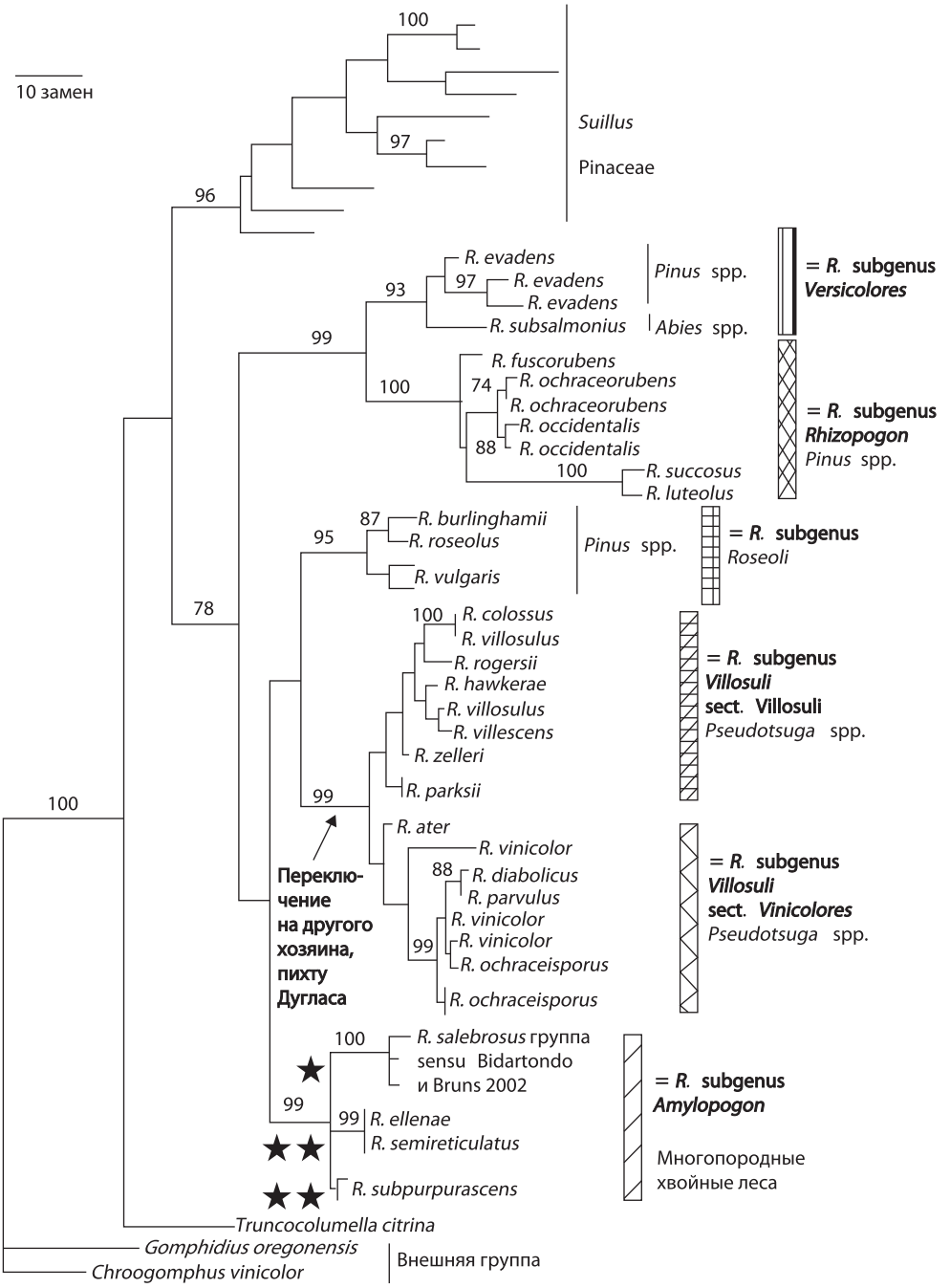
Выяснение филогении отдельных представителей эктомикоризных базидиомицетов

Помимо получения информации о возможной эволюции, молекулярные подходы также внесли вклад в изучение генома ЭМ базидиомицетов и в решение таксономических проблем, связанных с основными родами грибов. Здесь в качестве примеров приведены исследования полного генома *Laccaria bicolor* (Martin, 2007), анализ филогеографии видов рода *Pisolithus* (Martin et al., 2002), пересмотр филогении рода *Rhizopogon*, образующего подземные плодовые тела (Grubisha et al., 2002) (рис. 6.4), и филогенетический анализ рода *Sebacina*, ряд представителей которого, помимо образования ЭМ, участвуют в симбиозах с вересковыми (см. гл. 11), зелеными и микогетеротрофными орхидными (см. гл. 12 и 13) и печеночными мхами (см. гл. 14).

Впервые полная геномная последовательность ЭМ гриба была опубликована в июле 2006 г. (http://mycor.nancy.inra.fr/IMGC/LaccariaGenome/). Для анализа был выбран базидиомицет *Laccaria bicolor*, так как он является широко распространенным ЭМ симбионтом многих растений в природе и поддается культивированию в лабораторных условиях. Геном этого вида имеет размер 65 Мб, что гораздо больше значений, полученных для других исследованных базидиальных грибов. Удивительным открытием оказалось то, что функции 50% выявленных генов неизвестны. Организация генома *L. bicolor* значительно более сложная, чем у аскомицетов с расшифрованной последовательностью, таких как *Saccharomyces cereviseae*, но сходна с базидиомицетами *Cryptococcus neoformans* (Loftus et al., 2005) и дереворазрушающим видом *Phanerochaete chrysosporium* (Martinez et al., 2004). В целом было выявлено около 20000 генов, кодирующих белки, в том числе, протеазы, липазы, фитазы, и около 315 белков, принимающих участие в углеводном метаболизме. Среди них присутствуют глюканазы, целлюлазы и хитиназы, указывающие на разнообразную катаболическую активность, возможно, обеспечивающую разложение полимеров из органических горизонтов почвы и ограниченную способность к сапротрофии. Сравнение ЭМ генома с таковым у сапротрофных и паразитических грибов оказалось весьма плодотворным. Было выявлено, что увеличение размера генома *L. bicolor* сравнительно с сапротрофами C. *neoformans* и *P. chrysosporium* происходит в большей степени из-за генов, которые предположительно участвуют в сигнальной трансдукции и кодируют белки, важные для процесса колонизации и установления диалога между партнерами, ведущего к функциональному ЭМ симбиозу (Martin, 2007). Дальнейшее изучение подобных последовательностей у *L. bicolor* будет способствовать лучшему пониманию сходства и различия ЭМ и сапротрофного способов питания.

Распространенный по всему земному шару ЭМ род *Pisolithus*, к которому в прошлом относили единственный вид *P. tinctorius* (Cairney, 2002), теперь включает, по

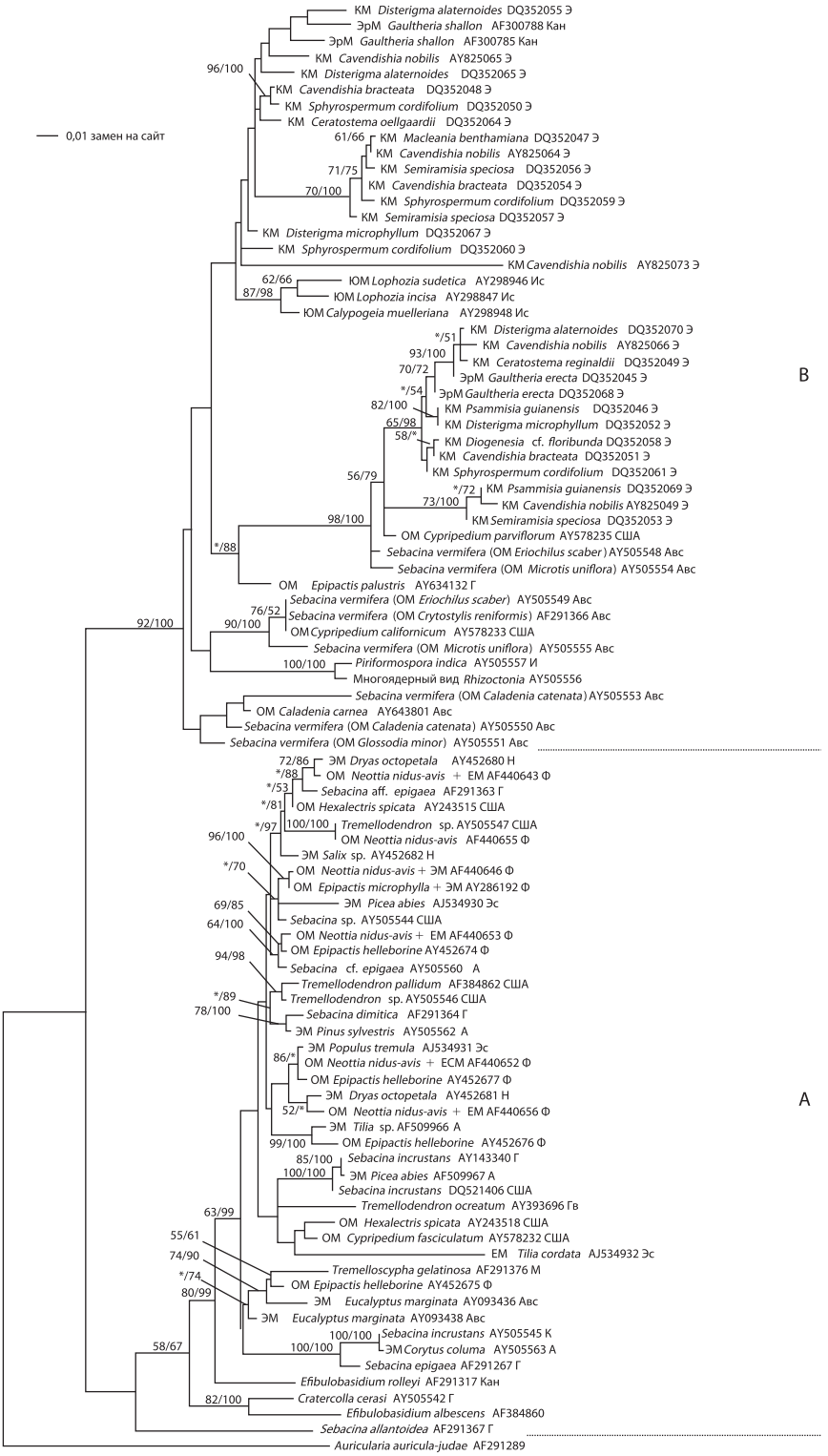
Рисунок 6.4. Филограмма (со значениями индекса бутстрэпа около соответствующих узлов), отражающая современные представления о родственных связях видов в секциях рода *Rhizopogon*. Отдельные секции ассоциированы либо с определенными видами сосен, либо с пихтой Дугласа, за исключением подрода *Amylopogon*, имеющего широкий круг хозяев. В подроде *Amylopogon*, вид *R. salebrosus* специфично связан с микогетеротрофом из подъельниковых *Pterospora andromedea* (отмечено звездочкой), а такие виды как *R. ellenae* и *R. subpurpurascens* (отмечено двумя звездочками) специфично ассоциированы с другим видом подъельниковых — *Sarcodes sanguinea* (см. гл. 13). Из Grubisha et al., 2002.


10 замен
100
97
96
Suillus
Pinaceae
R. evadens
97
R. evadens
R. evadens
93
R. subsalmonius
Pinus spp.
Abies spp.
= R. subgenus Versicolores
99
R. fuscorubens
100
74
R. ochraceorubens
R. ochraceorubens
R. occidentalis
R. occidentalis
88
100
R. succosus
R. luteolus
= R. subgenus Rhizopogon
Pinus spp.
87
R. burlinghamii
95
R. roseolus
R. vulgaris
Pinus spp.
= R. subgenus Roseoli
78
100
R. colossus
R. villosulus
R. rogersii
R. hawkerae
R. villosulus
R. villescens
R. zelleri
= R. subgenus Villosuli sect. Villosuli
Pseudotsuga spp.
100
99
R. parksii
R. ater
R. vinicolor
88
R. diabolicus
R. parvulus
R. vinicolor
99
R. vinicolor
R. ochraceisporus
R. ochraceisporus
= R. subgenus Villosuli sect. Vinicolores
Pseudotsuga spp.
Переключение на другого хозяина, пихту Дугласа
100
R. salebrosus группа sensu Bidartondo и Bruns 2002
99
99
R. ellenae
R. semireticulatus
R. subpurpurascens
= R. subgenus Amylopogon
Многопородные хвойные леса
Truncocolumella citrina
Gomphidius oregonensis
Chroogomphus vinicolor
Внешняя группа

меньшей мере, 11 видов. Было проведено секвенирование ITS участка рДНК у 102 образцов этого гриба, собранных по всему миру, и проанализировано еще 48 последовательностей из Ген-банка (Martin et al., 2002). Для типового вида, *P. tinctorius*, было подтверждено широкое распространение в Голарктике, особенно в симбиозе с *Pinus* и *Quercus*. Возможно, в результате интродукции экзотических видов сосен, инокулированных этим видом гриба (см. гл. 17), *P. tinctorius* сейчас широко представлен и в других биогеографических регионах. Однако несколько других линий *Pisolithus*, в том числе, *P. aurantioscabrosus*, были обнаружены на небольших участках в симбиозе с эндемичными растениями, такими как *Afzelia* spp. в восточной Африке. *P. albus, P. marmoratus* и *P. microcarpus* ассоциированы с австралоазиатскими видами *Eucalyptus* и *Acacia*, но эти виды также встречаются по всем миру в соответствии с ареалами растений. Напротив, распространение еще двух видов ограничено Австралией. В ходе исследования было выявлено, что эволюционные линии в пределах *Pisolithus* соотносятся с биогеографическим происхождением их хозяев. Это предполагает возможность обнаружения большого количества еще не выявленных эндемичных видов *Pisolithus*, ассоциированных с автотрофными партнерами-эндемиками.

Род *Rhizopogon*, принадлежащий к порядку Boletales, один из крупнейших среди базидиомицетов с подземными плодовыми телами, содержит свыше 100 видов. Они распространены по всему земному шару и образуют ЭМ почти исключительно с представителями семейства Pinaceae (см. приложение 6.1Д, Е), особенно, видами родов *Pinus* и *Pseudotsuga*. Несмотря на космополитный ранг, большинство видов обнаружено в лесах с преобладанием этих древесных пород на Тихоокеанском побережье США (Molina et al., 1999). Род *Rhizopogon* был разбит на четыре секции, *Amylopogon*, *Fulviglobae*, *Rhizopogon* и *Villosuli*, на основании морфологических признаков (Smith, Zeller, 1966). Последующий анализ методом максимальной парсимонии ITS последовательностей 27 видов *Rhizopogon* и 10 видов *Suillus*,

Рисунок 6.5. Филогенетические связи в порядке Sebacinales. Филограмма получена путем эвристического анализа по методу максимального сходства из выравнивания последовательностей ядерной ДНК, кодирующих D1–D2 участок большой рибосомальной субъединицы (nucLSU), с применением модели обратимого во времени замещения нуклеотидов и допущением доли стабильных сайтов. В остальных сайтах скорость замен имеет гамма-распределение. Поддержка ветвей приведена как значение непараметрического бутстрэп-анализа максимального сходства/апостериорная вероятность, вычисленная по алгоритму цепей Маркова («Bayesian Markov chain Monte Carlo»). Поддержка ниже 50% опущена или отмечена звездочкой. Внешняя группа представлена *Auricularia auriculae-judae*. Две основные подгруппы обозначены как A и B. Эктомикоризные представители известны только в группе A, в то время как виды Sebacinales из тканей вересковых, кавендишиевых или юнгерманниевых относятся к группе B. Некоторые представители Sebacinales из орхидных микориз, принадлежащие к группе A, могут формировать тройственные ассоциации, включающие эктомикоризы. Виды Sebacinales, образующие плодовые тела, включены в группу A; все известные телеоморфы из группы B относятся к комплексу *S. vermifera*. Сокращения названий типов микориз: КМ — кавендишиевая микориза; ОМ, орхидная микориза; ЭрМ — эрикоидная микориза; ЭМ — эктомикориза; ЮМ — юнгерманниоидная микориза (*sensu* Kottke et al., 2003). Сокращения названий мест происхождения последовательностей: Авс — Австралия; А — Австрия; Гв — Гвинея; Г — Германия; И — Индия; Ис — Испания; Кан — Канада; К — Китай; М — Мексика; Н — Норвегия;. Ф — Франция; Э — Эквадор; Эс — Эстония. Из Weiss et al., 2004, см. также гл. 11, 12 и 14.


0,01 замен на сайт
КМ Disterigma alaternoides DQ352055 Э
ЭрМ Gaultheria shallon AF300788 Кан
ЭрМ Gaultheria shallon AF300785 Кан
КМ Cavendishia nobilis AY825065 Э
КМ Disterigma alaternoides DQ352065 Э
КМ Cavendishia bracteata DQ352048 Э
КМ Sphyrospermum cordifolium DQ352050 Э
КМ Ceratostema oellgaardii DQ352064 Э
КМ Macleania benthamiana DQ352047 Э
КМ Cavendishia nobilis AY825064 Э
КМ Semiramisia speciosa DQ352056 Э
КМ Cavendishia bracteata DQ352054 Э
КМ Sphyrospermum cordifolium DQ352059 Э
КМ Semiramisia speciosa DQ352057 Э
КМ Disterigma microphyllum DQ352067 Э
КМ Sphyrospermum cordifolium DQ352060 Э
КМ Cavendishia nobilis AY825073 Э
ЮМ Lophozia sudetica AY298946 Ис
ЮМ Lophozia incisa AY298847 Ис
ЮМ Calypogeia muelleriana AY298948 Ис
КМ Disterigma alaternoides DQ352070 Э
КМ Cavendishia nobilis AY825066 Э
КМ Ceratostema reginaldii DQ352049 Э
ЭрМ Gaultheria erecta DQ352045 Э
ЭрМ Gaultheria erecta DQ352068 Э
КМ Psammisia guianensis DQ352046 Э
КМ Disterigma microphyllum DQ352052 Э
КМ Diogenesia cf. floribunda DQ352058 Э
КМ Cavendishia bracteata DQ352051 Э
КМ Sphyrospermum cordifolium DQ352061 Э
КМ Psammisia guianensis DQ352069 Э
КМ Cavendishia nobilis AY825049 Э
КМ Semiramisia speciosa DQ352053 Э
ОМ Cypripedium parviflorum AY578235 США
Sebacina vermifera (ОМ Eriochilus scaber) AY505548 Авс
Sebacina vermifera (ОМ Microtis uniflora) AY505554 Авс
ОМ Epipactis palustris AY634132 Г
Sebacina vermifera (ОМ Eriochilus scaber) AY505549 Авс
Sebacina vermifera (ОМ Crytostylis reniformis) AF291366 Авс
ОМ Cypripedium californicum AY578233 США
Sebacina vermifera (ОМ Microtis uniflora) AY505555 Авс
Piriformospora indica AY505557 И
Многоядерный вид Rhizoctonia AY505556
Sebacina vermifera (ОМ Caladenia catenata) AY505553 Авс
ОМ Caladenia carnea AY643801 Авс
Sebacina vermifera (ОМ Caladenia catenata) AY505550 Авс
Sebacina vermifera (ОМ Glossodia minor) AY505551 Авс
ЭМ Dryas octopetala AY452680 Н
ОМ Neottia nidus-avis + EM AF440643 Ф
Sebacina aff. epigaea AF291363 Г
ОМ Hexalectris spicata AY243515 США
Tremellodendron sp. AY505547 США
ОМ Neottia nidus-avis AF440655 Ф
ЭМ Salix sp. AY452682 Н
ОМ Neottia nidus-avis + ЭМ AF440646 Ф
ОМ Epipactis microphylla + ЭМ AY286192 Ф
ЭМ Picea abies AJ534930 Эс
Sebacina sp. AY505544 США
ОМ Neottia nidus-avis + EM AF440653 Ф
ОМ Epipactis helleborine AY452674 Ф
Sebacina cf. epigaea AY505560 А
Tremellodendron pallidum AF384862 США
Tremellodendron sp. AY505546 США
Sebacina dimitica AF291364 Г
ЭМ Pinus sylvestris AY505562 А
ЭМ Populus tremula AJ534931 Эс
ОМ Neottia nidus-avis + ECM AF440652 Ф
ОМ Epipactis helleborine AY452677 Ф
ЭМ Dryas octopetala AY452681 Н
ОМ Neottia nidus-avis + EM AF440656 Ф
ЭМ Tilia sp. AF509966 А
ОМ Epipactis helleborine AY452676 Ф
Sebacina incrustans AY143340 Г
ЭМ Picea abies AF509967 А
Sebacina incrustans DQ521406 США
Tremellodendron ocreatum AY393696 Гв
ОМ Hexalectris spicata AY243518 США
ОМ Cypripedium fasciculatum AY578232 США
EM Tilia cordata AJ534932 Эс
Tremelloscypha gelatinosa AF291376 М
ОМ Epipactis helleborine AY452675 Ф
ЭМ Eucalyptus marginata AY093436 Авс
ЭМ Eucalyptus marginata AY093438 Авс
Sebacina incrustans AY505545 К
ЭМ Corytus columa AY505563 А
Sebacina epigaea AF291267 Г
Efibulobasidium rolleyi AF291317 Кан
Cratercolla cerasi AY505542 Г
Efibulobasidium albescens AF384860
Sebacina allantoidea AF291367 Г
Auricularia auricula-judae AF291289
B
A

примененный для выявления филогенетических взаимоотношений, впервые показал, что секция *Rhizopogon* не является монофилетической. В ходе анализа (см. рис. 6.4) было выявлено шесть секций, подроды *Versicolores* и *Roseoli* оказались четко отделены от *Rhizopogon* (Grubisha et al., 2002). Выяснение таксономических связей внутри рода очень важно не только из-за часто встречающейся высокой специфичности симбиозов с представителями Pinaceae, но и в связи с тем, что некоторые виды вступают в очень специализированные отношения с микогетеротрофными растениями из семейства Monotropaceae (см. гл. 13).

Кроме расширения знаний о взаимосвязях между видами грибов, давно признанных как симбионты ЭМ, с помощью методов, основанных на изучении ДНК, было выявлено наличие большое количество таксонов, ранее не отмеченных в качестве эктомикоризных. Среди таковых можно выделить порядок Sebacinales, принадлежащий к гетеробазидиомицетам (Weiss et al., 2004), и целый ряд гомобазидиомицетов с резупинатными плодовыми телами, среди которых особенно выделяются роды *Tomentella* и *Tomentellopsis* (Koljalg et al., 2000). В настоящее время известно, что представители Sebacinales образуют эктомикоризы (см. приложение 6.1Г) у широкого круга растений-хозяев по всему миру (Glen et al., 2002; Selosse et al., 2002a; Tedersoo et al., 2003; Urban et al., 2003). Также они являются симбионтами в некоторых микоризах орхидных (McKendrick et al., 2002; Selosse et al., 2002a; Taylor et al., 2003; см. гл. 12), недавно описанных ассоциациях печеночных мхов (Kottke et al., 2003; см. гл. 14) и эрикоидных микоризах (ЭрМ) (Allen et al., 2003; см. гл. 11). Функции видов *Sebacina* при ассоциации с талломами печеночных мхов и корнями вересковых еще не выяснены. Порядок Sebacinales занимает базальную позицию среди базидиомицетов и близко родственен видам *Geastrum*. Существует гипотеза (Taylor et al., 2003; Weiss et al., 2004), что общим предком для клады *Geastrum*/Sebacinales или даже для всех гименомицетов был ЭМ таксон.

Определение филогенетических связей внутри Sebacinales (Weiss et al., 2004), основанное на алгоритме цепей Маркова (рис. 6.5), показало, что порядок не только разделяется на две подгруппы, А и В, но также и то, что эти группы весьма отдаленно родственны между собой. Группа А включает все последовательности, полученные из плодовых тел ЭМ форм и образующих микоризу с орхидными *Neottia*, *Epipactis* и *Hexalectris* (см. гл. 13). Эти грибы до сих пор не получены в чистой культуре. Напротив, некоторые представители подгруппы В, в прошлом известные под названием *Sebacina vermifera*, поддаются культивированию. Исходные изоляты были получены из корней зеленых орхидных (Warcup, Talbot, 1967; Warcup, 1988; см. гл. 12) и отнесены к роду *Rhizoctonia*. Группа В содержит три изолята из печеночных мхов, описанных И. Коттке с соавт. (Kottke et al., 2003), и формы, выявленные молекулярными методами в корнях вересковых (Allen et al., 2003; Selosse et al., 2007). Несмотря на то, что Дж. Уоркап (Warcup, 1988) синтезировал эктомикоризы миртовых с изолятами *S. vermifera*, не имеется никаких свидетельств об образовании этого типа микориз видами *Sebacina* из Группы В в природе. На основании филогенетического анализа было установлено, что Группа В представляет собой комплекс видов (Weiss et al., 2004). Штаммы, изначально определенные как *Sebacina vermifera* (Warcup, Talbot, 1967), позднее были перенесены в род *Serendipita* (Roberts, 1993) как вид *S. vermifera* (Roberts, 1999). Это было первой из многочисленных ревизий комплексного таксона *Sebacina*.

Эти открытия способствовали накоплению информации, касающейся ключевых особенностей симбиотического образа жизни в сравнении с сапротрофией или паразитизмом. Можно ожидать увеличения количества данных о филогении ЭМ грибов, связанных с биогеографической информацией и, следовательно, с биоразнообразием и функционированием экосистем.

Аскомицеты как эктомикоризообразователи

Применение молекулярных методов позволило выяснить филогенетическое положение аскомицетных грибов, которые предполагаемо образуют ЭМ. На основании анализа 18S рДНК был сделан вывод, что ЭМ состояние независимо возникало в отделе Ascomycota как минимум четыре раза; у локулоаскомицетов (*Cenococcum geophilum*), плектомицетов (*Elaphomyces*), дискомицетов (*Tuber*), а также в группе, содержащей *Phialophora* (syn *Cadophora*) *finlandia*, вида, входящего в комплекс *Hymenoscyphus* (см. гл. 7 и 11) (Lobuglio et al., 1996).

Давно известно, что некоторые из наиболее часто встречающихся ЭМ грибов принадлежат к аскомицетам. Наиболее ярким примером является *Cenococcum geophilum*, вид, имеющий очень широкое распространение и невероятно большое число автотрофных партнеров (Ferdinandsen, Winge, 1925; Mikola, 1948; Molina, Trappe, 1982). Он часто является доминантом в тех сообществах, где встречается (напр., Koide et al., 2005). По данным молекулярного анализа, *C. geophilum* относится к базальной линии, промежуточной между порядками Pleosporales и Dothidiales из локулоаскомицетов (Lobuglio et al., 1996; Lobuglio, Taylor, 2002). Широкое распространение этого вида и его способность к образованию чехла и сети Гартига указывают на то, что это ЭМ гриб, но пока еще очень мало известно о его функциях в растительных сообществах. Хотя продемонстрировано некоторое положительное влияние на состояние растения (напр., Marx, Zak, 1965; Kropp et al., 1985; Rousseau et al., 1994; см. табл. 10.5), многие данные свидетельствуют о нейтральном или ингибиторном эффекте колонизации (Mejstrik, Krause, 1973; Marx et al., 1978; Dixon et al., 1984; Dickie et al., 2002). Стоит отметить, что в конце своей обширной монографии об экофизиологии *C. geophilum*, П. Микола заключил, что «вопрос о полезности *Cenococcum*, как и других микоризных грибов, для растения на данный момент следует считать открытым» (Mikola, 1948). К настоящему времени ситуация не изменилась. Ввиду очень высокой встречаемости этого гриба в корневых системах растений необходимо выяснить природу его отношений с автотрофными партнерами и определить их положение в континууме мутуализм-паразитизм при различных условиях окружающей среды (см. гл. 4). Данные о засухоустойчивости *C. geophilum* (Coleman et al., 1989) вкупе с наблюдениями, что встречаемость этого вида возрастает в ЭМ сообществе при засушливых условиях (Worley, Hacskaylo, 1959; Pigott, 1982), предполагают, что этот гриб может вносить большой вклад в микофлору корней при глобальном потеплении.

Возможно, наиболее известными аскомицетными ЭМ грибами являются трюфели, представители рода *Tuber*, принадлежащие к порядку Pezizales из дискомицетов (Percudani et al., 1999). При исходном распространении в трех четко отграниченных областях, Европе, Юго-Восточной Азии и Северной Америке, некоторые виды рода, особенно имеющий высокую пищевую ценность черный трюфель (*T. melanosporum*), были интродуцированы и теперь встречаются по всему земному шару (см. гл. 17). Для рода *Tuber*, содержащего около 100 видов, показан широкий круг растений-хозяев, но они в основном приурочены к почвам с интервалом pH 7–8 (Pacioni, Comandini, 1999). Так как трюфели сложно выращивать в чистой культуре, данные об их функциях в симбиозе весьма ограниченны. Однако при исследованиях и в питомниках (Pirazzi, Di Gregario, 1987), и в полевых условиях (Hall et al., 1994) было показано увеличение размеров и массы растения в результате инокуляции. Антагонистическое действие мицелия *Tuber* в отношении вегетации травянистых растений, выражающееся в виде появления колец из сожженных мертвых растений вокруг колонизированных деревьев, так называемые «brulé» («гари»), может косвенно способствовать процветанию ЭМ растения за счет ослабления конкуренции за влагу и питательные вещества.

Несколько других представителей пор. Pezizales считаются образователями ЭМ (Maia et al., 1996). Среди них роды *Genea* (Jacuks et al., 1998), *Geopyxis* (Vralstad et al., 1998), *Humaria* (Ingleby et al., 1990), *Sphaerosporella* (Danielson, 1984) и *Wilcoxina* (Ursic, Peterson, 1997). Виды *Wilcoxina* более широко известны как симбионты эктэндомикориз (см. гл. 7). В структурном плане эктомикоризы, образованные этими грибами, характеризуются псевдопаренхиматическими чехлами с небольшим количеством мицелиальных соединений с почвой и отсутствием ризоморф. Р. Агерер (Agerer, 2001) относил этот мицелий к типу «поискового коротких дистанций» (см. рис. 6.25), отделяя от поисковых мицелиев средних и длинных дистанций, свойственных большинству базидиомицетных микориз. В результате молекулярных исследований корневых окончаний в лесах Северной Европы к списку предполагаемых симбионтов ЭМ недавно прибавились *Geopora, Trichophaea, Helvella, Pachyphloeus, Peziza* и *Sarcosphaera* (Tedersoo et al., 2006). Представители Pezizales составили 3–13% таксонов в четырех изученных сообществах и присутствовали на 4,5–6,1% корневых окончаний. Напротив, после пожара, когда, как хорошо известно, возрастает активность пезизальных грибных сообществ, не было обнаружено корневых окончаний, колонизированных этими грибами (Fujimura et al., 2005). Физиологические особенности некоторых ЭМ видов Pezizales были изучены в чистых культурах (El Abyad, Webster, 1968). По данным анализа функционального статуса широкого круга пезизальных грибов был сделан вывод, что он отображает весь континуум от паразитических до мутуалистических взаимоотношений (Egger, Paden, 1986). Необходима постановка большего количества экспериментов по ресинтезу микориз для подтверждения функционирования этих грибов как симбионтов ЭМ.

Специфичность эктомикоризных симбиозов

Так как почти все виды ЭМ растений ассоциированы с большим количеством отдаленно родственных видов грибов, можно полагать, что растительные партнеры обладают низким уровнем специфичности. Дж. Трэпп подсчитал, что на протяженности своего ареала единственный вид растения может вступать в симбиоз с тысячами видов грибов (Trappe, 1977). Таким образом, десятки ЭМ грибов могут быть обнаружены в корневой системе одного дерева или в небольших монопородных посадках (Bruns, 1995). Считается, что отсутствие специфичности у растений является преимуществом не только потому, что увеличивает вероятность встречи корней сеянца с подходящим партнером, но и также и ввиду того, что ассоциация с видами грибов, различными по физиологии, может обеспечить доступ к более широкому кругу пулов питательных веществ (Molina et al., 1992). Примеров высокоспецифичных растений немного, и среди них обычно упоминаются виды *Alnus*, вступающие в симбиоз только с видами *Alpova* (Molina, 1979; Miller et al., 1991; Molina et al., 1992). Но так как представители *Alpova* относятся к нескольким отдаленно родственным линиям, специфичность *Alnus* оказывается не такой уж высокой. Скорее, род растения ассоциирован с набором видов грибов, которые сами по себе специализированы к определенной древесной породе. Существует вероятность, что тропическое дерево *Pisonia grandis* эксклюзивно ассоциировано с грибами из семейства Thelephoraceae (Chambers et al., 1998), но для подтверждения этого необходимо более тщательное изучение.

Хотя многие грибные партнеры ЭМ симбиозов также не имеют специфичности, накапливаются данные о том, что у грибов уровень специализации выше, чем предполагалось ранее. Применение молекулярных методов для уточнения видо-

вой принадлежности грибов, образующих микоризы на индивидуальных корневых окончаниях, подтвердило, что хотя грибы-генералисты составляют большую часть (Horton, Bruns, 1998), существует ряд экологически значимых грибных таксонов, специфичных к определенному виду автотрофа, которые могут присутствовать на меньшем количестве корневых окончаний. Много внимания было уделено сюиллоидной группе, представляющей монофилетичную линию, включающую *Suillus*, *Rhizopogon*, *Truncocolumella*, *Gomphidius* и *Chroogomphus*, специализированных к представителям Pinaceae (Kretzer et al., 1996; Bruns et al., 1998; Kretzer, Bruns, 1999). Большинство сюиллоидных видов приурочено к единственному роду или группе видов растений из семейства Pinaceae, и отдельные клады в пределах *Suillus* и *Rhizopogon* часто демонстрируют узкую специализацию в отношении хозяина. Так, *Suillus pungens* встречается исключительно вместе с *Pinus muricata* и *P. radiata*, двумя североамериканскими видами, встречающимися в Калифорнии. Вид *S. pungens* активно образует плодовые тела, занимая только малую часть ЭМ корня (Gardes, Bruns, 1996; Bruns et al., 2002). Сходным образом, *Rhizopogon salebrosus* (=*R. subcaerulescens*) и *R. occidentalis* (=*R. ochraceorubens*) ограничены в своем распространении теми же сосновыми лесами, где, опять же, обильно образуют плодовые тела, составляя при этом очень малую долю биомассы ЭМ корней (Gardes, Bruns, 1996; Horton, Bruns, 1998; Stendell et al., 1999; Taylor, Bruns, 1999).

Возможные преимущества и недостатки специфичности сюиллоидной группы как для гриба, так и для растения, нуждаются в изучении. Р. Молина с соавт. (Molina et al., 1992) сделали предположение, что дополнительные преимущества для растения могут заключаться в снижении риска передачи органического С, направляемого к грибному партнеру, другим эктомикоризным растениям по общей мицелиальной сети (ОМС), т.е., так называемого факультативного эпипаразитизма (Bruns et al., 2002). Количественные показатели перемещения С между растениями разных видов по ОМС грибов-генералистов еще не были выяснены (см. гл. 8 и 16), но возможность функциональных различий между специализированными и неспециализированными грибными симбионтами представляется очевидной. Если избегание факультативного эпипаразитизма было фактором, направляющим отбор в сторону специфичности, то можно ожидать, что в сообществах, содержащих более одного вида, специализация будет преобладать. По этой причине сравнительный анализ специфичности в посадках с разной степенью перемешанности видового состава растений мог бы представлять большую ценность.

Еще один возможный вариант – то, что растения благоприятствуют специфичным грибным симбионтам, так как те имеют более низкие требования в отношении С. Снижение С затрат может происходить в случае, если грибы или производят меньшую репродуктивную или вегетативную биомассу, или питаются отчасти сапротрофно, имея собственный доступ к внешним источникам органического С. Однако для этих предположений существует не так много подтверждений. Специфичные грибы характеризуются интенсивным образованием плодовых тел при сравнительно малой степени колонизации (Gardes, Bruns, 1996), что предполагает скорее высокие, чем низкие требования в отношении С. В противоположность генералистам, таким как многие виды *Russula* (Agerer, 1995; Redecker et al., 2001), они образуют развитые и обширные мицелиальные системы (Bonello et al., 1998; Molina et al., 1999), требующие больших затрат С на свое образование и поддержание. Точка зрения, что в С баланс видов *Suillus* и *Rhizopogon* может вносить вклад сапротрофное питание, не поддерживается значениями изотопных подписей, которые сходны с таковыми у других ассоциированных с соснами ЭМ грибов и отличаются от подписей грибов-сапротрофов (Högberg et al., 1999). Остается возможность, что более эффективная эксплуатация лимитирующего рост ресурса, такого как N или P, обеспечивает большую отдачу на единицу вкладываемого растением С. На основании

того, что сюиллоидные представители *Suillus bovinus* и *Rhizopogon roseolus* обеспечивают растение доступом к органическим источникам N (гл. 9), их причисляют к категории «белковых грибов» (Abuzinadah, Read, 1986b). Для разъяснения этих вопросов нужны тщательные исследования относительной способности к мобилизации N у специфичных и неспецифичных ЭМ грибов, встречающихся в одних и тех же сообществах.

Давно известно, что пионерные древесные породы демонстрируют предпочтение к специфичным грибным симбионтам в большей степени, чем встречающиеся в лесных сообществах поздних стадий сукцессии (Kropp, Trappe, 1982). Р. Молина с соавт. (Molina et al., 1992) предположили, что подобная специфичность может повышать шансы раннего контакта с подходящим грибным партнером и усиливать развитие мицелия путем перераспределения С при отсутствии конкуренции.

Генетика эктомикоризных грибов

Межвидовая изменчивость ЭМ грибов в отношении структуры и функций образуемых ими микориз была выявлена уже давно. Однако в ходе исследований показано, что у некоторых из наиболее широко распространенных грибных симбионтов, как, например, *Pisolithus tinctorius* (Lamhamedi et al., 1990; Lamhamedi, Fortin, 1991; Burgess et al., 1995), *Laccaria bicolor* (Kropp et al., 1987; Wong et al., 1989; Wong, Fortin, 1990) и *Hebeloma cylindrosporum* (Debaud et al., 1986; Marmeisse et al., 1992b), уровень внутривидовой изменчивости может быть не ниже, чем межвидовой.

Большинство базидиомицетов гетероталличны, скрещивание находится под очень сложным генетическим контролем, и существует несколько тысяч типов спаривания, определяемых 1-4 мультиаллельными локусами (Aα, Aβ, Bα, Bβ) (Kües, Casselton, 1992; Casselton, Kües, 1994; Debaud et al., 1995). Стерильный монокариотичный мицелий образуется при прорастании базидиоспоры, появившейся в результате мейоза. У ЭМ базидиомицетов такие монокарионы в норме не способны формировать полностью развитые эктомикоризы (см. ниже), но после слияния двух монокариотичных мицелиев образуется дикарион, способный к образованию плодовых тел и микориз. Известны две системы спаривания. У биполярных форм, составляющих около 25% гетероталличных видов, совместимость между гомокарионами контролируется множественными аллелями единственного локуса, А. Оставшиеся 75% приходятся на тетраполярные виды, у которых имеются два самостоятельных локуса типа спаривания, А и В, также с множественными аллелями. В тетраполярных системах гомокарионы взаимно совместимы только в том случае, если они имеют различные аллели по обоим локусам типа спаривания. С ЭМ базидиомицетами работать намного труднее, чем с сапротрофами, на которых и было открыто существование этих генетических систем. Биполярный гетероталлизм был показан у трех видов *Suillus* (Fries, Neumann, 1990; Fries, Sun, 1992), в то время как *Hebeloma cylindrosporum* (Debaud et al., 1986) и *Pisolithus tinctorius* (Lamhamedi et al., 1990) принадлежали к тетраполярному типу. Скрещивание монокарионов *H. cylindrosporum*, полученных из потомства шести природных дикариотичных штаммов различного географического происхождения, показало наличие множественных аллелей в локусах типа спаривания А и В у этого вида (Debaud et al., 1986).

У рода *Laccaria* существует сложная система контроля скрещивания. Наиболее значимые ЭМ виды, *L. amethystea*, *L. bicolor*, *L. laccata* и *L. proxima*, тетраполярны (Fries, Mueller, 1984), причем все четыре типа спаривания редко обнаруживаются в потомстве дикариона. Р.Л. Дудрик с соавт. (Doudrick et al., 1990) показали наличие большого числа аллелей у *L. laccata* var. *moelleri*. Путем скрещивания изолятов

из разных регионов Северной Америки авторы подсчитали, что доля неродственного спаривания в системе 88%. Однако есть данные, что у *L. laccata* ограничивать скрещивание гомокарионов из морфологически сходных штаммов могут не только гены, определяющие тип спаривания. Так, были обнаружены две несовместимые внутривидовые группы на небольшом участке в Швеции (Fries, 1983), а в Северной Америке выявлены три подобные группы (Mueller, 1991), которые также были несовместимы с изолятами из первого исследования. У вида *L. bicolor* также показаны взаимно несовместимые группы (Kropp, Fortin, 1988; Doudrick, Anderson, 1989). Анализы такого рода демонстрируют некорректность нашего понимания «вида» как базовой единицы и подчеркивают необходимость характеристики и описания штаммов, используемых в экспериментальных исследованиях.

Внутривидовая генетическая изменчивость может выражаться на физиологическом уровне в виде различий в росте, образовании ферментов или ауксинов (Gay, Debaud, 1987), или в уровне ЭМ инфекционности или агрессивности (Wong, Fortin, 1990; Burgess et al., 1994). Был измерен уровень образования индолилуксусной кислоты (ИУК) разными видами *Hebeloma* и проведено сравнение природных штаммов, монокарионов, полученных из спор единственного плодового тела (монокарионы-сибсы), и дикарионов, синтезированных из монокарионов *Hebeloma cylindrosporum* (рис. 6.6) (Gay, Debaud, 1987). Внутривидовое варьирование по образованию ауксина было столь же высоким, как и межвидовое. Анализ различий в росте и продукции ферментов, таких как глутаматдегидрогеназа (Wagner et al., 1988), нитратредуктаза (Wagner et al., 1989) и кислая фосфатаза (Meysselle et al., 1991), выявил относительно высокую изменчивость (табл. 6.3). Подобные различия в экспрессии последнего фермента наблюдались в дикариотичном потомстве при контролируемом скрещивании *Laccaria laccata* (Kropp, 1990).

Было подсчитано, что до 36% потомства дикариона более активно в образовании ферментов, чем родители (Debaud et al., 1995), что представляет явный потенциал для селекции, направленной на улучшение мицелия. Проблема, возникающая при осуществлении таких программ, заключается в том, что фенотипические проявления сильно зависят от условий окружающей среды. Дж. Гэй с соавт. (Gay et al., 1993) измерили скорость роста 50 искусственно полученных дикарионов *Hebeloma cylindrosporum* при целом ряде широко используемых условий культивирования и показали, что проявление генетической изменчивости, выраженное в приросте биомассы, сильно зависело от наличия питательных веществ (табл. 6.4). Из подобных данных со всей очевидностью следует, что отдельный генотип, успешный при одних условиях, совершенно необязательно будет полезен при других обстоятельствах. Различия в скорости роста у ряда генотипов *H. cylindrosporum* были меньше, чем таковые в образовании ферментов, возможно, потому, что рост регулируется большим числом генов, чем активность единственного фермента. Диалоговая природа генной экспрессии при контроле роста приводит к образованию фенотипов, у которых продуктивность значительно ниже, чем можно прогнозировать, исходя из предварительного обследования потомства.

Некоторые важные данные о процессах генетического контроля ЭМ развития были получены при соединении потенциальных растений-хозяев с грибными штаммами известного генотипа. Была исследована способность 28 монокарионов-сибсов и 78 искусственно созданных дикариотичных штаммов *Pisolithus tinctorius* к микоризообразованию с *Pinus* (Lamhamedi et al., 1990). Несмотря на то, что у некоторых монокарионов имелась ограниченная способность к колонизации корней, полностью развитые микоризы и положительное влияние на рост растения были обнаружены только у дикарионов. Способность к образованию ризоморф также была присуща только дикариотичным штаммам (Lamhamedi, Fortin, 1991). Сильное влияние факторов окружающей среды на проявление генетического потенциа-

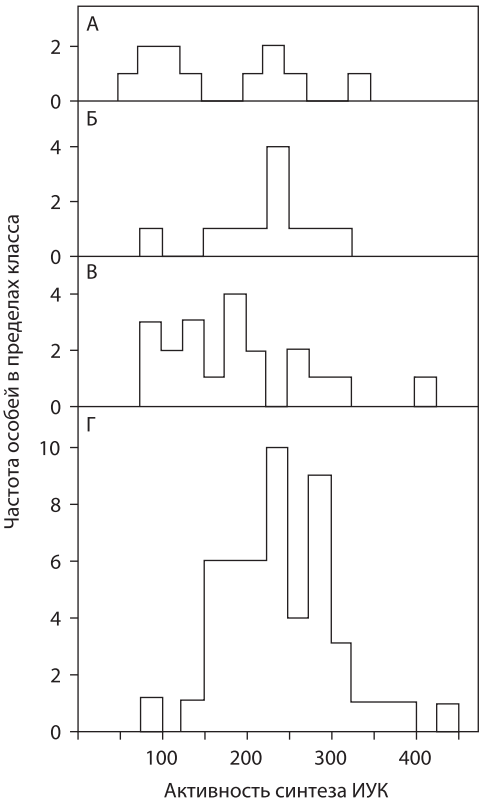


Рисунок 6.6. Специфичная активность синтеза ИУК у *Hebeloma*. А — различные виды *Hebeloma*; Б — различные природные штаммы *H. cylindrosporum*; В — монокарионы-сибсы, потомство дикариотического штамма НС1 *H. cylindrosporum*, Г — дикарионы, синтезированные путем всех возможных скрещиваний монокарионов. Специфичная активность выражена как нмоль ИУК-синтезирующего белка/мг/ч. Из Gay, Debaud, 1987, с разрешения.

ла было выявлено в ходе наблюдений, что образование ризоморф у определенного дикариотичного штамма было существенно более активным при росте в почве, чем на целлюлозных пластинах. Здесь представляет интерес возможное участие экспрессии генов гидрофобинов. Они были отмечены среди белков, связанных с симбиозом, в микоризах *Eucalyptus* (Martin, Tagu, 1995). Гидрофобины также участвуют в образовании гифальных агрегатов и плодовых тел дереворазрушающего гриба *Schizophyllum commune*, у которого некоторые гены экспрессируются только в дикарионе (см. Wessels, 1992).

Используя сестринские гомокариотичные культуры *Laccaria bicolor*, Б.Р. Кропп с соавт (Kropp et al., 1987) показали, что монокарионы способны образовывать эктомикоризы, как минимум, в лабораторных условиях. В то время как некоторые монокариотичные штаммы были в значительной степени микоризными, другие быстро утрачивали способность к колонизации корней *Pinus banksiana*, и в ряде случаев колонизация не происходила вообще. К. Вонг с соавт. (Wong et al., 1989), также используя штаммы *L. bicolor*, выявили, что один генотип может осуществлять только определенную стадию ЭМ развития, и в некоторых точках при процессах дифференциации происходит остановка. Некоторые штаммы не реагируют на присутствие корня, другие образуют только поверхностное сплетение гиф, в то время как третьи образуют сеть Гартига, но не образуют чехол. Также штаммы могут различаться по скорости развития этих структур и морфологии сети Гартига (Wong et al., 1990). Такие наблюдения предполагают, что каждый этап развития ЭМ находится под самостоятельным генетическим контролем, и окончательный результат зави-

Таблица 6.3. Внутривидовая вариабельность различных признаков эктомикоризного гриба *Hebeloma cylindrosporum*.

Признак	11 дикариотичных мицелиев дикого типа			20 монокарионов-сибсов		50 синтезированных дикарионов		Синтезированные дикарионы с более высокой активностью, чем у родительского дикариона HC1 (%)
	Размах варьирования	Среднее	Родительский дикарион HC1	Размах варьирования	Среднее	Размах варьирования	Среднее	
Рост в присутствии аммония (мг белка на культуру)	4,5–7,0	5,3	6,6	5,9–8,0	6,9	4,1–7,8	5,8	14
Активность ГДГ (нкат/мг белка)	1,5–11,6	7,78	9,14	0,19–9,0	2,8	4,0–19,8	8,5	36
Рост в присутствии нитрата (мг белка на культуру)	9,1–16,1	12,0	16,1	6,7–35,0	14,2	1,1–23,6	9,7	12
Нитратредуктазная активность (ммоль синтезированного NO_2/мг белка/ч)	201–700	345	397	51–510	211	72–689	344	28
Рост на среде, обедненной P (мг белка на культуру)	0,10–0,15	0,12	0,14	0,11–0,20	0,17	0,16–0,28	0,20	100
Активность кислой фосфатазы (нмоль гидролизованного р-нитрофенилфосфата/мг белка/мин)	49–676	238	676	85–791	352	186–756	454	8
Активность синтеза ИУК (нмоль ИУК/мг белка/ч)	85–321	22	279	108–561	220	94–437	241	30

Условные обозначения: ГДГ — глутаматдегидрогеназа; ИУК — индолил-3-уксусная кислота. Из Debaud et al., 1995.

Таблица 6.4. Оценка компонентов изменчивости, отмеченной у 50 синтезированных дикарионов, потомков штамма HC1 *Hebeloma cylindrosporum*.

Признак	Группа совместимости	Фенотипическая изменчивость	Модификационная изменчивость*	Генотипическая изменчивость	
				Интерактивная изменчивость*	Родительская изменчивость*
Рост в присутствии аммония (мг белка на культуру)	A1B2 X A2B1	100	22,6	33,4	44,0
	A1B1 X A2B2	100	15,5	51,5	32,9
Активность ГДГ (нкат/мг белка)	A1B2 X A2B1	100	14,1	42,7	43,0
	A1B1 X A2B2	100	6,0	40,0	53,9
Рост в присутствии нитрата (мг белка на культуру)	A1B2 X A2B1	100	6,9	79,0	14,1
	A1B1 X A2B2	100	8,3	7,2	19,5
Нитратредуктазная активность (нмоль синтезированного NO_2/ мг белка/ч)	A1B2 X A2B1	100	13,3	85,6	1,0
	A1B1 X A2B2	100	-	-	-
Активность синтеза ИУК (нмоль ИУК/мг белка/ч)	A1B2 X A2B1	100	14,3	43,3	42,4
	A1B1 X A2B2	100	57,8	26,7	15,3

Условные обозначения: ГДГ — глутаматдегидрогеназа; ИУК — индолил-3-уксусная кислота; * — значение выражено в процентах от фенотипической изменчивости. Данные взяты из Gay, Debaud, 1987; Wagner et al., 1988, 1989; Gay et al., 1993; Debaud et al., 1995.

сит от каскада генной экспрессии у обоих организмов. Различия между видами грибов по способности вызывать физиологические или морфогенетические проявления могут быть обусловлены генетической изменчивостью, определяемой в основном последовательностями ДНК ядерного генома. Применение различных вариантов может способствовать описанию колонизации как последовательности строго определенных шагов, которые, как резонно предположить, регулируются грибными генами. Ряд исследований (Wong et al., 1990; Burgess et al., 1994, 1995) послужил прекрасной отправной точкой для анализа образования микоризы у *Pinus* и *Eucalyptus* соответственно. В настоящее время происходит дальнейшее развитие представлений о контроле этих процессов, зависящее от выделения и клонирования генов, отвечающих за определенные этапы.

Образование эктомикоризы

Ранние этапы развития эктомикоризы, очевидно, зависят от типа инокулюма. Предполагается два возможных варианта. В природных условиях у взрослых деревьев короткие боковые корни первого, второго и последующих порядков, обладающие ограниченным ростом, образуются, обычно сезонно, на оси длинных корней неограниченного роста. Эти боковые корни могут быть колонизированы или из сети Гартига на длинных корнях, как в случае *Pinus* spp. (Robertson, 1954; Wilcox, 1968a, 1968b), или из внутренней части чехла расположенного рядом длинного корня, как у *Eucalyptus* (Massicotte et al., 1987b, c). В обоих случаях, колонизирующий гриб будет тем же самым, что и у родительского корня. Напротив, если боковой корень возникает из неколонизированной части длинного корня, или при прорастании семени, когда формируется новая корневая система, возникает возможность колонизации различными грибами из пропагул в почве. Тогда процессы образования ЭМ определяются такими факторами, как узнавание, совместимость и потенциал инокулюма. Разнообразие типов ЭМ и видов грибов, наблюдаемое в природе в корневой системе единственной особи растения, отражает пространственно-временную канву событий, определяющих процесс колонизации.

Столь сложные события до настоящего времени изучаются, в большинстве случаев, в упрощенных экспериментальных системах, в которых растения, обычно сеянцы, объединены с единственным видом грибного партнера в моноксеничных культурах. Путем последовательного анализа были выявлены некоторые ключевые моменты развития симбиоза, начиная от контакта партнеров и до процессов дифференциации.

Пресимбиотические события

Хорошо известно, что корни растений высвобождают в почву определенные соединения, и значение этих экссудатов, в первую очередь, как питательных веществ для популяций микроорганизмов, подтверждается увеличением их численности в ризосфере. Открытым остается вопрос, действие каких из целого ряда соединений, выявленных к настоящему времени, в достаточной мере специфично для того, чтобы способствовать коммуникации между потенциальными партнерами по симбиозу. Эти специфичные корневые экссудаты могут принимать участие в установлении ЭМ, что предполагают результаты экспериментов с использованием совместимых и несовместимых изолятов *Pisolithus tinctorius* и *Paxillus involutus* (Horan, Chilvers, 1990). Путем помещения проницаемой мембраны между растением и предполагае-

мым симбионтом, было показано, что гифы совместимых симбионтов, в отличие от несовместимых, привлекаются к мембране. Вероятно, что специфичные сигнальные молекулы присутствуют в концентрациях, намного меньших, чем те, которые обусловливают питательную ценность экссудатов. Существуют параллели с флавонольными соединениями, участвующими в сигнальных системах при взаимодействиях *Agrobacterium* и *Rhizobium* с растениями (см. Peters, Verma, 1990), и недавно открытыми стриголактонами, которые, как показано, сильно влияют на метаболизм АМ грибов в пресимбиотической фазе развития (см. гл. 3).

Продолжаются дебаты о химической природе подобных аттрактантов в ЭМ симбиозах. Известно, что гормоны, в том числе, цитокинины (Gogala, 1991) и индолил-3-уксусная кислота (ИУК) (Gay, Debaud, 1987), могут оказывать влияние на рост и ветвление гиф, но свидетельств специфичности их действия очень мало. Экссудаты растительных корней могут стимулировать прорастание спор ЭМ видов грибов (Fries, 1987; Ali, Jackson, 1988), но часто подобный эффект вызывают и корни несовместимых растений (Wong, Fortin, 1990). Известно, что вблизи корня растения-хозяина происходит изменение морфологии гиф, усиливается их рост и ветвление. В ЭМ эвкалипта были выявлены метаболиты растения, сильно изменяющие характер ветвления гиф, такие как флавонол рутин и цитокинин зеатин. Они были названы «факторами ветвления» (Lagrange et al., 2001). Усиление ветвления мицелия повышает вероятность контакта с корнем.

При действии зеатина на гриб *Pisolithus microcarpus* происходила стимуляция накопления метаболитов в гифах (Beguiristain et al., 1995). Один из них, гипафорин (производное триптофана), в больших количествах образуется грибом во время развития ЭМ (Beguiristain, Lapeyrie, 1997). Было сделано предположение, что антагонизм между эндогенной ИУК растения и гипафорином, секретируемым грибным партнером, принимает участие в регуляции формирования симбиоза (Ditengou et al., 2000; Ditengou, Lapeyrie, 2000; Jambois et al., 2005). В этих исследованиях вновь подчеркивается возможная роль ИУК в контроле над установлением ЭМ, проявляющаяся в образовании многорядной сети Гартига (рис. 6.7) (Gea et al., 1994; Tranvan et al., 2000).

Чтобы определить, могут ли регулируемые ауксином гены растения играть роль в образовании ЭМ, была исследована библиотека цДНК из обработанных ауксином корней *Pinus pinaster* и выделено несколько ауксин-индуцируемых цДНК клонов (Charvet-Candela et al., 2002a). Этот поиск привел к выявлению двух ауксин-индуцируемых генов *P. pinaster*, регуляция которых повышается при установлении ЭМ симбиоза (Charvet-Candela et al., 2002b; Reddy et al., 2003). Один из генов, *Ppiaa88*, кодирует предполагаемый фактор транскрипции, который может участвовать в запускании каскада молекулярных событий в корнях сосны, приводящих к формированию микориз.

Демонстрация того, что скорость и степень развития ЭМ может в некоторых случаях быть увеличена присутствием флуоресцентных псевдомонад, так называемых «бактерий-помощников микоризации» (см. гл. 16), указывает на возможность образования триггерных соединений не ЭМ грибами, а иными группами организмов (Garbaye, 1994).

Контакт между грибом и корнем – молекулярные события

Появление методов, при которых сеянцы совмещают с развитым мицелиальным инокулюмом и затем последовательно снимают результаты через определенное количество часов или дней после формирования эктомикоризы, предоставило воз-

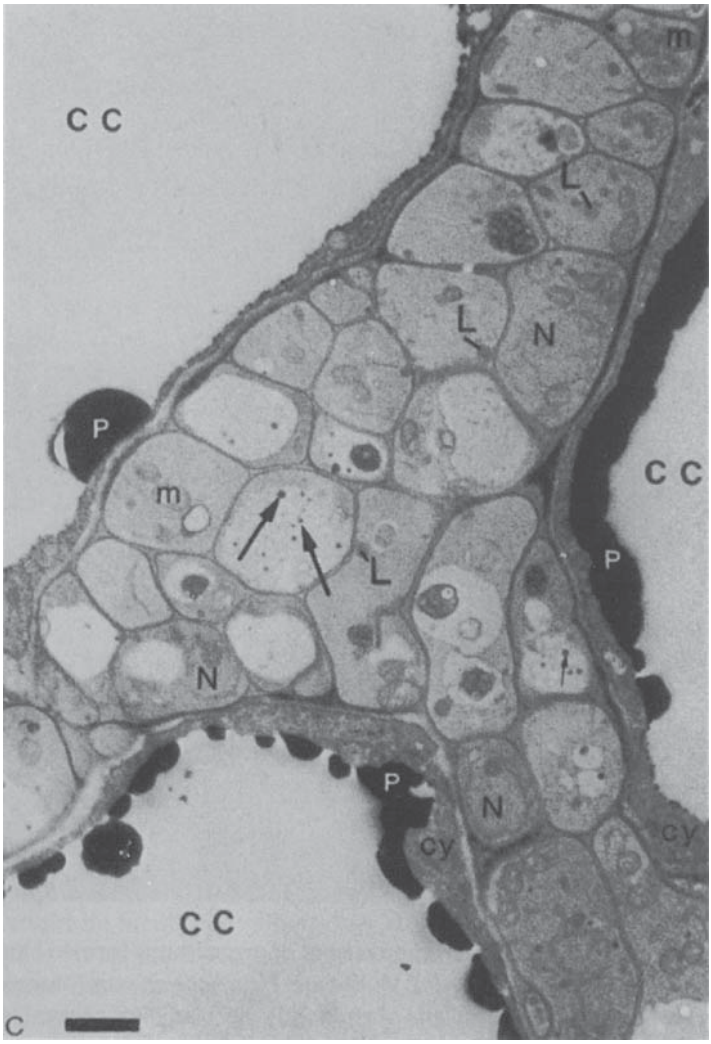


Рисунок 6.7. Обильное развитие многорядной сети Гартига в микоризе *Pinus pinaster* и мутанта *Hebeloma cylindrosporum* со сверхпродукцией ИУК (см. в тексте). CC — клетки коры. Масштаб 2 мкм. Из Gea et al., 1994, с разрешения.

можность изучить ответные реакции симбиотических партнеров на молекулярном уровне. В подобного рода исследованиях широко использовали симбиоз между *Eucalyptus* (*E. globulus* и *E. grandis*) и видами *Pisolithus*. При методе «бумажного сэндвича» (Horan et al., 1988) происходит синхронная колонизация боковых корней в течение ряда дней, а с помощью метода целлофановых пленок на агаре (Malajczuk et al., 1990) аналогичная последовательность событий может быть проведена на материнском корне за несколько часов (табл. 6.5).

Установление симбиоза должно находиться под контролем генов обоих партнеров, и изменение генной экспрессии, проявляющееся в виде изменений синтеза белков и количества мРНК, способствует выявлению событий, происходящих на внутриклеточном уровне. Дж.Л. Гилберт и Ф. Мартин (Hilbert, Martin, 1988) ор-

ганизовали культуру *Eucalyptus globulus – Pisolthus tinctorius* симбиоза методом «бумажного сэндвича» и использовали двунаправленный гель-электрофорез (2-D PAGE) для сравнения белковых профилей ЭМ корней, собранных через несколько недель развития, с неколонизированными корнями и свободноживущим мицелием. У сформированных микориз авторы наблюдали значительную понижающую регуляцию полипептидов, присутствующих у свободноживущих партнеров. Было обнаружено в общем 520 полипептидов, и только 10 из них были уникальны для симбиотического состояния. Эти связанные с симбиозом белки (SR в англоязычной литературе) были названы «эктомикоризины».

Таблица 6.5. Последовательность событий при образовании эктомикоризы у *Eucalyptus*, полученной методом целлофановых пленок на агаре (см. в тексте) (по Malajczuk et al., 1990).

Время	Стадия развития	Анатомические особенности
0–12 ч	Пресимбиотическая	Контакт гиф с корнем
12–24 ч	Инициация симбиоза	Прикрепление грибного симбионта к ризодерме
24–48 ч	Грибная колонизация	Появление инициальных слоев чехла
		Проникновение гиф между клетками ризодермы
48–96 ч	Дифференциация симбиоза	Быстрое нарастание гиф чехла
		Пролиферация сети Гартига
96 ч – 7 дн.	Функционирование симбиоза	Развитие чехла и плотное смыкание с клетками ризодермы
		Завершение роста сети Гартига

При изучении материнских корней сеянцев, выращенных при колонизации и без нее, было показано, что основные изменения в синтезе полипептидов происходят в течение нескольких часов после колонизации грибом (Hilbert et al., 1991). Исследователи отметили накопление семи эктомикоризинов на ранних стадиях установления ЭМ. В то же время выявлено отчетливое снижение количества нескольких растительных и грибных полипептидов, которое получило название «полипептидной чистки». Изучение характера встраивания меченного ^{35}S метионина в белок (Hilbert et al., 1991) показало, что, несмотря на обширную понижающую регуляцию полипептидов, происходящую в результате ингибирования синтеза, происходило интенсивное мечение эктомикориз. Это указывает на усиление биосинтеза симбиотических белков (SR) во время развития микоризы. Подобные изменения происходили только в случае, если корни колонизировали совместимые расы *Pisolithus tinctorius*.

Наиболее значительные изменения были связаны с группой грибных кислых полипептидов, количество которых увеличивалось по мере установления симбиоза в течение 4 дней после контакта (Hilbert et al., 1991). Наиболее ярко эффект был выражен в присутствии высокоагрессивного изолята, H2144, а также наблюдался у штамма средней агрессивности, H441. Полипептид гриба с сильной повышающей регуляцией, очевидно накапливающийся в грибных стенках микориз *Eucalyptus globulus – Pisolithus tinctorius*, как показано, состоит из изоформ кислого полипептида, накапливающегося на ранних стадиях колонизации (Martin, Tagu, 1995). Этот белок (32кД белок клеточной стенки, см. рис. 6.8А), впоследствии определенный как симбиотический кислый полипептид 32 (SRAP 32), как сейчас установлено, кодируется частью мультигенного семейства белков грибной клеточной стенки (Laurent et al., 1999). Это всего лишь одно из многих изменений в генной экспрессии, связанных с образованием микоризы у *E. globulus – Pisolithus*, которое

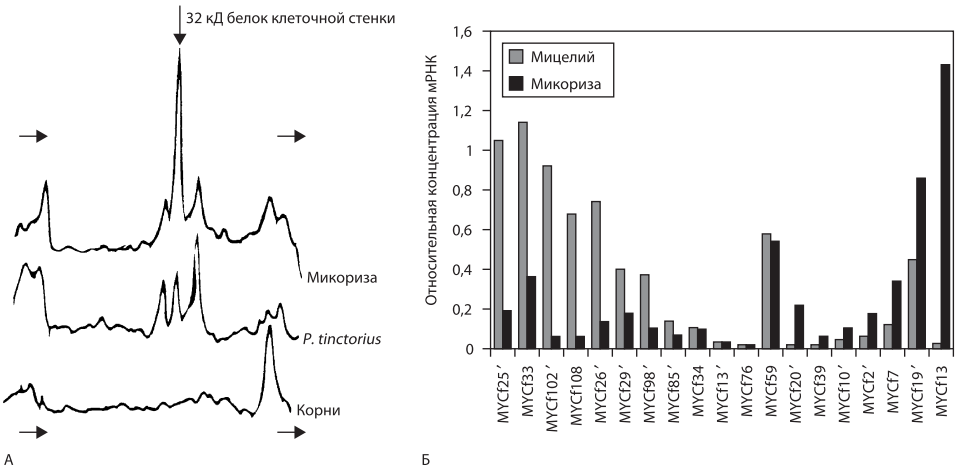


Рисунок 6.8. А — полипептиды клеточной стенки в эктомикоризах *Eucalyptus globulus* и *Pisolithus tinctorius* 441, неколонизированных корнях *Eucalyptus* и в чистой культуре *Pisolithus tinctorius* 441. Денситограммы однонаправленного электрофореза в SDS-полиакриламидном геле (1-D SDS-PAGE) белков клеточной стенки. Обратите внимание на увеличение накопления грибного компонента (32 кД белка клеточной стенки) в микоризах (отмечено стрелкой). Данные De Carvalho, Martin, неопубликованные. Из Martin, Tagu, 1995, с разрешения. Б — изменения генной экспрессии в период образования микоризы у *Eucalyptus globulus* и *Pisolithus tinctorius* 441. Из Tagu et al., 1993, с разрешения.

было продемонстрировано при сравнительном анализе мРНК, накапливающихся в свободноживущем мицелии грибного симбионта и образуемых им микоризах (рис. 6.8Б) (Tagu et al., 1993).

Еще одно семейство генов, выявленное и описанное у SR белков в ранний период молекулярных исследований, это гены гидрофобинов, среди которых HydPt-2 и HydPt-3 подвергались явной повышающей регуляции по мере развития симбиоза *Eucalyptus globulus – Pisolithus* (Tagu et al., 1996, 2001a, 2002). Имеющиеся данные о возможном значении этих молекул в процессах клеточного узнавания и водном обмене ЭМ растений обсуждаются ниже.

На примере другого вида *Eucalyptus*, *E. grandis* Т. Берджесс с соавт. (Burgess et al., 1993, 1994, 1995) изучали вопросы специфичности грибного партнера и возможные функции образования SR белка путем исследования влияния различных изолятов *Pisolithus tinctorius* на синтез белка в ЭМ корнях. Было использовано три изолята: высокой агрессивности, средней агрессивности и изолят, неспособный к образованию микориз с этим видом эвкалипта. Только во время колонизации самым агрессивным изолятом, который также усиливал рост тестируемых растений, была отмечена значительная повышающая регуляция биосинтеза грибного белка, происходившая в течение 4 дней с момента контакта с корнем. У растения наблюдалось заметное подавление синтеза полипептидов. В ходе ранних исследований также было выявлены изменения профилей полипептидов в микоризах, образуемых *Betula pendula* и *Paxillus involutus* (Simoneau et al., 1993), а также *Pinus resinosa* и *P. involutus* (Duchesne et al., 1989b). Однако SR-белки не были отмечены в симбиозе *Picea–Amanita* (Güttenberger, Hampp, 1992; Güttenberger, 1995), хотя происходили количественные изменения в содержании белков в тканях, сопровождающие образование ЭМ.

Прогрессу в изучении молекулярных событий, связанных с эктомикоризообразованием, способствовало применение технологии ДНК микрозондов. Профили транскрипции в настоящее время получены для целого ряда грибо-растительных симбиозов, и возможные функции многих экспрессирующихся SR генов постепенно выясняются. В первом исследовании (Voiblet et al., 2001) цДНК микрозонды были использованы для сравнения генной экспрессии у 4-дневных микориз *Eucalyptus–Pisolithus* и немикоризных сеянцев, а также гриба, полученного в чистой культуре. Были обнаружены существенные различия в уровне экспрессии 17% из 850 генов, присутствующих в зонде. Профили транскрипции, позднее полученные для ряда сочетаний растение–гриб, в том числе, *Tilia–Tuber* (Polidori et al., 2002), *Pinus–Laccaria* (Podila et al., 2002) и *Betula–Paxillus* (Johansson et al., 2004), подтверждают подобные изменения. В ходе дальнейшей работы было выявлено, что 10% из 2284 растительных и грибных генов в симбиозе регулировались иначе.

Применение профилей транскрипции для изучения грибо-растительных симбиозов с момента первого контакта между партнерами и до полного развития микоризы обеспечило дальнейший успех в исследованиях. В двух недавних работах, одной на примере модельной системы *Eucalyptus globulus – Pisolithus microcarpus* (Duplessis et al., 2005) и второй — на примере *Betula pendula – Paxillus involutus* (Le Quere et al., 2005), было получено описание общего характера генной экспрессии за период в 20–21 день. В каждом случае повышающая или понижающая регуляция определялась по отношению к уровню экспрессии в свободном мицелии соответствующего свободноживущего гриба или несимбиотического растения. Наблюдали пять отчетливых временных рисунков индукции или репрессии, связанных с разными группами генов, ответственных за ранние, средние или поздние этапы образования ЭМ (рис. 6.9) (Duplessis et al., 2005). На четвертый день среди генов с измененной экспрессией у *P. microcarpus* были отмечены кодирующие SR белки клеточной стенки (например, SRAP32) и гидрофобины (HydPt-2 и HydPt-3), предполагаемые маркеры связанных с симбиозом изменений клеточной стенки. Их количество заметно сократилось к седьмому дню (рис. I, рис. 6.9). Повышение экспрессии гидрофобина и транскриптов SRAP во время ранних стадий образования ЭМ также предполагает непосредственное участие соответствующих белков в морфогенетических событиях, связанных с адгезией на поверхности корня. Экспрессия некоторых грибных транскриптов, участвующих в первичном метаболизме, таких как гексокиназа, НАД-малатдегидрогеназа, аспартатаминотрансфераза и НАДН-дегидрогеназа, повышалась в период между 4-м и 7-м днем (рис. II, рис. 6.9), что подразумевает наличие на этом этапе С транспорта между растением и микобионтом. Увеличением С потока можно объяснить наблюдаемое повышение уровня экспрессии генов, связанных с гликолизом, ЦТК и дыханием. Некоторые клеточные функции индуцировались через 12 дней (рис. III, рис. 6.9). К ним относится синтез белка, митохондриальная активность и появление элементов сигнального пути. Транскрипты, принимающие участие в аминокислотном метаболизме, также наиболее активно экспрессировались именно на этой стадии. Рисунок IV (рис. 6.9) демонстрирует уменьшение числа функций, предполагаемо связанных в первую очередь с поддержанием мицелия в чистой культуре и понижающих регуляцию по мере развития симбиоза.

С 7-го по 12-й день наблюдались транскрипты, кодирующие различные гомологи белков, участвующих в защите и реакциях на стресс, таких как металлотионенин-подобные белки, белок, индуцируемый реакцией сверхчувствительности и белок, связанный с патогенезом (PR). Увеличение содержания этих соединений предполагает, что колонизированные клетки проявляют некоторые защитные реакции на начальных этапах внедрения гриба, но в совместимом симбиозе они снижаются к 21-му дню (рис. I, рис. 6.9). На этой стадии повышается регуляция транскриптов,

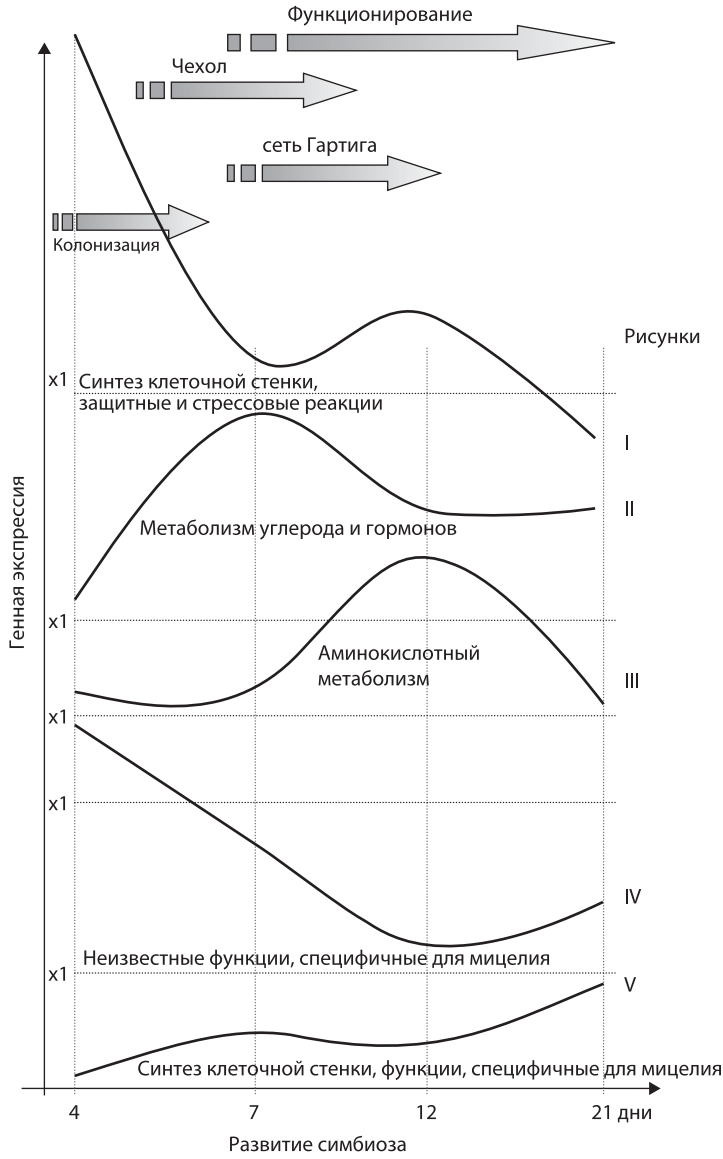


Рисунок 6.9. Схематическое изображение пяти основных рисунков экспрессии растительных и грибных генов при развитии микоризы *Eucalyptus–Pisolithus*, см. в тексте. Данные из Duplessis et al., 2005.

кодирующих белки, связанные с защитой, в растительных тканях. Гены, чья транскрипция меняется на средних и поздних этапах образования ЭМ, кодируют белки, отвечающие за аминокислотный и белковый синтез. Транскрипты, принимающие участие в синтезе белка, также подвергаются повышающей регуляции в растении через 12 дней после контакта. Они включают связанные с убиквитин/протеосомным путем, синтезом серинкарбоксипептидазы и начальными стадиями N и C метаболизма.

В ходе исследования системы *Betula–Paxillus* (Le Quere et al., 2005) было продемонстрировано удивительное сходство характера экспрессии с наблюдаемым в другой работе (Duplessis et al., 2005), несмотря на различия в видовой принадлежности обоих симбионтов. Вновь отмечено, что повышающая регуляция экспрессии генов, принимающих участие в С метаболизме гриба, совпадает по времени с образованием чехла и сети Гартига и инициацией защитной программы, сходной с описанными при взаимоотношениях растения с фитопатогенными грибами. В симбиозе *Betula* различия в экспрессии также показаны для нескольких генов, задействованных в водном балансе тканей. В их число входят аквапорины, влияющие на проницаемость мембран для воды, и дегидрины, участвующие в обеспечении устойчивости к водному стрессу (см. гл. 10).

Было проведено два анализа генной экспрессии на более зрелых стадиях образования микоризы, когда уже был полностью сформирован свободный мицелий (Morel et al., 2005; Wright et al., 2005). Такая ситуация ближе к имеющейся в природе, чем исследования более ранних этапов, когда колонизированный корень представляет собой изолированное местообитание. В обеих работах была использована система *Betula–Paxillus*. Хотя основной акцент в последнее время делался на возможном значении системы свободного мицелия ЭМ корней (Leake et al., 2004a), эти исследования были первыми, где функциональные аспекты изучались на молекулярном уровне в интактных системах. В сумме, они предоставили данные, демонстрирующие функциональные различия между этими морфологически отчетливыми компонентами симбиотической системы (см. также гл. 9).

В одном из исследований (Morel et al., 2005) было выявлено 65 генов с различающейся экспрессией в свободном мицелии и ЭМ корнях. Экспрессия генов, кодирующих транспортеры мочевины и спермина, повышалась в свободном мицелии в 4 и 6 раз, соответственно, в то время как в ЭМ корнях происходила 24-кратная повышающая регуляция предполагаемой фосфатидилсериндекарбоксилазы (Psd), которая может принимать участие в перестройке мембран при образовании ЭМ. Д.П. Райт с соавт. (Wright et al., 2005) получили общие сравнительные профили генной экспрессии ЭМ корневых окончаний, ризоморф и свободного мицелия *Paxillus involutus* при колонизации обогащенного аммонием органического субстрата. При статистическом анализе было выявлено, что 337 из 1075 грибных генов различно регулировались в трех перечисленных типах структур. Несмотря на то, что профили мицелия и ризоморф были сходны друг с другом, они явственно отличались от таковых в микоризных окончаниях. Были обнаружены кластеры генов, демонстрирующие различный характер экспрессии в определенных типах грибных структур. Как и в аналогичном исследовании (Morel et al., 2005), гены, предположительно принимающие участие в азотном цикле, особенно в метаболизме аминокислот и мочевины, сравнительно активно экспрессируются в мицелии и ризоморфах. Гены, участвующие в построении С скелета для ассимиляции аммония и в глиоксилатном цикле, также демонстрируют высокий уровень экспрессии в этих двух структурах. Гомолог гена тубулина, особенно активно экспрессирующийся в ризоморфах, представляет большой интерес, так как актин принимает участие в действии подвижной системы тубулярных вакуолей, которая может участвовать в транспорте на большие расстояния по эктомикоризным гифам (Ashford, Allaway, 2002; см. гл. 10). Среди генов, регуляция которых избирательно повышается в корневых окончаниях, отмечены те, которые задействованы в гликолизе/глюконеогенезе, метаболизме глицерина и синтезе аминосахаров.

События на уровне корневого окончания

Корневые волоски пролиферируют за пределами апекса растущих неколонизированных корней и обеспечивают большую площадь поверхности для возможного контакта с ЭМ мицелием в прилегающей почве. Вероятно, при контакте с корневыми волосками ЭМ гифы способны изменять направление роста в сторону корневой поверхности и частично обволакивать волоски (Massicotte et al., 1989; Thomson et al., 1989). При первом контакте гиф с поверхностью корня они могут претерпевать морфологические изменения перед формированием чехла или сети Гартига. Эти изменения заключаются в усилении ветвления и слиянии кончиков гиф (Jacobs et al., 1989). Механизмы, действующие при прикреплении совместимых гиф к корню и отторжении несовместимых, пока неизвестны. На тонкость этих механизмов указывают различия в совместимости при соединении растения-хозяина с разными изолятами ЭМ гриба (Malajczuk et al., 1990; Lei et al., 1991; Burgess et al., 1994). Есть свидетельства того, что в защитной реакции может участвовать более интенсивное отложение фенольных соединений в точке контакта с несовместимыми видами или штаммами (Malajczuk et al., 1984), но это, вероятно, позднее проявление многих эффектов, возникающих при взаимодействии, среди которых наиболее значимые действуют на молекулярном уровне. К. Альбрехт с соавт. (Albrecht et al., 1994) обнаружили, что индукция хитиназ и пероксидаз у *Eucalyptus* была связана с агрессивностью штамма грибного симбионта, и только активно колонизирующие штаммы вызывали мощную ответную реакцию. Это ставит под сомнение широко известную роль этих ферментов в защите растений.

Исследования ультраструктуры зоны контакта гриба и растения в эктомикоризе показали наличие фибриллярного материала, возможно, состоящего из гликопротеинов, распространяющегося из грибной клеточной стенки в направлении растения (Piché et al., 1983a, b; Lei et al., 1990a, b, 1991). Слой внеклеточных фибриллярных полимеров присутствует на поверхности свободноживущего мицелия *Laccaria bicolor* (Lei et al., 1991) и *Pisolithus tinctorius* (Lei et al., 1990a) до контакта с корнем, и, вероятно, что его переориентация в направлении поверхности растительной клетки — один из важных начальных этапов образования ЭМ. На поверхности корня ели (*Picea*) были обнаружены сайты связывания лектинов, выделенных из стенки гиф *Lactarius deterrimus* (Giollant et al., 1993). Они отличались от таковых для *Lactarius deliciosus* в симбиозе с *Pinus*.

Существует вероятность, что рецепторы присутствуют у обоих симбиотических партнеров, но они замаскированы инертными соединениями. Ф. Лапейри и К. Менгден (Lapeyrie, Mengden, 1993) выявили, что, в случае грибной клеточной стенки, маскирующие соединения могут быть удалены ферментами ламинаразой или протеазой, что указывает на возможность узнавания путем запрограммированного высвобождения ферментов, ведущего к обнажению сайтов рецепции на пограничной поверхности симбиотических партнеров и установлению симбиоза.

Формирование сложной эктомикоризной структуры

Использование системы мешочков (Fortin et al., 1980) позволило детально изучить развитие микориз, образуемых на корнях известного возраста. В числе исследованных симбиозов были *Alnus crispa* и *Alpova diplophoeus* (Massicotte et al., 1986), *Eucalyptus pilularis* и *Pisolithus tinctorius* (Massicotte et al., 1987a, b) и *Betula alleghanensis* и *P. tinctorius* (Massicotte et al., 1990).

В случае взаимодействия *Alnus crispa – Alpova diplophoeus* колонизация ризоморфами боковых корней первого порядка приводила к образованию ЭМ в течение 2–4 дней после контакта. Гифы гриба вначале вступали в контакт с растущим корнем в проксимальной относительно корневого чехлика зоне, откуда росли и базипетально, и акропетально, образуя гифальное покрытие, растущее синхронно с удлинением корня. Эта стадия длится в течение 24–48 ч с момента начала контакта и, в то же время происходит вздутие корня в проксимальной относительно корневого чехлика области. Финальная морфология микоризы зависит от стадии развития бокового корня, на которой началась колонизация. Вздутый кончик — признак микоризы, сформированной после элонгации бокового корня, в то время как при колонизации на более ранней стадии образуется микоризное окончание, равномерное по толщине.

На продольных срезах видно, что гифы внутренней части чехла проникают между клетками корневого чехлика сразу под апексом и через очень небольшое расстояние, в проксимальной области, внедряются между клетками ризодермы, образуя сеть Гартига. Сеть Гартига развивается акропетально, но никогда не проникает за пределы наружной тангентальной стенки первого слоя клеток коры. Ризодермальные клетки, окруженные гифами, только немного вытягиваются в радиальном направлении. При сочетании световой и электронной микроскопии получено схематическое изображение микоризы *Alnus–Alpova* (рис. 6.10), на котором отражено постепенное развитие по мере формирования симбиоза. На схеме отмечена пролиферация стенок гиф при образовании сети Гартига путем многократного ветвления в межклетниках (рис. 6.10В, Г), типичные именно для этого симбиоза врастания стенок ризодермальных клеток (рис. 6.10Г), и концентрация шероховатой эндоплазматической сети (ЭПС) и митохондрий около грибных и ризодермальных клеточных стенок (рис. 6.10Г), становящихся все более вакуолизированными по мере созревания (рис. 6.10Д).

Развитие микоризы *Eucalyptus–Pisolithus* (Massicotte et al., 1987a, b) в целом сходно с таковым у *Alnus*. Окончательный облик индивидуального микоризного окончания также зависит от стадии элонгации бокового корня в момент колонизации. Однако обнаружены и некоторые отличия. У *Eucalyptus* имеется хорошо дифференцированная зона за апексом, в которой не происходит формирования сети Гартига, так называемое наложение или зона пред-сети (рис. 6.11). Клетки ризодермы *Eucalyptus* дают быструю ответную реакцию на наличие ЭМ грибов в виде значительного радиального увеличения в размерах при отсутствии нормального апикального удлинения. Полагают, что такие изменения в развитии клеток ризодермы специфично индуцируются грибной колонизацией, так как было показано, что они не наблюдаются в немикоризных корнях (Chilvers, Pryor, 1965). Еще одной отличительной чертой симбиоза *Eucalyptus pilularis – Pisolithus tinctorius* является то, что контактная зона партнеров в сети Гартига относительно простая. Не имеется индуцируемых грибным симбионтом врастаний клеточной стенки в клетках корня, принимающих участие в образовании зоны контакта, и в грибных структурах образуется только небольшое количество лабиринтообразных ответвлений. Простоту контактной зоны на клеточном уровне может компенсировать раннее развитие боковых корней с образованием обильных скоплений или клубеньков, которые будут увеличивать ее общую поверхность в корневой системе в целом (Chilvers, Gust, 1982; Dell et al., 1994).

Последовательность развития микоризы *Eucalyptus–Pisolithus* была изучена в подробностях (Massicotte et al., 1987a, b). При исследовании продольных срезов с применением световой микроскопии были выявлены анатомические различия между материнским и боковыми корнями первого порядка даже в отсутствии ЭМ колонизации (рис. 6.12). Материнские корни (рис. 6.12А) остроконечные и имеют слож-

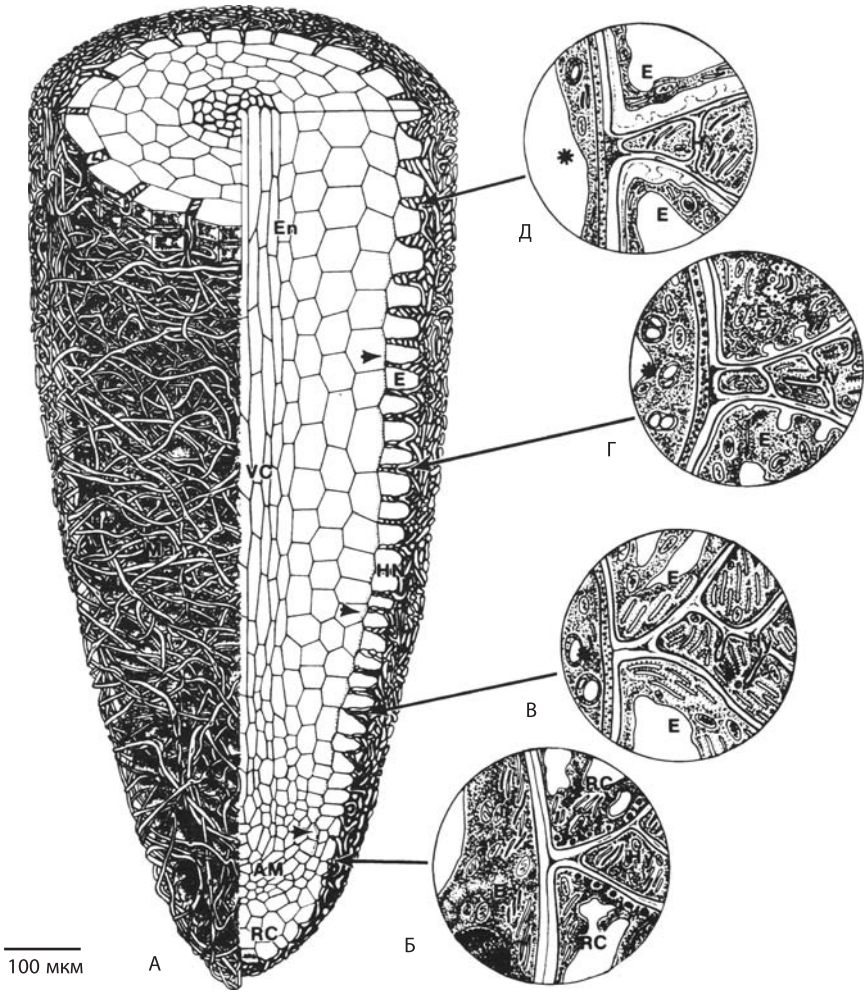


Рисунок 6.10. Схематическое изображение эктомикоризы *Alnus crispa* и *Alpova diplophloeus*. А — трехмерное изображение микоризного корня. Показаны чехол (Ма), паразизодермальная сеть Гартига (HN) и клетки ризодермы (Е), которые постепенно увеличиваются в радиальном направлении, начиная от апекса. Б — область корневого чехлика. Гифы (Ну) начинают проникать между клетками корневого чехлика (RC), также показана заполненная цитоплазмой клетка ризодермы (Е). В — зона сети Гартига. Грибные гифы (Ну) с шероховатой эндоплазматической сетью и лабиринтообразным разрастанием клеточных стенок проникают между клетками ризодермы (Е). Г — зона зрелой сети Гартига. Грибные гифы (Ну) проникли вплоть до модифицированной клеточной стенки экзодермы (*). У ризодермальных клеток (Е) видны изменения структуры клеточной стенки, в том числе, разрастания. Д — зона стареющей сети Гартига. У гиф гриба (Ну) сокращается количество цистерн эндоплазматической сети и митохондрий. У клеток ризодермы (Е) наблюдаются модификации, в том числе отложение материала клеточной стенки, вакуолизация и сокращение числа митохондрий. Клетка гиподермы (*) также в значительной степени вакуолизирована. Из Massicotte et al., 1986, с разрешения.

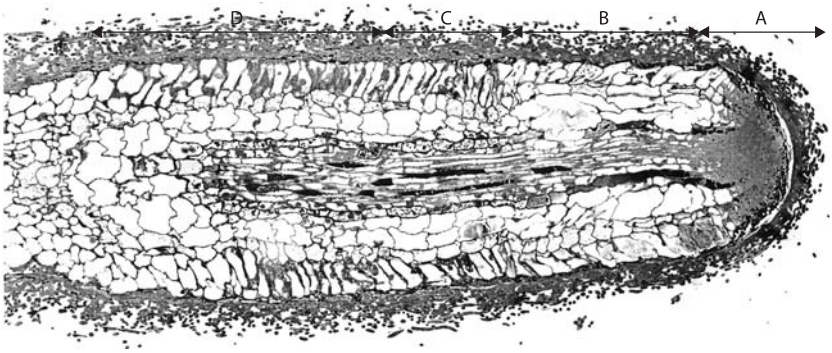
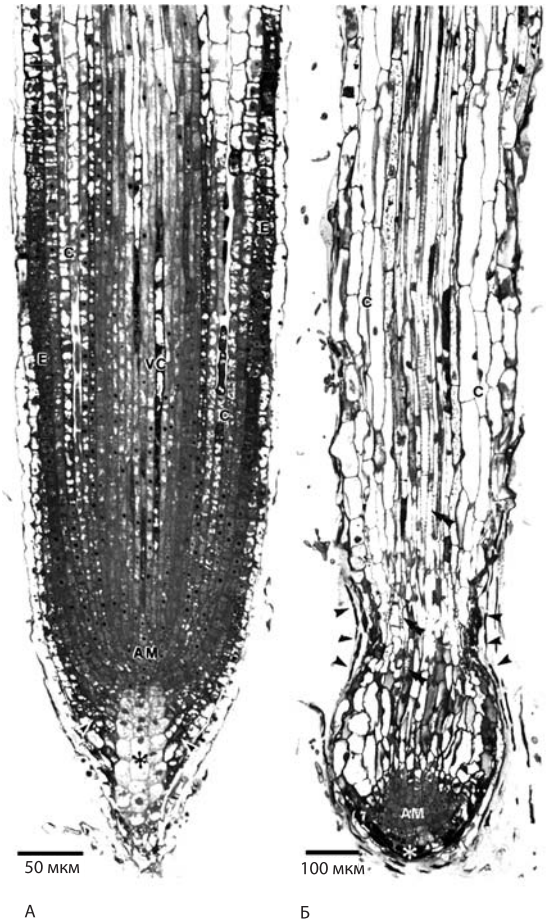


Рисунок 6.11. Микориза, образованная *Eucalyptus pilularis* и *Pisolithus tinctorius*. Световая микроскопия. Продольный срез, на котором обозначены зоны. Зона A — меристема корневого чехлика; зона B — наложение (зона пред-сети Гартига); зона C — молодая сеть Гартига; зона D — стареющая сеть Гартига. Масштаб 100 мкм. Из Massicotte et al., 1987b, с разрешения.



А Б

Рисунок 6.12. Продольные срезы немикоризных корней *Eucalyptus pilularis*. А — материнский корень с хорошо развитым корневым чехликом и апикальной меристемой (АМ), дающей начало отчетливо дифференцированным слоям тканей. Б — молодой боковой корень с ограниченным корневым чехликом, редуцированной апикальной меристемой и субапикальным сужением (отмечено стрелками). Масштаб 50 мкм. Из Massicotte et al., 1987a, с разрешения.

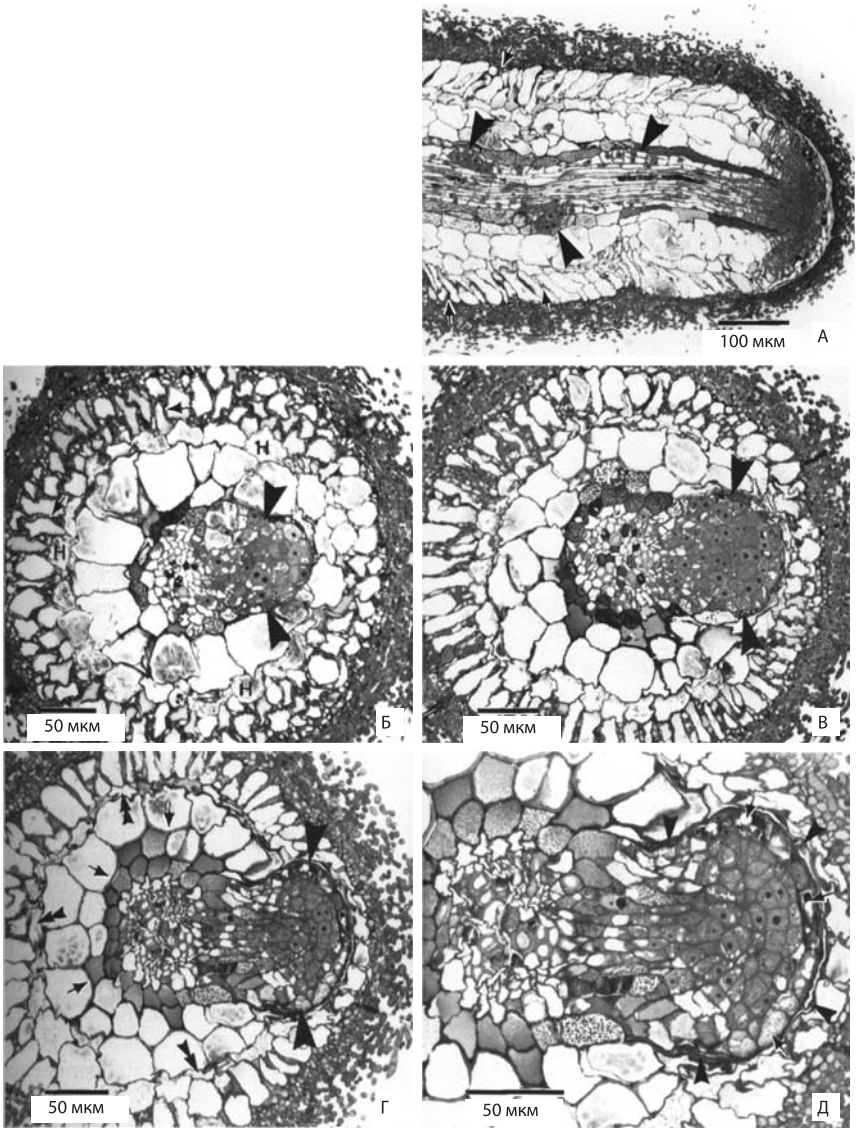


Рисунок 6.13. Срезы микоризных боковых корней первого порядка *Eucalyptus pilularis*. А — продольный срез с примордием бокового корня (отмечено головками стрелок). Имеются поверхностные гифы, но проникновение гриба между коровыми клетками только начинается (стрелка). Масштаб 100 мкм. Б — поперечный срез с примордием бокового корня (отмечено головками стрелок). Сеть Гартига (стрелка) сформирована полностью, экзодерма (Н) разрушается. Масштаб 50 мкм. В — поперечный срез, показывающий рост бокового примордия в сторону экзодермы. Масштаб 50 мкм. Г — боковой примордий полностью прошел сквозь кору, и видно выпячивание ризодермы. Становятся заметными утолщения стенок у клеток коры (отмечено головками стрелок). Масштаб 50 мкм. Д — мримордий бокового корня с рисунка (Г) при более сильном увеличении. Он окружен разрушающимися гифами (отмечено головками стрелок), показана инициация корневого чехлика (стрелки). Масштаб 50 мкм. Из Massicotte et al., 1987a, с разрешения.

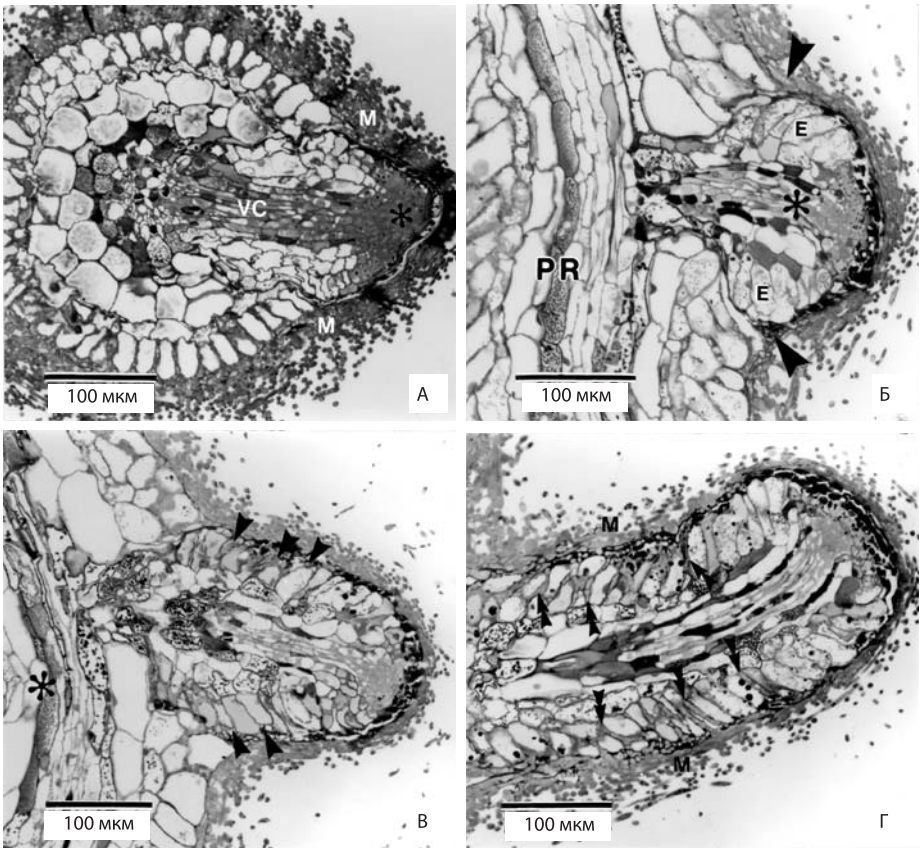
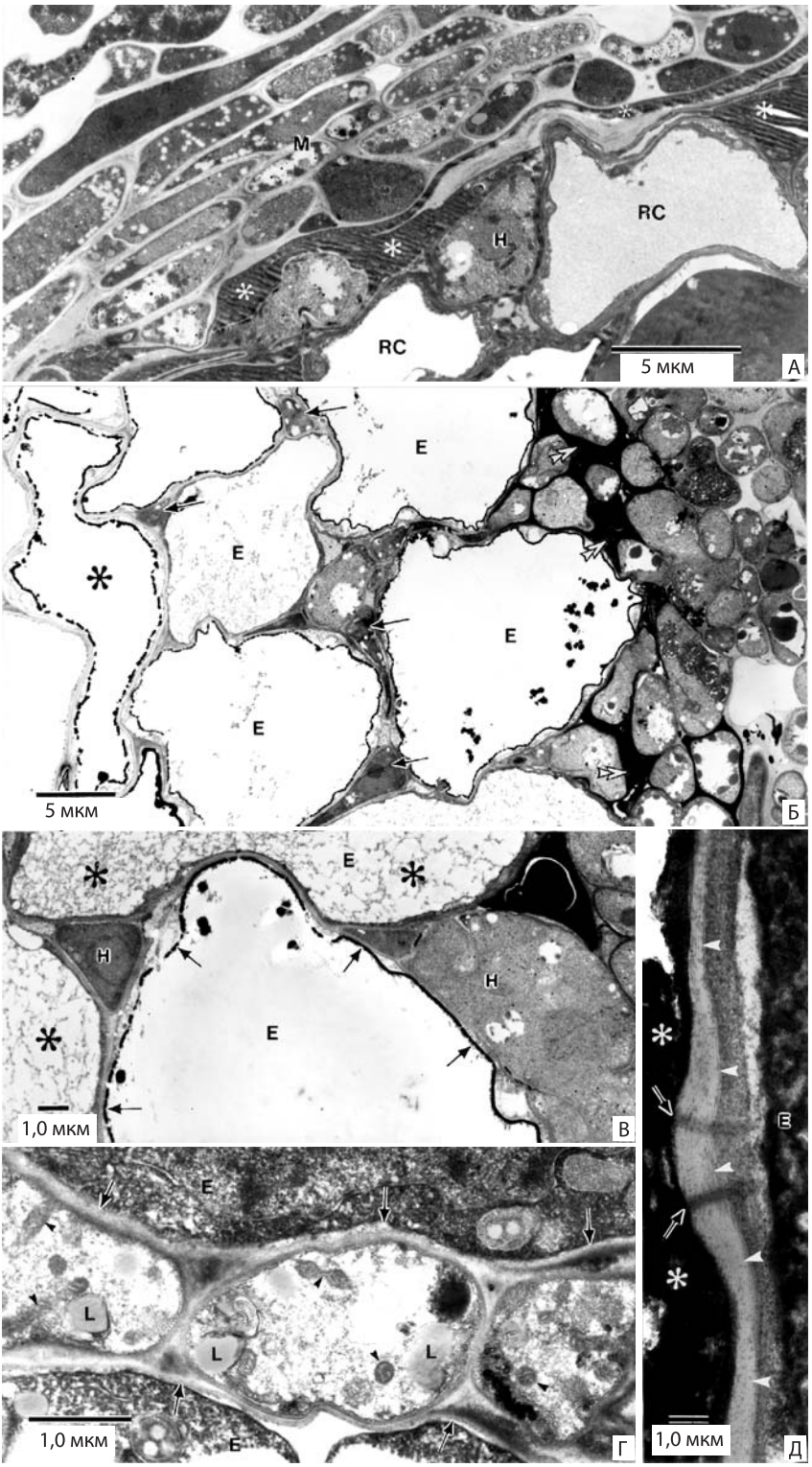


Рисунок 6.14. Развитие примордия бокового корня у *Eucalyptus pilularis*. А — поперечный срез примордия, врастающего в чехол (М). Гифы не проникают в ткани. Б — продольный срез материнского корня (PR) и примордия (*). Заметны скопления гиф по бокам от примордия (отмечено головками стрелок) и радиальное увеличение клеток ризодермы (Е). В — более поздняя стадия, на которой заметно проникновение гиф между клетками ризодермы молодого бокового корня (отмечено головками стрелок). Г — продольный срез полностью сформированного бокового корня с параризодермальной сетью Гартига (двойные головки стрелок) и чехлом (М). Масштаб 100 мкм. Из Massicotte et al., 1987a, с разрешения.

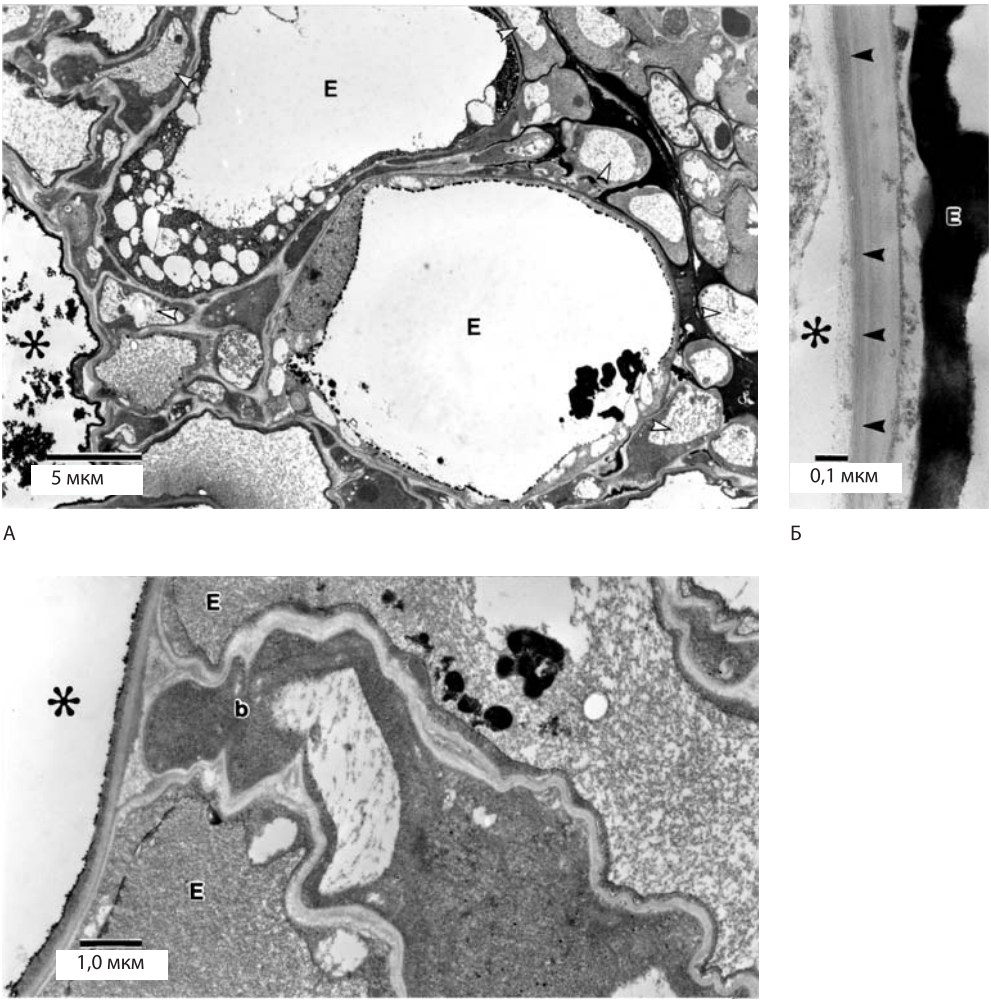
Рисунок 6.15. Зоны микоризного корня *Eucalyptus pilularis* в симбиозе с *Pisolithus tinctorius* (см. рис. 6.11). Трансмиссионная электронная микроскопия. А — меристема корневого чехлика, зона А, виден толстый чехол (М) и гифы (Н), проникающие между клетками корневого чехлика (RC). Масштаб 5 мкм. Б — зона молодой сети Гартига В. Гифы с цитоплазмой (отмечено стрелками) присутствуют между вакуолизированными клетками ризодермы (Е) вплоть до гиподермы (*).Масштаб 5 мкм. В — участок, показанный на рисунке (б), при большем увеличении. Масштаб 1,0 мкм. Г — гифы между ризодермальными клетками (Е), стенки которых (отмечено стрелками) не несут структурных модификаций. Масштаб 1,0 мкм. Д — соседние клеточные стенки клеток ризодермы (Е) и гиподермы (*), видны суберинoвые пластинки (отмечено головками стрелок) в стенке гиподермальной клетки и плазмодесмы (стрелки) между клетками. Масштаб 1,0 мкм. Из Massicotte et al., 1987c, с разрешения.


M
RC
H
RC
5 мкм
А
E
E
E
E
5 мкм
Б
E
H
H
E
1,0 мкм
В
E
L
L
L
1,0 мкм
Г
E
1,0 мкм
Д

ное строение. Корневой чехлик содержит явно выраженную колумеллу, присутствует обильная меристема, кора из трех или четырех слоев, дифференцированная стела и однослойная ризодерма. Напротив, у боковых корней первого порядка (рис. 6.12Б) округлый, притупленный апекс, редуцированная апикальная меристема и субапикальная структура, состоящая из трех или четырех слоев коровых клеток и слабо развитой стелы. Коровые клетки и элементы проводящей системы в боковых корнях формируются ближе к апексу, чем в материнском (рис. 6.12А). Отчетливые различия в строении этих двух типов корней – основная черта гетероризных корневых систем, описанных также у *Fagus* (Clowes, 1951; Warren-Wilson, Harley, 1983) и у *Pinus* (Hatch, Doak, 1933; Wilcox, 1964, 1968a). Важным функциональным отличием между двумя типами структур является то, что в то время как материнский корень способен к продолжительному росту, боковые корни не обладают такой способностью и могут отмирать, если не колонизируются ЭМ грибом.

У сеянцев *Eucalyptus*, выращенных в мешочках с инокулюмом *Pisolithus tinctorius*, боковые корни первого порядка колонизировались гифами или ризоморфами, распространяющимися от блока с инокулюмом. Тонкий чехол образовывался на поверхности бокового корня в течение 12–24 часов после контакта. На продольных срезах такого корня были отмечены четыре зоны, каждая из которых представляет отдельный тип колонизации (зоны A, B, C, D, см. рис. 6.11). В зоне А в области меристемы формируется тонкий, но сплошной чехол. В зоне В гифы не проникают между клетками коры, но сохраняют контакт с поверхностью. Этот участок называют зоной наложения или зоной пред-сети Гартига. В зоне С начинается развитие сети Гартига, и клетки ризодермы увеличиваются в радиальном направлении. В зоне зрелой сети все ризодермальные клетки радиально расширены и окружены гифами. Зачатки корней второго порядка появляются в перицикле корней первого порядка очень близко к меристеме (рис. 6.13А). Здесь эндодерма может быть уже дифференцированной, и дедифференциация происходит в точках заложения боковых корней. На этом уровне начинается проникновение гиф между клетками ризодермы материнского длинного корня (рис. 6.13А, Б). На поперечных срезах в проксимальной области (рис. 6.13В) показаны этапы появления боковых корней второго порядка в коре предшествующего корня и далее в ризодерме, где происходит выпячивание (рис. 6.13Г). При большем увеличении (рис. 6.13Д) можно видеть ранние стадии дифференциации корневого чехлика вокруг меристемы зачатка, но пока еще в этих тканях нет признаков проникновения грибных гиф. Вскоре после этого становятся заметны апикальная меристема и центральный цилиндр (рис. 6.14А), и на продольных срезах (рис. 6.14Б, В, Г) видна пролиферация гиф над апексом появляющегося корня, радиальное увеличение клеток ризодермы и образование сети Гартига.

При помощи трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) возможно наблюдать взаимодействие между грибом и растением в каждой из четырех зон, приведенных на рисунке 6.11 (Massicotte et al., 1987b). В зоне А (рис. 6.15А) находится толстый чехол, состоящий из гиф, заполненных цитоплазмой, и некоторые гифы проникают между клетками корневого чехлика, несмотря на наличие между чехлом и чехликом электроноплотного слоя. В области молодой сети Гартига (С) гифы, заполненные цитоплазмой, проникают между вакуолизированными клетками ризодермы вплоть до гиподермы (рис. 6.15Б). При большем увеличении можно видеть, что ризодермальные клетки содержат диффузный электроноплотный матрикс или периферические отложения электроноплотного материала (рис. 6.15В). Гифы сети Гартига заполнены цитоплазмой (рис. 6.15Г) и содержат многочисленные липидные капли, а также митохондрии. В этом симбиозе ризодермальные клеточные стенки не образуют врастания, поэтому он считается в структурном отношении более простым, чем микоризы *Alnus, Pisonia* (Allaway et al., 1985) или *Pinus* (Dud-



А Б В

Рисунок 6.16. Микориза *Eucalyptus pilularis* и *Pisolithus tinctorius* в зоне стареющей сети Гартига D. Трансмиссионная электронная микроскопия. А — хорошо выраженная сеть Гартига (*Pisolithus tinctorius*) между клетками ризодермы (Е) *Eucalyptus pilularis*, показаны вакуолизированные гифы во внутренней части чехла и сети Гартига (отмечено головками стрелок). Сеть Гартига не проходит через экзодерму (*). Масштаб 5 мкм. Б — соседние клеточные стенки клеток ризодермы (Е) и экзодермы (*) с суберинoвыми пластинками (отмечено головками стрелок), но без плазмодесм. Масштаб 0,1 мкм. В — сеть Гартига, примыкающая к экзодерме (*), где гифы разрушают срединную пластину между ризодермальной и экзодермальной клетками. Масштаб 1,0 мкм. Из Massicotte et al., 1987c, с разрешения.

dridge, Read, 1984a, b). В зоне С клеточные стенки в экзодерме на границе с ризодермой содержат суберинoвые пластинки (рис.6.15), и между клетками имеются плазмодесмы.

На микрофотографиях зоны зрелой сети Гартига D, полученных при ТЭМ (рис. 6.16А), показано более интенсивное проникновение уже вакуолизированных гиф

Pisolithus между клетками ризодермы. Тем не менее, они еще не проходят в экзодерму. В стенках клеток экзодермы идет активное отложение суберина (рис. 6.16Б). В некоторых случаях гифы, достигшие экзодермы, разрушают суберинoвые пластины (рис. 6.16В). Гифы внутреннего чехла в этой области имеют ядра, содержат множество митохондрий и межгифальный матрикс, составленный электроноплотным и электронопрозрачным материалом.

При образовании симбиоза у *Betula alleghaniensis* с тем же штаммом *Pisolithus tinctorius* в мешочках, микоризы формировались на боковых корнях первого порядка в течение 4–10 дней. До образования чехла наблюдался избирательный рост гиф между папиллами корневых волосков в субапикальной зоне корня (рис. 6.17А). Чехол постепенно утолщается (рис. 6.17Б), пока наконец корневые волоски не перестанут быть заметными (рис. 6.17В). Область наложения (пред-сети Гартига) также различима, а сеть Гартига, как в случае *Alnus*, параризодермальная. Особенностью этой ЭМ ассоциации является то, что отсутствуют врастания стенок клеток ризодермы, прилегающих к сети Гартига, и гифы активно ветвятся, образуя очень сложную лабиринтообразную систему, в которой расстояния между грибными структурами имеют ширину, едва превышающую размеры митохондрии.

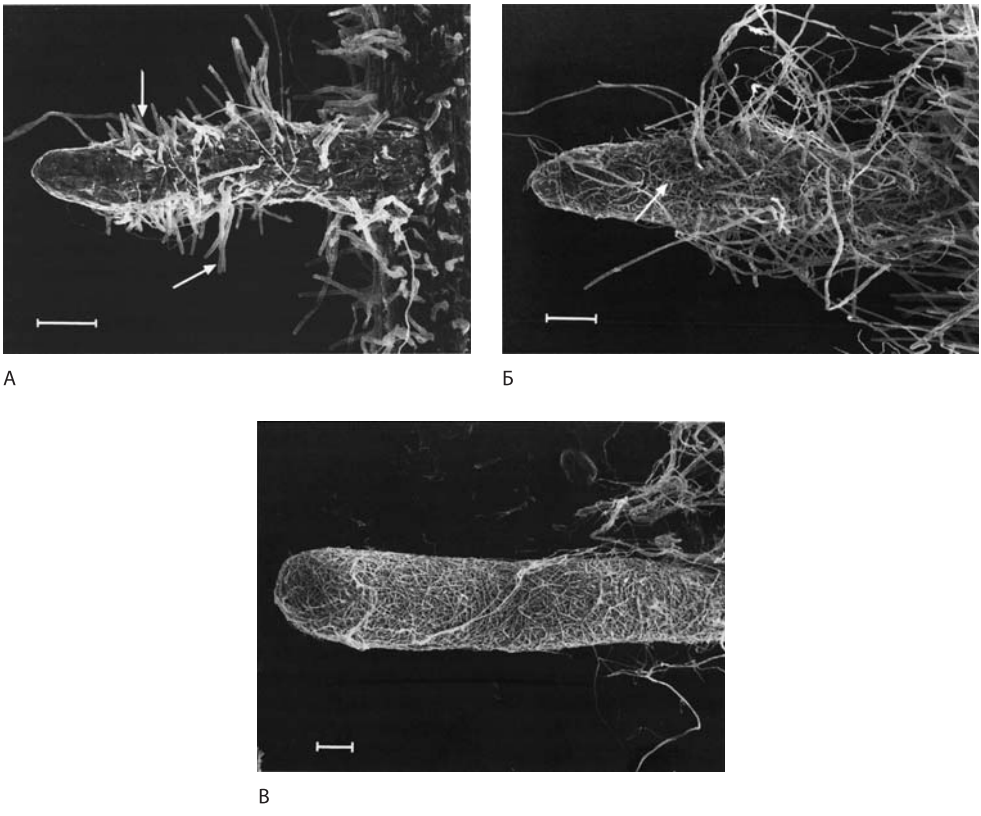


Рисунок 6.17. Микоризы, образованные *Betula alleghaniensis* и *Pisolithus tinctorius*. Сканирующая электронная микроскопия. А — ранние стадии формирования микоризы, при которых на поверхности корня присутствует небольшое количество гиф и многочисленные корневые волоски (стрелка). Б — тонкий чехол (стрелка), сформировавшийся на поверхности корня. В — плотный чехол покрывает корень, и корневые волоски больше не заметны. Масштаб 100 мкм. Из Massicotte et al., 1990, с разрешения.

Клубеньковые микоризы

Многие виды растений, образующие индивидуальные микоризные окончания, контактирующие с окружающей почвой, также формируют сложные округлые структуры, в которых скопления таких корней, каждый со своим чехлом и сетью Гартига, покрыты оболочкой из грибных гиф, иногда называемой перидием. Конгломерат плотно упакованных корней диаметром до 20 мм получил название «клубеньковая микориза» (см. приложение 6.1E). Анализ оболочки клубенька *Eucalyptus* позволил выявить двуслойную структуру, по краям 0,15–0,20 мм толщиной, состоящую из плотно упакованных гиф, соединенных матриксом, обогащенным углеводами и липидами, что, вероятно, обеспечивает высокую степень непроницаемости подобной «ткани» (Dell et al., 1990). Сходное анатомическое строение было показано при исследованиях *Pinus* (Randall, Grand, 1986), *Pseudotsuga* (Zak, 1971; Massicotte et al., 1992) и *Engelhardtia* (Juglandaceae) (Haug et al., 1991). Так как перидий, по всей видимости, изолирует корни от питательных веществ из почвы, функции всей структуры в целом непонятны. Тем не менее, часто наблюдаются обильные ризоморфы гриба, распространяющиеся от молодых клубеньков в окружающую почву. Были описаны ризоморфы, ассоциированные с клубеньками пихты Дугласа, наружные ткани которых составляли единое целое с оболочкой, при том, что центральные гифы входили в клубенек и образовывали в его пределах соединения с индивидуальными корневыми окончаниями (Zak, 1971). Б. Делл с соавт. (Dell et al., 1990) также наблюдали разветвленные ризоморфы в клубеньковых системах *Eucalyptus*. Эти данные предполагают, что корни, содержащиеся в клубеньках, имеют скорее запасающую, чем всасывающую функцию. Еще одно возможное предположение — что снижение парциального давления кислорода в этих замкнутых структурах благоприятно сказывается на фиксации азота в сообществах свободноживущих бактерий. При *in situ* исследованиях снижения концентрации ацетилена клубеньковыми корнями *Pinus contorta* в симбиозе с *Suillus tomentosus* недавно были получены косвенные доказательства значимости азотфиксации в таких системах (Paul et al., 2007). Для подтверждения этих заключений необходимо прямое измерение количественных характеристик фиксации азота посредством использования ^{15}N метки.

Строение зрелой сети Гартига

Взаимоотношения между грибом и растением на тканевом уровне

Зона контакта между симбионтами играет ключевую роль в функционировании ЭМ. В этой зоне гифы, проникающие между наружными клетками оси корня, образуют сеть Гартига. Проникновение обычно начинается из внутренней части чехла (см. рис. 6.10, 6.11, 6.13). Иногда, например, у *Picea abies* (Nylund, Unestam, 1982), оно происходит, как только гифы достигают поверхности корня, то есть до формирования чехла. Глубина проникновения различается у покрытосеменных и голосеменных растений. У большинства покрытосеменных внедрение ограничивается ризодермальным слоем, образуя так называемую «ризодермальную» сеть Гартига (Godbout, Fortin, 1983). Примером могут служить микоризы *Eucalyptus* (см. рис. 6.11, 6.16), *Alnus* (см. рис. 6.10) и *Betula* (рис. 6.18). В этом типе выделяются две разновидности: «параризодермальная», где происходит частичное окружение клеток ризодермы, как в описанной выше микоризе *Alnus*, и «периризодермальная», где гифы окружают клетку полностью (Godbout, Fortin, 1983). Из этих двух вариантов первый распространен более широко, хотя отмечено, что у *Populus tremuloides* периризодемальная микориза развивается из параризодермальной при определен-

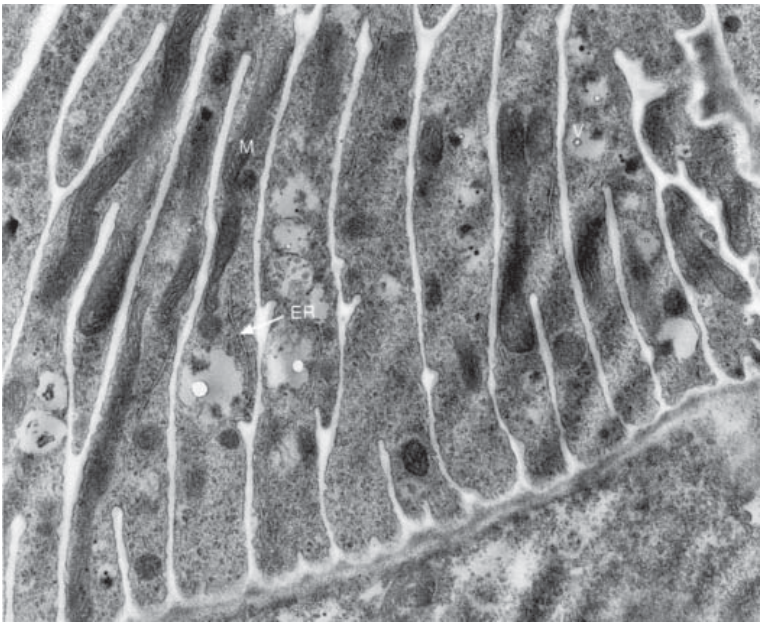
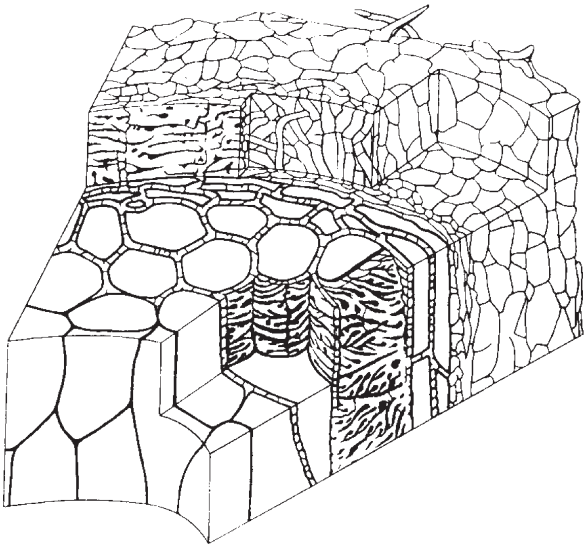


Рисунок 6.18. Зрелая сеть Гартига у микоризы, образованной *Betula alleghaniensis* и *Pisolithus tinctorius*. Трансмиссионная электронная микроскопия. Многократно разветвленные гифы, видны митохондрии (M), эндоплазматическая сеть (стрелка, ER) и вакуоли (V). Из Massicotte et al., 1989b, с разрешения.

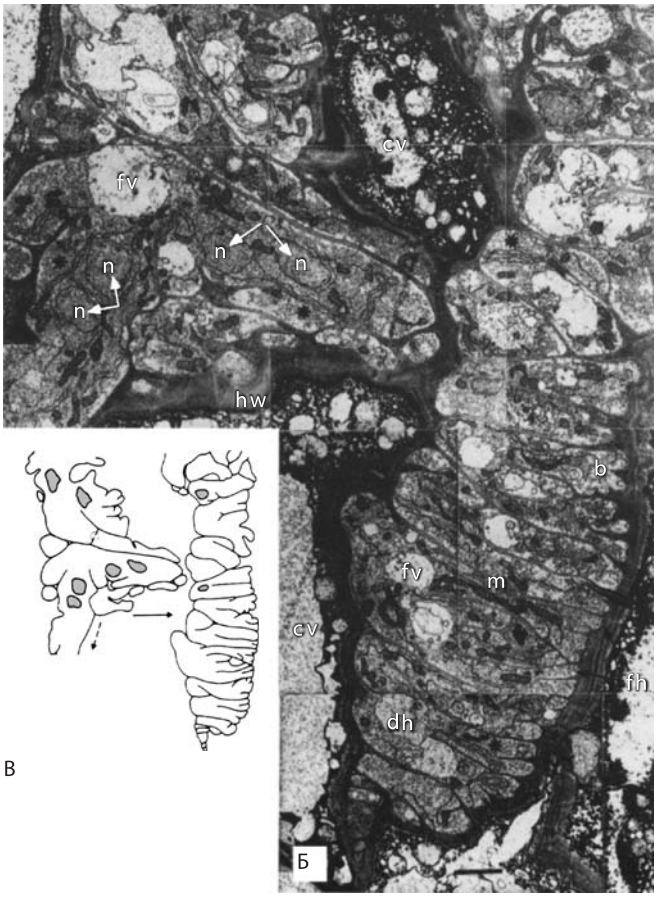
ных условиях в культуре (Godbout, Fortin, 1985). Это указывает на возможность существования континуума, в котором окончательное состояние определяется возрастом или факторами окружающей среды.

У ЭМ голосеменных сеть Гартига в типе проникает за пределы ризодермы, окружая несколько слоев коровых клеток (рис. 6.19), и иногда достигая эндодермы. Структура этого типа, так называемая «коровая сеть Гартига», так же присутствует у нескольких родов покрытосеменных, таких как *Cistus* (Giovannetti, Fontana, 1982) и *Dryas* (Alexander, Bigg, 1981; Debaud et al., 1981), и иногда встречается у растений, для которых в норме характерен поверхностный тип развития, например, *Populus*.

Рисунок 6.19. Развитие сети Гартига. А — объемное изображение типичной структуры сети Гартига в различных плоскостях и псевдопаренхиматического чехла. Основное направление роста гиф в сети Гартига — перпендикулярно к оси корня. Б — микориза, образованная *Picea abies* и *Amanita muscaria*. Ультратонкий срез через межклеточное пространство и несколько коровых клеток с полностью развитой зрелой сетью Гартига. Обширное ветвление приводит к формированию все более и более тонких гиф (fh). Можно отметить многочисленные митохондрии (m) и ядра. Наличие двух дикарионов (отмечено стрелками) указывает на ценоцитную природу ткани. Масштаб 2 мкм. В — схема грибных гиф с рисунка (Б). Основное направление роста гиф отмечено стрелкой. Видны долипоровая септа и дикарионы. Трансмиссионная электронная микроскопия. Из Kottke, Oberwinkler, 1987, с разрешения.



А



В

Интересно, что радиальная элонгация ризодермальных клеток, вероятно, присутствует только у тех микориз, у которых формируется ризодермальная сеть Гартига. Когда гифы внедряются в кору, как у голосеменных, так и у таких покрытосеменных, как *Dryas, Cistus* и *Populus*, этого изменения не происходит. Эти данные предполагают, что увеличение поверхности контактной зоны достигается в одном случае за счет проникновения грибного симбионта в кору (коровый тип), а в другом — путем растягивания стенки растительной клетки (ризодермальный тип).

Ультраструктура

Проникновение между клетками вызывает глубокие морфогенетические изменения в ЭМ гифах. Многократно вееровидно разветвленный лопастной мицелий продвигается к радиальной поверхности растительных клеток. Подобная структура наблюдалась при световой микроскопии, и гифальные «лопасти» получили название "palmetti" (Mangin, 1910). Сейчас общепризнанной является точка зрения, что лопасти — результат повторного обильного ветвления гиф, образующих лабиринтовидные структуры (см. рис. 6.18 и 6.19). Кроме пролиферации грибных структур, в некоторых микоризах присутствие грибного симбионта может вызывать врастание растительной клеточной стенки в прилегающие ризодермальные клетки. Это наблюдалось у микориз *Alnus–Alpova* (см. рис. 6.10) (Massicotte et al., 1986), а в симбиозе *Pinus sylvestris – Suillus bovinus* явно было вызвано наличием внешних источников С (Duddridge, Read, 1984c). В случае микориз, образуемых *Pisonia grandis*, врастания клеточной стенки происходят при отсутствии сети Гартига (Ashford, Allaway, 1982; Ashford et al., 1988; Cairney et al., 1994). Вне зависимости от того, происходит ли разрастание клеточных стенок растения, обильное ветвление гиф, окружающих клетку ризодермы или коры обеспечивает значительное увеличение площади поверхности. Стенки гиф находятся так близко от растительных клеток, что, вероятно, объединяются в цельную структуру, называемую «контактной зоной» (Strullu, Gerault, 1977) или «зоной касания» (Scannerini, 1968; Duddridge, Read, 1984c).

Детали строения типичной зрелой сети Гартига были выявлены на ультратонких тангентальных срезах микоризы *Picea abies*, образованной *Amanita muscaria*, просматриваемых с помощью ТЭМ (см. рис. 6.19Б) (Kottke, Oberwinker, 1987). Основное направление роста гиф, указанное стрелкой (см. рис. 6.19В) — перпендикулярно оси корня, конечные пальцевидные ветви очень тонкие, они очень плотно собраны вместе, так, что между ними нет промежутка, или он очень мал. Они заполнены цитоплазмой, не вакуолизированы и содержат множество митохондрий, которые, как и обширная ЭПС, вероятно, вытягиваются в направлении роста гифы. В проксимальной области гифы сети Гартига имеют больший диаметр и некоторые из них вакуолизированы. Так как иногда в несептированной части мицелия этого типа микориз наблюдается более двух ядер (см. рис. 6.19Б), появилось мнение, что эта структура является ценоцитной (Kottke, Oberwinkler, 1987). Тем не менее, в компартментах сети Гартига микориз *Betula alleghanensis* были обнаружены только одно или два ядра, и сходная ситуация отмечена для симбиоза *Alnus rubra* и *Alpova diplophloeus* (Massicotte et al., 1989). Нужны дополнительные исследования характера миграции ядер и митотических событий для выявления ядерной организации сети Гартига.

Было обнаружено сходство между весьма сложными структурами, образуемыми при полиферации гиф в сети Гартига, и таковыми в транспортных клетках («transfer cells»), у которых увеличивается площадь поверхности для обмена растворимыми веществами во многих физиологически активных тканях растений (Duddridge, Read, 1984c; Kottke, Oberwinkler, 1987).

Клеточные взаимодействия при формировании сети Гартига

Приуроченность образования сети Гартига к области вблизи корневого чехлика (зоны C и D, см. рис. 6.11) указывает на то, что проникновение грибных структур между клетками растения может происходить только на определенной стадии дифференциации ризодермальных клеток. Общепринятая точка зрения — что проникновение происходит механическим путем (Foster, Marks, 1966; Nylund, Unestam, 1982; Piché et al., 1983b; Duddridge, Read, 1984c). Однако есть предположение (Duddridge, Read, 1984c; Nylund, 1987), что у хвойных стенки коровых клеток в зоне, восприимчивой к внедрению, имеют более высокое соотношение пектин/целлюлоза, чем в полностью сформировавшихся клеточных стенках, и таким образом, они более доступны для проникновения грибного симбионта.

Данные о лизисе срединной пластинки ризодермальных клеток перед кончиками гиф в микоризе *Alnus crispa – Alpova diplophloeus* (Massicotte et al., 1986) предполагают возможность участия грибных ферментов в процессе внедрения. Аналогичное разрушение срединной пластинки наблюдалось в клетках ризодермы *Eucalyptus pilularis* при колонизации *Pisolithus tinctorius* (Massicotte et al., 1987). Еще одним доказательством участия ферментов в процессе образования сети Гартига может служить слияние прилегающих друг к другу грибных и растительных клеточных стенок с образованием межфазного матрикса в зрелой контактной зоне. Это слияние интерпретировали как утрату целостности клеточной стенки растения (Duddridge, Read, 1984c), что подтверждается выявленным гистохимическими методами сходством пектиновых и полисахаридных компонентов в растительной клеточной стенке и межфазном матриксе, (Nylund, 1987).

Дж. Харли трактовал эти события как вмешательство грибного партнера в процессы откладывания первичной оболочки и срединной пластинки клетки растения (Harley, 1985). Он предполагал, что происходит нарушение поступления предшественников элементов клеточной стенки, возможно, в результате кополимеризации грибных белков с ферментами растения, отвечающими за сборку стенки клеток. Также нельзя не принимать во внимание возможность прямого действия грибных ферментов на растительную клеточную стенку. Способность ЭМ грибов при определенных условиях вырабатывать ферменты, необходимые для разложения неодревесневших клеточных стенок, демонстрирует их проникновение в клетки ризодермы при образовании арбутоидных и эктэндомикориз (см. гл. 7). Кроме того, даже в ЭМ часто наблюдается проникновение грибов в ризодермальные или коровые клетки растения в старых участках корня (Nylund et al., 1982; Downes et al., 1992), и, весьма вероятно, что для этого требуются ферменты, разрушающие клеточную стенку. Таким образом, может существовать континуум зон, приведенных на рисунке 6.11, от зон A и B, где клетки ризодермы устойчивы к внедрению, к зонам C и D, где происходит сбалансированное взаимодействие симбионтов. Последовательное развитие ведет к появлению структурной целостности, возможно, принимающей участие в обмене питательными веществами, и завершается проникновением грибного партнера сквозь стенку отмирающей клетки. Согласно имеющимся данным, продолжительность этой последовательности событий около 80 дней (Downes et al., 1992). К этому времени чехол может еще присутствовать в качестве отмирающей структуры или постепенно утрачиваться (Abras et al., 1988).

Микоризный чехол

Сеть Гартига образует наиболее обширную зону контакта между грибом и растением, но ее биомасса в большинстве эктомикориз мала сравнительно с откладывающимся снаружи чехлом. При отделении чехла от микоризных окончаний *Fagus* было показано, что 40% массы колонизированного корня приходится на грибной симбионт (Harley, McCready, 1952b; см. рис. 8.2). Это значение не учитывает массу сети Гартига, но оно широко и часто достаточно вольно использовалось более поздними исследователями даже при изучении других пар симбионтов и при иных условиях. Сходные данные были получены для *Abies amabilis* в субальпийском лесном сообществе (Vogt et al., 1982, 1991). Однако авторы отметили, что для *Pseudotsuga menziesii* при меньшей высотности масса чехла составляла только 20% от общей массы корня. Учитывая, что при изучении *Fagus* исследователи специально отбирали относительно крупные эктомикоризы с мощными чехлами, возможно, образованные *Lactarius subdulcis*, логично предположить, что 40% — достаточно высокая оценка грибной биомассы, и в среднем значения будут лежать в интервале 20-40%.

Структура чехла в классификации типов эктомикориз

Необходимость создания классификации типов ЭМ для идентификации грибных партнеров назрела давно. Помимо связи с вызывающими большой интерес вопросами разнообразия симбионтов у определенного вида растения, рациональная система для идентификации и отбора отдельных типов симбиоза является важной предпосылкой точной классификации функциональных различий между ними. Ранние попытки выделения типов ЭМ (Melin, 1927; Dominik, 1969), основанные на макроскопических и микроскопических признаках, не внесли существенного вклада в определение грибных симбионтов. Дж. Трэпп подчеркивал необходимость идентификации грибных партнеров и предлагал использование различных особенностей строения гиф и других микроскопических характеристик (Trappe, 1967). При изучении микориз *Pseudotsuga* были применены общие морфологические показатели и отмечена важная роль окраски как определительного признака (Zak, 1971, 1973). Также к описаниям были добавлены характеристики структуры поверхности чехла (Chilvers, 1968a, b). Однако все эти системы обладают весьма ограниченной способностью различения грибных партнеров, участвующих в симбиозе.

В некоторых случаях возможно идентифицировать симбионт путем осторожного исследования гифальных соединений между плодовым телом и ЭМ чехлом. Однако у представителей многих родов, таких как *Lactarius*, *Russula* и *Inocybe*, прослеживание гиф очень затруднительно. Недолговечность плодовых тел и то, что многие важные типы ЭМ до сих пор не соотнесены с определенными видами грибов, обусловливает необходимость разработки классификации, основанной на стабильных, легко опознаваемых признаках грибного чехла и ассоциированных с ним мицелиальных структур.

Такая система была разработана Р. Агерером и описана в атласе типов ЭМ (Agerer, 1987–2002). В классификации учитывается цвет (при дневном освещении) и морфология колонизированного корня и свободного мицелия (см. приложение 6.1А, Б, В). Такой анализ, или «морфотипирование», широко используемый в прошлом как единственный способ описания, дополняется характеристикой анатомических особенностей чехла. В то время как морфология ЭМ корней в основном находится под контролем растения, строение чехла консервативно и определяется, в большей степени, грибным партнером. Известные типы ЭМ чехлов, установленные путем простого соскабливания с поверхности, могут быть подразделены на две основные

группы. В первой гифы различаются как индивидуальные структуры, образующие свободную плектенхиматическую или прозенхиматическую (*sensu* Chilvers, 1968) структуру, в то время как во второй они утрачивают свою индивидуальность, образуя псевдопаренхиматическую структуру. Р. Агерер (Agerer, 1991a, 1995) выделяет девять типов плектенхиматической (А–И) и семь типов (Л–С) прсевдопаренхиматической структуры (рис. 6.20 и табл. 6.6). Совокупность морфологических и анатомических особенностей каждого типа представлена в виде цветных иллюстраций, демонстрирующих характерный облик ЭМ окончания, и черно-белых иллюстраций, отдельно показывающих строение чехла, выявленное путем соскабливания и изготовления срезов, и свободных гиф (Agerer 1987–1993).

Таблица 6.6. Примеры видов эктомикоризных грибов, иллюстрирующие типы строения чехла, приведенные на рисунке 6.20.

Плектенхиматический	Псевдопаренхиматический
а *Amanita muscaria, Boletus edulis, Scleroderma citrinum*	к *Russula fellea*
б *Cortinarius armillatus, Hebeloma crustuliniforme, Laccaria laccata, Paxillus involutus, Pisolithus tinctorius*	л *Tuber aestivum*
в *Lactarius glyciosmus, L. pubescens*	м *T. melanosporum, Lactarius rufus*
г *Russula aeruginea, Thelephora terrestris*	н *Russula emetica*
д *Rhizopogon luteolus*	о *Russula ochroleuca*
е *Boletinus cavipes, Leccinum scabrum*	п *Lactarius subdulcis*
ж *Cenococcum geophilum*	р *Lactarius pallidus*
з *Russula xerampelina*	
и *Lactarius picinus*	

Буквенные обозначения а-р относятся к рис. 6.20. Данные взяты из Agerer, 1991a.

После ряда исследований (Brand, Agerer, 1986; Brand, 1991), некоторые наиболее важные типы ЭМ *Fagus* были описаны в «Атласе», и могут быть использованы для идентификации вида грибного симбионта. Так, например, мощные микоризные окончания с гладкой поверхностью, отбираемые для исследования поглощения питательных веществ Дж. Харли и его сотрудниками (приложение 6.1Б; рис. 6.21 и 6.22), были идентифицированы как образованные видом *Lactarius subdulcis*. Фотография в приложении 6.1Б изображает общий вид корневого окончания, колонизированного *L. subdulcis*. Строение поверхности и различие в толщине чехла (рис. 6.21 и 6.22), показывают его псевдопаренхиматическую структуру, характерную угловатую форму клеток и наличие млечных ходов, что является диагностическими признаками рода *Lactarius*.

Видовая принадлежность этого типа микоризы изначально была установлена путем прослеживания гиф между плодовыми телами *Lactarius subdulcis* и корнем, но существует множество микориз, для которых к настоящему времени не обнаружено подобных соединений. Для случаев, когда видовая принадлежность гриба в широко распространенном и подробно описанном ЭМ типе неизвестна, была предложена биномиальная номенклатура (Gronbach, Agerer, 1986). Название составляется из родового наименования растения-хозяина и характеризующего эпитета, например, *Piceirhiza bicolorata* (см. приложение 6.1В). Также описаны основные черты морфологии и анатомии микоризы и свободного мицелия. Когда выявляется видовая принадлежность грибного симбионта, искусственное наименование эктомикоризы может быть заменено названием грибного симбионта.

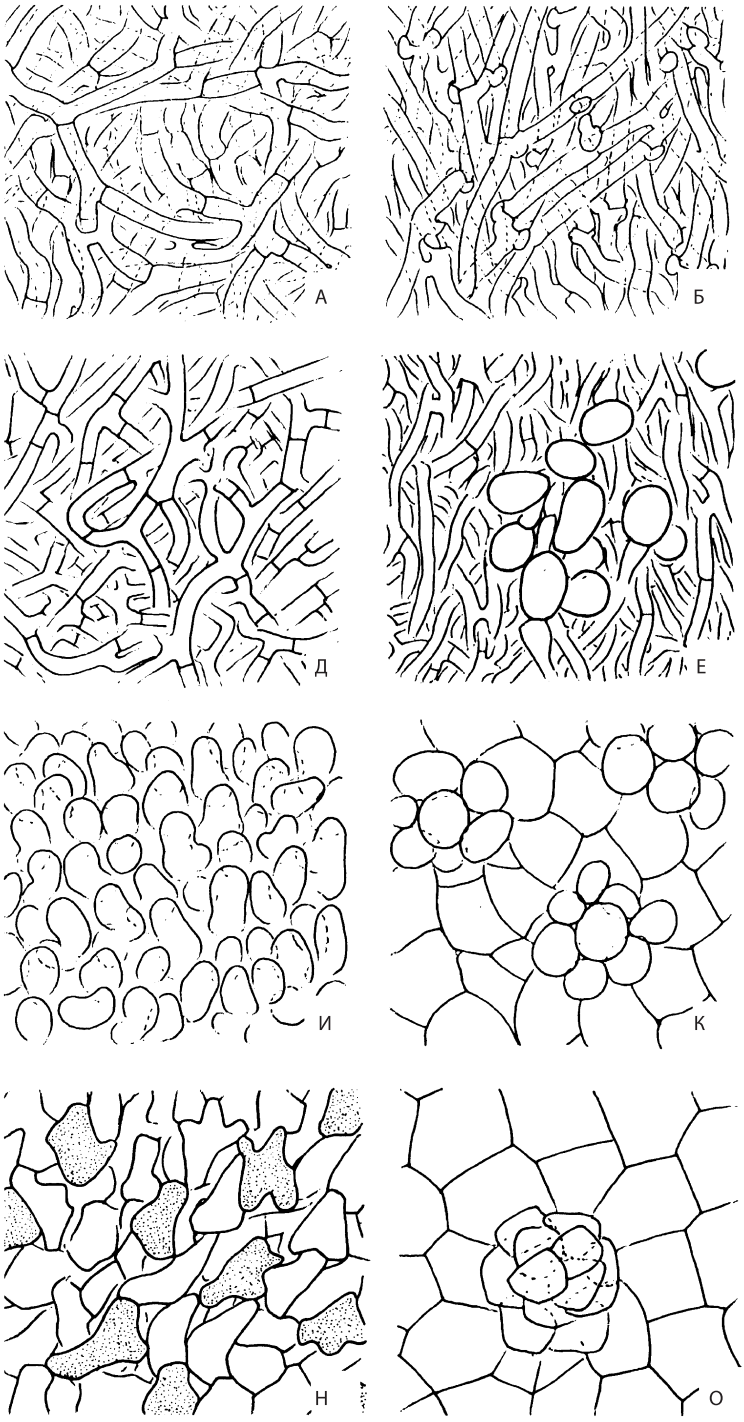
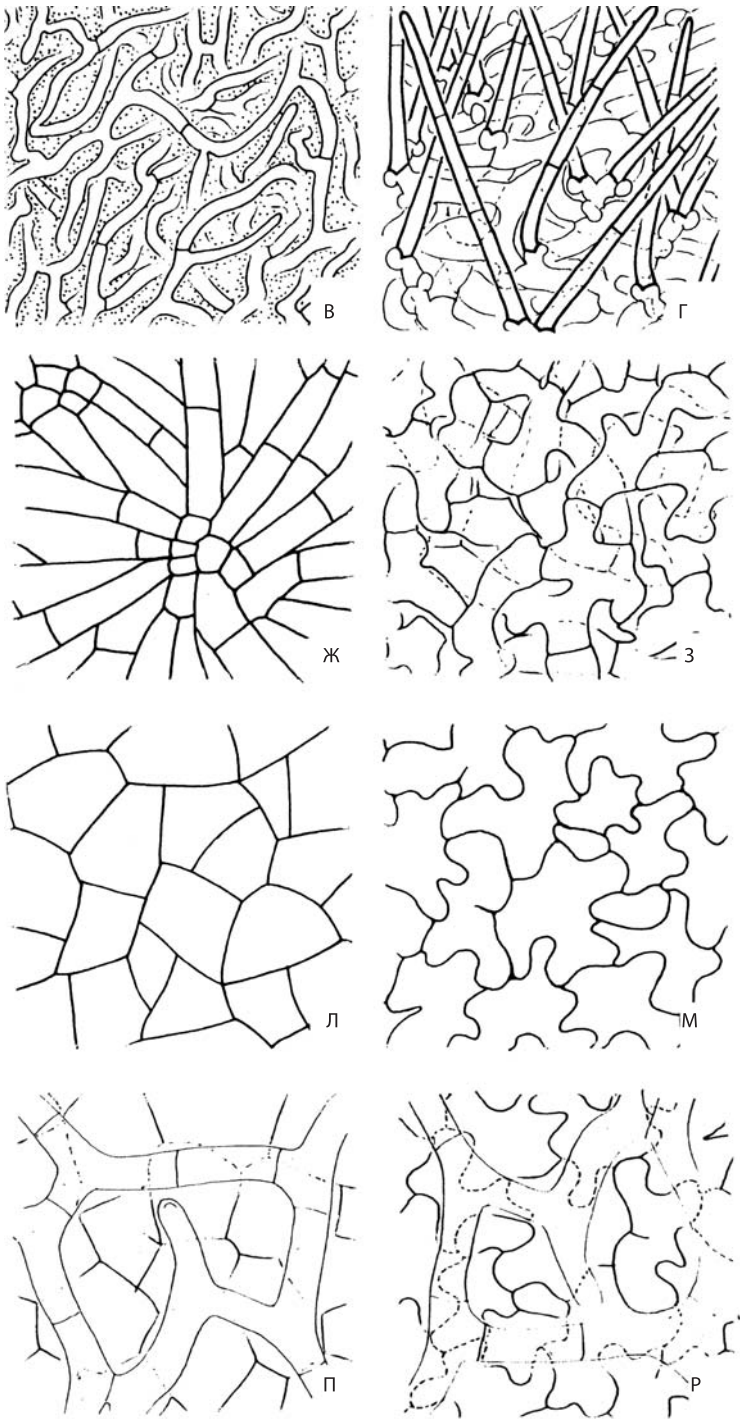


Рисунок 6.20. Схематическое изображение поверхности плектенхиматических (А–И) и псевдопаренхиматических (Л–С) чехлов, полученное методом соскабливания с поверхности. Из Agerer, 1991a, с разрешения.


В
Г
Ж
З
Л
М
П
Р

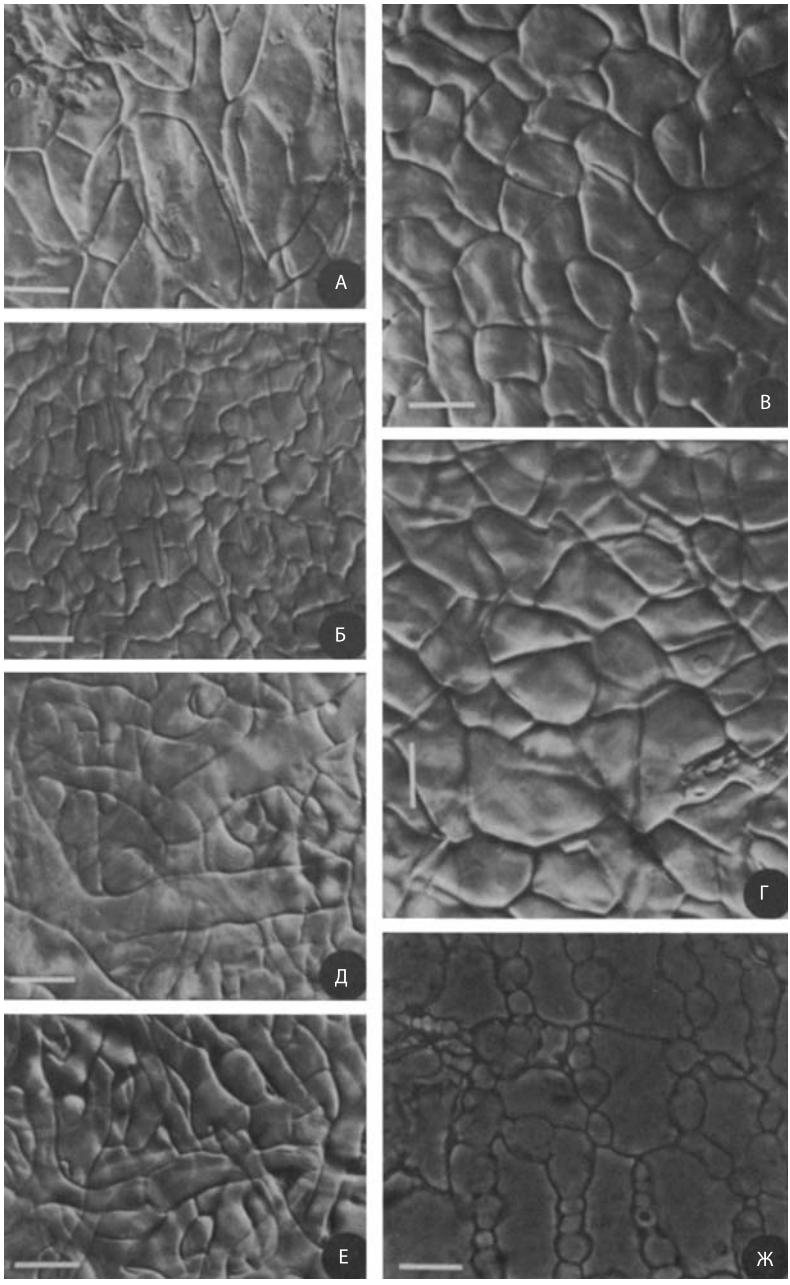


Рисунок 6.21. Различные слои чехла микоризы *Lactarius subdulcis*. А — гифальное сплетение, образующее поверхность чехла. Б — вид поверхности кончика микоризы. В — наружный псевдопаренхиматический слой чехла, вид с поверхности. Г — то же, что и на рисунке (В), но для более старого участка чехла. Д — внутренний, плектенхиматический чехол с млечными ходами, вид с поверхности. Е — внутренняя поверхность чехла. Ж — тангентальный срез через наружный слой коровых клеток и сеть Гартига. Масштаб 10 мкм. Из Agerer et al., 1987–2002, с разрешения.

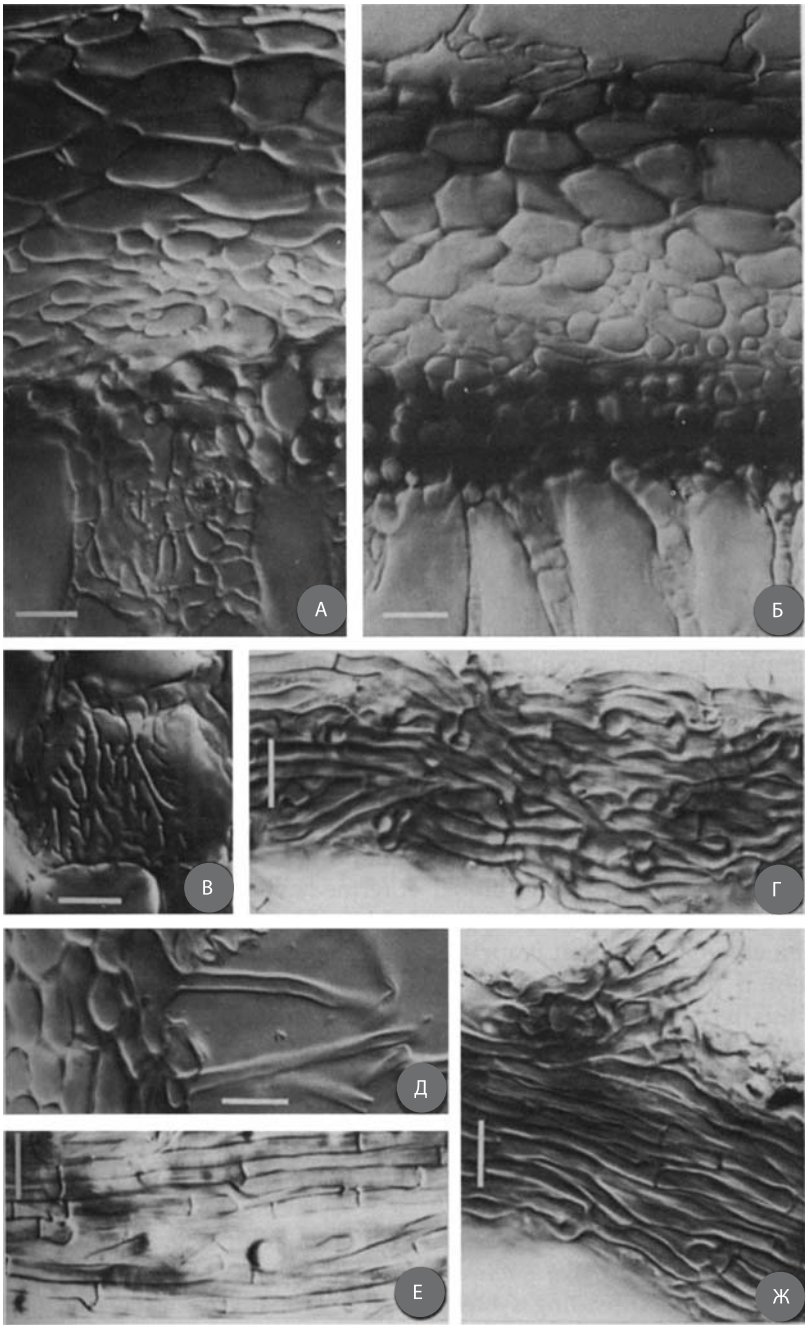


Рисунок 6.22. Характерные признаки микоризы *Lactarius subdulcis*. А — поперечный срез сети Гартига. Б — продольный срез, видны молодые растущие гифы. В — поперечный срез сети Гартига. Г — ризоморфа вблизи чехла. Д — поперечный срез растущей гифы. (е) Молодые ризоморфы, видны анастомозы. (ж) Ветвящаяся ризоморфа. Масштаб 10 мкм. Из Agerer et al., 1987–2002, с разрешения.

Значительные успехи были достигнуты в описании и идентификации микориз *Picea* (Agerer, 1986, 1987). Один из наиболее широко встречающихся типов ЭМ у *Picea abies* в Европе образует *Russula ochroleuca*. Его идентификация возможна на основании ряда признаков, в том числе, наличия ярких желто-зеленых участков, выявляемых при микроскопии, и угловатых клеток чехла, содержащих желтые гранулы (см. приложение 6.1А). Структурные особенности чехла и сети Гартига могут служить дополнительными источниками информации, помогающей в идентификации микобионта.

Структура и разведывательные стратегии ризоморф

В то время как гифы ЭМ чехла могут формировать структуры для запасания питательных веществ и вследствие тесного контакта с поверхностью корня играют ключевую роль в контроле транспорта питательных веществ между симбионтами, они не способны заметно увеличивать площадь колонизированного корня, прилегающую к почве (см. ниже). Эту функцию выполняет свободный мицелий, который в виде отдельных гиф или их агрегатов распространяется от чехла. Структурные особенности этих мицелиальных систем представляют интерес, так как они обеспечивают постоянное соединение чехла и почвы, таким образом создавая пути для транспорта питательных веществ. Выявление функций этих элементов ЭМ систем привело в последние годы к существенному смещению акцентов в исследовании симбиоза (Read, 1984, 1992; Agerer, 2006).

Простейший уровень организации можно наблюдать у аскомицетных симбионтов, таких как *Cenococcum geophilum* и *Tuber* spp., и у некоторых более широко распространенных базидиальных грибов. В этом случае гифы, отходящие от чехла, сохраняют свою индивидуальность, поодиночке проникая в почву. Большинство базидиомицетных симбионтов ЭМ, однако, образуют структуры, в которых гифы объединяются и отрастают от чехла почти параллельно, представляя собой сложный линейный орган. В номенклатуре подобных линейных агрегатов, состоящих из множества гиф, существует некоторая путаница. Их называют различными терминами: «пучок», «тяж», «ризоморфа». Термин «ризоморфа» имеет то преимущество, что он был впервые применен для описания структур этого типа, и в нем отражено морфологическое сходство с корнем. Ранее существовавшее неприятие этого термина в применении к ЭМ основано на точке зрения на ризоморфы как на структуры, закладывающиеся из инициалей в четко определенной апикальной меристеме (Garrett, 1963; Motta, 1969), в противоположность гифальным агрегатам ЭМ грибов с диффузным способом роста. В настоящее время известно, что ризоморфы *Armillaria* растут не в результате меристематической активности, а распространяются в виде фронта апикально удлиняющихся гиф, которые, сплетаясь, образуют структуру, несколько напоминающую меристему (Rayner et al., 1985). Таким образом, имеется непрерывный ряд структурной дифференциации (рис. 6.23), начинающийся от органов с выраженным апексом (рис. 6.23А), как у *Armillaria*, и завершающийся апикально диффузными системами, типичными для многих ЭМ грибов (рис. 6.23Д). Ввиду вышесказанного, была дана рекомендация использовать для этих гифальных агрегатов термин «ризоморфы» (Cairney et al., 1991).

Р. Агерер (Agerer,1991a, 1995) выделяет шесть типов строения ризоморф (рис. 6.24). Наиболее простые структуры — недифференцированные скопления свободно переплетающихся гиф равного диаметра, имеющие слабо выделяющийся край (тип a, рис. 6.24). Также недифференцированную, но более компактную структуру (тип b, рис. 6.24) с ровным краем образуют виды *Laccaria* и *Lactarius* (табл. 6.7).

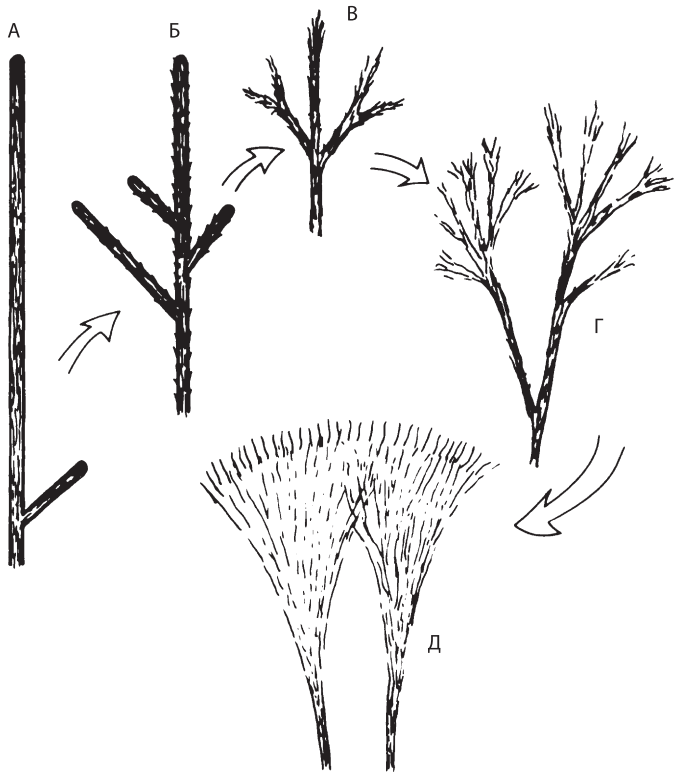


Рисунок 6.23. Стадии развития ризоморф различных типов, начиная от (А) систем с организованными апексами *Armillaria*-типа, и до типичных для большинства эктомикоризных грибов (Г, Д), где рыхлый, обычно вееровидный мицелиальный фронт производит поиск питательных веществ в среде. Из Rayner et al., 1985, с разрешения.

Некоторое утолщение центральных гиф в пределах агрегата дает структуру более сложного строения (тип c, рис. 6.24). Заметное усложнение наблюдается в типах d, e и f (рис. 6.24), где внутренние гифы имеют значительно больший диаметр. В типе d гифы большего диаметра распределены случайно, в то время как у более высокоорганизованных типов (e и f) присутствует сердцевина из более толстых гиф, у которых в типе f исчезают поперечные перегородки.

Таблица 6.7. Примеры видов эктомикоризных грибов с разными типами строения ризоморф.

a	*Cortinarius obtusus, Dermocybe cinnamomea, Tricholoma sulfureum*
b	*Laccaria amethystina, Lactarius deterrimus, Lactarius vellereus*
c	*Gomphidius glutinosus, Thelephora terrestris*
d	*Cortinarius hercynicus, Cortinarius variecolor*
e	*Tricholoma saponaceum*
f	*Leccinum scabrum, Paxillus involutus, Scleroderma citrinium, Suillus bovinus, Xerocomus chrysenteron*

Буквенные обозначения a–f относятся к рис. 6.24. Данные взяты из Agerer, 1991a.

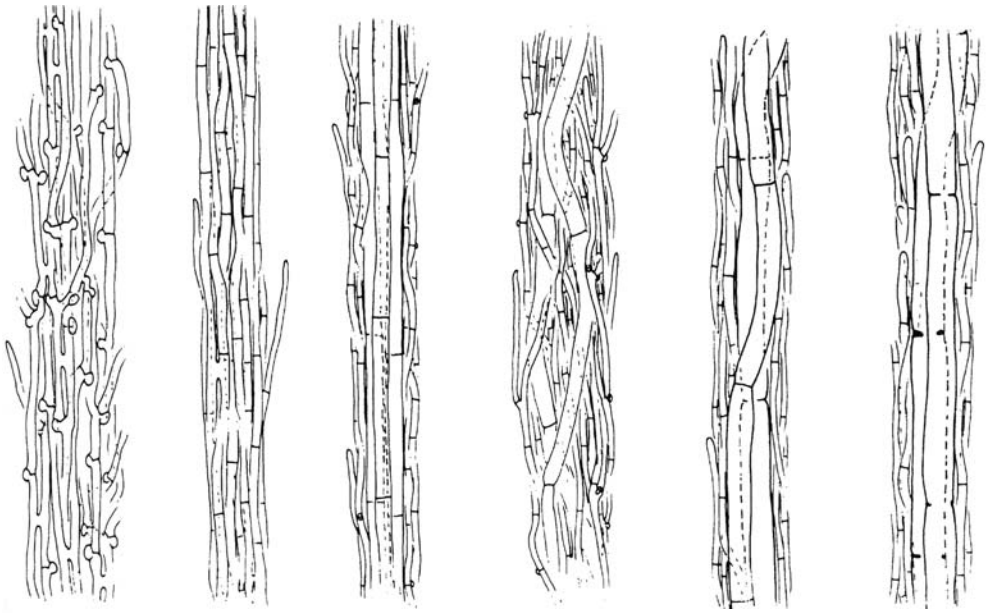


Рисунок 6.24. Схематическое изображение ризоморф различных типов, образуемых эктомикоризными грибами. Описания см. в тексте. Из Agerer, 1991a, с разрешения.

Четкие различия в структурной дифференциации типов ризоморф также отражены в степени их пролиферации в почве. Р. Агерер (Agerer, 2001) описал пять четко различимых «разведывательных стратегий» (рис. 6.25), каждая из которых представляет собой все более обширное распространение гиф или гифальных агрегатов и ассоциированных с ними мицелиальных сетей в питательной среде. Стратегии 1 и 2 носят название «контактной» и «близкой дистанции» соответственно, и присутствуют у грибов, не образующих ризоморф. В эту категорию попадают несколько видов *Russula* и *Lactarius*. Большинство ЭМ-образующих аскомицетов, особенно, *Cenococcum*, демонстрируют стратегию близкой дистанции. Стратегия 3, «средней дистанции», имеет три варианта (рис. 6.25). Они представляют разные уровни организации обычно недифференцированных ризоморф структурного типа a (см. рис. 6.24). Среди них стратегия 3b характерна для *Gautieria, Hysterangium* и *Hydnellum*, грибов, образующих мицелиальные маты. Напротив, стратегия 4 (рис. 6.25), «длинной дистанции», включает образование мощных дифференцированных ризоморф, принадлежащих к структурному типу f (см. рис. 6.24). В этой категории находятся многие важные ЭМ симбионты, в том числе виды родов *Boletus*, *Paxillus*, *Pisolithus*, *Rhizopogon* и *Suillus*. Стратегия 5 (рис. 6.25), называемая поиском «на закорках» (pick-a-back), наиболее часто обнаруживается у семейства Gomphidiaceae, представители которого образуют гифы контактной или близкой дистанции, которые пронизывают ризоморфы других ЭМ грибов или следуют вдоль них. Насколько эти структурные черты разведывательной стратегии отражают функциональное значение, еще предстоит выяснить, но само по себе изучение анатомии и архитектуры систем свободного мицелия может содержать потенциал для исследования поглощения питательных веществ. Р. Агереро́м (Agerer, 2006) написана подробная обзорная работа, посвященная взаимосвязи между таксономическим положением ЭМ грибов и структурными особенностями их гифальных чехлов, ризоморф и мицелиальных систем.

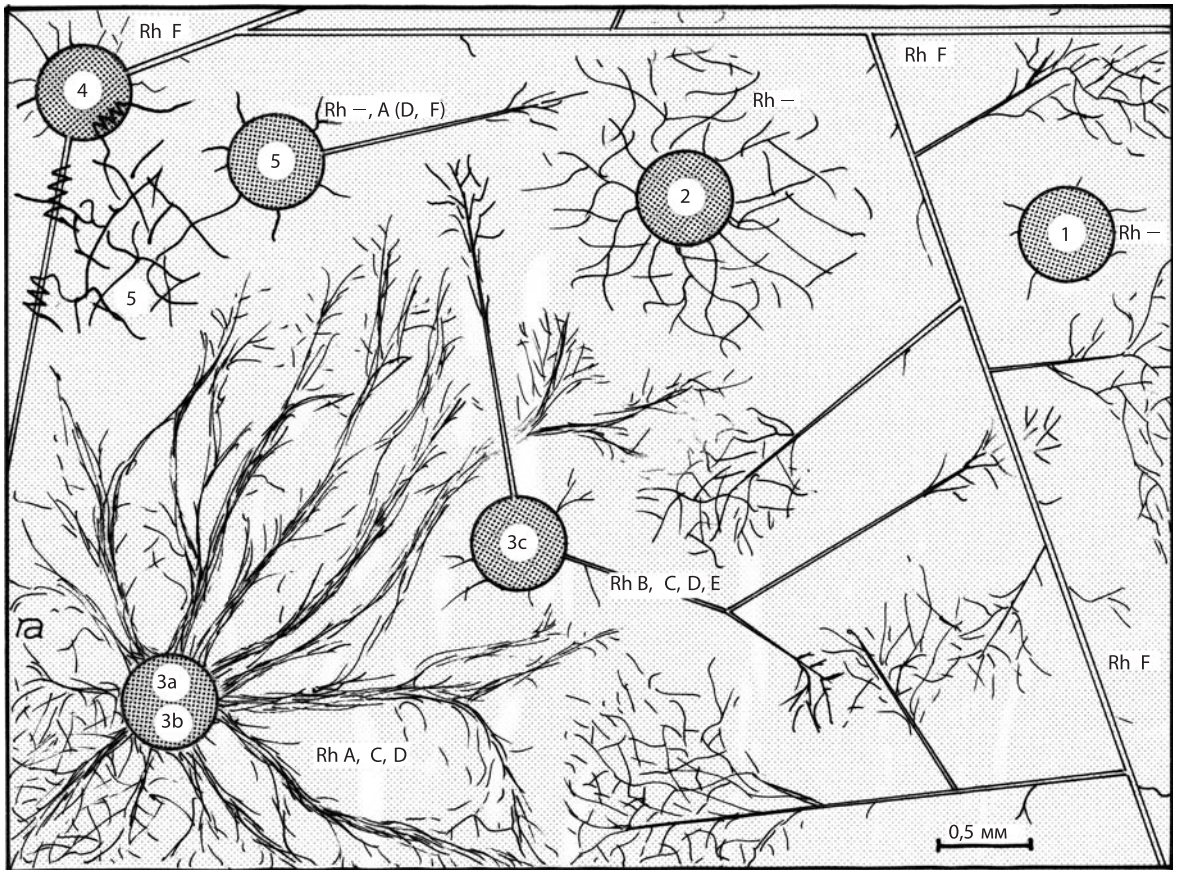


Рисунок 6.25. Схематическое изображение различных разведывательных стратегий ризоморф. 1 — контактная; 2 — близкой дистанции; 3a, b, c — стратегия средней дистанции; 4 — стратегия длинной дистанции; 5 — стратегия поиска «на закорках». Все рисунки приведены в масштабе. Rh — ризоморфа; – — ризоморфы отсутствуют; A–F — типы строения ризоморф. Из Agerer, 2001.

Процесс формирования ризоморф

На искусственных средах, жидких или содержащих агар, мицелий ЭМ грибов образует густой «пух», его рост в основном недифференцированный, что нехарактерно для природных условий, когда грибы растут в симбиозе. На гетерогенных естественных субстратах существует значительная морфогенетическая пластичность, заметная как на растущем крае мицелиального фронта, так и на зрелых участках позади области роста. Гифы, вступающие в контакт с еще не колонизированным корнем, начинают формирование микоризы. Таким образом, к примеру, сеянцы встраиваются в мицелиальную сеть (рис. 6.26). Когда гифы продвигающегося вперед фронта касаются каких-либо частиц или агрегатов, они могут начать многократно ветвиться, до четырех раз увеличиваются в диаметре и образуют толстые ослизненные стенки. Подобные морфогенетические изменения описаны при контакте с минеральными и органическими веществами (Read et al., 1985; Ponge, 1990; Agerer, 1992). Интенсивная пролиферация гиф может быть вызвана внесением в слабо растущую мицелиальную систему органических субстратов определенного типа (рис. 6.27, см. также приложение 6.2В, Г, 6.3Б) (Read, 1991a; Unestam, 1991; Bending, Read, 1995a; Read et al., 2004). Есть свидетельства (см. гл. 9, 10 и 15), что подобная пролиферация влияет на мобилизацию питательных веществ вносимого субстрата.

Позади растущего края мицелиального «веера» параллельно идущие гифы все больше сближаются, образуя линейные агрегаты, которые постепенно достигают таких размеров, что становятся хорошо заметными ризоморфами. Сборка ризоморфы и когезия в ней обеспечивается рядом механизмов, которые, действуя индивидуально или в сочетании, способствуют образованию структур, приведенных на рисунках 6.23 и 6.24. Как наиболее важные из них Р. Агерер отмечал анастомозы, создающие перемычки между гифами, слипание гиф благодаря ослизнению стенок и образование разветвлений в разных направлениях (Agerer, 1992). Перемычки могут обеспечивать открытые соединения между скрепленными вместе гифами или вторично «закрываться» посредством пряжки или простой септы. Так как в септах высших грибов имеется центральная пора, такое перекрывание не обязательно нарушает непрерывность цитоплазмы или транспорт веществ. Тем не менее, полное закрытие поры может быть выгодным, если оно обеспечивает изоляцию тех частей ризоморфы, в которых, по тем или иным причинам, непрерывность цитоплазмы была нарушена.

Образование растущих вперед или назад ответвлений, часто от пряжек основной гифы – признак, обычно характеризующий ризоморфы, что было установлено при изучении онтогенеза дереворазрушающего гриба *Serpula lacrymans* (Butler, 1958). Эти вторичные элементы, называемые «гифы-усики» (tendril hyphae), окружают более крупные центральные элементы. Сходный план строения имеют ризоидальные ризоморфы мха *Polytrichum juniperinum* (Agerer, 1991c). Независимое происхождение этой структуры в растительном и грибном царствах предполагает наличие некоторых полезных свойств, в том числе, возможно, повышенную механическую прочность. «Усики» окутывают основную гифу, из которой они образуются, заполняются цитоплазмой и формируют наружный матрикс, который цементирует структуру. У наиболее сложных микоризных ризоморф, таких как образуемые *Suillus bovinus* (Duddridge et al., 1980; Read, 1984) и *Leccinum scabrum* (Brand, 1989), эти более тонкие структуры обрамляют группу толстых центральных гиф. Центральные элементы утрачивают цитоплазму и постепенно лишаются поперечных септ, образуя трубчатые структуры, внешне сходные по форме и осевому расположению с сосудами в ксилеме растений и получившие по этой причине название «гифы-сосуды».

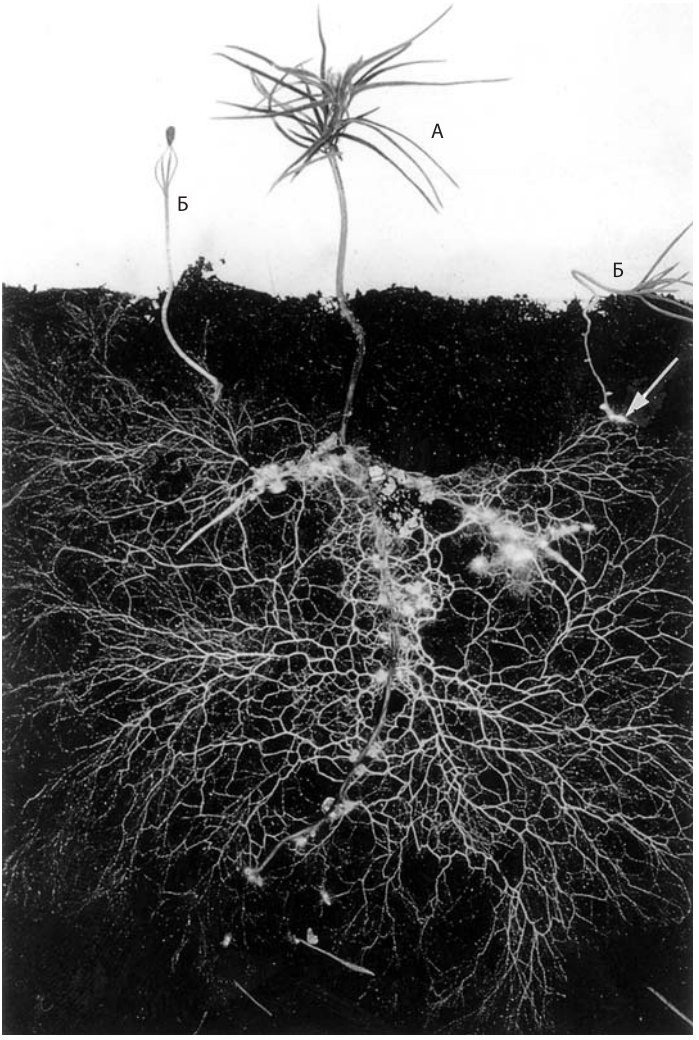


Рисунок 6.26. Развитие обширной мицелиальной сети и ризоморф у *Suillus bovinus* в симбиозе с сеянцем *Pinus sylvestris* (А). Обратите внимание на распространение системы свободного мицелия, в которой формируются микоризы (отмечено стрелкой) прорастающих сеянцев (Б). Из Read, 1991c, с разрешения. См. также приложение 6.3А.

Посредством микроскопии установлено, что полностью дифференцированные гифы-сосуды вначале появляются в ризоморфе сразу позади продвигающегося мицелиального фронта. Они проходят по всей длине ризоморфы, но не достигают чехла ЭМ корня. Соединение между ризоморфой и поверхностью чехла обычно образуется свободными агрегатами недифференцированных гиф, которые могут ветвиться, формируя дельтовидную структуру, сливающуюся с системой чехла. Анализ зоны соединения при световой микроскопии показал, что непрерывность между какими бы то ни было дифференцированными элементами ризоморфы и чехла отсутствует. Р. Агерер (Agerer, 1990) описал ветвление гиф-сосудов у *S. bovinus*: по мере приближения ризоморфы к поверхности чехла, более тонкие элементы,

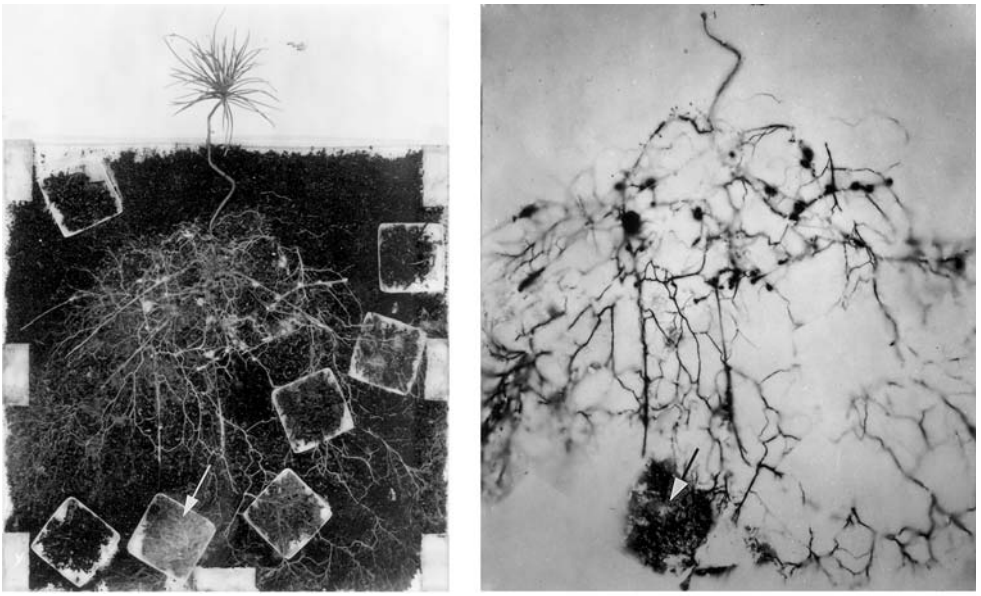
отходящие от сосудов, пересекают переходную зону, переплетаясь с гифами чехла. У менее дифференцированных ризоморф *Sarcodon imbricatus*, слабо утолщенные центральные гифы также проксимально ветвятся, и их конечные разветвления врастают во внутреннюю часть чехла, где находятся в близком контакте с поверхностью корня (Agerer, 1991b). Есть данные об анастомозах между гифами чехла и теми, которые проникают из ризоморфы. Таким образом, получается, что основная структура обеспечивает поляризованный транспорт между чехлом и почвой, и распространение в ней.

На дистальном конце ризоморфы в почве также имеется вееровидное разветвление тонких гиф, характер распределения индивидуальных элементов, очевидно, определяется природой источников веществ, с которыми они сталкиваются. Строение типичного пути чехол-ризоморфа-гифальный фронт отражено в приложении 6.2А–Г и 6.3Б. Эти черты строения очень важны как при добывании веществ из почвы, так и для распределения минеральных элементов питания и органического С, поступающего из корня, в грибной биомассе. Ветвящаяся система гиф также быстро колонизирует корни сеянцев, после того как они проникают в почву при прорастании, включая молодые растения в общую мицелиальную сеть (см. приложение 6.3А).

Развитие системы свободного мицелия

В ранних экспериментах с эктомикоризой А.Б. Хэтч (Hatch, 1937) подчеркнул важность растительной архитектуры в более активном поглощении питательных веществ при образовании ЭМ, когда в результате колонизации усиливается ветвление корней. Довольно большое значение мицелиальной архитектуры было выявлено позднее при сравнении площади поглощающей поверхности, достигаемой путем ветвления корней или обеспечиваемой мицелием видов *Cenococcum geophilum* и *Pisolithus tinctorius* при колонизации *Pinus taeda* (Rousseau et al., 1994) (см. табл.10.5). Авторы обнаружили четырехкратное увеличение площади поверхности корня в симбиозе с *P. tinctorius*, но у сеянцев, колонизированных *C. geophilum* ничего подобного отмечено не было. Было показано, что, в основном, влияние как на площадь поглощающей поверхности, так и на поступление питательных веществ к растению оказывают свойства гриба. Колонизация *P. tinctorius* вызывала 47-кратное увеличение площади поверхности за счет мицелия и значительное усиление поглощения Р; *C. geophilium* — 28- кратное увеличение площади поверхности, но поглощение Р сравнительно с немикоризными растениями не усиливалось. Так как виды *P. tinctorius* и *C. geophilum* занимают краевые области спектра мицелиальных разведывательных стратегий (Стратегии 4 и 2 соответственно) (Agerer, 2001), результаты этого эксперимента способствуют выявлению взаимосвязи между структурой и функциями в мицелиальных системах. Насколько такие различия выражены в природных условиях, будет определяться плодородностью почвы. Вероятно, влияние будет выражено максимально при истощении.

Основные процессы роста и дифференциации свободного мицелия у образующих ризоморфы ЭМ грибов были описаны и охарактеризованы количественно при наблюдении развития в прозрачных камерах, содержащих нестерильные естественные субстраты (рис. 6.27) (Brownlee et al., 1983; Read et al., 1985; Finlay, Read, 1986). При заданном температурном режиме (15 ºС днем, 10 ºС ночью) и протяженности светового дня (18 ч) мицелий *Suillus bovinus* распространялся от колонизированных корней *Pinus* spp. в форме недифференцированного веерообразного фронта гиф с постоянной скоростью 2–4 мм/день. В течение вегетационного сезона при



А Б

Рисунок 6.27. Развитие мицелия *Suillus bovinus*, растущего от микоризного растения в камере для наблюдений. А — дисперсная колонизация торфяного субстрата и интенсивная пролиферация мицелия в поддонах, содержащих подстилку из горизонта FH (отмечено стрелкой). Б — авторадиография той же самой камеры после внесения $^{14}CO_2$ к побегу. Обратите внимание на интенсивное мечение колонизированного поддона (отмечено стрелкой). Из Bending, Read, 1995a, с разрешения.

естественном температурном режиме и продолжительности светового дня была измерена скорость роста *Thelephora terrestris* и *Laccaria laccata* на корнях *Picea sitchensis* (Coutts, Nicoll, 1990a). В июле для мицелия *T. terrestris* была отмечена средняя скорость 3 мм/день, в то время как у *L. laccata* она составляла 2 мм/день (рис. 6.28). В период с июня по ноябрь веерообразный мицелий, распространяющийся от колонизированных корней, достиг расстояния 0,24 м. Мицелий *T. terrestris* продолжал расти в течение зимы, хотя и со значительно меньшей скоростью, 0,44 мм/день.

Во время вегетационного сезона материнские корни ели растут с несколько более высокой скоростью, чем гифальный фронт (см. рис. 6.28, сравните В и Г), но, так как среднее расстояние от кончика такого корня до самого молодого короткого корня, образующегося из его оси, обычно больше, чем до гифального фронта, как только боковые корни попадают в зону гриба, они быстро колонизируются. В то время как рост корней замедлялся в зимние месяцы, мицелий *Thelephora terrestris* продолжал рост с декабря по март. Напротив, мицелий *Laccaria laccata* не был отмечен после октября (Coutts, Nicoll, 1990a). Когда мицелиальная сеть *T. terrestris* зимой затапливалась водой, недифференцированные части мицелия проявляли признаки старения, но ризоморфы сохраняли свою структуру, и таким образом обеспечивали «скелет», от которого могли образовываться новые гифы при улучшении условий в почве (Coutts, Nicoll, 1990b).

В нескольких исследованиях степень развития свободного мицелия была оценена количественно (Read, Boyd, 1986; Jones et al., 1990; Francis, Read, 1994; Rousseau et al., 1994), что помогает измерить его вклад в площадь потенциальной поглоща-

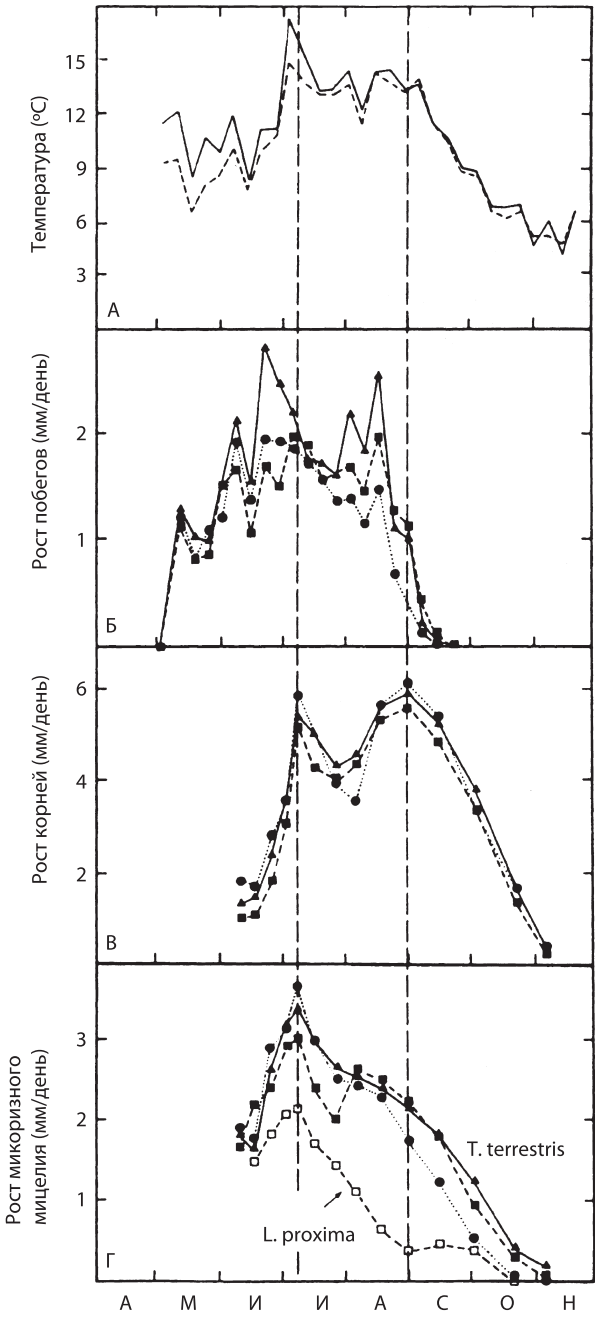


Рисунок 6.28. Кумулятивные кривые роста трех клонов (■, ▲, ●) *Picea sitchensis* и их микоризных грибов в течение 1987 г. На рисунке (Г) символы без заливки обозначают *Laccaria proxima*, а символы с заливкой — *Thelephora terrestris*. А — сезонные колебания температуры; Б — рост побегов; В — рост корней; Г — рост мицелия. Из Coutts, Nicholl, 1990a, с разрешения.

ющей поверхности растения. Д.Дж. Рид и Р. Бойд (Read, Boyd, 1986) определяли длину гиф у ряда видов ЭМ грибов после трех месяцев выращивания с сеянцами *Pinus sylvestris* на нестерильном торфе без удобрений. Были получены значения в диапазоне от 2000 до 8000 м/м колонизированного корня. Для *Pisolithus tinctorius* через восемь недель роста с сеянцами *P. taeda* в нестерильном и в стерильном кварцевом песке значение длины гиф равнялось 504 м/м корня (Rousseau et al., 1994). Оно близко к значениям, полученным для *Laccaria proxima* (289 м/м) и *Thelephora terrestris* (308 м/м) при выращивании в течение 12 недель на стерильном или обогащенном песчаном субстрате с *Salix viminalis* (Jones et al., 1991).

Различия в результатах экспериментов по измерению длины гиф вполне ожидаемы, особенно, при том, что субстраты варьируют в пределах от торфа до песка. Спорный вопрос, являются ли высокие значения, полученные на органических субстратах с низким содержанием питательных веществ, наиболее сходными с таковыми в природных почвах. Тем не менее, имеющиеся различия в данных о длине гиф, полученных в разных экспериментах, не должны отвлекать внимание от главного: того, что присутствие свободного мицелия колоссально увеличивает потенциальную поглощающую поверхность корневой системы. Невозможно переоценить значимость этого компонента микоризного симбиоза.

Успеху исследований в этой области способствовало развитие методов количественного учета мицелия в природных условиях (Wallender et al., 2001; Nilsson, Wallander, 2003; Hagerberg et al., 2003). Наиболее широко используемым является закапывание сетчатых мешочков с песком в область корневой системы в лесных почвах. Мешочки имеют отверстия, недоступные для корней, но позволяющие рост гиф через них. Песок используется для предотвращения развития сапротрофных грибов, а также для облегчения подсчета гифальной биомассы. Но даже с применением этого субстрата необходимо проводить различие между ЭМ и сапротрофными грибами, которые могут попасть в мешочки.

Работая в лесу, представленном смесью сосны (*Pinus sylvestris*) и ели (*Picea abies*), Х. Валлендер с соавт. (Wallender et al., 2001) получили различие между функциональными группами грибов посредством двух независимых методов. Первый включал сравнение мицелиального содержимого мешочков, размещенных в ненарушенном лесу, с теми, которые были закопаны на площадках, где ЭМ мицелий удалили путем окапывания корней. Второй метод заключался в масс-спектрометрическом определении углеродных изотопных подписей собранного мицелия. Он основан на том, что, так как ЭМ и сапротрофные мицелиальные системы поддерживаются разными источниками органического С, известно, что эти группы различаются по ^{13}C подписям (Högberg et al., 1999). С помощью обоих методов показано, что около 85% мицелия, занимающего мешочки, расположенные в ненарушенном лесу, принадлежало ЭМ грибам. Позднее при использовании молекулярных техник для характеристики мицелия, колонизирующего заполненные песком сетчатые мешочки, размещенные в буковом лесу, было установлено, что 83% обнаруженных последовательностей приходится на ЭМ грибы (Kjoller, 2006). Х. Валлендер с соавт. (Wallender et al., 2001) провели количественный учет с использованием специфичного для грибов биомаркера эргостерина (Nylund, Wallander, 1992) и фосфолипидной жирной кислоты 18:2ω6,9 (Olsson, 1999) для определения биомассы ЭМ мицелия. Было получено значение 125–200 кг/га для годовой продукции мицелия, эта цифра близка к значению биомассы тонких корней, от которых отходит мицелий. С допущением, что, согласно имеющимся данным (Rousseau et al., 1994), в среднем отношение длины гиф к массе равно 0,83 м/мкг, такая продуктивность дает потенциальную поглощающую поверхность 70–112 $м^2/м^2$ лесной почвы. На основании значений площади общая биомасса ЭМ мицелия (т.е., свободного мицелия и ЭМ чехлов) была определена как 700–900 кг/га. Исследование Х. Валлендера с со-

авт. (Wallender et al., 2001) подтвердило наблюдения предыдущих исследователей (Coutts, Nicoll, 1990a), что в бореальных хвойных лесах основной рост мицелия, ассоциированного с тонкими корнями, происходит в период с июля по октябрь.

Недавно полученные данные предполагают, что даже высокие значения продуктивности ЭМ мицелия, показанные в работах с использованием мешочков, наполненных песком, могут быть заниженными. Дж.Дж. Хендрикс с соавт. (Hendricks et al., 2006) провели сравнительный анализ продуктивности мицелия в мешочках с песком и содержащих почву из соснового леса. Помимо подтверждения того, что в обоих типах мешочков мицелий принадлежал в основном ЭМ грибам, авторы также выявили, что гифальная биомасса в естественной почве была почти на 300% выше, чем в соответствующих мешочках с песком. Таким образом, получается, что оценки длины гиф и биомассы ЭМ грибов, полученные в природных условиях, достаточно консервативны, но желательно проведение исследований в почвах разного типа.

Был рассчитан вклад мицелия ЭМ грибов в микробную биомассу почвы в лесу с преобладанием сосны (Högberg, Högberg, 2002). После кольцевания деревьев в середине августа (см. гл. 8) было показано снижение количества микробного C и N. Основываясь на том, что оно в большой степени отражает влияние приостановки поступления продуктов фотосинтеза к микоризному компоненту микрофлоры, авторы заключили, что ЭМ мицелий составляет, по меньшей мере, одну треть общей микробной биомассы и вместе с ассоциированными с ним корнями привносит половину растворенного органического C в почву.

Молекулярно-генетические подходы к изучению распространения эктомикоризного мицелия и корневых окончаний в природных условиях

Сочетание тестов на вегетативную несовместимость, изучения последовательностей ДНК и применение микросателлитных маркеров позволило расширить знания о распределении ЭМ грибных фенотипов в лесных почвах. В гетерокариотической фазе мицелии базидиомицетов, происходящие из одной и той же генеты, способны сливаться, хотя генетически неидентичные штаммы отторгаются, поддерживая таким образом свою целостность. Были показаны различия между видами ЭМ грибов по степени выраженности вегетативной несовместимости (Fries, 1987). У таких видов как *Paxillus involutus*, *Pisolithus tinctorius* и *Thelephora terrestris* она не проявляется, *Suillus luteus* и *S. variegatus* в некоторой степени демонстрируют этот феномен, в то время как у *Amanita muscaria*, *Hebeloma mesophaeum* и *Laccaria proxima* гетерокарионы из разных генет стабильно несовместимы. Отмечая наличие либо отсутствие отторжения в парах изолятов из плодовых тел *Suillus bovinus*, собранных в посадках *Pinus sylvestris* разного возраста на территории Швеции, А. Дальберг и Я. Стенлид (Dahlberg, Stenlid, 1990) смогли обнаружить взаимосвязь между числом присутствующих генет, площадью, занимаемой каждой из них, и возрастом деревьев, с которыми они ассоциированы. Площадь, занимаемая единственной генетой, и их число на единицу площади снижаются с увеличением возраста деревьев. В 10–20-летних посадках присутствовало 700–900 генет/га, и расстояние между самыми удаленными совместимыми плодовыми телами каждой генеты было 4–5 м. В 100-летних посадках обнаружено всего 30–100 генет/га, и диаметр каждой составлял порядка 14–20 м. Генеты такого размера окружают несколько деревьев, которые таким образом оказываются соединены генетически однородным мицелием.

Анализы последовательностей ДНК (Anderson et al., 2001; Sawyer et al., 2003; Guidot et al., 2004) или микросателлитных маркеров (Dunham et al., 2003; Kretzer et al., 2004) обладают тем преимуществом, что позволяют избежать времязатратных процедур выделения и поддержания культуры для установления генетической идентичности. Также они могут быть применены к видам или изолятам, которые не проявляют несовместимости в культуре. Такие исследования показывают, что размер генет варьирует в очень широких пределах между видами, и подтверждают значительное влияние нарушений и возраста деревьев-симбионтов в сообществе. Индивидуальные генеты могут занимать большие сплошные площади, некоторые из них достигают размера свыше 50 м^2 (Anderson et al., 2001; Sawyer et al., 2003). Тем не менее, степень взаимосвязи мицелиальной сети на таких больших пространствах остается пока невыявленной. Весьма вероятно наличие межродовых и межвидовых различий в продолжительности жизни и размерах мицелиальных генет. Таким образом, получается, что большинство генет *Hebeloma cylindrosporum* сменяется быстро сравнительно с таковыми у *Suillus bovinus*, и первые ежегодно обновляются путем прорастания спор (Guidot et al., 2004).

Применение методов T-RFLP и ITS рДНК предоставило возможность видоспецифичного различения распространения микоризных корней и ассоциированного с ними свободного мицелия по профилю слабоподзолистой почвы (Genney et al., 2006). Пространственное распределение этих двух компонентов было закартировано для семи различных видов совместно встречающихся ЭМ грибов, причем некоторые, как было показано, образуют микоризы в почвенных горизонтах, отличных от тех, в которых развивается их свободный мицелий. Наблюдения на этом уровне, возможно, дадут ответы на важные вопросы, касающиеся функциональных аспектов поиска грибами питательных веществ в природных условиях.

Продолжительность жизни микоризного корневого окончания

Появление, созревание и старение отдельных микоризных окончаний и целых ЭМ корневых систем представляет собой динамичный процесс, и влияние происходящих при этом изменений в развитии заметно на разных пространственных уровнях, начиная от транспорта питательных веществ через контактную зону симбионтов и завершая круговоротом биомассы в масштабах экосистемы. Неудивительно, что процессы, идущие в столь различном пространственном масштабе, имеют также разные временные рамки.

Так, в более старых работах указано, что, хотя функциональная продолжительность жизни контактной зоны гриб–корень порядка нескольких дней (Downes et al., 1992), структурные элементы тонких корней могут сохраняться в почве годами (Orlov, 1957, 1960). Эти временные различия, которые оказывают существенное влияние как на обмен питательными веществами на уровне отдельной особи растения, так и на круговорот C в пределах экосистемы, осложняют изучение и определение продолжительности жизни ЭМ корневого окончания (Högberg, Read, 2006). Учитывая эти трудности, следует различать сроки функционирования на клеточном уровне и жизни ЭМ окончания в целом.

Дж.М. Даунс с соавт. (Downes et al., 1992) изучили и сравнили ультраструктуру контактной зоны в ЭМ корнях ели, колонизированных *Tylospora fibrillosa* и *Paxillus involutus*. В ходе исследования было выяснено, что продолжительность существования этого важного пути обмена питательных веществ составляет всего несколько дней. Процесс старения коровых клеток в районе сети Гартига начинается в те-

чение 2–3 дней с момента контакта партнеров по симбиозу. Отмирание идет в направлении от проксимальных к дистальным участкам корня, так что сроки функционирования коротких корней в конечном счете определяются отрезком времени, на протяжении которого меристема продолжает формировать новые коровые клетки в дистальной области. Стареющие меристематические клетки наблюдались в микоризах *T. fibrillosa* в возрасте 60–85 дней и *P. involutus* в возрасте 25–50 дней. При использовании витального красителя флуоресцеин-диацетата было подтверждено, что физиологическая активность в области грибо-растительной контактной зоны заметно снижалась в микоризах старше 85-дневного возраста. Оценка продолжительности жизни на этом уровне осложняется тем, что некоторые очевидно стареющие меристемы могут периодически давать повторные вспышки роста, приводящие к образованию новой коры. Эта активность приводит к появлению так называемых четковидных микориз (Thomson et al., 1990a). Разрушение стелы в проксимальной относительно меристемы области происходит значительно позднее и, так как тонкие корни закладываются в перицикле, у растения в течение длительного периода после разрушения контактной зоны сохраняется способность к образованию новых корней (Downes et al., 1992). При изучении распределения связанных с мембраной АТФаз в зоне контакта у микориз *Pinus sylvestris – Laccaria laccata* в возрасте 32 дней было выявлено, что в области сети Гартига уже присутствуют и стареющие и вполне жизнеспособные клетки (Lei, Dexheimer, 1988). Высокая ферментативная активность была обнаружена только на живых контактных зонах, что опять же указывает на то, что поверхности, где идет обмен, имеют срок жизни порядка нескольких дней.

Исследование анатомии тонких корней 100-летней ели (*Picea abies*) (Orlov, 1957, 1960) выявило резкий контраст между продолжительностью функционирования микоризной контактной зоны и сроками существования всего органа в целом. Основываясь преимущественно на облике тканей стелы, А. Орлов вычислил, что свыше 40% таких корней сохраняли жизнеспособность более, чем в течение трех лет. Эти значения согласуются с полученными в недавних работах методом прямого измерения подземного распределения С (Andrews et al., 1999; Matamala et al., 2003). При широкомасштабном применении технологии FACE (Free Air Carbon dioxide Enrichment — Обогащение атмосферы углекислым газом), позволяющем вносить метку $^{13}CO_2$ и прослеживать продукты фотосинтеза, было подсчитано, что период оборота тонких корней *Pinus taeda* составляет около 4 лет. Сходные значения были получены при расчетах, базирующихся на затухании ^{14}C сигнала, оставшегося в окружающей среде после испытаний ядерного оружия в 1960-х гг. Для продолжительности жизни тонких корней в лесах умеренной зоны эти оценки методом так называемой «углеродной бомбы» равнялись 3–18 годам (Gaudinski, 2000, 2001; см. также гл. 7). Данные прямого учета, основанного на методе закапывания отдельных ЭМ корней колорадской сосны (*Pinus edulis*) в естественных местообитаниях, подтвердили, что для очень слабого разложения требуется не менее двух лет (Langley et al., 2006).

Данные, приведенные выше, заставляют серьезно усомниться в результатах, полученных преимущественно на основании методов бурения почвы и свидетельствующих о том, что время оборота ЭМ окончаний ели и сосны составляет месяцы, а не годы (Persson, 1979; Vogt et al., 1981; Alexander, Fairley, 1983; Santantonio, Santantonio, 1987; Ruess et al., 2003). Исходя из данных прямых измерений распределения С и круговоротов, описанных ранее, значения, полученные на основе наблюдений таких признаков, как утрата корнями тургора и потемнения корневого апекса, представляют собой сильно заниженные оценки продолжительности жизни этих структурных единиц в почве. Ввиду того, что биомасса тонких корней в лесных экосистемах очень велика, очевидные противоречия между двумя типами дан-

ных серьезно затрудняют расчет глобальных запасов С (см. гл. 7). Современные данные показывают, что контактные зоны симбионтов в ЭМ окончаниях функционируют в пределах нескольких дней или недель, в то время как продолжительность существования всей структуры как органического компонента почвы составляет скорее годы, чем месяцы.

Важно помнить, что, хотя продолжительность жизни отдельного короткого корня как функционирующей микоризы может быть мала, длинные корни ЭМ деревьев продолжают расти в течение вегетационного сезона, и на их осях могут постоянно образовываться новые короткие корни.

Сукцессии микориз и микоризных грибов

Исследования на уровне сообществ

Основываясь на изменениях в пространственных и временных характеристиках встречаемости плодовых тел вокруг деревьев бука, Ф.Т. Ласт и его группа (Mason et al., 1982, 1983; Last et al., 1983; Deacon et al., 1983; Dighton, Mason, 1985) пришли к выводу, что виды *Hebeloma*, *Inocybe* и *Laccaria*, которые первыми «плодоносили» около молодых деревьев, могут быть отнесены к грибам «ранней стадии», в отличие от родов *Lactarius*, *Leccinum* и *Russula*, появляющихся позднее и представляющих собой «позднюю стадию» (рис. 6.29). Несмотря на то, что достоинством этой классификации является ее простота, она подвергалась критике, потому что грибы «ранней стадии» не приурочены только лишь к молодым деревьям (Arnolds, 1991), и потому, что наблюдения были проведены в экологически неестественных условиях, так как деревья были посажены в агротехнически обработанную почву (Read, 1991a; Molina et al., 1992; Newton, 1992). Подтверждением последнего основания для критики послужило то, что, когда сеянцы бука развиваются, как это часто бывает в природе, под пологом взрослых деревьев, они колонизируются преимущественно грибами «поздней стадии» (Fleming, 1983, 1984). Было отмечено, что, так как многие из видов грибов, осуществляющих раннюю колонизацию, являются «разностадийными» компонентами ЭМ грибного сообщества, строгое соблюдение бинарной схемы, предложенной Ф.Т. Ластом с соавт. (Last et al., 1987) некорректно (Danielson, Pruden, 1989).

Несмотря на недостатки использования терминов «ранняя» и «поздняя стадия», проведенные работы свидетельствуют о том, что в природных условиях существует разделение между группой грибов, способных колонизировать корни деревьев в пионерных или нарушенных местообитаниях, и группой симбионтов, колонизирующих сеянцы, распространяясь от корней взрослых деревьев в лесных сообществах. Вначале было убедительно показано, что важной чертой биологии грибов, колонизирующих растения в безлесных условиях является способность образовывать микоризы из спор (Fox, 1986) (табл. 6.8). Последующими исследованиями было подтверждено, что различие между грибами, возобновляющимися преимущественно из спор, и теми, которые распространяются преимущественно путем роста мицелия, имеет как биологическое, так и экологическое значение (Nara, Hogetsu, 2004; Nara, 2006a; см. гл. 16).

Каковы бы ни были достоинства классификаций, основанных на образовании плодовых тел, очевидно, что они могут только косвенно свидетельствовать о структуре популяции ЭМ грибов на корнях как таковых. Это было отмечено в исследовании ЭМ сообществ в посадках *Picea sitchensis* (Taylor, Alexander, 1989). Несмотря на высокое разнообразие ЭМ базидиомицетов с надземными плодовыми телами, свыше 70% ЭМ окончаний было колонизировано *Tylospora fibrillosa*, видом, плодо-

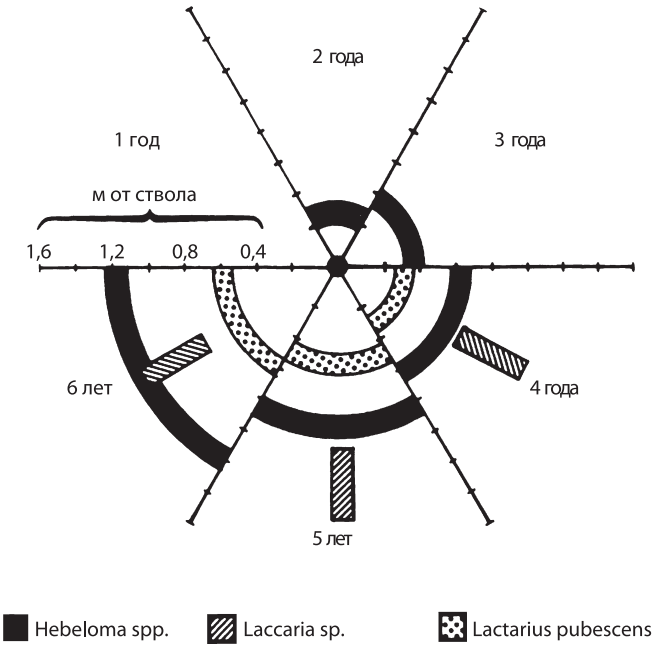


Рисунок 6.29. Сукцессия плодовых тел эктомикоризных грибов около *Betula*, показано среднее расстояние от ствола в течение 6 лет после посадки. Из Last et al., 1983, с разрешения.

вые тела которого не были обнаружены. Работа С. Виссер была также весьма показательна в этом отношении (Visser, 1995). Она изучала смену морфотипов ЭМ на корнях, а также образование грибами плодовых тел в разновозрастных лесах, образованных *Pinus banksiana* (6, 41, 65 и 121 год), возникших в результате естественного возобновления сосняков после пожара. По данным анализа, основанного и на плодовых телах и на морфотипах ЭМ, по мере развития растений происходит смена ЭМ грибов, и в целом, характер сукцессии (по видовой принадлежности грибных симбионтов) одинаков вне зависимости от используемого метода. Грибы ранней стадии, такие как *Thelephora terrestris* и «Е-штамм», сменялись, но не замещались полностью, видами из группы поздней стадии, среди которых особенно широко были представлены виды родов *Cortinarius*, *Lactarius*, *Russula* и *Tricholoma*. Кроме того, встречались виды, не являвшиеся доминантами ни на одной определенной возрастной стадии, в том числе, *Inocybe* spp., *Suillus brevipes* и *Cenococcum geophilum*. Так как до сих пор почти нет данных о полном исчезновении видов грибов, осуществляющих раннюю колонизацию, нельзя сказать, что сукцессия наблюдается в форме процесса строгого замещения одних видов другими. Более того, сложность сообщества с возрастом увеличивается. Распределение обилий различных видов в лесу возраста 6 лет соответствует геометрическому ряду, что наблюдается в сообществах растений и животных с низким видовым богатством с преобладанием r-стратегов (May, 1981). Сложность сообщества возрастает в период 6–41 год, добавляются новые виды, и происходит смещение распределения обилий от геометрического ряда к логнормальному. Логнормальное распределение характеризует более стабильное сообщество, где сравнительно большое число видов распределено более равномерно.

Таблица 6.8. Способность эктомикоризных грибов к установлению симбиоза из свежесобранных спор с сеянцами березы, выращиваемыми в течение 12–16 недель в нестерильной среде для укоренения при 18 ºС; суммарные результаты, полученные в ходе нескольких тестов.

Грибы, образующие микоризы		Грибы, не образующие микоризы	
а*	*Hebeloma crustuliniforme*	д*	*Amanita muscaria*
а	*H. leucosarx*	б	*Cortinarius bulbosus*
а	*H. sacchariolens*	а	*C. debilitus*
абг	*Inocybe geophila*	а	*Elaphomyces muricatus*
абд	*I. lacera*	а	*Lactarius blennius*
а	*I. lanuginella*	а	*L. pubescens*
аб	*Laccaria proxima*	а	*L. rufus*
а	*L. tortilis*	бг	*L. spinosulus*
вд	*Paxillus involutus*	ав	*L. turpis*
		а	*L. vietus*
		ад	*Leccinum roseofractum*
		ав	*L. scabrum*
		б	*Russula cyanoxantha*
		а	*R. grisea*
		ад	*Scleroderma citrinum*
		а	*Suillus luteus*

Условные обозначения: * Тип теста: (а) споры в буроземе; (б) споры в смеси вермикулит-торф; (в) споры в угольном отвале; (г) фрагменты плодовых тел в буроземе; (д) пробы угольного отвала из-под плодовых тел. Данные взяты из Fox, 1986.

При том, что имеются данные о снижении видового разнообразия ЭМ грибов после смыкания крон деревьев в возрасте 20–30 лет (Dighton et al., 1986; Last et al., 1987), исследование С. Виссер (Visser, 1995), проведенное с привлечением большего набора возрастных интервалов, показало рост видового богатства в период от 6 лет до 41 года. Впоследствии и структура и видовой состав сообщества ЭМ грибов стабилизировались (рис. 6.30). Все морфотипы микориз, присутствовавшие с высоким обилием в лесу возраста 41 года также встречались в возрастных категориях 65 и 112 лет.

Очень важно принимать во внимание механизмы, обусловливающие последовательное развитие флоры ЭМ грибов до момента наступления стабильности. Некоторые исследователи (напр., Dighton, Mason, 1985; Last et al., 1987) предполагали наличие связи между накоплением органического вещества в лесной подстилке и повышением биоразнообразия. Вполне логично утверждать, что изменения качества и количества субстрата, в котором развивается микоризный симбиоз, приведут к отбору тех видов грибов, которые имеют способность к получению определенных веществ из различных источников. В случае лесов, образованных *Pinus banksiana*, изучаемых С. Виссер (Visser, 1995), однако, наличие такой связи весьма сомнительно, так как считается, что ЭМ корни этого растения, а также некоторых других видов *Pinus*, активно развиваются почти исключительно в минеральной почве сразу под органическим горизонтом. Изменение характера распределения С, происходящее по мере развития деревьев, С. Виссер считала наиболее вероятной движущей силой смены грибного сообщества, хотя также существует возможность

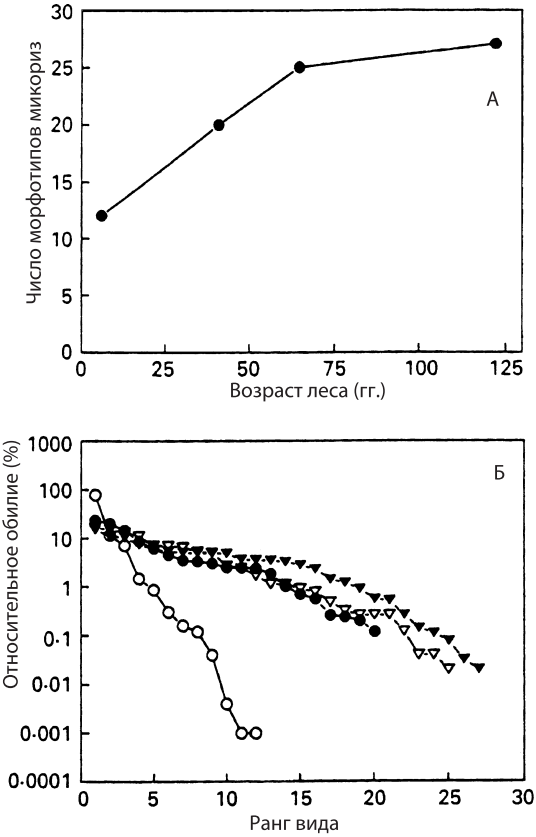


Рисунок 6.30. Видовое богатство (А) и относительное обилие видов (Б) эктомикоризных грибов, колонизирующих корневые окончания *Pinus banksiana* в лесах различного возраста. ○ — 6 лет; ● — 41 год; Δ — 65 лет; ▲ — 122 года. Из Visser, 1995, с разрешения.

того, что отток веществ из утолщающегося органического горизонта может изменяться достаточно сильно и тем самым оказывать влияние на ЭМ грибы. Наряду с распределением в почве корней, следует также изучить характер поисковых стратегий свободного мицелия. Даже когда, как у *P. banksiana*, сами ЭМ корни локализованы в минеральной почве, тот факт, что большинство грибных симбионтов образует ризоморфы, указывает на возможность использования залегающих выше горизонтов для получения питательных веществ. Если, как предполагается в лабораторных исследованиях, происходит избирательный поиск в органических субстратах, изменение физико-химических свойств органического горизонта может влиять на активность и, следовательно, потенциал инокулюма, ЭМ грибов, даже если сами корни развиваются на другом субстрате.

Молекулярные подходы к изучению эктомикоризных сообществ

Работая в лесах с преобладанием представителей Pinacaeae в западной части Северной Америки, Т. Брунс с сотр. четко продемонстрировали значимость спор как источника ЭМ инокулюма при сукцессии лесных сообществ после пожара (Horton et al., 1998; Baar et al., 1999; Grogan et al., 2000). Сосновые сеянцы в возрасте от одного до пяти месяцев, вырастающие после лесного пожара, уничтожившего взрослые деревья, колонизировались исключительно сюиллоидными гриба-

ми (*Rhizopogon subcaerulescens*, *R. ochraceorubens* и *Suillus pungens*), в то время как сеянцы того же возраста в лесу, не подвергавшемуся действию огня, состояли в симбиозе с более широким кругом видов, среди которых наиболее частыми были виды *Russula* и *Amanita* (Horton et al., 1998). Интересно, что сеянцы того же возраста на находящемся рядом участке, прежде занятом не-ЭМ кустарниками, также колонизировались только сюиллоидными грибами. Так как маловероятно, что грибные симбионты в последнем местообитании присутствовали в виде мицелиальной сети, полученные данные предполагают, что сюиллоидные грибы пережили пожар в виде спор в почве. Способность видов рода *Rhizopogon* к переживанию нарушений местообитания в форме устойчивых пропагул была в дальнейшем подтверждена в экспериментах, в которых сравнивали структуру ЭМ сообщества на корнях взрослых деревьев *Pinus muricata* и сеянцев, выращиваемых на предварительно высушенной почве, собранной на том же участке (рис. 6.31) (Taylor, Bruns, 1999). Отсутствие сходства между двумя сообществами было очень заметным, и только один вид из Телефоровых, *Tomentella sublilacina*, мог образовывать ЭМ в обоих случаях. Вновь было явственно продемонстрировано доминирование *Rhizopogon subcaerulescens* в сообществе устойчивых пропагул.

Исследования на региональном уровне в Калифорнии предоставили новые данные о популяционной биологии сообществ *Rhizopogon* в пространственно удаленных лесах, состоящих из видов *Pinus*, начиная от прибрежных (Kjøller, Bruns, 2003) и до горных материковых (Rusca et al., 2006). Когда в горшки с природной почвой из пространственно разделенных лесных сообществ помещали сеянцы сосны в качестве «приманки» для ЭМ грибов, виды *Rhizopogon* были главными микоризообразователями почти для всех изучаемых местообитаний, что подтверждает его доминирование в банке спор в этих лесах. Посредством секвенирования ITS участка видов *Rhizopogon*, выделенных из ЭМ корней маркерных растений, и сравнения последовательностей с теми, которые были получены из идентифицированных плодовых тел, было оценено распределение генотипов этих грибов между сообществами и внутри каждого из них. При исследовании на уровне между сообществами в качестве доминантов отмечены клады *Rhizopogon*, равномерно распределенные по пробным площадям на исследуемой территории. Значительная долговечность спор у представителей рода, вероятно, влияет на монотонность распределения этого генотипа на пробных площадях. Напротив, ввиду неравномерного распространения растения-хозяина и подземного образования плодовых тел, существуют данные о генетической изоляции на уровне между сообществами.

В большем пространственном масштабе клады *Amylopogon* и *Occidentalis* в пределах рода чаще встречались в прибрежных областях (Kjøller, Bruns, 2003), в то время как клады *Ellenae* и *Arctostaphyli* преобладали в восточной Сьерре (Rusca et al., 2006). При более локальном исследовании в прибрежных областях, подрод *Amylopogon* демонстрировал удивительный географический разброс. Его четко различающиеся клады были обнаружены в местообитаниях, находящихся примерно в 200 км друг от друга. Эти местообитания имели похожие значения индекса сходства по видовому составу грибов. На значимость географической удаленности как фактора, определяющего генетическую изоляцию, указывают наблюдения, что для двух участков, расположенных ближе друг к другу (75 км), совпадала бóльшая часть групп последовательностей, и значение индекса сходства было высоким. При анализе клад *Rhizopogon salebrosus*, общих для близко расположенных местообитаний (около 25 км) с применением более чувствительных методов (AFLP), было установлено, что даже в этих случаях есть свидетельства о разделении грибов на группы, специфичные к местообитанию. Так, географическая изоляция, вероятно, является движущей силой для расхождения видов *Rhizopogon*. Однако нельзя исключать вклад в этот процесс климатических и почвенных факторов. Так как каждый из

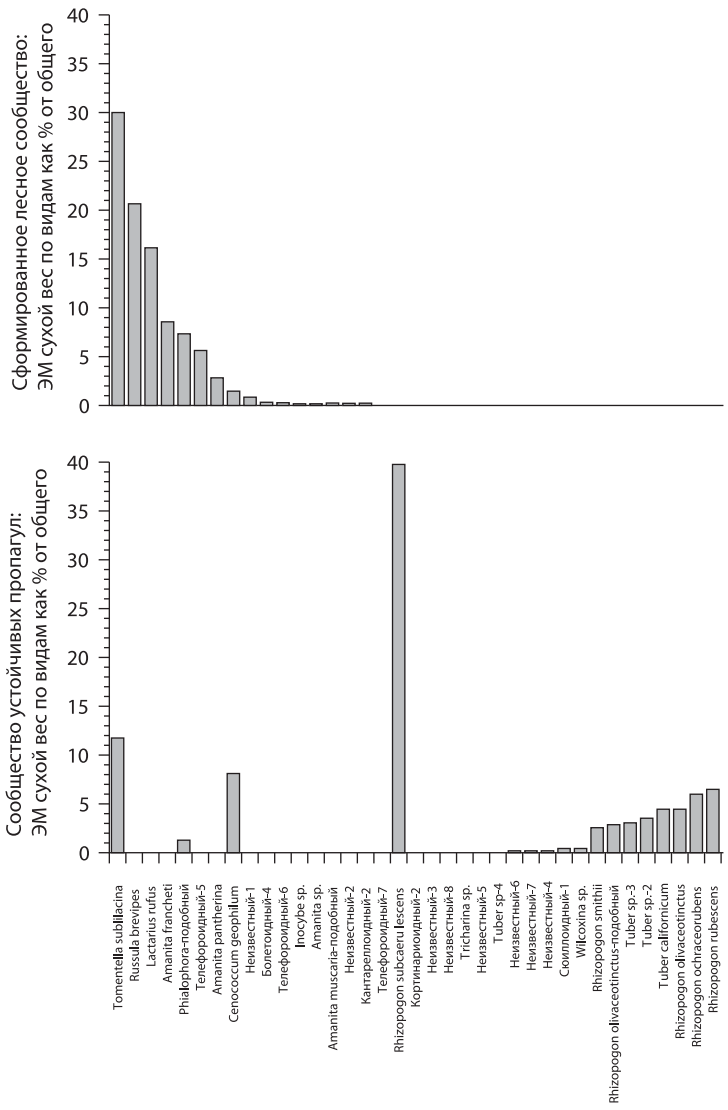
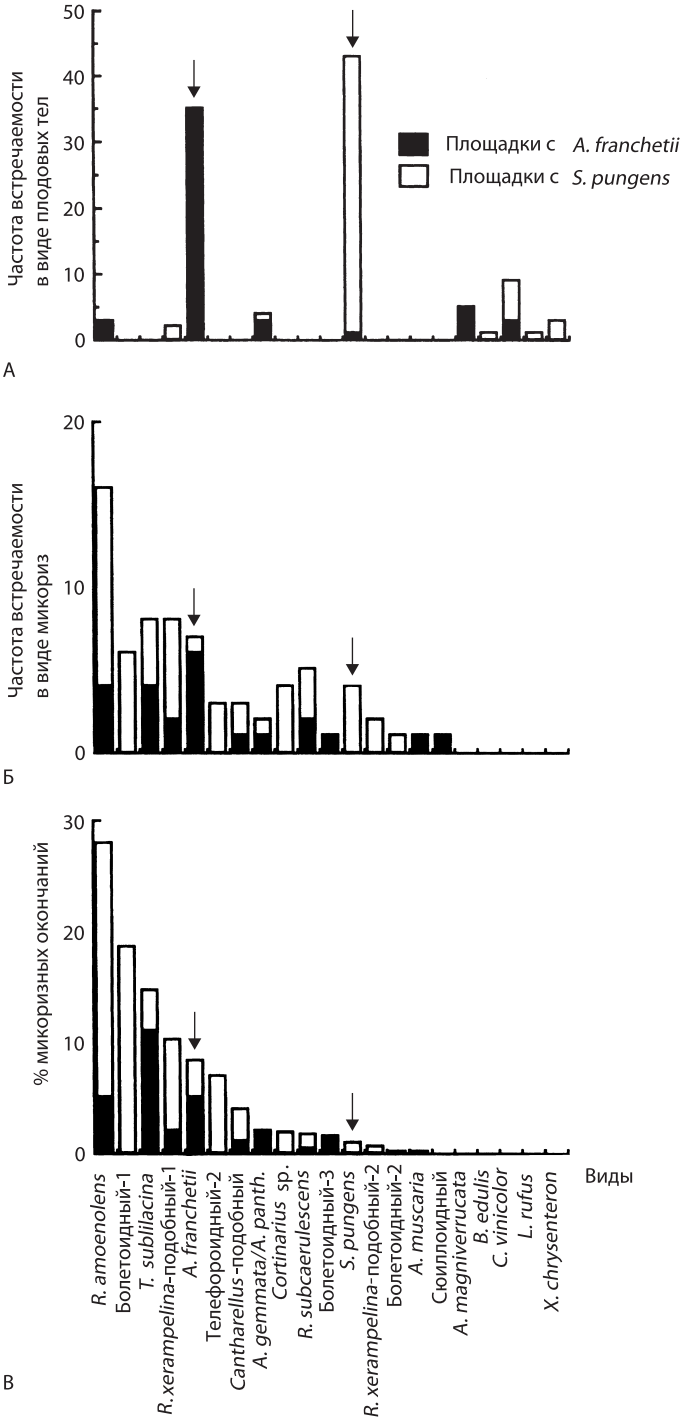


Рисунок 6.31. Структура грибных сообществ, колонизирующих корни в сформированном лесном сообществе, сравнительно с тестерными сеянцами. Доля от общей микоризной биомассы (сухой вес) в сообществе рассчитана для каждого микобионта. Явно заметно преобладание микоризообразующего вида *Rhizopogon subcaerulescens* в споровом банке. Из Taylor, Bruns, 1999.

Рисунок 6.32. Зависимость между наличием плодовых тел и встречаемостью и обилием микориз на площадках с *Suillus pungens* (прозрачные столбцы) и *Amanita franchetii* (столбцы с заливкой). Площадки, где доминируют виды *A. franchetii* или *S. pungens* указаны стрелками. А — частота встречаемости плодовых тел в пределах 1 м от точек отбора почвы под плодовыми телами. Б — частота встречаемости видов грибов в микоризах. (в) Обилие видов по процентной доле микоризных корневых окончаний. Из Gardes, Bruns, 1996, с разрешения.


Частота встречаемости в виде плодовых тел
50
40
30
20
10
0
Площадки с A. franchetii
Площадки с S. pungens
А
Частота встречаемости в виде микориз
20
10
0
Б
% микоризных окончаний
30
20
10
0
Виды
R. amoenolens
Болетоидный-1
T. sublilacina
R. xerampelina-подобный-1
A. franchetii
Телефороидный-2
Cantharellus-подобный
A. gemmata/A. panth.
Cortinarius sp.
R. subcaerulescens
Болетоидный-3
S. pungens
R. xerampelina-подобный-2
Болетоидный-2
A. muscaria
Сюиллоидный
A. magniverrucata
B. edulis
C. vinicolor
L. rufus
X. chrysenteron
В

пяти видов сосен, использованный в программе биотестов в исследованиях в восточной Сьерре, может выступать в качестве хозяина для всех видов *Rhizopogon*, выявленных в горных почвах, был сделан вывод, что внутриродовая специфичность к хозяину не играет большой роли в определении состава банка спор.

У подобных видов грибов с подземными плодовыми телами изоляция может поддерживаться за счет сочетания относительно малой эффективности распространения спор воздухом и малой дистанции транспорта спор с помощью основных векторов, как считается, мелких млекопитающих (Johnson, 1996) или оленей (Ashkannejhad, Horton, 2006).

Как уже было упомянуто, молекулярные методы предоставили новые возможности для идентификации грибов, участвующих в образовании ЭМ, при наличии небольших количеств растительного материала. Применение этих техник на уровне сообществ обеспечило появление новых данных о встречаемости и сукцессии грибов в вегетативной стадии, которые можно сравнивать с результатами, полученными в исследованиях, основанных на изучении «морфотипов» или плодовых тел (Gardes, Bruns, 1996). В течение четырехлетнего периода М. Гардес и Т. Брунс (Gardes, Bruns, 1996) собирали и идентифицировали все плодовые тела ЭМ базидиомицетов, которые образовывались надземно на пробных площадях, заложенных в лесу, образованном *Pinus muricata*. Одновременно авторы отбирали образцы микориз, обнаруженные в пробах почвы, взятых под плодовыми телами некоторых из наиболее часто встречающихся видов, таких как *Amanita franchetii* и *Suillus pungens*, и, после предварительного их разделения на основе морфотипов, идентифицировали с использованием молекулярных методов, основанных на ПЦР. Таким образом удалось идентифицировать почти все морфотипы, по крайней мере, на уровне рода. В целом, несмотря на то, что схема отбора образцов была связана с плодовыми телами, соответствие между видовой принадлежностью гриба, образующего плодовое тело, и преобладающим типом ЭМ не было полным. В пробах почвы, взятых под *A. franchetii* и *S. pungens* (рис. 6.32А), доминирующими типами ЭМ по частоте встречаемости (рис. 6.32Б) или по процентной доле от общего количества ЭМ корневых окончаний (рис. 6.32В) были образуемые *Russula amoenolens*, *Boletus*-тип, *Tomentella sublilacina* и *Russula xerampelina*. В то время как небольшие распростертые плодовые тела телефороидного гриба *T. sublilacina* могут быть пропущены при обследовании, базидиомы *Russula* и *Boletus* вполне заметны, и отсутствие связи между встречаемостью этих грибов на корневых окончаниях и в виде плодовых тел весьма удивительно. Сходным образом, представляет значительный интерес присутствие *S. pungens* только лишь в виде минорного по частоте встречаемости компонента подземного сообщества, несмотря на способность этого вида к активному образованию плодовых тел.

Причины такого несоответствия между частотой встречаемости и обилием плодовых тел и микориз неясны. М. Гардес и Т. Брунс (Gardes, Bruns, 1996) предположили, что в случае *Suillus pungens*, вида с узким кругом растений-хозяев, ограниченным только *Pinus muricata* и *P. radiata*, возможен особенно эффективный транспорт С между корнем и плодовыми телами, обеспечивающий образование последних, несмотря на малый объем источника. Существует также противоположная возможность: неэффективность процесса транспорта С между ЭМ корневыми окончаниями и мицелием *Russula amoenolens*. Альтернативным объяснением на уровне сообщества может служить то, что такие редко образующие плодовые тела виды как *R. amoenolens*, представляют собой большое число генотипов, клональные размеры которых слишком малы для того, чтобы получать достаточные для образования плодовых тел количества С.

Каковы бы ни были генетические и физиологические основы отсутствия взаимосвязи между образованием плодовых тел и микоризы, исследование М. Гардес

и Т. Брунса (Gardes, Bruns, 1996) явилось научным прорывом. Оно привлекло внимание (как и работа Taylor, Alexander, 1990) к опасностям, которые таят попытки определения структуры подземных популяций на основании характера образования плодовых тел. Кроме того, ввиду большой важности понимания процессов на популяционном уровне, оно указывает на то, что применение молекулярных методов позволяет обеспечить быструю и точную идентификацию типов микориз, от чего зависит строгое определение популяционной структуры.

Сукцессия и смена грибов на корнях и в корневых системах

Замещение на отдельных корнях

Механизмы, посредством которых виды грибов сменяют друг друга в корневой системе, будут играть важную роль в любых взаимоотношениях в сообществе и сукцессиях в природных условиях. Однажды образовавшись на коротком корне, микориза, сформированная определенным видом гриба, не подвергается замещению. Сосуществование двух и более видов ЭМ грибов иногда наблюдается на отдельных корнях, но это скорее исключение, чем правило, хотя двойные симбиозы отмечены для 1–4% корней *Pinus radiata* (Marks, Foster, 1967). У *Pinus banksiana*, Р.М. Даниэлсон и С. Виссер (Danielson, Visser, 1989) наблюдали зарастание чехла, образованного микобионтами ранней стадии *Suillus*-типа, особенно в дистальной части короткого корня. Авторы трактовали этот процесс как согласованное замещение, противопоставляя это явление гораздо более распространенному так называемому «несогласованному замещению», при котором один из видов погибает, очевидно, спонтанно, после некоторого периода обитания в коротком корне.

Существуют данные о том, что согласованное замещение встречается с большей вероятностью, когда корни возобновляют рост после периода покоя. Иногда наблюдалось удлинение оси корня *Pinus* перед зарастанием гифального чехла, так что неколонизированный апекс оказывался доступен для других грибных симбионтов (Wilcox, 1968). Сходным образом, корни *Betula*, изначально образовывавшие микоризу с видами *Hebeloma*, колонизировались после покоя *Lactarius pubescens* (Fleming, 1985). Ясно, что ввиду ограниченного срока жизни ЭМ симбиоза на отдельном корне (см. выше), существует возможность стимуляции согласованного замещения старением исходного микобионта. Тем не менее, к настоящему времени экспериментальные свидетельства такого замещения отсутствуют.

Замещение в целой корневой системе

В большинстве случаев состав сообщества грибов в корневых системах меняется в процессе несогласованного замещения, при котором одна популяция погибает, а короткие корни либо отмирают вместе с грибным симбионтом, либо остаются в немикоризованном состоянии (Danielson, Visser, 1989), в то время как новый набор видов колонизирует следующее поколение коротких корней. Предполагается наличие взаимосвязи между возрастом растения и его корневой системы и восприимчивостью к колонизации разными видами грибов (Fleming et al., 1984). Показано, что, в то время как такие виды, как представители рода *Hebeloma*, колонизируют выращенные в контейнерах растения *Betula* в течение первого года, прочие, например, *Lactarius pubescens*, производят колонизацию на второй год, несмотря на наличие

инокулюма обоих видов. Эта ситуация отражает наблюдаемую в природных условиях на вновь облесенных территориях, где виды *Hebeloma* отмечены как грибы ранней стадии, а *L. pubescens* — как один из первых видов поздней стадии. При выращивании двухлетних деревьев березы в прозрачных кюветах, содержащих почву, предварительно инокулированную *Hebeloma crustuliniforme* и *L. pubescens*, Ф. Гибсон и Дж.В. Дикон (Gibson, Deacon, 1988) проследили последовательность развития микориз, образуемых этими двумя видами грибов по мере взросления растений. Авторы обнаружили, что в то время как вид *H. crustuliniforme* мог формировать микоризы в любом участке корневой системы, микоризы *L. pubescens* образовывались только на коротких корнях, отходящих от наиболее старых частей корневой системы. Так как почва во всей кювете была одинаковой, логично утверждать, что главным фактором, определяющим восприимчивость к колонизации, являются некоторые связанные с возрастом особенности растения.

Среди различных свойств корневой системы, которые рассматривались как потенциально влияющие на возрастные различия растений по восприимчивости к колонизации, наиболее вероятна значимость поступления количества С, достаточного для поддержания сравнительно мощных и высоко дифференцированных мицелиальных систем, развиваемых грибами поздней стадии. Ф. Гибсон и Дж.В. Дикон (Gibson, Deacon, 1990) сравнили способность ряда видов грибов ранней и поздней стадии к росту в чистой культуре и образованию микориз с *Betula*, используя агаризованные среды, содержащие разные концентрации глюкозы. В то время как представители ранней стадии росли на агаре в отсутствие глюкозы, грибы поздней стадии, в том числе, *Lactarius pubescens*, требовали для поддержания роста как минимум 0,1% содержание этого соединения. Сходным образом, при том, что грибы ранней стадии колонизировали корни *Betula* при отсутствии внешнего источника глюкозы, большинство видов поздней стадии было к этому неспособно. Понятно, что такие экспериментальные условия не являются реалистичными, но, тем не менее, они демонстрируют разную степень зависимости ЭМ грибов от источника С и предполагают, что возможность колонизации грибами поздней стадии боковых корней в более старых частях корневой системы обусловлена обеспечением лучшего доступа к эндогенным источникам органического С.

Изучение различий в распределении С или круговоротах этого элемента в разных участках корневой системы молодых деревьев стало возможно при использовании метки $^{14}CO_2$, но адекватный анализ экспериментальных данных до сих пор не был произведен. Косвенные свидетельства в пользу зависимости известной последовательности колонизации от С получены при исследованиях в прозрачных камерах для наблюдения (Finlay, Read, 1986c). Показано, что грибы поздней стадии способны колонизировать короткие корни в любой части корневой системы сеянцев, если они принадлежат уже укоренившемуся растению. Сходные данные получены при посадке сеянцев в природных условиях под взрослыми деревьями, уже колонизированными грибами поздней стадии (Fleming, 1985). До той степени, до которой потенциал их инокулюма связан с объемом питательных ресурсов, грибы поздней стадии отвечают на доступность С тем же образом, что и образующие ризоморфы сапротрофные виды, такие как *Serpula lacrymans, Phanerochaete laevis* и *Armillaria mellea*. Чем выше объем ресурса, тем более активно они способны вести поиск нового.

Заключение

Данные, полученные при сочетании молекулярно-филогенетического, биогеографического и палеонтологического подходов, указывают на общность происхождения ЭМ грибов и их автотрофных партнеров в раннем или среднем меловом периоде до разрушения Пангеи. Было выявлено значительное генетическое разнообразие ЭМ грибов, ранее считавшихся едиными таксонами. Кроме того, впервые было произведено полное секвенирование генома ЭМ гриба. На основе множества блестящих работ, посвященных структурным особенностям микориз, с помощью молекулярных методов было показано, как осуществляется диалог между партнерами на ранних этапах развития симбиоза. В особенности, успех в отношении выявления молекулярных событий был достигнут на уровне индивидуального микоризного окончания. С помощью транскрипционных профилей были определены некоторые гены, для которых показана повышающая регуляция в период формирования симбиоза. В том числе, были идентифицированы гены, задействованные в модификации структуры клеточной стенки, гликолизе, ЦТК и дыхательной активности.

Активно развивается такое направление, как исследование структур свободного мицелия в ЭМ корневых системах. Были разработаны новые методы, позволяющие проведение количественного учета в полевых условиях, и, с применением молекулярных методов для идентификации небольших участков ЭМ гиф, получена информация об избирательном использовании различных ниш. Показано, что банки спор могут играть важную роль при ЭМ колонизации, особенно, после таких нарушений сообществ, как пожары.

Генетические профили грибных сообществ, ассоциированных с тонкими корнями, подтверждают слабую корреляцию между образованием определенным видом гриба плодовых тел и его представленностью в качестве симбионта на корнях. Эти методы позволили выявить важные компоненты микоризных сообществ в корневых системах, представленные грибами с подземными или малозаметными распростертыми плодовыми телами.

7
Эктэндомикоризы и арбутоидные микоризы

Введение

Микоризы со многими признаками, присущими эктомикоризам (ЭМ), но представленные также и выраженной внутриклеточной колонизацией были многократно описаны в прошлом веке у разных видов кустарников и древесных пород. Можно выделить две категории структур подобного типа. Первая, называемая эктэндомикоризой (Mikola, 1965; Laiho, 1965; Egger, Fortin, 1990; Yu et al., 2001a), встречается преимущественно у *Pinus* и *Larix* и отличается тем, что кроме обычно тонкого грибного чехла и хорошо развитой сети Гартига ЭМ типа, в клетках ризодермы и коры развиваются внутриклеточные гифы. Грибные симбионты эктэндомикориз также отличаются по своему таксономическому положению. Изначально описанные как «Е-штамм» грибы (Mikola, 1965), как известно в настоящее время, в основном являются представителями аскомицетного рода *Wilcoxina* из пезизовых (Egger, 1996). Так как большинство ЭМ грибов, также как и некоторые слабо патогенные виды, способны проникать внутрь клеток растения, особенно в стареющих частях тонких корней, существуют разные мнения относительно статуса таких внутриклеточных корневых симбиозов. Э. Мелин обнаружил вредоносные для растения грибные симбионты, многие из которых обладают темными септированными гифами (ТС) (Melin, 1917). Среди этой группы он выделял *Mycelium radicis atrovirens* (MRA) α и β, симбионты, способные к внутриклеточному проникновению, нежелательному для растения-хозяина. Э. Мелин называл такие грибы «псевдомикоризными». Применение молекулярных методов позволило составить более ясное представление о таксономическом положении и статусе подобных грибов. Как и *Wilcoxina*, они относятся к отделу Ascomycota, но являются представителями родов *Phialocephala* и *Phialophora*, систематическое положение которых в пределах аскомицетов четко очерчено (Gams, 1963; Ahlich, Sieber, 1996; Menkis et al., 2004; см. также гл. 11). Эти представители описаны в данной главе. Стоит подчеркнуть, что, хотя ТС грибы не образуют эктэндомикоризы описанного выше строения, многие из них проникают в клетки корня. Они занимают ту область мутуалистически-паразитического континуума, для которой характерно отрицательное влияние колонизации корней на состояние растения.

Вторая категория микориз эктэндо-типа, называемая арбутоидной, обнаружена у родов *Arbutus* и *Arctostaphylos*, а также у нескольких родов подсемейства Pyroloideae из вересковых. Она отличается от первой категории ограничением внутриклеточного проникновения ризодермальными слоями корня и участием в симбиозе четкой группы преимущественно базидиальных грибов, которые чаще встречаются как ЭМ симбионты деревьев. На основании сходства строения некоторые исследователи (напр., Zak, 1974) считают арбутоидный тип просто вариантом эктэндоми-

кориз. Однако, принимая во внимание стабильные различия как по структуре, так и по набору грибных симбионтов, мы следуем точке зрения на эти категории как на два разных типа микориз (Peterson et al., 2004).

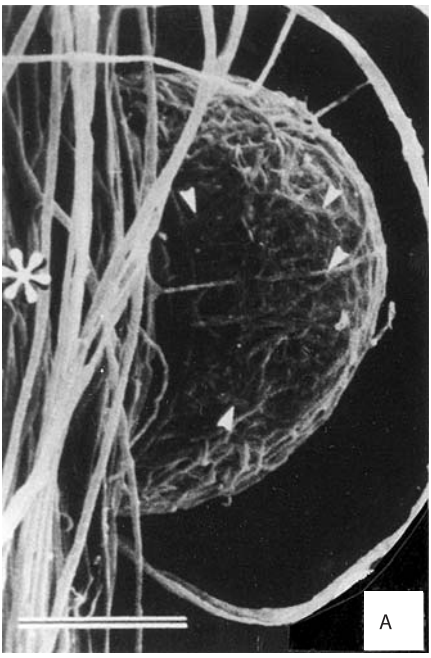
Эктэндомикоризы

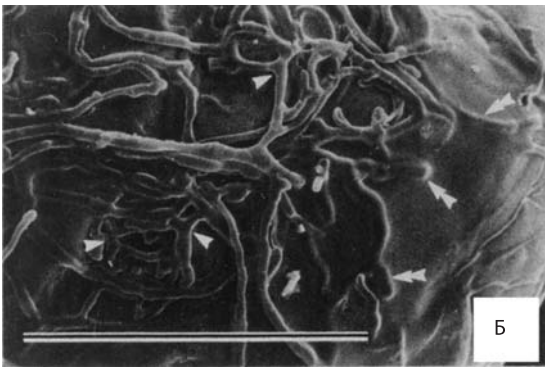
Распространение и строение

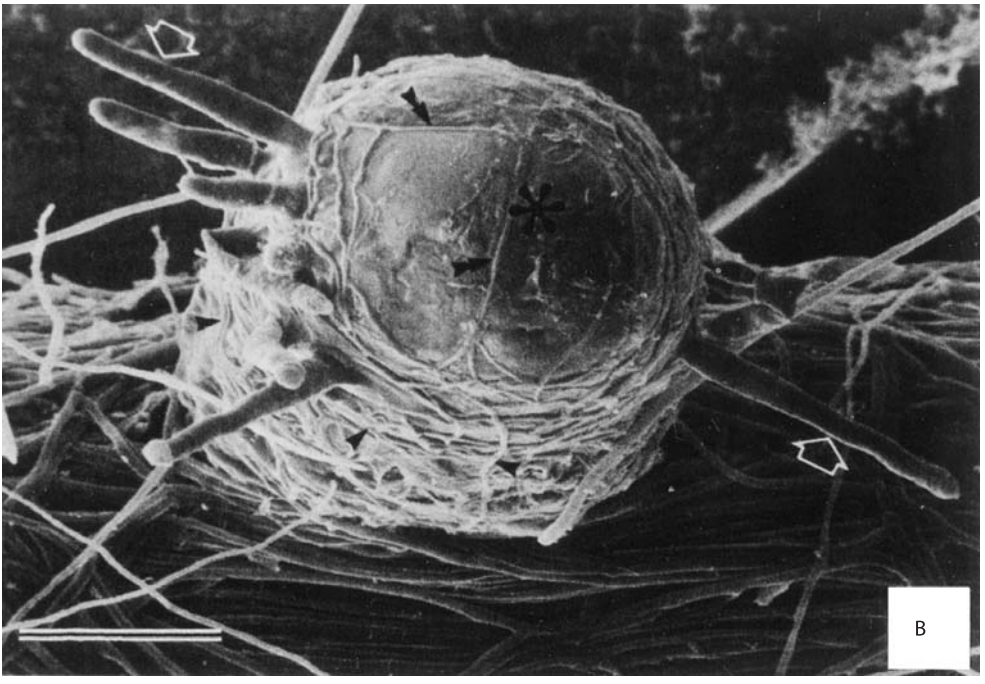
О. Лайхо и П. Микола (Laiho, Mikola, 1964) изучали инициацию микоризной колонизации у сеянцев *Pinus sylvestris* и *Picea abies*. У *Picea* развивались нормальные эктомикоризы, но у *Pinus* образовывались грубая сеть Гартига, внутриклеточные грибные структуры и тонкий чехол, который иногда мог отсутствовать. Эти эктэндомикоризы (ЭЭМ) вначале были очень обильны и всегда присутствовали на корнях *Pinus* в питомниках на окультуренных почвах, но при этом были очень редки у *Picea*. Самым ранним проявлением грибной колонизации было образование сети Гартига, которое происходило по мере роста корня вблизи апикальной меристемы. Позади этой области внутриклеточное проникновение гриба становилось интенсивнее в направлении более старой части корня, так что клетки становились почти заполненными клубками септированных гиф до 15 мкм толщиной каждая. Эти эктомикоризные корни существовали в течение, по меньшей мере, года до появления симптомов разрушения гиф. «Внутриклеточные гифы не повреждают клетки коры; и растительные клетки, и внутриклеточные гифы, согласно наблюдениям, живут, как минимум, год с момента начала колонизации. Даже ядра таких интенсивно заселенных клеток ясно видимы на окрашенных препаратах» (Mikola, 1965).

П. Скейлс и Р. Петерсон (Scales, Peterson, 1991a) провели детальное исследование строения и развития эктэндомикоризы *Pinus banksiana*, образованной грибом *Wilcoxina mikolae* var. *mikolae*. Появляющиеся боковые корни покрывались гифами, погруженными в материал матрикса (рис. 7.1А). Гифы в матриксе были сильно разветвлены (рис. 7.1Б). Чехол формировался вначале позади апекса (рис. 7.1В), где развивался между выступающими корневыми волосками. На этой стадии только несколько гиф малого диаметра заходили на апекс корня (рис. 7.1В). У зрелого окончания (рис. 7.1Г, 7.2) апекс полностью закрыт чехлом, кроме тех случаев, когда боковые корни растут очень быстро. Как показано на рисунке 7.2А, однорядная сеть Гартига начинается формироваться сразу позади апекса. Вначале она проходит между клетками ризодермы и наружной коры, но постепенно распространяется до внутренней коры, примыкающей к эндодерме. Сеть Гартига имеет лабиринтовидную структуру (рис. 7.2Б), типичную для эктомикоризы. На расстоянии одной или двух клеток в дистальном направлении от места начала формирования сети Гартига происходит проникновение внутрь клеток (рис. 7.2А). Внедрившись в клетку, гифы многократно ветвятся (рис. 7.3).

Все особенности строения и развития эктэндомикориз, за исключением внутриклеточных структур, сходны с таковыми у эктомикориз. Когда один и тот же вид гриба был использован для инокуляции *Picea mariana* и *Betula alleghaniensis* (Scales, Peterson, 1991b), образовывались эктомикоризы, сходные с формируемыми другими симбионтами. У обоих типов присутствовала хорошо развитая лабиринтовидная сеть Гартига, но ни в одном случае не происходило проникновение внутрь клеток. Установлено, что мнение о том, что клетки коры в ЭЭМ корнях лишены цитоплазмы и неживые, в общем неверно. Ни П. Микола (Mikola, 1965) , ни П. Скейлс и Р. Петерсон (Scales, Peterson, 1991a) не обнаружили следов «переваривания» растительной клетки гифами.


А


Б


В

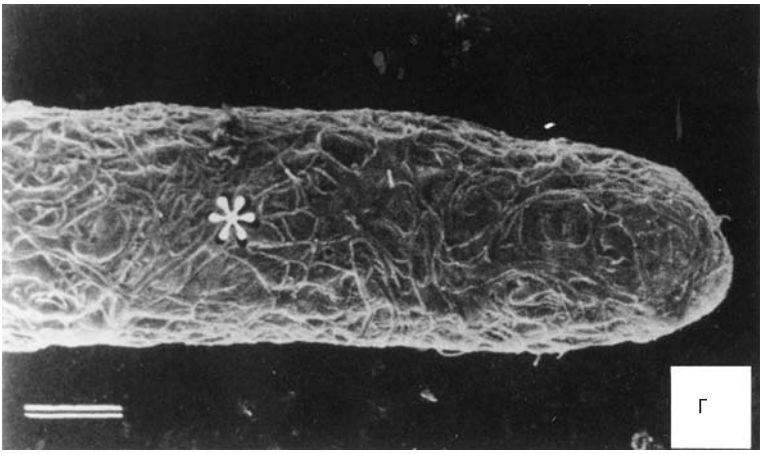


Рисунок 7.1. Микоризные окончания *Pinus banksiana–Wilcoxina mikolae* var. *mikolae*. Сканирующая электронная микроскопия. А — появляющийся молодой короткий корень с гифами (отмечено стрелками), которые частично погружены в материал матрикса (*). Б — субапикальная зона микоризного короткого корня с сильно разветвленными гифами (отмечено головками стрелок), погруженными в материал матрикса (отмечено двойными головками стрелок) на поверхности. В — короткий корень с апикальными корневыми волосками (большие стрелки) и гифами (головки стрелок), контактирующими с поверхностью корня в зоне колонизации. Гифы малого диаметра (отмечено двойными головками стрелок) пересекают поверхность корня. Г — апикальная зона моноподиальных микоризных корней с чехлом (*). Масштаб 100 мкм. Из Scales, Peterson, 1991a, с разрешения.

Было сделано заключение, что ЭЭМ, образуемые грибами типа Е-штамма (см. ниже), приурочены к молодым, в возрасте 1–3 лет, растениям *Pinus* в почвах питомников различной плодородности, кислотности и содержании гумуса, и интенсивность образования этого типа микориз не зависит заметно от уровня освещенности (Mikola, 1965). Продолжительность жизни таких микориз сходна с таковой у типичных ЭМ без внутриклеточной колонизации (год или более), и многократно превышает срок жизни аналогичного немикоризного корня.

О. Лайхо (Laiho, 1965) провел широкомасштабное исследование ЭЭМ в питомниках и лесах Европы и Америки и получил искусственно микоризы у ряда древесных пород с использованием микобионтов Е-штамма, изолированных из них. Он обнаружил только одну форму эктэндомикоризы, при которой корни заселены грубым септированным мицелием, образующим мощную сеть Гартига и внутриклеточные структуры. Автор пришел к выводу, что Е-штамм присутствует во всех исследованных им эктэндомикоризах, но должны быть и другие грибные симбионты, так как Е-штамм колонизировал только виды *Pinus* и *Larix*, в то время как некоторые ЭЭМ без сомнения встречались у представителей *Picea* и других родов. Однако он подчеркивал, что существует возможность ошибки, потому что в стареющих микоризах часто встречаются внутриклеточные грибные структуры, и ссылался на ранние наблюдения (Mikola, 1948) проникновения *Cenococcum* через клеточные стенки в коре растений при неблагоприятных для них условиях. Это мнение было подкреплено данными о том, что внедрение гриба в стареющие коровые клетки встречается весьма часто (Harley, 1936; Atkinson, 1975; Nylund, 1981). О. Лайхо был удивлен отсутствием вредоносного влияния ЭЭМ колонизации на сеянцы

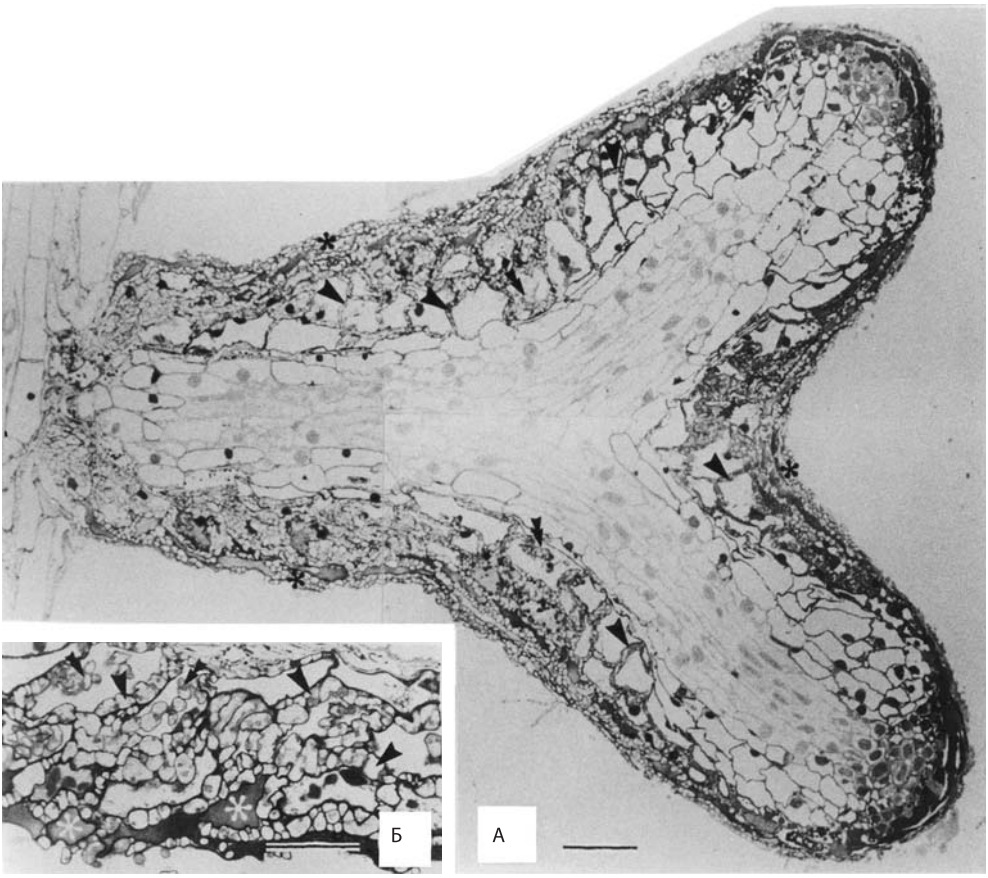


Рисунок 7.2. Дихотомически разветвленные короткие корни в микоризе *Pinus banksiana–Wilcoxina mikolae* var. *mikolae*. Световая микроскопия. А — продольный срез с сетью Гартига (отмечено головками стрелок), чехлом (*) и внутриклеточными гифами (отмечено двойными головками стрелок). Масштаб 100 мкм. Б — участок основной оси корня с рисунка А при более высоком увеличении. И гифы сети Гартига (отмечено головками стрелок), и внутриклеточные гифы (отмечено двойными головками стрелок) достаточно сильно вакуолизированы. Масштаб 50 мкм. Из Scales, Peterson, 1991a, с разрешения.

Pinus и заключил, что это «сбалансированный симбиоз», который сменяется эктомикоризным при взрослении сеянцев, особенно в природных лесных сообществах.

Сходные эктэндомикоризы были описаны у молодых растений *Pinus resinosa*, у которых толстые гифы формировали сеть Гартига и в длинных, и в коротких корнях (Wilcox, 1968b, 1971). Эти гифы спирально закручивались вокруг клеточной стенки, следуя направлению целлюлозных фибрилл. Они проникали сквозь клеточную стенку через поры, а также с помощью достаточно сложно устроенных аппрессориев, и врастали в апопласт. Гифы, вероятно, распространяются межклеточно позади апекса длинных корней и вокруг развивающихся боковых, но не вторгаются в меристемы. Грибные гифы сохраняют активность в зоне около инициалей боковых корней, и колонизируют молодые корни, когда они проходят сквозь кору. Хотя ЭЭМ

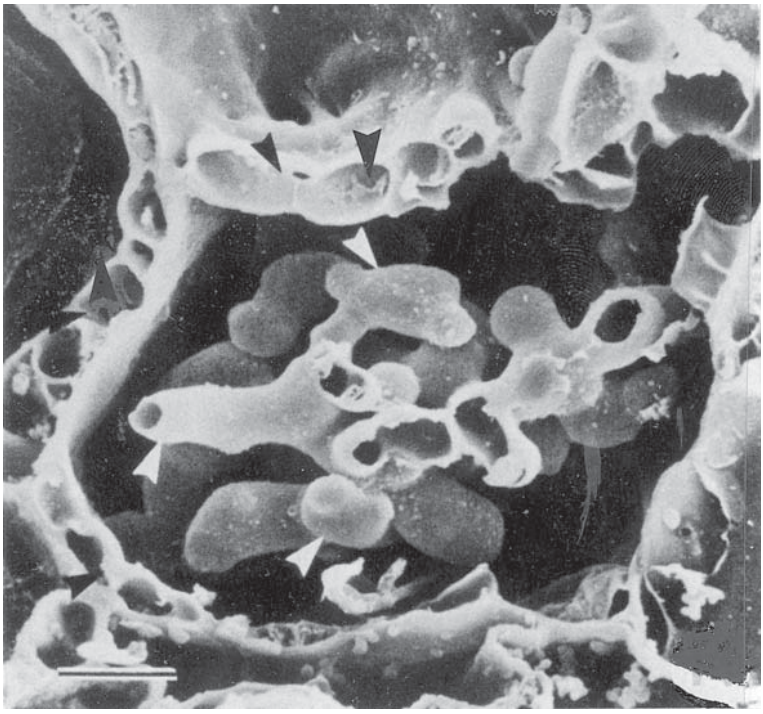


Рисунок 7.3. Отдельная коровая клетка в микоризе *Pinus banksiana* и *Wilcoxina mikolae* var. *mikolae*. Сканирующая электронная микроскопия. Видно, что внутриклеточные гифы (отмечено головками стрелок) разветвлены, и сеть Гартига (черные головки стрелок) однорядная. Масштаб 100 мкм. Из Scales, Peterson, 1991a, с разрешения.

часто присутствуют на большинстве коротких корней сеянцев в питомниках, позднее они замещаются эктомикоризами, формируемыми более тонкими гифами, возможно, принадлежащими другому виду гриба.

Эктэндомикоризные грибы

Грибы, участвующие в образовании ЭЭМ, впервые были тщательно исследованы П. Микола (Mikola, 1965) и О. Лайхо (Laiho, 1965), выделившими более 150 штаммов из сеянцев *Pinus*, растущих в лесных питомниках Финляндии. На основании морфологии мицелия на питательных агаризованных средах П. Микола отнес все эти штаммы к одному виду, названному им «Е-штамм» («E-strain»). Мицелии в типе имели коричневую окраску и были представлены двумя формами: одна темноокрашенная, с шероховатыми стенками, и вторая с более тонкими гифами, гиалиновыми, с гладкими стенками. Диаметр гиф находится в пределах от 2 до 12 мкм. Таксономическое положение грибного симбионта было неясным, так как не было обнаружено никаких репродуктивных структур. Г.Э. Уилкокс с сотр. (Wilcox et al., 1974) выделили сходный симбионт из сеянцев *Pinus resinosa*, растущих в лесных питомниках в США, и наблюдали образование хламидоспор в культуре. Хламидоспоры грибов Е-штамма имели отчетливо мелкозубчатую поверхность и размеры около 100–200 мкм. Похожие споры, выделенные из почв в сосновых посад-

ках в Айове, получили название *Complexipes moniliformis* (Walker, 1979), и вид был отнесен к семейству Endogonaceae. Однако впоследствии это мнение было оспорено (Mosse et al., 1981; Danielson, 1982; Thomas, Jackson, 1982). Вегетативные гифы гриба, образующего эти споры, имеют септы с простой порой (Thomas, Jackson, 1982), а сам организм устойчив к беномилу (Danielson, 1982), что является признаками аскомицетов.

Было сделано предположение, что Е-штамм может относиться к порядку Pezizales (Danielson, 1982). Оно подтвердилось, когда плодовые тела оперкулятного дискомицета из рода *Tricharina*, вида, впоследствии названного *T. mikolae*, были получены в горшечной культуре с ЭЭМ сеянцами *Pinus resinosa* (Yang, Wilcox, 1984). Почва была инокулирована хламидоспорами *Complexipes*-типа, собранными в питомнике пихты Дугласа в Орегоне. Позже К.С. Янг и Р.П. Корф (Yang, Korf, 1985) ввели для грибов Е-штамма новый род *Wilcoxina*, куда был перенесен вид *Tricharina mikolae* под названием *W. mikolae*. RFLP-анализы ядерного (Egger, Fortin, 1990) и митохондриального (Egger et al., 1991) геномов изолятов Е-штамма подтвердили принадлежность большей части из них к роду *Wilcoxina*, а также то, что большинство штаммов могут быть отнесены к двум видам, *W. mikolae* и *W. rehmii*, каждый из которых имеет четкую приуроченность к местообитанию. Вид *W. mikolae* образует хламидоспоры и преимущественно встречается в нарушенных минеральных почвах, таких как почвы питомников, в то время как *W. rehmii* обитает в торфяных почвах и не образует хламидоспоры. К.Н. Эггер (Egger, 1996) подтвердила, что *Wilcoxina* и *Tricharina* следует выделять как два самостоятельных рода, и что таксоны *Wilcoxina* образуют четкую группу, включающую немикоризный вид, *W. alaskana*.

ЭЭМ-подобные структуры описаны у эпифитного растения из вересковых *Cavendishia nobilis* var. *capitata* (Setaro et al., 2006). Это представитель Андской клады подсемейства Vaccinioideae из сем. Ericaceae (см. гл. 11). Имеются хорошо выраженный чехол и сеть Гартига, а также внутриклеточные структуры в ризодермальном слое корня. С. Сетаро с соавт. (Setaro et al., 2006) предложили термин «кавендишиевая микориза» для ЭЭМ этого типа, но описанные структурные отличия не кажутся нам достаточными для выделения новой категории микориз. Анализ последовательностей грибной ДНК выявил наличие смеси видов рода *Sebacina* и аскомицетов из класса Leotiomycetes. Неясно, который из таксонов (или оба), принимает участие в образовании микоризы. Все последовательности себациновых из *C. nobilis* кластеризуются в подгруппе *Sebacina* B (см. рис. 6.5, гл. 6), вместе с изолятами *Sebacina vermifera* из австралийских орхидных (Warcup, 1988), последовательностями *Piriformospora indica* из *Gaultheria shallon* (Allen et al., 2003; см. гл. 11) и из юнгерманниевых печеночных мхов (Kottke et al., 2003; см. гл. 14).

Распространение, таксономическое положение и функции темноокрашенных септированных грибов

Факт наличия как на поверхности, так и внутри корней, грибов, не образующих структуры, характерные арбускулярных микориз (АМ), эктомикориз (ЭМ), эрикоидных микориз (ЭрМ) и симбиозов орхидных, был установлен давно. В ходе детального анализа корней бореальных древесных пород Э. Мелин (Melin, 1923, 1925) очень часто наблюдал грибы с темноокрашенным мицелием, и некоторые из них ему удалось выделить и поддерживать в культуре. Так как они выделялись из корней даже после поверхностной стерилизации, исследователь заключил, что

они скорее заселяют ткани корня, чем являются ассоциированными с корневой системой обитателями почвы. Наиболее часто встречающийся изолят был отнесен к виду *Mycelium radicis atrovirens* (MRA), в то время как прочие являлись представителями рода *Rhizoctonia*. Эти грибы традиционно обсуждают в связи с ЭЭМ. Мы сохранили эту традицию, но хотим отметить, что существует связь и с грибами, образующими псевдомикоризы (см. гл. 6).

Э. Мелин (Melin, 1923) выделял два типа MRA, которые он назвал α и β. Первый тип встречается чаще и характеризуется образованием микросклероциев. Некоторые изоляты MRA α обладают способностью образовывать тонкие грибные чехлы на поверхности, в то время как другие проникают в ткани. Такие грибы получили название псевдомикоризных (Melin, 1925), и была показана их слабая патогенность в отношении хозяев. Менее распространенный тип MRA β, как показано, является опасным фитопатогеном. В то же время Б. Пейронель (Peyronel, 1924) наблюдал темноокрашенные гифы в корнях, содержащих также АМ грибы, и назвал это явление «двойной инфекцией». Он считал эти грибы «*Rhizoctonia*-подобными», и их присутствие было обнаружено в корнях 135 видов покрытосеменных. С момента описания Б. Пейронелем двойных инфекций было выяснено, что, хотя грибы с этим типом колонизации корня могут встречаться в растениях совместно с микоризными, они очень широко распространены в качестве единственных обитателей корней.

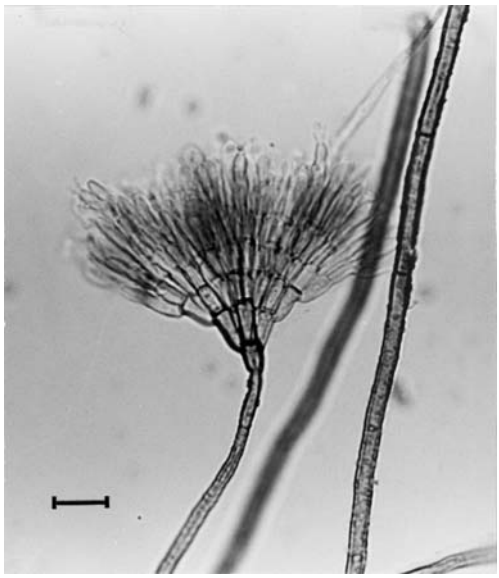
Так как эти грибы не образуют половых спороношений и имеют очень мало отличительных черт, не считая обычно темной окраски гиф, они были объединены в группу «темных септированных» (ТС) (Haselwandter, Read, 1982). Другие исследователи, подчеркивая их частое и очевидно не вредоносное для растения присутствие в тканях хозяина, описывали тот же самый тип грибов как «эндофиты» (Currah et al., 1987), «септированные эндофиты» (O'Dell et al., 1993) или «темноокрашенные септированные эндофиты» (ТСЭ) (Jumponnen, Trappe, 1998). В обзорной работе, посвященной встречаемости ТС грибов в разных группах растений, были приведены данные об их наличии у почти 600 видов, относящихся к 320 родам из 100 семейств растений (Jumponnen, Trappe, 1998).

Так как обозначения ТС и ТСЭ (DS и DSE в англоязычной литературе) в настоящее время широко используются, необходимо принимать во внимание не только то, что многие ТС грибы образуют гиалиновые гифы, особенно, в растительных тканях, но также и то, что некоторые представители этой обширной группы в норме полностью состоят из светлоокрашенного, белого или гиалинового мицелия и в корнях растений, и в культуре (Haselwandter, Read, 1982; Newsham, 1999; Barrow, Aaltonen, 2001; Yu et al., 2001a; Barrow, 2003; Hambleton, Sigler, 2005). Эти гиалиновые формы очень трудно обнаружить стандартными методами окрашивания и световой микроскопии, и они почти наверняка недоучтены при исследованиях «ТС» грибов. Статус представителей этой группы обсуждается в гл. 11.

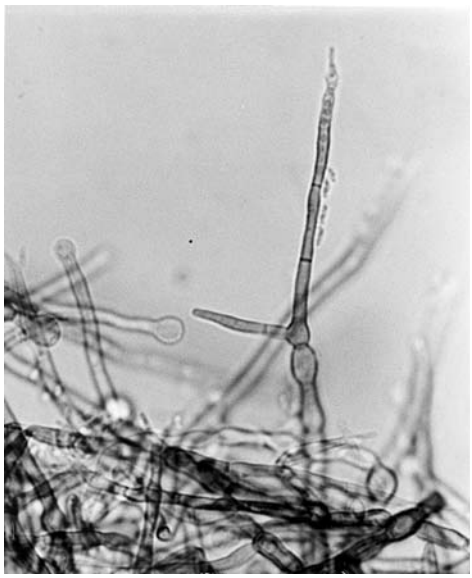
Таксономическое положение темноокрашенных септированных грибов

В. Гамсу (Gams, 1963) удалось индуцировать образование конидий у некоторых изолятов MRA α в культуре и установить, что они принадлежат к роду *Phialocephala.* Он подчеркнул, что MRA α, вероятно, представляет собой ряд различных генотипов. В дальнейшем работу продолжили К. Вонг и Г. Уилкокс (Wang, Wilcox, 1985), которые выделили множество штаммов грибов MRA-типа из корней хвойных, и, после инкубации от шести месяцев до года при низкой температуре (5ºС), индуци-

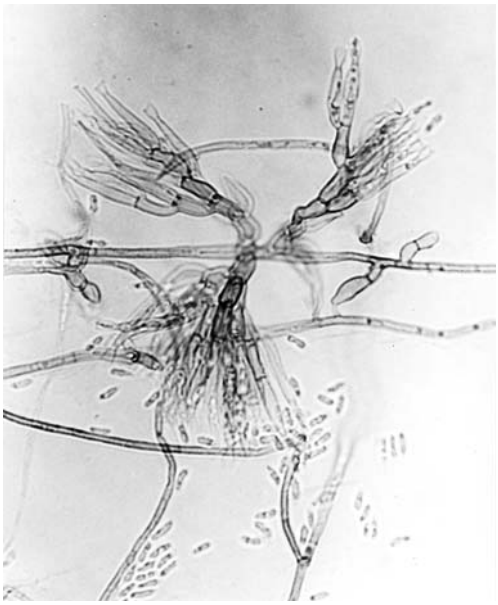
ровали споруляцию у нескольких изолятов. Эти культуры оказались представителями трех различных родов и видов гифомицетов, образующих фиалиды, а именно *Phialocephala fortinii* (рис. 7.4А), *Chloridium pauciflorum* (рис. 7.4Б) и *Phialophora finlandia* (сейчас *Cadophora finlandica*) (рис.7.4В). Четвертый вид ТС грибов, *Leptodontidium orchidicola*, образующий мелкие конидии на концах конидиогенных клеток, но лишенный фиалид, впоследствии был добавлен к списку наиболее широко распространенных ТСЭ грибов (Fernando, Currah, 1995, 1996). На основании анализа последовательностей ядерной ДНК все четыре рода в настоящий момент от-



А



Б



В

Рисунок 7.4. Конидиеносцы (А) *Phialocephala fortinii* Wang et Wilcox; (Б) *Chloridium pauciflorum* Wang et Wilcox; (В) *Phialophora finlandia* Wang et Wilcox (= *Cadophora finlandica* Harrington et New). Масштаб 10 мкм. Фотографии любезно предоставлены Дж. Вонгом.

носят к аскомицетам из порядка Helotiales. Внутри порядка вид *P. fortinii*, как считают, родственен моллизиоидным таксонам из семейства Dermateaceae (Wilson et al., 2004). По данным ITS последовательностей *Cadophora finlandica* этот вид группируется вместе с комплексом *Hymenoscyphus ericae* из Helotiales (Vrelstadt et al., 2002a; Hambleton, Sigler, 2005, см. гл. 11). *L. orchidicola* на основании ITS анализа помещен в семейство Dermateaceae порядка Helotiales (Wilson et al., 2004).

Углубленный анализ таксономического положения и встречаемости *Phialocephala fortinii* подтвердил точку зрения Э. Мелина (Melin, 1923) и В. Гамса (Gams, 1963), что грибы, известные как MRA группа *α*, очень широко распространены и генетически разнородны. Компонент MRA группы *α P. fortinii* встречается как доминирующий корневой эндофит в субальпийских областях западной Канады в таких семействах, как Poaceae, Caryophyllaceae, Rosaceae и Asteraceae (Stoyke et al., 1992) и у широкого круга хозяев в Европе, причем у Pinaceae этот вид доминирует среди прочих ТС грибов (Ahlich, Sieber, 1996). Таким образом, было подтверждено, что вид *P. fortinii* не обладает ни географической приуроченностью, ни специфичностью к хозяину, хотя его встречаемость, возможно, выше в местах с холодным климатом, и проявляется предпочтение в отношении некоторых семейств растений.

На основе культуральных характеристик было выделено четыре морфологических типа *Phialocephala fortinii* (Ahlich, Sieber, 1996). При последующих генетических исследованиях на популяционном уровне в Европе (Menkis et al., 2004; Queloz et al, 2005; Grunig et al., 2006; Sieber, Grunig, 2006) и Канаде (Piercey et al., 2004) было подтверждено, что *P. fortinii sensu lato* представляет собой несколько криптических видов. В Европе встречается, как минимум, восемь таких видов *P. fortinii* (Sieber, Grunig, 2006), и один из них недавно был описан как *Acephala applanata* (Grunig, Sieber, 2005). Такие криптические виды могут симпатрически расселяться на одном и том же участке и даже сосуществовать на одном фрагменте корня (Grunig et al., 2006).

Различные генотипы *Phialocephala fortinii* могут демонстрировать способность к образованию эктомикориз (Fernando, Currah, 1996; Kaldorf et al., 2004), они могут быть ассоциированы со здоровыми или разлагающимися корнями (Queloz et al., 2005) или являться возбудителями мягкой гнили (Sieber, 2002). Эта группа грибов также была отмечена в надземной части сообщества в здоровых стволах *Pinus sylvestris* (Menkis et al., 2004). Результаты исследования родственного вида *Phialocephala*, *P. dimorphospora* (Menkis et al., 2004), предполагают, что он встречается преимущественно в тканях *Picea abies*, и, опять же, его распространение не ограничивается корневой системой. О присутствии этого вида в микоризах сообщений нет. Относительно еще одного ассоциированного с корнями древесных растений широко распространенного вида ТС грибов, *Cadophora* (=*Phialophora finlandica* (Harrington, McNew comb, nov.)), была показана его способность к образованию эктомикориз с одними представителями хвойных (Wilcox, Wang, 1985, 1987a, b) и эктэндомикориз — с другими (см. гл. 6). Гриб *C. finlandica* в настоящее время идентифицирован как симбионт широкого распространенного ЭМ морфотипа *Picierhiza bicolorata* (см. приложение 6.1B и рис. 11.12), и показана возможность формирования им гифальных клубков ЭрМ типа в корнях *Vaccinium* (см. гл. 11).Как предполагает название, вид *Leptodontidium orchidicola* впервые был выделен из орхидеи, хотя не был отмечен как симбионт орхидной микоризы (Currah et al., 1987). Он может быть ассоциирован и с другими травянистыми растениями, такими как виды *Carex* (Fernando, Currah, 1995) и *Ranunculus adoneus* (Schadt et al., 2001; Harrington, McNew, 2003). Возможные филогенетические связи между основными родами ТС грибов были выявлены А. Менкисом с соавт. (Menkis et al., 2004).

Функциональное значение темноокрашенных септированных грибов

На основании углубленного анализа огромного объема посвященных ТС-типу грибов литературных данных, появившихся до 1985 г., Р. Саммербелл пришел к выводу, что грибам, традиционно относимым к группе MRA α (сейчас трактуемой как *Phialocephala fortinii sensu lato*), бесспорно, присуща потенциальная патогенность (Summerbell, 2005). Однако обстоятельства, при которых она была выражена, часто весьма искусственны. Некоторые полагают, что эти грибы становятся агрессивными патогенами только в условиях лесных питомников, в которых посредством фумигации уничтожен ЭМ инокулюм (Richard, Fortin, 1974). Другие исследователи (в особенности, Robertson, 1954), в ходе аккуратного анализа распределения гриба по отдельным длинным или коротким микоризным корням *Pinus sylvestris*, показали, что он встречается предпочтительно в естественным путем стареющих тканях, а не в активных микоризах. Детальных этиологических исследований растительных ответов на внедрение *P. fortinii* было очень мало, но при инокуляции корней *Asparagus* начиналось нерегулярное утолщение клеточных стенок, соседствующих с гифами, что свидетельствует о слабой защитной реакции (Yu et al., 2001b).

Большинство современных работ подтверждает выводы, сделанные в пионерных исследованиях (Jumponnen, 2001; Mandyam, Jumponnen, 2005). Инокуляция горшечных культур ряда древесных и травянистых растений *Phialocephala fortinii* или не оказывала никакого влияния или действовала отрицательно на рост растения (Wilcox, Wang, 1987; Stoyke, Currah, 1991, 1993; Currah et al., 1993; O'Dell et al., 1993).

Так как подавляющее большинство данных свидетельствует о слабом или выраженном отрицательном влиянии ТС грибов на растение, их следует считать скорее факультативными биотрофами (Jumponnen, Trappe, 1998), чем микоризообразователями. Однако есть случаи, когда растение может получать непосредственную выгоду от их присутствия, и тогда ТС грибы попадают в микоризную область мутуалистически-паразитического континуума (Francis, Read, 1995; Johnson et al., 1997).

В результате колонизации *Phialocephala fortinii* альпийских видов *Carex* (Haselwandter, Read, 1982) и *Pinus contorta* (Jumponnen et al., 1998) наблюдалось усиление поглощения P (см. гл. 10). Для другого вида, относимого к ТС-типу (Barrow, Osuna, 2002), *Aspergillus ustus*, было показано усиление мобилизации P из каменного и трехкальциевого фосфатов и увеличение объема транспорта P к кустарнику *Atriplex canescens* в засушливых условиях.

Данные анализа утилизации полимеров видами *Phialocephala fortinii* и *Cadophora finlandica* (Caldwell et al., 2000) свидетельствуют о наличии у них выраженной сапротрофной активности. Среди полимерных источников C, усваиваемых обоими видами грибов, были целлюлоза, крахмал и эфиры жирных кислот. Белок и РНК подвергались гидролизу и могли служить потенциальными источниками органического N и источником N и P соответственно. Было показано, что способность грибов к сапротрофии может быть выгодна для растения при росте на бедных почвах (Upson, 2006) (см. гл. 15). Вид *P. fortinii* образует гидроксаматный сидерофор, феррикроцин (Bartholdy et al., 2001), который может способствовать связыванию железа для автотрофного партнера.

Существует возможность того, что, образуя слабопатогенную ассоциацию в значительной части корневой системы, ТС грибы обеспечивают защиту от вирулентных паразитов. Такие защитные свойства были показаны у АМ растений (см. гл. 16), но пока не были поставлены эксперименты с использованием растений, колонизированных ТС грибами.

Арбутоидные микоризы

Микоризы Arbutus и Arctostaphylos

Грибы, образующие микоризы с *Arbutus* и другими представителями Arbutoideae, давно считали базидиомицетами из-за структурного сходства ЭМ и арбутоидного микоризных типов. Это подтвердилось как при экспериментальном синтезе микориз, так и при описании долипоровой септы у грибов, ассоциированных с микоризами *Arctostaphylos* (Duddridge, 1980; Read, 1983; Scannerini, Bonfante-Fasolo, 1983). В ходе изучения распространения мицелия и экспериментов по синтезу микориз было установлено, что микоризы *Arbutus menziesii* и *Arctostaphylos uva-ursi* образованы грибами, также вступающими в ЭМ (Zak, 1973, 1974, 1976a, b). Грибы-микоризообразователи включали такие виды, как *Hebeloma crustuliniforme*, *Laccaria laccata*, *Lactarius sanguifluus*, *Poria terrestris* var. *subluteus*, *Rhizopogon vinicolor*, *Pisolithus tinctorius*, *Poria terrestris*, *Thelephora terrestris*, *Piloderma bicolor* и *Cenococcum geophilum*. Сходным образом Р. Молина и Дж. Трэпп (Molina, Trappe, 1982a) протестировали способность 28 видов ЭМ грибов к образованию микориз с *Arbutus menziesii* и *Arctostaphylos uva-ursi* в чистой культуре. За исключением трех, все виды образовывали арбутоидные микоризы с обоими растениями. Исходя из этого, следует заключить, что растение играет важную роль в регуляции развития микориз, и, следовательно, у различных таксонов растений образуются разные структуры.

Данные, на основе которых можно было бы сравнить функции арбутоидных и эктомикориз, отсутствуют, но можно предполагать, что они действуют одинаково. Растения представляют собой древесную жизненную форму, способны к фотосинтезу и, так как микоризы представляют собой обычный поглощающий орган у представителей Arbutoideae, экологически значимой группы видов, симбиоз, вероятно, является преимуществом при отборе. Это еще более вероятно, так как чехлы на корнях, как и в ЭМ, могут не только выполнять функции запасания, но и отделять растение от почвы. Таким образом, грибной симбионт «задает тон» в поглощении посредством коротких корней, и все вещества, всасываемые ими, должны пройти через него. Весьма вероятно, что мицелий и ризоморфы играют важную роль в поиске питательных веществ.

Было проведено детальное исследование структуры и гистохимии арбутоидных микориз, образованных в ростовых мешочках у *Arbutus menziesii* базидиомицетами *Pisolithus tinctorius* и *Piloderma bicolor* (Massicotte et al., 1993). На морфологию микориз сильно влияла видовая принадлежность грибного симбионта. При колонизации *P. tinctorius* происходило повторное перистое ветвление боковых корней первого и второго порядков с образованием сложной структуры (рис. 7.5), сходной с впервые описанной для *Arbutus unedo* (Rivett, 1924). Такой характер ветвления, как наблюдаемый в симбиозах *Arbutus* spp. и целого ряда видов грибов (Molina, Trappe, 1982a, b; Giovannetti, Lioi, 1990), скорее всего, обусловлен ранней инициацией индивидуальных боковых корней, а не дихотомией апикальной меристемы корня, как это происходит в типичных эктомикоризах *Pinus* (Piché et al., 1982; см. гл. 6). Каждое из корневых окончаний, колонизированных *Pisolithus tinctorius*, окружается хорошо развитым чехлом, от внешнего слоя которого отходит обширная система ризоморф. Эта особенность была отмечена ранее для симбиоза *Arbutus* и нескольких других видов ЭМ грибов (Zak, 1976b; Molina, Trappe, 1982b).

Микоризы, образуемые *Piloderma bicolor*, напротив, в основном неразветвленные, с тонким чехлом или без него, скудными поверхностными гифами, погруженными в слизь, как у эктэндомикориз, образуемых у *Pinus* видами *Wilcoxina* (Piché et al., 1986; Scales, Peterson, 1991a).

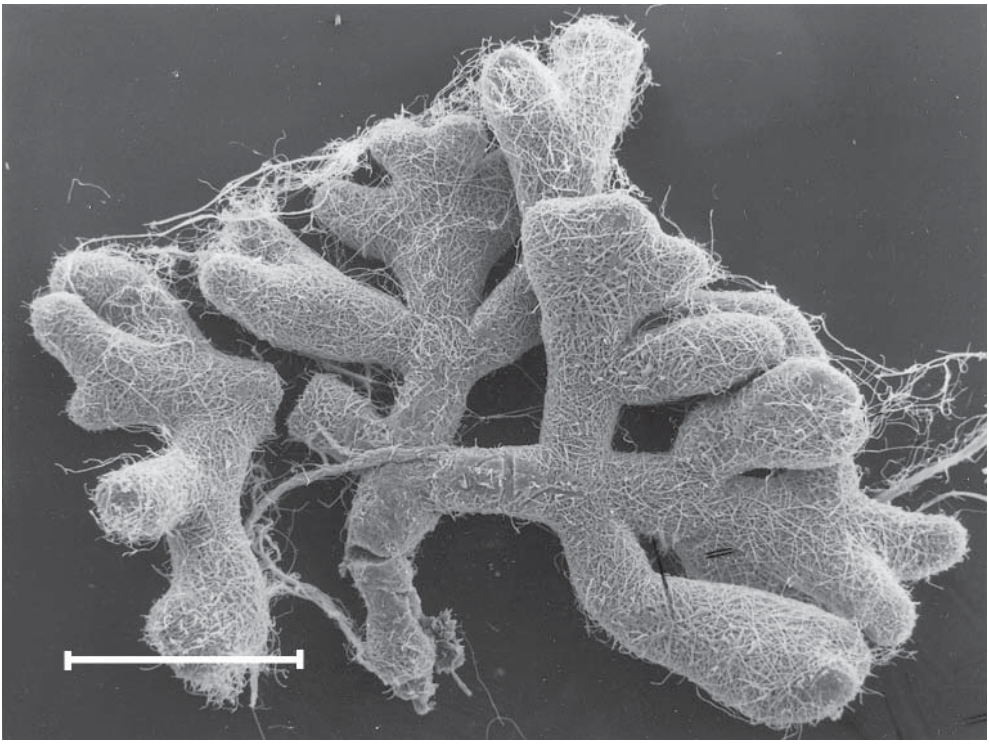


Рисунок 7.5. Микоризное окончание *Arbutus menziesii* в симбиозе с *Pisolithus tinctorius*, показано перистое ветвление. Сканирующая электронная микроскопия. Масштаб 500 мкм. Из Massicotte et al., 1993, с разрешения.

На продольном срезе микоризного окончания перистого типа, образованного *Pisolithus tinctorius* (рис. 7.6), виден толстый чехол, межклеточный мицелий, составляющий сеть Гартига и гифы, проникающие в некоторые клетки ризодермы, где они пролиферируют, формируя плотные гифальные скопления (Massicotte et al., 1993). Одновременное присутствие чехла, сети Гартига и внутриклеточных пролиферирующих гиф — диагностический признак арбутоидных микориз, который может быть выявлен только при исследовании анатомии. Есть данные (напр., Largent et al., 1980), что виды *Arbutus* образуют ЭМ, но они получены на основании только лишь наличия чехла. Очевидно, что в отсутствие более подробного анализа строения, такие сообщения следует воспринимать с осторожностью.

Давно выявлено (Rivett, 1924) и впоследствии подтверждено (Fusconi, Bonfante-Fasolo, 1984; Münzenberger, 1991; Massicotte et al., 1993), что сеть Гартига у *Arbutus* принадлежит к параризодермальному типу, характерному для эктомикориз большинства покрытосеменных (Brundrett et al., 1990; гл. 6). Предполагают, что более глубокому проникновению может препятствовать отложение суберинових пластин и пояски Каспари в радиальных стенках клеток наружного слоя коры, формирующих экзодерму (Massicotte et al., 1993). Клеточные стенки в ризодерме содержат фенольные соединения, но не содержат суберин и, очевидно, не могут сдерживать внедрение гриба. На физиологическую активность и потенциальную роль грибных структур в запасании указывает наличие розеток гликогена и полифосфата (Ling Lee et al., 1975).

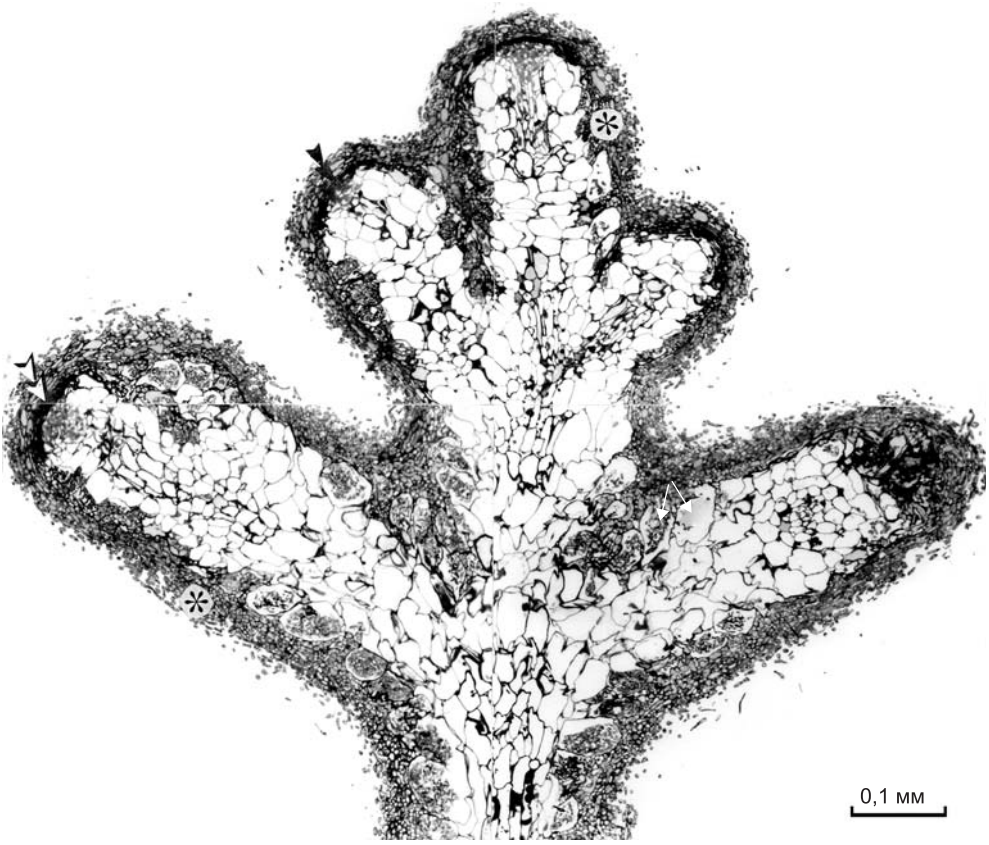


Рисунок 7.6. Продольный срез перистой микоризы, образованной *Pisolithus tinctorius* у *Arbutus menziesii*. Отдельные ветви имеют уплощенные концы (отмечено двойными головками стрелок) и покрыты толстым чехлом (*). Многие клетки ризодермы колонизированы гифами (отмечено стрелками). Световая микроскопия. Из Massicotte et al., 1993, с разрешения.

Микоризы представителей трибы Pyrolae (Грушанковые)

Молекулярно-филогенетический анализ повлек за собой таксономические ревизии, в том числе, ликвидацию семейства Pyrolaceae и перенос составляющих его родов в трибу Pyrolae порядка Ericales (Kron et al., 2002). В ходе этих исследований было установлено, что ближайшими родственниками Pyrolae в пределах порядка являются трибы Monotropae и Pterosporae (см. гл. 13). Триба Pyrolae включает четыре рода: *Pyrola* (35 видов, напр., *P. minor* — см. приложение 7.1А), *Chimaphila* (7 видов), *Orthilia* (1 вид *O. secunda* — см. приложение 7.1Б) и *Moneses* (1 вид). В противоположность Monotropae и Pterosporae, все представители которых полностью микогетеротрофны, только один вид из Pyrolae, *Pyrola aphylla,* лишен хлорофилла и, следовательно, предположительно является полным микогетеротрофом *sensu* Leake,1994; см. гл. 13. Все члены трибы, далее называемые «грушанковые», в природе приурочены к местообитаниям, где преобладают ЭМ древесные породы. Под землей грушанковые обычно образуют обширные системы белых корневищ, от которых отходят темноокрашенные разветвленные корни. При исследовании с по-

мощью световой микроскопии участков вблизи апекса корня в клетках ризодермы видны густые внутриклеточные грибные структуры (см. приложение 7.1В, Г).

Семена грушанковых очень мелкие. У них сильно редуцированные зародыши, что делает их строение сходным с таковым у представителей Monotropae, Pterosporae и большинством видов Orchidaceae, семена которых называют пылевидными (см. гл. 12 и 13). Асимбиотическое прорастание и ранние стадии развития *Pyrola rotundifolia* и *P. secunda* были изучены *in vitro* (Lihnell, 1942). Описано образование бесцветных разветвленных осей, дающих начало корневидным структурам (прокауломы). Эти структуры медленно развиваются в культуре на протяжении 3 лет без дальнейшей дифференциации. Известно, что прорастает только небольшая часть семян. Симбиотическое прорастание *P. secunda* и *Orthilia secunda* недавно наблюдали в природных условиях при посеве семян этих видов в мешочках в почву под куртинами грушанковых в буковом лесу (Zimmer et al., 2007). Хотя доля проросших семян была низкой, появившиеся сеянцы образовывали корни в течение одного года. Их ризодермальные клетки были густо заселены грибами, которые формировали микоризные структуры, очень похожие на имеющиеся во взрослых корневых системах (см. приложение 7.1Д, Е).

Д. Линелл (Lihnell, 1942) выделил 4 вида грибов из микориз *Pyrola rotundifolia* и один — из *P. secunda*. По его описаниям, они представлены стерильным мицелием, и, как минимум, некоторые относятся к ТС-типу. Эти грибы не образуют никаких ассоциаций с прокауломами, полученными в стерильных условиях. Несмотря на то, что базидидиомицет с пряжками на мицелии был выделен из *Pyrola* (Lück, 1940), только совсем недавно, с применением молекулярных методов была выявлена степень участия грибов этой группы в колонизации грушанковых (Tedersoo et al., 2007; Zimmer et al., 2007). Анализ ДНК подтвердил наблюдаемый Д. Линеллом рост ТС грибов вблизи корней грушанковых. Среди ТС грибов были отмечены *Phialocephala fortinii* (Tedersoo et al., 2007), а также виды *Phialophora* и *Cadophora* (Zimmer et al., 2007; см. табл. 7.1). Однако, возможно, еще более важно то, что с помощью молекулярных анализов идентифицирован ряд базидиальных грибов, причем все из них известны как симбионты ЭМ (табл. 7.1). Л. Тедерсоо с соавт. (Tedersoo et al., 2007) получили некоторые данные о специфичности ассоциации *Pyrola chlorantha* и *Tricholoma* spp. Хотя синтез микориз не был произведен, эти исследования отчетливо указывают на возможность ассоциации грушанковых, как и в случае *Arbutus* и *Arctostaphylos*, с эктомикоризными симбионтами не-вересковых растений.

Данные, свидетельствующие о возможности вклада микоризных грибов в N и C баланс представителей Pyrolae, получены при сравнительном анализе $\delta^{15}N$ и ^{13}C изотопных подписей этих растений (Tedersoo et al., 2007; Zimmer et al., 2007). Подобные исследования показали, что $\delta^{15}N$ подписи тканей грушанковых существенно обогащены в сравнении с соседними АМ или немикоризными растениями, но менее обогащены, чем подписи полностью микогетеротрофных растений. Так как высокий уровень обогащения $\delta^{15}N$ и ^{13}C у полных микогетеротрофов считают результатом использования ими грибного партнера в качестве источника этих элементов (см. гл. 12 и 13), значения, отмеченные для представителей Pyrolae указывают на частичную микогетеротрофию этих растений. Было показано статистически значимое обогащение $\delta^{15}N$ у *Orthilia secunda* (рис. 7.7А, Б, В), *Pyrola chlorantha* (рис. 7.7Г), *P. minor* (рис. 7.7Д) и *Chimaphila umbellata* (рис. 7.7Е) сравнительно с автотрофными растениями из других групп (Zimmer et al., 2007). Ткани грушанковых были в меньшей степени обогащены $\delta^{15}N$, чем у встречавшихся рядом полных микогетеротрофов из родов *Neottia* и *Monotropa*. Используя модель смешивания изотопов для двух ресурсов (см. гл. 13), К. Циммер с соавт. (Zimmer et al., 2007) рассчитали, что, в зависимости от типа местообитания и уровня освещенности, от 30 до 80% N в тканях грушанковых получено от грибного партнера (табл. 7.2).

Таблица 7.1. Микоризные грибы, выявленные на корнях грушанковых на шести исследуемых участках в Германии (G1- G6) и одном (C6) в Северной Калифорнии.

Вид растения	Участок	n	Микоризные грибы
Orthilia secunda	G1	5	***Piloderma* spp.** (1), Ascomycete spp.* (1)
Orthilia secunda	G2	5	***Sebacina* spp.** (1), Pezizales spp.* (2)
Orthilia secunda	G3	5	***Piloderma* spp.** (2), ***Wilcoxina* spp.** (1)
Pyrola chlorantha	G4	5	***Russula* spp.** (1)
Chimaphila umbellata	G5	5	***Tomentella* spp.** (1), *Phialophora* spp.* (1)
Pyrola minor	G6	5	***Laccaria* spp.** (1)
Pyrola picta	C6	5	***Cortinarius* spp.** (1), ***Hebeloma* spp.** (1), ***Piloderma* spp.** (2), ***Rhizopogon* spp.** (2), ***Russula* spp.** (3), **Thelephoraceae spp.** (2), ***Tomentella* spp.** (2), Helotiales spp.* (1), *Phialocephala* spp. (1), ***Wilcoxina* spp.** (1), *Cadophora* spp. (1), *Leptodontidium* spp. (1)

Из Zimmer et al., 2007. Облигатно эктомикоризные линии выделены жирным шрифтом. Линии, включающие некоторые эктомикоризные таксоны, отмечены звездочкой. *n* — число особей, у которых были собраны образцы корней. Значения в скобках после названий грибов означают число растений, с которыми был ассоциирован грибной таксон.

Таблица 7.2. Доли азота (N_{df} ± 1 SD) и углерода (C_{df} ± 1 SD), полученных от микоризного гриба, в листьях грушанковых, рассчитанные исходя из δ значений и среднего фактора обогащения по модели смешивания изотопов из двух ресурсов.

Вид растения	Участок	Относительная освещенность [%]	N_{df} [%] ± 1 SD	C_{df} [%] ± 1 SD
Orthilia secunda	G1	1	56 ± 21**	28 ± 12**
Orthilia secunda	G2	100	62 ± 15**	0
Orthilia secunda	G3	15	59 ± 27**	0
Pyrola chlorantha	G4	15	74 ± 29**	0
Chimaphila umbellata	G5	15	40 ± 5***	0
Pyrola minor	G6	25	30 ± 9**	0
Pyrola picta	C3		83 ± 26**	0
Pyrola picta	C4		70 ± 11***	0

Уровни значимости для отклонения от нуля на основе теста Стьюдента обозначены звездочками: **P<0,1, ***P<0,001. Относительная освещенность (%) была измерена под кронами на участках G1–G6. Участки: G — Германия; C — Калифорния. SD — стандартное отклонение.
Из Zimmer et al., 2007, с изменениями.

В работе К. Циммер с соавт. (Zimmer et al., 2007) при анализе $\delta^{13}C$ было показано, что вклад микогетеротрофного способа питания в C баланс растения был значительно меньшим, чем в случае N. Значения $\delta^{13}C$, в противоположность полностью микогетеротрофным растениям, обычно существенно не отличались от таковых у находящихся рядом автотрофов (рис. 7.7). Только у одного вида, *Orthilia secunda*, и только на одном, сильно затененном участке, был отмечен значительный микогете-

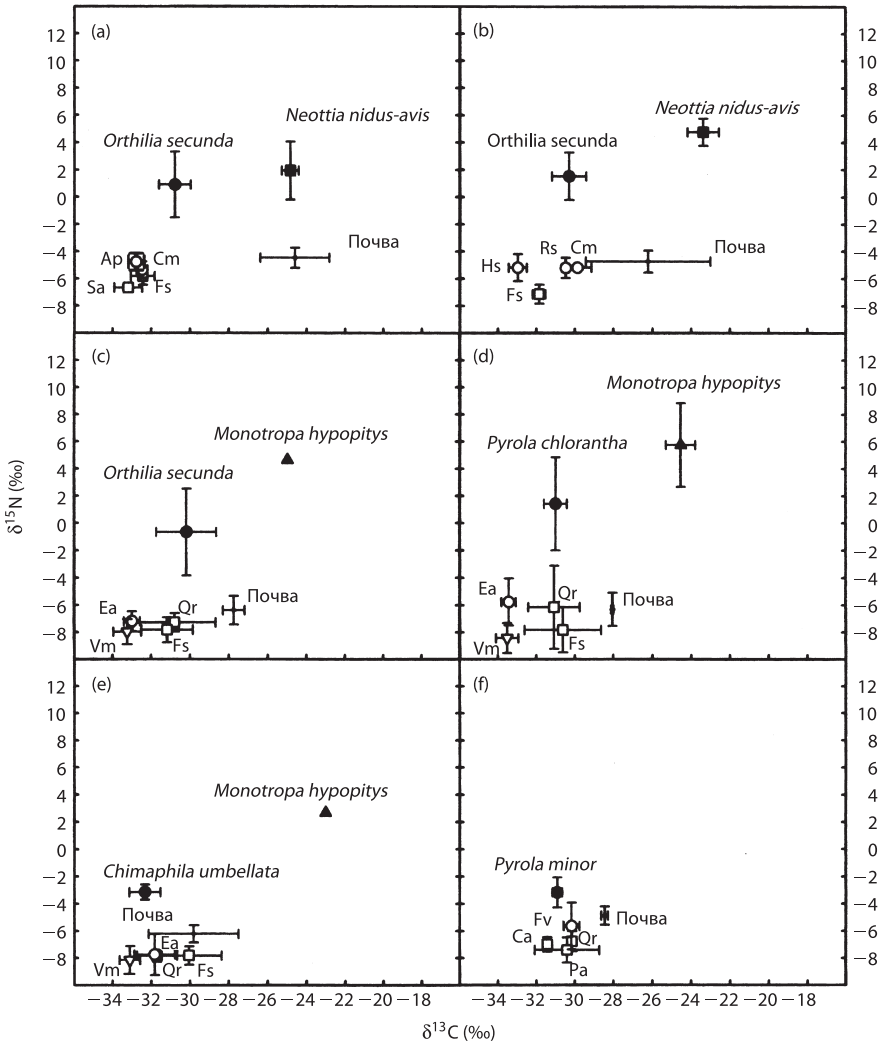


Рисунок 7.7. $\delta^{15}N$ и $\delta^{13}C$ в листьях четырех видов зеленых грушанковых, двух полностью микогетеротрофных видов, 12 полностью автотрофных (по литературным данным) и в образцах почвы, собранных на шести лесных участках в северо-восточной Баварии (Германия): А — лес с *Fagus sylvatica* G1; Б — поляна в лесу с *Fagus sylvatica* G2; В–Д — смешанные леса с *Pinus sylvestris* G3–5; Е — лес с различными видами хвойных G6. Символы отражают классификацию на основании принадлежности к функциональным группам: эктомикоризные (по литературным данным) растения (□), арбускулярные или немикоризные (по литературным данным) растения (прозрачный круг), растения с эрикоидной микоризой (по литературным данным) (перевернутый прозрачный треугольник), зеленые грушанковые (●), микогетеротрофные орхидные (■), микогетеротрофные подъельниковые (▲). Ошибка не приведена, если $n < 3$. Сокращения для видов растений: *Ap — Acer pseudoplatanus*, *Ca — Corylus avellana*, *Cm — Convallaria majalis*, *Ea — Epilobium angustifolium*, *Fs — Fagus sylvatica*, *Fv — Fragaria vesca*, *Hs — Hieracium sylvaticum*, *Pa — Picea abies*, *Qr — Quercus robur*, *Rs — Rubus saxatilis*, *Sa — Sorbus aucuparia*, *Vm — Vaccinium myrtillus*. Значения представлены в виде среднее ± стандартное отклонение. Из Zimmer et al., 2007.

ротрофный приток С (табл. 7.2). В отношении этого элемента данные К. Циммера с соавт. (Zimmer et al., 2007) и Л. Тедерсоо с соавт. (Tedersoo et al., 2007) противоречат друг другу. В последнем исследовании было отмечено, что, помимо значительного микогетеротрофного поглощения N, *O. secunda*, *Pyrola chlorantha*, *P. rotundifolia* и *Chimaphila umbellata* получали от 10 до 68% С от грибного партнера. Необходимо дальнейшее изучение этих вопросов для того, чтобы понять, отражают ли противоречия в результатах биологические различия между исследуемыми растениями, или, что более вероятно, они отражают разницу в методах расчета относительного уровня изотопного обогащения. Какова бы ни была причина различий, из обеих работ следует, что существует физическая и физиологическая взаимная зависимость между грушанковыми, их микоризными симбионтами и находящимися рядом автотрофами. Кроме того, пока еще слабо изученные микогетеротрофные взаимоотношения могут объяснить строгую приуроченность этих растений к лесным или кустарниковым сообществам с преобладанием ЭМ видов.

Ультраструктура микоризных окончаний у Pyrolae

В результате детального ультраструктурного анализа развития арбутоидных микориз ряда видов *Pyrola* стало возможным проследить последовательность событий при образовании и последующем угасании симбиоза на клеточном уровне (Robertson, Robertson, 1985). Инициация микоризы происходит в нескольких миллиметрах от кончика корня, где гифы из поверхностного сплетения (рис. 7.8) проникают между радиальными стенками клеток ризодермы и образуют сеть Гартига. У видов *Pyrola* она также параризодермального типа (рис. 7.9), с лабиринтообразной структурой стенок гиф (рис. 7.10). Стенки таких гиф более электроноплотные, чем у гиф, внедряющихся в клетки (рис. 7.10 и 7.11). По мере вхождения в клетки ризодермы из сети Гартига, гифы окружаются инвагинирующей цитоплазматической мембраной растительной клетки и материалом матрикса, непрерывного с растительной клеточной стенкой (рис. 7.12). Слой матрикса значительно толще (около 100 нм), чем сама стенка гифы, достигающая только 25–35 нм (рис. 7.13). Вдоль растител-

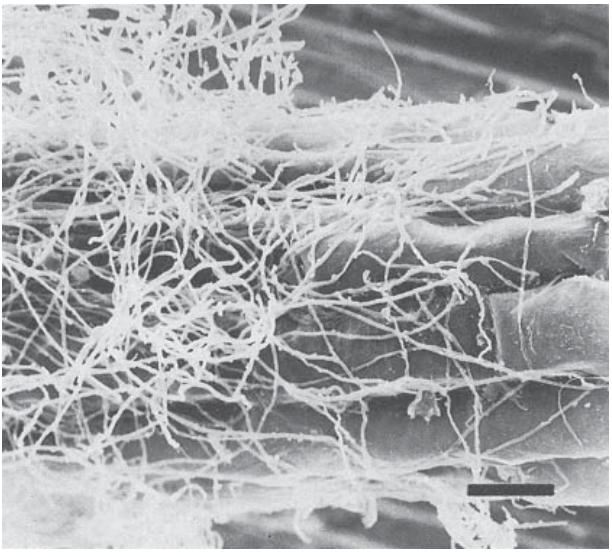


Рисунок 7.8. Образование микоризы у *Pyrola* (*Orthilia*) *secunda*. Поверхностное сплетение гиф покрывает корень на небольшом расстоянии от кончика, но структурированный чехол отсутствует. Масштаб 50 мкм. Из Robertson, Robertson, 1985, с разрешения.

Рисунок 7.9. Образование микоризы *Hysterangium separabile* у *Pyrola secunda*. На срезе видно слабое развитие мицелия на поверхности корня (*), параризодермальная сеть Гартига (отмечено стрелками, HN) и обильная внутриклеточная колонизация ризодермы. Проникновение грибных структур в кору корня не происходит. Масштаб 50 мкм. Из Robertson, Robertson, 1985, с разрешения.

Рисунок 7.10. Образование микоризы у *Pyrola secunda*. Вид с поверхности сети Гартига (HN), видны анастомозы и лабиринтообразные структуры стенок гиф. Масштаб 10 мкм. Из Robertson, Robertson, 1985, с разрешения.

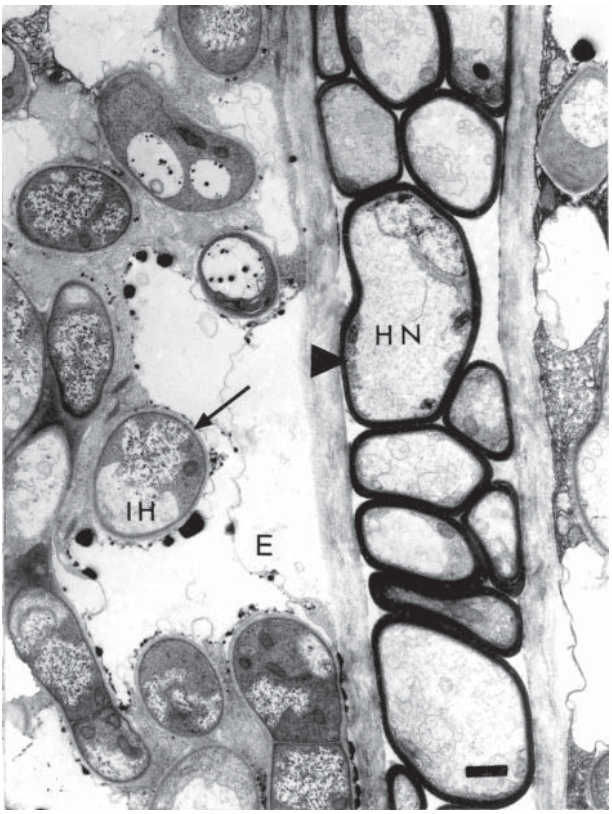


Рисунок 7.11. Образование микоризы у *Pyrola secunda*. Сеть Гартига (HN) окружает клетки ризодермы (E). Обратите внимание на различную толщину стенок гиф сети Гартига (отмечено головкой стрелки) и гиф, колонизирующих ризодермальные клетки (отмечено стрелкой). Масштаб 1,0 мкм. Из Robertson, Robertson, 1985, с разрешения.

ной мембраны, окружающей гифу, и на тонопласте встречаются таннин-подобные отложения (рис. 7.14). Невзирая на эту явную защитную реакцию, грибной симбионт активно растет внутри клеток, образуя гифальные комплексы (рис. 7.9 и 7.12).

В зрелом состоянии цитоплазма колонизированной растительной клетки содержит органеллы, в том числе, митохондрии, ЭПС, рибосомы, диктиосомы и различные пластиды (см. рис. 7.13 и 7.14). Цитоплазма внутриклеточных гиф еще более густая и, кроме многочисленных митохондрий и ядер, может включать мембранные пластинки и мультивезикулярные тельца (см. рис. 7.13). В ходе проведенного исследования также были выявлены межвидовые различия в структурной организации межфазного матрикса у видов *Pyrola* (Robertson, Robertson, 1985). У *P. minor* матрикс представляет собой равномерно гранулированный слой между цитоплазматическими мембранами растения и гриба (см. рис. 7.13), в то время как у *P. secunda* он имеет характерный облик пчелиных сот (рис. 7.15А, Б).

Процесс старения ассоциации сходен с наблюдаемым в эрикоидных микоризах *Rhododendron* (Duddridge, Read, 1982b; см. гл. 11). Он начинается с локального участка в пределах клетки (рис. 7.16), где происходит дегенерация растительной цитоплазмы и утрата целостности органелл. Как и у *Rhododendron*, грибные гифы и материал окружающего матрикса на этой стадии имеют нормальный облик. Разрушение гиф обычно начинается только после дезорганизации растительной цитоплазмы (рис. 7.17 и 7.18), хотя иногда коллапсирующие гифы наблюдаются в полностью здоровой цитоплазме растения (Robertson, Robertson, 1985). Таким образом, очевидно, что в арбутоидных, как и в эрикоидных, микоризах разрушение растительной клетки часто предшествует гибели грибных гиф, что противоречит ран-

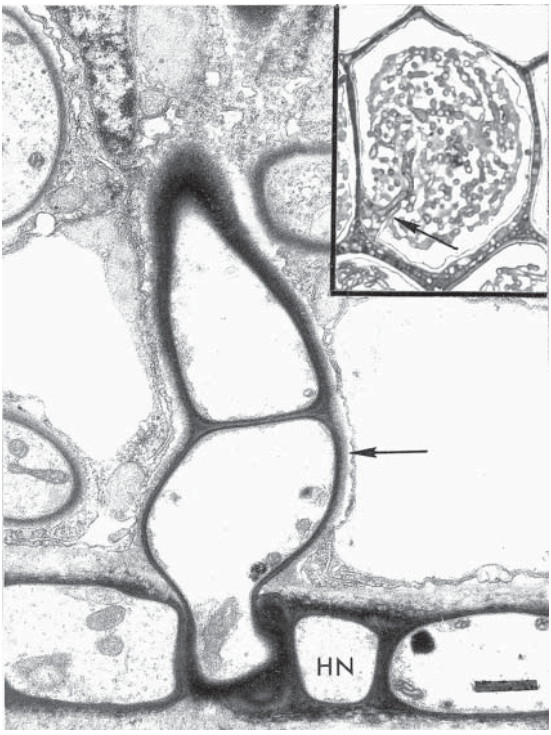


Рисунок 7.12. Развитие внутриклеточных гиф в ризодермальной клетке *Pyrola secunda*, показано проникновение гифы из сети Гартига и инвагинация цитоплазматической мембраны растительной клетки (отмечено стрелкой). Масштаб 1,0 мкм. Выноска: световая микрофотография ризодермальной клетки, показано внедрение гифы из сети Гартига и обширная внутриклеточная колонизация. Из Robertson, Robertson, 1985, с разрешения.

Рисунок 7.13. Развитие гранулированного межфазного матрикса (отмечено стрелками), окружающего внутриклеточные гифы у *Pyrola secunda*. Обратите внимание на сравнительно тонкие стенки гиф и обильное развитие органелл, как в грибных гифах, так и в растительных клетках. Масштаб 1,0 мкм. Из Robertson, Robertson, 1985, с разрешения.

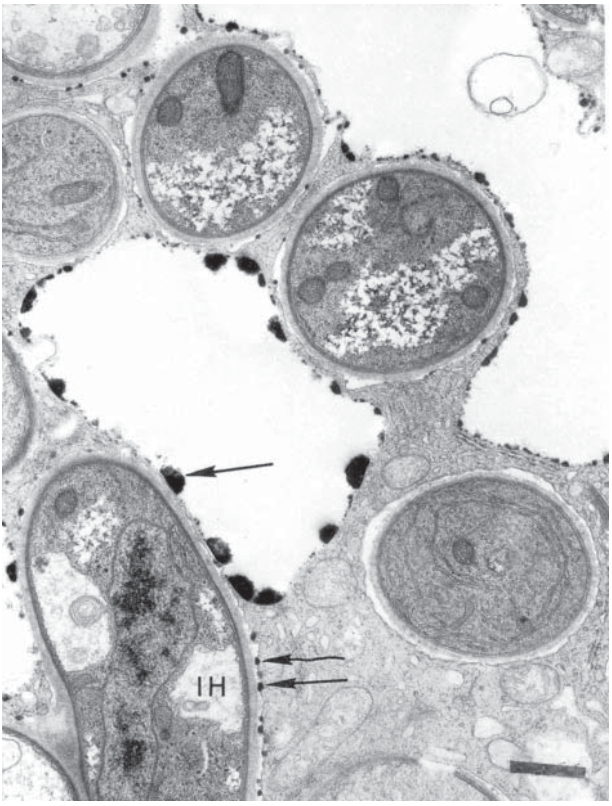


Рисунок 7.14. Развитие внутриклеточных грибных структур у *Pyrola minor*, показано обильное отложение таннина на растительной цитоплазматической мембране и тонопласте (отмечено стрелками). Обратите внимание на наличие органелл у обоих симбионтов. Масштаб 1,0 мкм. Из Robertson, Robertson, 1985, с разрешения.

ним основанным на световой микроскопии наблюдениям «переваривания» гриба в зрелой симбиотической структуре.

Заключение

Ввиду вышесказанного, ясно, что эктэндомикоризы не являются аномальными или слабопатогенными инфекциями, происходящими при отсутствии ЭМ грибов. Это симбиотические и потенциально мутуалистические ассоциации, которые часто встречаются на ранней стадии развития сеянцев некоторых хвойных. О функциях этого типа микориз известно мало. Продуктивным подходом для выяснения, действительно ли эктэндомикоризы менее требовательны к С, чем ЭМ, развивающиеся на полностью реализующих свой фотосинтетический потенциал более взрослых растениях, может оказаться сравнительная оценка поглощения органического С и минеральных питательных веществ.

Интересный вопрос связан со стабильным образованием одними и теми же изолятами Е-штамма эктэндомикориз у *Pinus* и эктомикориз у *Picea*. Эти данные, указывающие на наличия контроля над развитием микоризы со стороны растения, не являются уникальными только для грибов Е-штамма.

Очень часто встречающиеся ассоциированные с корнями растений темные септированные грибы, отмеченные уже в ранней литературе, продолжают вызывать интерес исследователей. Благодаря применению молекулярных методов были сделаны большие успехи в сфере точной идентификации ТС таксонов. На вопрос о функциональном значении подобных ассоциаций пока нет однозначного ответа, но

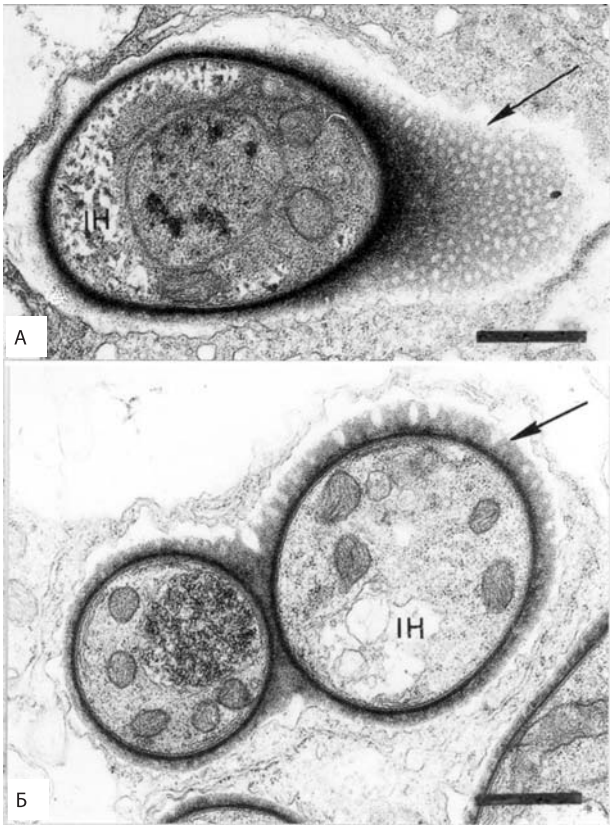
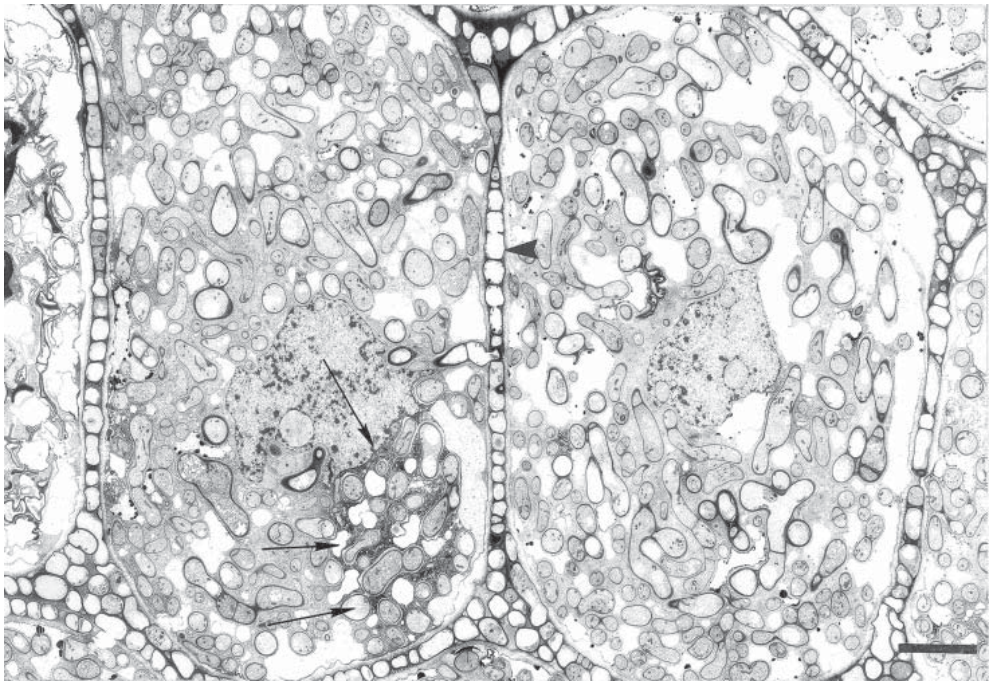


Рисунок 7.15 А, Б — межфазный матрикс со структурой, напоминающей пчелиные соты (отмечено стрелкой), у *Pyrola secunda*. Масштаб 1,0 мкм. Из Robertson, Robertson, 1985, с разрешения.

Рисунок 7.16. Две колонизированные ризодермальные клетки *Pyrola*, показана параризодермальная сеть Гартига (отмечено головкой стрелки) и зрелые внутриклеточные гифы. Стрелками отмечена локальная дегенерация растительной цитоплазмы вокруг живых гиф. Масштаб 1,0 мкм. Из Robertson, Robertson, 1985, с разрешения.



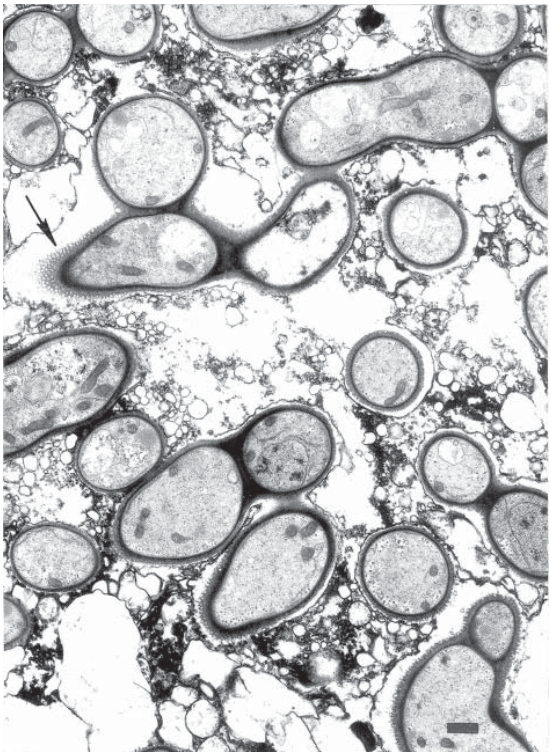


Рисунок 7.17. Более поздняя стадия старения, показана дегенерация растительной цитоплазмы вокруг живых гиф у *Pyrola secunda*. Масштаб 1,0 мкм. Из Robertson, Robertson, 1985, с разрешения.

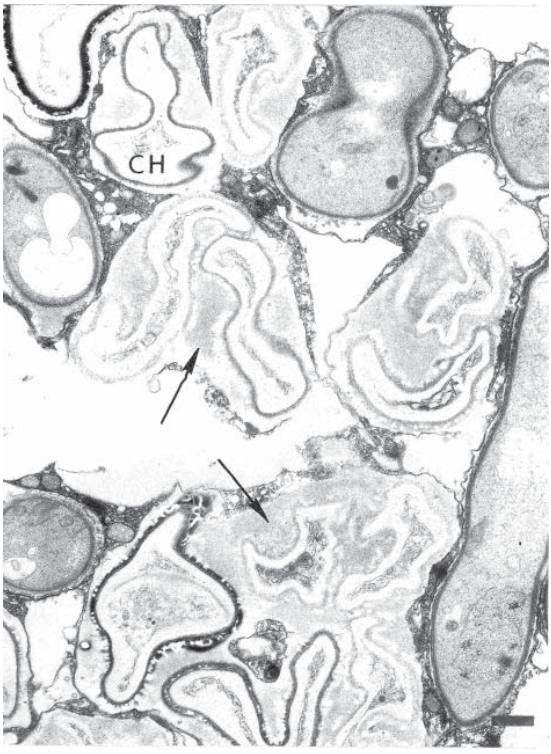


Рисунок 7.18. Коллапсирующие внутриклеточные грибные гифы (CH) в ризодерме *Pyrola*. Масштаб 1,0 мкм. Из Robertson, Robertson, 1985, с разрешения.

в подавляющем большинстве работ эти организмы трактуются скорее как факультативные биотрофы, чем как симбионты микоризы.

Arbutus, *Arctostaphylos* и *Pyrola* образуют арбутоидные микоризы с теми же видами грибов, которые состоят в ЭМ симбиозе с хвойными. По данным, полученным методом стабильных изотопов, по крайней мере, для Pyrolae показано наличие общих с ЭМ симбионтов, способствующее микогетеротрофному получению в арбутоидной микоризе N и, возможно, также C. Эти наблюдения могут послужить возможным объяснением облигатного сосуществования грушанковых и ЭМ деревьев в природных условиях. Некоторые особенности Pyrolae, в том числе, крайняя степень редукции их семян и наличие в пределах трибы абсолютно бесхлорофилльных видов, предполагают, что эти растения занимают промежуточное положение между полной автотрофией и полной микогетеротрофией, характерной для их близких родственников — трибы Monotropae (см. гл. 13).

8
Рост и распределение органических соединений между симбионтами эктомикоризы

Введение

А.Б. Франк (Frank, 1894) поставил серию экспериментов для выявления влияния эктомикоризной (ЭМ) колонизации на рост сеянцев *Pinus*. Растения в нестерильной почве образовывали микоризы и росли быстрее, чем содержащиеся в стерильной почве. Несмотря на то, что схема эксперимента была ошибочной, так как тепловая стерилизация может одновременно высвобождать и питательные, и токсичные вещества, в целом, полученные результаты были многократно подтверждены в дальнейшем. Были применены модификации, направленные на устранение эффекта тепловой стерилизации, и получаемые данные стали вполне достоверными. Кроме того, наблюдения за акклиматизацией экзотических ЭМ древесных пород в разных частях земного шара показали, что искусственная инокуляция обычно играет важную роль, хотя можно успешно выращивать и немикоризные сеянцы при условии внесения подходящих удобрений (см. гл. 17).

Удивительно, что при бесчисленном множестве сообщений об усилении роста в результате ЭМ колонизации, только в очень немногих работах приведены доказательства в виде кривых поглощения питательных веществ или получения растением преимуществ от колонизации при лимитировании его роста единственным элементом питания. В настоящее время такие исследования существуют (напр., Heinrich, Patrick, 1986; Bougher et al., 1990; Jones et al., 1990, 1998).

Одна из отмеченных работ особенно показательна в отношении ростовых ответов растения (Bougher et al., 1990). Мелкие семена *Eucalyptus diversicolor*, имеющие ограниченный запас питательных веществ, выращивали в песчаной почве с низким содержанием органических соединений, подвергавшейся мягкой стерилизации, не дающей побочных эффектов. В эксперименте изучались ответные реакции на инокуляцию четырьмя разными грибными симбионтами (два изолята, A и B, *Descolea maculata* и по одному *Laccaria laccata* и *Pisolithus tinctorius*) и на один элемент, P, дефицит которого, как известно, является основным лимитирующим фактором роста растений в природных почвах. Таким образом, схема эксперимента соответствовала естественным условиям, и полученные результаты могут быть экстраполированы на ситуации в природе.

Кривые ростовых ответов немикоризных растений в зависимости от содержания P в почве имели сигмовидную форму, что типично для растений с толстыми корнями (Bolan et al., 1983; рис. 8.1A). Для них существует пороговое значение содержания P в почве, ниже которого рост отсутствует. Колонизация *Descolea maculata* A и B и *Laccaria laccata* изменяла форму кривой, снимая пороговый эффект и позволяя

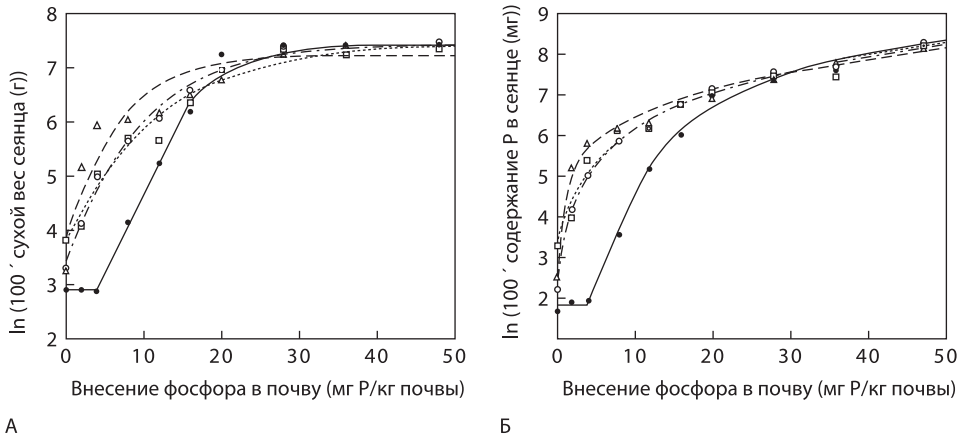


Рисунок 8.1. Рост и поглощение Р у *Eucalyptus diversicolor* в ответ на внесение Р и микоризную колонизацию двумя штаммами *Descolea maculata*, А (□) и В (○) или *Laccaria laccata* (Δ) сравнительно с неинокулированным контролем (●). А — сухой вес; Б — содержание Р. Из Bougher et al., 1990, с разрешения.

растениям расти в исключительно бедной питательными веществами почве. Считается, что в основе этого влияния лежит способность свободного мицелия усваивать питательные вещества, в данном случае, Р, за пределами зоны истощения, окружающей корень (см. гл. 5). Грибы могут также иметь более низкую пороговую концентрацию для поглощения вещества или способность высвобождать Р, связанный в сложных субстратах, что увеличивает активность поглощения элементов питания (см. гл. 9 и 10).

При внесении Р в количествах, при которых происходят ответные ростовые реакции на ЭМ колонизацию (2–12 мг Р/кг почвы), грибные изоляты различались по своей способности усиливать рост сеянцев (рис. 8.1А). При внесении 2 и 4 мг Р/кг почвы сухой вес сеянцев, инокулированных *Laccaria laccata*, был значительно выше, чем у растений при инокуляции *Descolea maculata*. При второй концентрации биомасса сеянцев с *L. laccata* была в девять раз выше, чем у ЭМ сеянцев с *D. maculata* и в 21 раз превышала значение для немикоризных растений. Зависимость накопления Р растениями в ответ на внесение этого элемента в почву была сходна с таковой для сухого веса (рис. 8.1Б), и опять ЭМ колонизация снимала пороговое значение, существующее для неколонизированных растений. Однако сухой вес сеянцев достигал максимума в районе 28 мг Р/кг почвы, в то время как содержание Р линейно возрастало и при более высоких концентрациях Р. Помимо отсутствия пороговой величины, ЭМ растения имели более высокое содержание Р в тканях, чем немикоризные, даже без внесения Р извне.

Этот пример не только демонстрирует стимуляцию роста в связи с ЭМ колонизацией, но и коренные изменения характера кривых ростовых ответов растений при низких концентрациях питательных веществ. Он подчеркивает существенные различия грибов-симбионтов как на межвидовом, так и на внутривидовом уровне по способности добывать элементы питания и усиливать рост растений. Эти биологически значимые наблюдения также указывают на возможность использования кривых роста с разными видами ЭМ грибов для прогнозирования эффективности их использования в питомниках и для лесовосстановления (см. гл. 17). Тем не менее, следует помнить, что этот пример показывает ответные реакции на внесение Р в

условиях, когда прочие питательные вещества присутствовали в достаточном количестве. В зависимости от типа почвы или сообщества, где обитает растение, другие элементы, в особенности N (см. гл. 9), могут оказаться более важными факторами, лимитирующими рост, и часто содержание P и N вместе может ограничивать распространение растений. Были бы очень полезны исследования ответных реакций на содержание элементов питания в различных условиях.

Трудность постановки экспериментов с древесными растениями в заданных условиях не позволяет проводить исследование во временных масштабах, больших, чем малая часть цикла их развития. Следовательно, сравнение ЭМ растений с контрольными может быть проведено на протяжении всего лишь одного или, максимум, нескольких сезонов. Множество работ было выполнено в открытом грунте, иногда инокулированном почвой, гумусом или фрагментами микориз, где в качестве контроля был использован стерилизованный инокулюм (примеры см. в Harley, 1969). В некоторых случаях почву стерилизовали путем смачивания или фумигации перед посадкой. Сделанные выводы достаточно просты: ЭМ сеянцы обычно крупнее и имеют корневую систему большего размера, и надземная и подземная части имеют больший сухой вес, а отношение масс корней и побегов обычно ниже.

Изменение отношения корень: побег нуждается в дальнейшем изучении, так как независимо от образования микоризы, эта пропорция снижается по мере роста сеянца, и значения будут ниже в почвах, богатых доступными питательными веществами, особенно, N, а также иногда они снижаются при условиях, неблагоприятных для фотосинтеза. Хотя низкое значение отношения корень: побег и ожидаемо для микоризных растений, как из-за большей способности к поглощению питательных веществ, так и из-за увеличения их концентрации в тканях, очень важно было бы узнать, насколько больший размер и возраст сами по себе вносят вклад в распределение углерода (C) в сеянцах. Результаты, полученные при выращивании сеянцев *Picea sitchensis* в моноксеничной культуре с *Lactarius rufus* в течение 14 недель, приведены в таблице 8.1 (Alexander, 1981). Наблюдалось обычное увеличение высоты и сухого веса побегов и корней, но отношение корень: побег было выше (даже при уровне значимости менее $P = 0{,}05$) у ЭМ растений. В обсуждении автор отметил, что грибные чехлы составляли 20% массы корней, что, вполне возможно, несколько повышает соотношение корень: побег. Н.Л. Бухер с соавт. (Bougher et al., 1990) также получили данные, касающиеся этого отношения для вида *Eucalyptus diversicolor* в сухом весе сеянца. Не было выявлено различий в ответах на разные виды ЭМ грибов, а также между ЭМ и немикоризными растениями. Это вновь указывает на возможность связи отношения корень: побег скорее с размерами растения, чем с колонизацией как таковой.

Другие исследования (Alexander, 1981) подтверждают полученные ранее данные (напр., McComb, 1938) о том, что колонизация повышает общее число коротких корней у сеянца. В этом случае изменяется форма корневой системы, так как возрастает число коротких корней, как в пересчете на сантиметр длины корня, так и на миллиграмм массы корня ЭМ сеянца. Очень важно отделить нормальные изменения формы в ходе увеличения размеров, зависящие от поступления и поглощения питательных веществ, от тех, которые происходят в результате ЭМ колонизации и ее физиологических последствий. Кроме того, хотя ЭМ колонизация, как известно, увеличивает скорость роста растений при субоптимальном уровне поступления основных элементов питания, таких как P (Bougher et al., 1990), только в относительно небольшом количестве исследований были проанализированы последствия развития ЭМ у растений при достаточном количестве питательных веществ. Чисто теоретически, очевидно, что в таких условиях элиминируется преимущество колонизации, заключающееся в увеличении поступления питания, при том, что углеродные затраты растения на рост и дыхание грибного партнера (оце-

Таблица 8.1. Рост *Picea sitchensis* в чистой культуре с *Lactarius rufus* в течение 14 недель.

	Контроль	При инокуляции	Уровень значимости различий P<
Микоризная колонизация (%)	0	58,2 ± 9,9	
Высота побега (см)	5,8	9,2	0,05
Сухой вес побега (мг)	47,1	100,2	0,01
Сухой вес корня (мг)	25,5	74,0	0,001
Общий сухой вес (мг)	72,6	174,2	0,001
Соотношение корень-побег	0,59	1,76	НД
Число боковых почек	4,4	5,9	НД
Длина боковых корней (см)	98,2	219,0	0,01
Общее число корневых окончаний	60,8	236,7	0,05
Короткие корни/см боковых корней	0,64	1,17	НД
Короткие корни/мг веса	2,43	3,31	НД

Данные взяты из Alexander, 1981. Субстрат: вермикулит-торф с питательной средой. Корни сохранялись при температуре ниже 25 ºС в теплице. Среднесуточная освещенность приблизительно 25 Вт/м^2. НД — различие недостоверно.

ненные ниже) останутся без изменения. Фактически, в нескольких работах (Molina, Chamard, 1983; Ingestad et al., 1986; Rousseau, Reid, 1991) показано, что, хотя у ЭМ растений могло происходить небольшое ослабление роста при оптимальных или избыточных концентрациях питательных веществ, подобное же снижение происходит при более низком содержании элементов питания. Было дано возможное объяснение такой аномалии (Rousseau, Reid, 1991). Авторы отметили, что растения при более высоком содержании питательных веществ обычно имели меньшее отношение корень: побег сравнительно с растущими при недостатке питания. По определению, растения с меньшим соотношением корень: побег имеют больше тканей, скорее способных к получению, чем к утилизации С. Следовательно, даже если ткани сеянцев с разным отношением корень: побег колонизированы в одинаковой степени, те из них, у кого это соотношение выше, будут микоризованы сильнее, чем особи с низким отношением корень: побег. Так, если на ЭМ гриб приходится 20% корневой системы сеянца с соотношением побега к корню 1:1, он составит 10% сухого веса. В случае, если отношение 3:1, то вес гриба будет только 5%. Относительные затраты С на поддержание грибного партнера у сеянца с отношением побега к корню 1:1 вдвое превысят таковые у сеянца со значением 3:1, даже если грибная биомасса будет в обоих случаях одинакова. Данные свидетельствуют о том, что, на самом деле, объем С затрат на грибной симбионт при высоком содержании питательных веществ может быть сокращен за счет ингибирования развития свободного мицелия (Jones et al., 1990; Wallander, Nylund, 1992; и см. гл. 4 и 5).

В литературе иногда встречаются данные об отсутствии влияния ЭМ колонизации или даже о снижении скорости роста растения, но на них нечасто обращают внимание, несмотря на то, что они весьма важны по двум причинам. Во-первых, они указывают на то, что ЭМ колонизация не всегда способствует увеличению размеров или массы растения, и на начальных стадиях симбиоза, часто довольно продолжительных, рост ЭМ растений идет с той же скоростью, что и немикоризных, или даже медленнее. Во-вторых, часто встречаются данные о том, что разные сочетания гриб-растение по-разному влияют на рост, что уже было показано на приме-

ре *Eucalyptus diversicolor*. Разные виды грибов сравнивали в симбиозе с единственным видом растения, и были получены результаты, свидетельствующие о различиях в типе влияния на растение даже различных штаммов одного вида грибного партнера. В таблице 8.2 приведен пример влияния разных штаммов *Pisolithus tinctorius* на сеянцы *Quercus rubra* (Marx, 1979b). Подобные различия вполне ожидаемы, принимая во внимание генетическое, физиологическое и биохимическое разнообразие ЭМ грибов. Сходным образом, различные биотипы растения могут по-разному реагировать на один и тот же штамм грибного симбионта (Marx, Bryan, 1971; Marx, 1979b), но исследований в этом направлении пока недостаточно. Для выяснения физиологических взаимоотношений между симбионтами и выявления наиболее эффективных сочетаний гриб-растение для прикладных целей лесоводства необходима дополнительная информация по этим вопросам. Экспериментальная работа должна быть направлена на подробное описание строения и функций ЭМ, связанных с более или менее высокой скоростью роста растения. Для того, чтобы рассчитать потребность грибов в С (см. ниже), необходимо получение данных о развитии сети Гартига, толщине чехла и, в особенности, о количествах и степени развития свободного мицелия у микориз в условиях, приближенных к природным. Некоторые новые данные в этой сфере исследования были обсуждены в гл. 6. Также очень важны физиологические свойства штаммов грибных симбионтов, особенно, такие показатели, как масса используемого С по отношению к массе образуемого мицелия. Путем такого анализа возможно объективно оценить эффективность симбионта, как это было сделано в ряде работ в отношении отдельных сочетаний гриб-растение (Jones et al., 1991; Rygiewicz, Anderson, 1994; и см. ниже).

Таблица 8.2. Рост сеянцев *Quercus rubra* с различными штаммами *Pisolithus tinctorius*.

Штамм гриба	Высота (см)	Свежий вес (г)	Доля эктомикоризных коротких корней (%)
138	13,3	8,5[a]	72[a]
136	13,5	6,5[c]	15[b]
145	11,5	7,0[b]	1[c]
Контроль	12,5	6,7[c]	0

Данные взяты из Marx, 1979b. Дневная температура 28 ºС, ночная 22 ºС. Протяженность светового дня 14,5 ч. Период роста — четыре месяца. Различия по высоте были недостоверны при $P = 0,05$. В других столбцах недостоверные различия обозначены буквами. Доля эктомикориз оценивалась визуально.

Во всех этих исследованиях главной задачей было изучение роста растения, так как работы касались, хотя бы, косвенно, экологии или использования микориз в хозяйственной деятельности. Для понимания физиологии микориз требуется гораздо больше информации о физиологической активности грибов в симбиозе и в условиях культуры и факторах, от которых она может зависеть.

Снижение сухого веса растения, которое иногда следует за колонизацией, вероятно, сходно с наблюдаемым у арбускулярно-микоризных (АМ) растений (см. гл. 4). Замедление роста естественно в системе с взаимной зависимостью симбионтов от соединений С и питательных веществ, необходимых для поддержания роста и фотосинтеза. Снижение скорости роста будет вполне ожидаемо при низком уровне освещенности, ограничивающем активность фотосинтеза, но не интенсивность колонизации, или в условиях, когда питательные вещества содержатся в почве в количествах, достаточных для поддержания роста, но меньших, чем необхо-

димо для подавления колонизации. Подобные примеры отсутствия усиления роста или даже его замедления у растения при колонизации имеются и для эрикоидных микориз (см. гл. 11).

Обсудив в общих чертах рост ЭМ растений, процесс, зависящий от накопления С, следует обратить внимание на потребности грибных симбионтов в углероде перед описанием распределения С в ЭМ симбиозах в целом.

Источники углерода для эктомикоризных грибов

В отличие от гломеромицетных АМ грибов, многие из симбионтов эктомикориз были выделены в чистой культуре, их физиология была изучена, однако результаты можно назвать неутешительными. Многое было выяснено относительно факторов, влияющих на рост мицелия, но крайне мало известно о промежуточном метаболизме или биохимии. Не было открыто никаких свойств, которые могли бы обусловливать ЭМ образ жизни. В ранних экспериментах практически не были затронуты вопросы промежуточного метаболизма, дыхания, секреции метаболитов и подобные процессы, за исключением связанных с образованием ауксин-подобных веществ. Значительно позже было изучено образование ферментов, органических анионов, сидерофоров и металлотионеинов, особенно, в связи с их ролью в обмене веществами и устойчивости к тяжелым металлам (см. гл. 9 и 10).

А.Б. Франк (Frank, 1894) с самого начала предполагал, что источником органического С для ЭМ грибов является фотосинтезирующее растение, хотя он допускал возможность притока веществ и из почвы. Значительно позднее Э. Мелин (Melin, 1925) начал экспериментально изучать потребности грибов в органическом С. Он выяснил, что большинство штаммов имеет слабые способности к росту на сложных полимерах, к которым относятся вещества подстилки и гумуса, и не могут усваивать лигнин и целлюлозу. Таким образом, они зависят от наличия простых сахаров, таких как образующиеся в корнях растений или выделяющиеся из них. Было показано, что ряд видов ЭМ грибов нуждается в ассоциации с живыми корневыми системами для образования плодовых тел (Rommell, 1938, 1939a), что вполне закономерно, если корни являются для них источником С. Положительная корреляция между освещенностью и концентрацией углеводов в корневых системах и интенсивностью развития микориз у *Picea* и *Pinus*, выявленная в экспериментах Э. Бьоркмана (1942–1956), также согласуется с этой точкой зрения.

На основе анализа множества литературных данных о росте ЭМ грибов в культуре, Дж. Харли и С.Э. Смит (Harley, Smith, 1983) сделали вывод, что большинство симбионтов ЭМ обладают, максимум, ограниченной способностью к использованию лигнина и целлюлозы в качестве субстрата для роста. Несмотря на сообщения о слабой лигназной и целлюлазной активности, способность разлагать полимеры такого типа у ЭМ грибов гораздо слабее, чем у дереворазрушающих грибов или даже некоторых симбионтов эрикоидной микоризы (Trojanowski et al., 1984; Haselwandter et al., 1990; Cairney, Burke, 1994; см. гл. 11). Способность к усвоению крахмала, гликогена и инсулина, более простых олигосахаридов и дисахаридов сахарозы и трегалозы различается на межвидовом и внутривидовом уровнях. Моносахариды глюкоза, манноза и фруктоза обычно являются хорошими источниками С для поддержания роста, тогда как пектиновые вещества могут быть использованы только некоторыми видами ЭМ грибов. Эти данные оказались очень важны для изучения механизмов транспорта С от растения к грибному партнеру (см. ниже).

Возможность использования различных источников С явственно различается между видами и штаммами грибов и может быть связана с выживанием грибов в

почве. Однако способности к разложению целлюлозы и пектина могут быть связаны скорее с проникновением в ткани корня, где образование ферментов должно быть локализовано и разложение обусловливает размягчение клеточной стенки при формировании сети Гартига, чем с использованием подстилки как источника органического С. Для внедрения требуется гораздо меньшая ферментативная активность, чем для высвобождения моносахаридов из сложных полимеров в количествах, достаточных для роста гриба. У этой точки зрения появились сторонники (Lindeberg, Lindeberg, 1977), исследования, направленные на выявление интенсивности образования ферментов в корнях растений и их роли в процессе колонизации, обсуждены в гл. 6. Способность грибов к использованию почвенных источников органического С при свободном образе жизни только отчасти соответствует их физиологическим характеристикам в симбиозе.

Выводы Э. Бьоркмана (Björkman, 1970) о том, что высокий уровень поступления углеводов в корни благоприятствует грибной колонизации, нашли сторонников (Marx et al., 1977), хотя и впоследствии подвергались критике (Nylund, 1988). Тем не менее, большая восприимчивость корневой системы к колонизации при высоком содержании в ней растворимых углеводов (таких, как сахароза), само по себе не доказывает, полное или частичное получение грибным симбионтом С от растения. Доказательство было получено в эксперименте, в котором в хвою стерильно выращенных сеянцев *Pinus sylvestris* в симбиозе с *Suillus variegatus* или *Rhizopogon roseolus* вносили $^{14}CO_2$ (Melin, Nilsson, 1957). Продукты фотосинтеза перемещались по растению и обнаруживались в корнях и грибных чехлах на них. В этом эксперименте было очень четко показано, что продукты фотосинтеза быстро и напрямую транспортировались к грибному симбионту эктомикоризы, но ничего не было выяснено относительно количества передаваемых веществ. Также не было получено доказательств того, что все С соединения гриба были получены от растения. Кроме того, контролем в этих экспериментах служили ЭМ растения с удаленной верхней частью, которые также накапливали ^{14}C в тканях. В конце опыта количество С достигало 6, 11 и 15% от содержания в стебле интактных фотосинтезирующих растениях, неколонизированных корнях и микоризах соответственно. Есть мнение, что это объясняется темновой фиксацией CO_2, обычно происходящей в растительных тканях (Lewis, 1963).

Углеродный обмен в эктомикоризах *Fagus* досконально изучали на отделенных корнях, и некоторые результаты были весьма значимы для обсуждения поступления органического С от растения в грибной чехол (Harley, Jennings, 1958; Lewis, 1963; Lewis, Harley, 1965a, b, c). Моносахариды глюкоза и фруктоза активно поглощаются отделенными микоризными окончаниями из аэрированных растворов, и из смеси предпочтительно усваивается глюкоза. В микоризе сахароза гидролизуется инвертазой на растительной клеточной стенке, и среди продуктов гидролиза избирательно усваивается глюкоза. Скорость абсорбции гексоз зависит от температуры и наличия кислорода, поглощению препятствуют ингибиторы цитохром-оксидазного пути и окислительного фосфорилирования. При анализе тканей после поглощения показано, что изменение концентрации глюкозы и других моносахаридов невелико, и усвоенные гексозы быстро переводятся в другие соединения. Среди запасных углеводов в микоризах присутствуют характерные и для гриба, и для растения вещества (табл. 8.3). Глюкоза и фруктоза свойственны обоим симбионтам. Трегалоза, маннит и гликоген имеют грибное происхождение, а сахароза и крахмал — растительное. Можно предполагать, что сахароза — сахар растения. Типично грибные углеводы, трегалоза и маннит, поглощаются неикоризными корнями со скоростью, в 10–12 раз меньшей, чем в микоризных окончаниях (табл. 8.4). Дисахариды, сахароза и, возможно, трегалоза, гидролизуются перед абсорбцией, и глюкоза и фруктоза далее имеют различное назначение. Так как они конкурируют при поглощении,

считалось, что у них общие переносчики на цитоплазматической мембране. Однако после поглощения глюкоза преимущественно переводится в состояние трегалозы, а фруктоза — в маннит, растворимые углеводы ЭМ чехла.

Таблица 8.3. Углеводный состав отделенных микориз и его изменения после хранения в течение 20 ч при 20ºС в воде или в 0,5% (вес/объем) растворе глюкозы, трегалозы, сахарозы, фруктозы или маннита.

	Исходный образец	Изменения после хранения в:					
		воде	манните	фруктозе	сахарозе	трегалозе	глюкозе
Растворимые (общее)	14,49	-5,36	-5,66	-1,53	-0,10	+2,02	+2,91
Восстанавливающие сахара (общее)	4,86	-1,02	-0,22	+0,34	-0,43	-0,69	+0,06
Сахароза	5,07	-2,34	-3,20	-0,99	-0,80	-0,06	+0,28
Трегалоза	4,74	-2,00	-2,24	-0,88	+1,13	+2,77	+2,57
Маннит	-	-	+7,69	+6,36	+3,86	+2,27	+3,86
Нерастворимые (в единицах глюкозы)	25,94	-2,84	+3,87	+6,83	+5,20	+8,10	+11,14
Общее количество углеводов	40,63	32,43	38,84	45,93	45,73	50,75	54,68

Значения приведены в виде мг на г свежего веса (=150 мг сухого веса, приблизительно). Данные взяты из Lewis, Harley, 1965a.

Таблица 8.4. Относительная скорость поглощения углеводов из раствора микоризными и немикоризными корнями *Fagus*.

Вносимый сахар	Отношение скорости поглощения микоризный: немикоризный корень
Глюкоза	3,1
Фруктоза	2,7
Сахароза	2,3
Трегалоза	11,8; 10,8
Маннит	19,6; 23,6

Данные взяты из Lewis, Harley, 1965b, c.

Д. Льюис и Дж. Харли (Lewis, Harley, 1965c) поставили серию экспериментов, в которых в срезанные микоризы *Fagus* вносили меченую ^{14}C-сахарозу, помещая на них агаровые блочки (рис. 8.2), чтобы стимулировать приток С в интактные корни. Анализ апикальной зоны микоризных окончаний после отделения чехла и ткани коры путем вскрытия (рис. 8.2B) показал перемещение С в чехол. От 55 до 76% ^{14}C, проходившего через ткани растения к области кончика и не высвобожденного в виде CO_2, было обнаружено в грибном чехле, где присутствовало в основном в форме трегалозы, маннита и гликогена.

В интактных системах поглощение и распределение моносахаридов было сходным (Söderström et al., 1988). Было подтверждено ингибиторное влияние фруктозы на поглощение глюкозы, и сделано предположение, что, наряду с регуляцией актив-

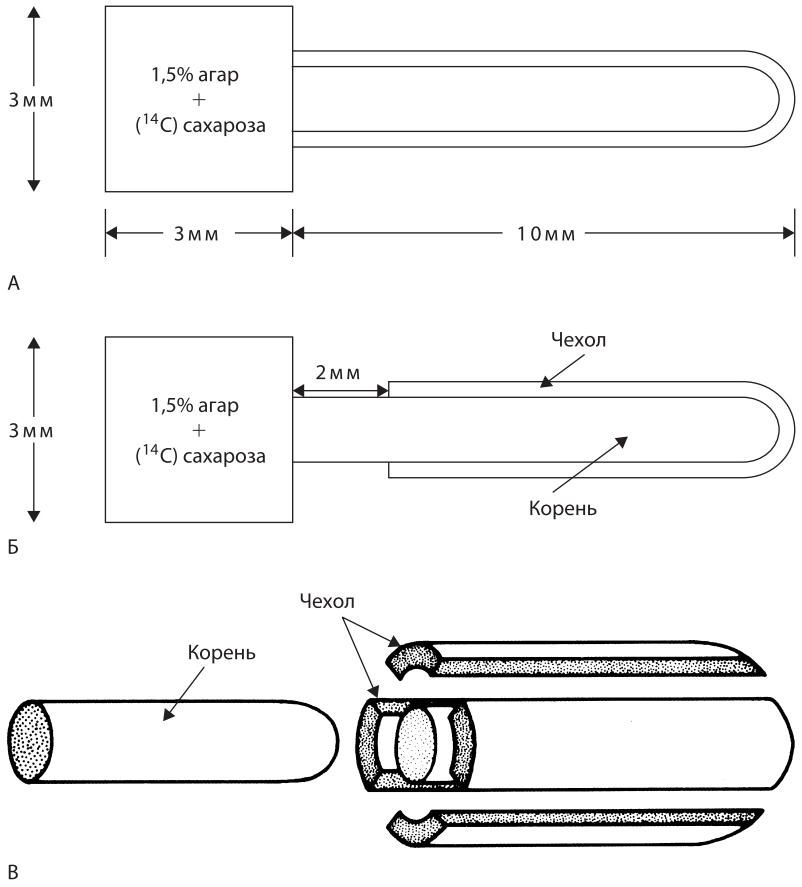


Рисунок 8.2. Схематическое изображение метода внесения меченых ^{14}C сахаров в агаровых блоках в микоризованные корни для изучения транспорта ^{14}C от растения к грибному партнеру (см. в тексте). А — агаровый блок, примыкающий одновременно к чехлу и корню; Б — слой чехла снят для предотвращения контакта грибных структур с агаровым блоком так, что прямой транспорт ^{14}C-сахарозы к грибу невозможен; (в) отделение грибного чехла от корня в конце эксперимента. С изменениями из Lewis, Harley. 1965c, с разрешения.

ности апопластной инвертазы, оно является важным фактором в контроле транспорта С от растения к грибному партнеру (Salzer, Hager, 1993).

Такие виды, как *Amanita muscaria, Hebeloma crustuliniforme* и *Pisolithus tinctorius* неспособны усваивать сахарозу в культуре, так как они лишены связанной с клеточной стенкой инвертазы, которая позволяла бы им гидролизовать дисахарид до глюкозы и фруктозы (Taber, Taber, 1987; Salzer, Hager, 1991; Schaeffer et al., 1995). Протопласты *A. muscaria* могут поглощать оба моносахарида, но усвоение фруктозы значительно ингибируется глюкозой, переходы между ними не обнаружены, а также не выявлено ингибирование сахарозой поглощения какого-либо из моносахаридов. Система поглощения имеет значительно более высокое сродство к глюкозе, чем к фруктозе (K_m 1,25 и 11,3 мМ и V_{max} 18 и 30 пмоль на 106 протопластов в минуту, для глюкозы и фруктозы соответственно; Chen, Hampp, 1993). Оказалось,

что единственная возможность использования *A. muscaria* сахарозы — при симбиозе, когда дисахарид гидролизуется апопластной или связанной с клеточной стенкой инвертазой растения (Salzer, Hager, 1991).

У *Amanita muscaria* было выявлено два гена транспортеров гексоз (Nehls et al., 1998). *AmMst1* и *AmMst2* кодируют белки, состоящие из 520 и 519 аминокислот соответственно. У *AmMst1* высокая гомология последовательности с гексозным транспортером базидиального гриба *Ruomyces fabae*, в то время как для *AmMst2* наиболее высокая гомология наблюдается с транспортером *Stll* из аскомицета *Saccharomyces cerevisiae*. При экспрессии у дрожжей, *AmMst1* имеет значение K_m 0,4 мМ для глюкозы, но при этом 4,0 мМ для фруктозы (Wiese et al., 2000). Гораздо более высокое сродство к глюкозе отражено в культуральных исследованиях, при которых поглощение глюкозы гифами происходило избирательно, даже в присутствии большого количества доступной фруктозы (Nehls et al., 2001a). Концентрация глюкозы свыше 0,5 мМ ингибирует поглощение фруктозы. Экспрессия этих генов подвергается повышающей регуляции с помощью механизма порогового ответа, определяемого внешней концентрацией моносахаридов (Nehls et al., 1998). При концентрации моносахаридов до 2 мМ оба транспортера демонстрируют обычный уровень экспрессии, но концентрации, превышающие это пороговое значение, запускают четырехкратное увеличение накопления транскриптов. Повышение происходит медленно, в течение периода до 24 ч.

В противоположность гену *AmMst1*, усиление экспрессии которого слабо зависит от содержания сахаров, еще один ген *Amanita muscaria*, *AmPAL*, обладает быстрой сахарозависимой репрессией (Nehls et al., 1999). Транскрипты этого гена кодируют ключевой белок вторичного метаболизма, фенилаланин-аммоний-лиазу (ФАЛ), который участвует в биосинтезе фенола. Транскрипты накапливаются в большом количестве в свободноживущем мицелии, выращенном при низкой концентрации глюкозы, и предполагают, что они могут принимать участие в образовании веществ, защищающих гифы от выедания при их распространении в почве.

При исследовании того же вида гриба в ЭМ симбиозе с елью было обнаружено повышение экспрессии *AmMst1*, сходное с таковым в свободноживущем мицелии, выращенном при повышенных концентрациях моносахаридов (Nehls et al., 1998). Существует предположение, что и продолжительная лаг-фаза при усилении экспрессии *AmMst1* и пороговый ответ на повышенные концентрации моносахаридов представляет собой регулируемые гексозами адаптации к гомеостазу в зоне контакта симбионтов. В ней формируется обогащенная гексозами среда, сильно отличающаяся от почвы, где почти не встречаются доступные моносахариды. Тем не менее, не только *AmMst1*, но также и ген *AmPAL* активно экспрессируется в интактных микоризах. Так как эти гены различно экспрессируются в чистой культуре в зависимости от содержания гексоз, можно только предполагать, что на их регуляцию влияет локализация в микоризной системе. Для изучения этих вопросов производили препарирование эктомикориз и исследовали генную экспрессию отдельно в гифах, грибном чехле и сети Гартига (Nehls et al., 2001b). Как и в чистой культуре, *AmMst1* экспрессировался в гифах грибного чехла только на базовом уровне. У *AmPAL*, напротив, в этой зоне микоризы отмечен высокий уровень накопления транскриптов. В гифах сети Гартига наблюдался противоположный характер экспрессии. Как и у гиф в чистой культуре, в присутствии большого количества гексоз извне, уровень транскриптов *AmMstl* повышался шестикратно, тогда как для *AmPAL* он едва прослеживался. Противоположность характеров экспрессии в гифах чехла и сети Гартига (последняя сходна с таковой в чистой культуре) привела исследователей (Nehls et al., 2001b) к предположению о существовании гексозного градиента в апопласте зоны контакта корня и грибных структур, т.е., сети Гартига (где концентрация гек-

Рисунок 8.3. Гипотетическая модель пространственного распределения поглощения гексоз грибными гифами в эктомикоризах. Гидролиз сахарозы в апопласте сети Гартига приводит к высокому содержанию глюкозы и фруктозы. В этом компартменте избирательно поглощается глюкоза, пока поглощение фруктозы ингибируется (концентрацией свыше 0,5 М). В одном-двух самых внутренних слоях грибного чехла концентрация глюкозы низка из-за эффективного поглощения гифами сети Гартига, поэтому поглощается в основном фруктоза. В апопласте других слоев чехла низки концентрации и глюкозы и фруктозы ввиду эффективного поглощения гексоз гифами сети Гартига и внутренних слоев чехла. Из Nehls et al., 2001b.

соз, как считается, превышает 2 мМ) и грибного чехла (рис. 8.3). Механизмы поддержания градиентов еще предстоит выяснить.

Вопрос о том, способен ли растительный партнер контролировать передвижение сахаров к грибу, и если да, то в какой степени, остается малоизученным. Однако недавно проведенный анализ экспрессии гена моносахаридного транспортера в корнях *Populus tremula* показал 12-кратное увеличение накопления транскриптов одного из трех таких транспортеров, *PttMST3.1*, в ЭМ сравнительно с немикоризными корнями (рис.8.4; Grunze et al., 2004). Повышающая регуляция в ответ на присутствие гриба подразумевает конкуренцию клеток корня с грибными гифами за гексозы, имеющиеся в общем апопласте сети Гартига. На основании таких на-

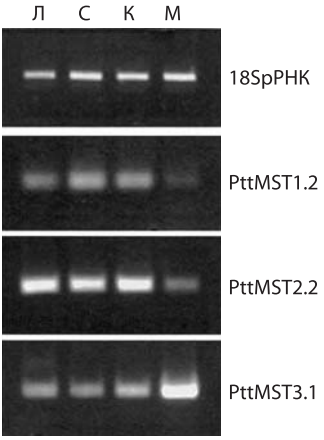


Рисунок 8.4. Профили экспрессии генов моносахаридного транспортера *PttMST1.2*, *PttMST2.2* и *PttMS3.1* у *Populus tremula ´ tremuloides* в листьях (Л), стеблях (С), немикоризных корнях (К) и микоризах (М), показывающие повышающую регуляцию *PttMST3.1* в микоризных корнях. Из Grunze et al., 2004.

блюдений Н. Грюнце с соавт. предположили, что, посредством контроля над экспрессией собственных транспортеров гексоз, автотроф способен ограничивать отток сахаров к грибу в ситуации, когда мало поступление минеральных питательных веществ от гетеротрофа (Grunze et al., 2004). С помощью такого механизма растение может регулировать углеродный баланс симбиоза.

У *Picea abies* были изучены свойства кислых инвертаз в связи с их возможной ролью в обеспечении питанием ЭМ грибов. При использовании культур взвеси клеток было показано, что с апопластом ассоциированы две важные кислые инвертазы (Salzer, Hager, 1993). У обеих был сравнительно низкий pH оптимум, для формы с ионными связями наиболее высокая активность отмечена в интервале pH 3,5–4,5, а для формы со связями более прочными – четко выраженный оптимум при pH 4,5. При значениях pH свыше 6 ни одна из форм не проявляла значительной активности. Для обеих инвертаз показано относительно высокое значение K_m по отношению к сахарозе (16 и 8,6 мМ для ионной и более прочно связанной форм соответственно) и конкурентное ингибирование фруктозой, а не глюкозой. Авторы предположили, что грибной партнер может регулировать поступление углеводов путем изменения pH в апопласте и поглощения фруктозы. При использовании корней *Picea abies* целиком К. Шаффер с соавт. обнаружили кислую инвертазу с оптимумом pH около 4,0 и значением K_m (сахароза) 5,7 мМ, что значительно ниже, чем для культуры взвеси (Schaeffer et al., 1995). При сравнении различных участков ЭМ и немикоризных длинных корней было показано, что, хотя общая активность инвертазы была ниже в ЭМ корнях (согласно с данными Lewis, Harley, 1965b), если принять во внимание массу грибных структур, образование инвертазы растением не будет зависеть от грибной колонизации. Около 75% активности инвертазы было ассоциировано с клетками коры корня, а не со стелой, т.е., в ткани, доступной для грибного симбионта. Интересно, что К. Шаффер с соавт. не обнаружили свидетельств повышения активности растительной инвертазы, связанной с грибной колонизацией, и авторы обратили внимание на отличие такой ситуации от некоторых паразитических взаимоотношений (Schaeffer et al., 1995).

На рисунке 8.5 приведена соответствующая современному уровню знаний гипотетическая схема транспорта сахара от растения к грибу. После оттока сахарозы в апопласт и гидролиза растительной инвертазой, глюкоза избирательно поглощается грибом с помощью транспортера моносахаридов *AmMst1*. Фруктоза, высвобождающаяся под действием инвертазы, приводит к ингибированию ее активности по принципу обратной связи, тогда как глюкоза ингибирует поглощение фруктозы грибом. Когда концентрация глюкозы снижается, гриб начинает поглощать фруктозу, снимая ингибирование инвертазы и позволяя дальнейший гидролиз сахарозы. У этой схемы есть один существенный недостаток: необходимость снижения или элиминации поглощения растением из межфазного апопласта как сахарозы, так и гексоз. Здесь, вероятно, также действует протонный симпорт, и результирующий перенос в сторону гриба может поддерживаться только механизмом, способствующим оттоку (в форме сахарозы) от растения и поглощению (в форме моносахаридов) грибом. Возможно, фруктоза также конкурирует при обратном всасывании глюкозы растением, или происходит понижающая регуляция растительных гексозных транспортеров. Эта область нуждается в дальнейших исследованиях. Поглощение моносахаридов грибным партнером может быть пассивным, по градиенту концентрации, поддерживаемому метаболическими превращениями в грибных структурах. Однако представляется столь же вероятным, что активный протонный котранспорт может обеспечивать ток вовнутрь, особенно при низких значениях pH апопласта, регулируемых связанной с мембраной H^+-АТФ-азой (любого из симбионтов), необходимых для поддержания инвертазной активности. АТФазная активность была показана цитохимическими методами и на грибной, и на раститель-

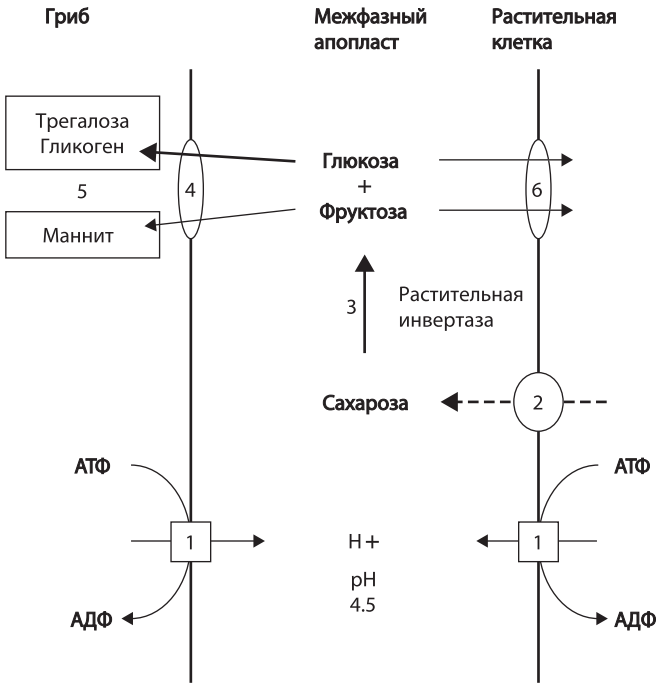


Рисунок 8.5. Схематическое изображение контактной зоны симбионтов в эктомикоризе, показывающее процессы, важные для транспорта сахаров между растением и грибным партнером. 1 — активность и грибных и растительных H^+-АТФаз обусловливает транспорт протонов в межфазный апопласт, снижая pH и создавая протонную движущую силу, необходимую для активного транспорта. 2 — сахароза, поступающая в корни, экспортируется из растительных клеток и гидролизуется растительной инвертазой, связанной с клеточной стенкой (pH оптимум в кислой области), до глюкозы и фруктозы (3). 4 — глюкоза избирательно поглощается грибным партнером с помощью гексозного транспортера (*AmMst1* и *2* у *Amanita muscaria*), который может быть протон-гексозным симпортером. Фруктоза также может поглощаться, но происходит ее вытеснение глюкозой. 5 — глюкоза используется грибом для синтеза больших количеств гликогена и меньших количеств трегалозы. Фруктоза превращается в маннит. 6 — повышающая регуляция растительного моносахаридного транспортера *PttMST3.3* в ЭМ корнях тополя предполагает, что это растение может обратно всасывать некоторое количество сахара из апопласта (см. рис. 8.4) (Grunze et al., 2004). Однако у *Betula* подобной повышающей регуляции растительного транспортера сахаров не наблюдалось (Wright et al., 2000).

ной цитоплазматических мембранах в зоне сети Гартига у микориз *Pinus sylvestris–Laccaria laccata*, и установлено, что во всех случаях присутствует H^+-АТФаза (Lei, Dexheimer, 1988).

Значимость поддержания результирующего переноса органического С в сторону грибного симбионта была предметом серьезных дебатов. Так как трегалоза и маннит очень медленно абсорбируются немикоризными корнями, предполагали, что они, вместе с гликогеном, создают сток в ЭМ чехле, в котором накапливаются углеводы в форме, не очень доступной для прилегающих растительных тканей, даже если эти вещества присутствуют в апопласте. Эта гипотеза была детально изложена в обзорной статье, авторы которой обсудили сходные черты транспорта углево-

дов в лишайниках, патогенных ассоциациях и других симбиозах (Smith et al., 1969). Гипотеза «биохимического клапана» до сих пор не имеет достойной альтернативы.

Хотя сахара из растения, несомненно, транспортируются к грибу, движение органического С идет не только в этом направлении. Дж. Харли показал, опять же на примере отделенных корней, что скорость темновой фиксации CO_2 в микоризах *Fagus* сильно увеличивалась при поглощении NH_4^+ (Harley, 1964). С использованием ^{14}С-бикарбоната он продемонстрировал, и в дальнейшем это было подтверждено, что основным результатом усиления фиксации было образование глутамина (Carrodus, 1967). Так как этот метод позволяет сделать простое мечение глутамина, К.П. Рэйд и Д.Г. Льюис применили его для наблюдения перемещения этого соединения из грибного чехла к растению, показав возможность возврата С в растение в форме С скелета азотсодержащих веществ (см. Lewis, 1976). Впоследствии пути ассимиляции неорганического N и мобилизации органических источников N из почвы привлекли к себе повышенное внимание исследователей (см. гл. 9). Пока еще мало данных о том, насколько заметный вклад вносят С скелеты органических источников N, используемых грибным симбионтом, в С бюджет растения. Р.А. Абузинада и Д. Дж. Рид подсчитали, что у ЭМ сеянцев *Betula pendula*, к которым N поступал исключительно в органической форме, почти 8% общего С растения могло быть получено от гриба (Abuzinadah, Read, 1989a). Транспорт С и N соединений, синтезированных в грибных структурах, представляет собой путь «круговорота» органического С в симбиозе. Объем потоков в обоих направлениях не был измерен, и это очень важная проблема при оценке потенциального оборота органического N через контактную зону при поддержании результирующего транспорта С (см. гл. 9 и 15).

Распределение углерода в интактных системах гриб–растение

При изучении распределения меченых ^{14}С продуктов фотосинтеза в ЭМ и немикоризных корнях одних и тех же особей *Pinus radiata* было обнаружено, что в колонизированных корнях содержится в 15 раз больше С, 45–50% метки в трегалозе и 1–22% в манните (Bevege et al., 1975). Аналогичное исследование с отдельными растениями *Eucalyptus pilularis*, часть корней которых была колонизирована *Pisolithus tinctorius*, показало, что отношение накопления ^{14}С в ЭМ сравнительно с немикоризными корнями было 18:1 (Cairney et al., 1989). Способность эктомикориз привлекать продукты фотосинтеза была максимальной сразу после образования и планомерно снижалась со временем так, что в возрасте 90 дней транспорт прекратился. Дж. Кэрни и И. Александр провели сравнение распределения ^{14}С у молодых и более взрослых микориз *Picea sitchensis*, образованных *Tylospora fibrillosa* при росте на торфе (Cairney, Alexander, 1992). Некоторые меченые ^{14}С соединения передавались во взрослые микоризы у всех растений, но соотношение активности между молодыми и более взрослыми микоризами, изначально равное примерно 2:1, увеличивалось по мере старения корневой системы, достигая 54:1 к возрасту 38 недель после переноса только что колонизированных сеянцев в торфяной субстрат.

В приведенных выше исследованиях не была определена степень дальнейшего транспорта фиксированного С из корня в свободный мицелий. Значимость мицелия как потенциального стока для фиксированного С очевидна из исследований, при которых интактные системы развивались на близких к естественным субстратах (см. гл. 6, 9 и 15). Методы авторадиографии четко показали, что ^{14}С, вносимый в ассимилирующие побеги *Pinus*, быстро транспортируется в сеть свободного ми-

целия (см. рис. 6.27А, Б и приложение 6.2А, Б). Эта сеть, помимо облавливания почвы, обеспечивает соединение между отдельными микоризными окончаниями у одного или нескольких соседних совместимых растений (Finlay, Read, 1986a) (рис. 6.26). Таким образом посредством грибного симбионта создается ряд потенциальных путей для оттока С из структур с малой или снижающейся всасывающей силой, таких как старые корни, к более молодым тканям.

Вопросом первостепенной значимости является количество С, выделяемое растением на поддержание ЭМ грибов. В первых исследованиях активности дыхания мицелиальной фазы ЭМ ассоциации (Söderström, Read, 1987) было показано, что примерно 30% общего дыхания приходилось на ЭМ мицелий. Было установлено, что дыхание сильно зависит от притока продуктов фотосинтеза и, если, мицелиальные соединения с корнями повреждены, происходит снижение скорости дыхания, по меньшей мере, на 50% за 24 часа (рис. 8.6). Сходная зависимость от притока ассимилятов при образовании плодовых тел была продемонстрирована для симбиоза *Pinus strobus* с *Laccaria bicolor* (Lamhamedi et al., 1994) (рис. 8.7).

В эксперименте с внесением $^{14}CO_2$ в сеянцы *P. ponderosa*, колонизированные *Hebeloma crustuliniforme* или немикоризные, смотрели распределение метки в различных фракциях после инкубирования растений в микрокосмах в течение 72 ч (Rygiewicz, Anderson, 1994). У сеянцев обоих типов около 40% меченого С оставалось в побегах, но присутствие гриба (составляющего только 5% от общей массы сеянца) увеличивало долю подземной части ^{14}C на 23% сравнительно с немикоризными растениями. По сухому весу доли в корнях и микоризах были одинаковы, различие обусловлено усилением дыхания за счет ЭМ мицелия. Накопление большей

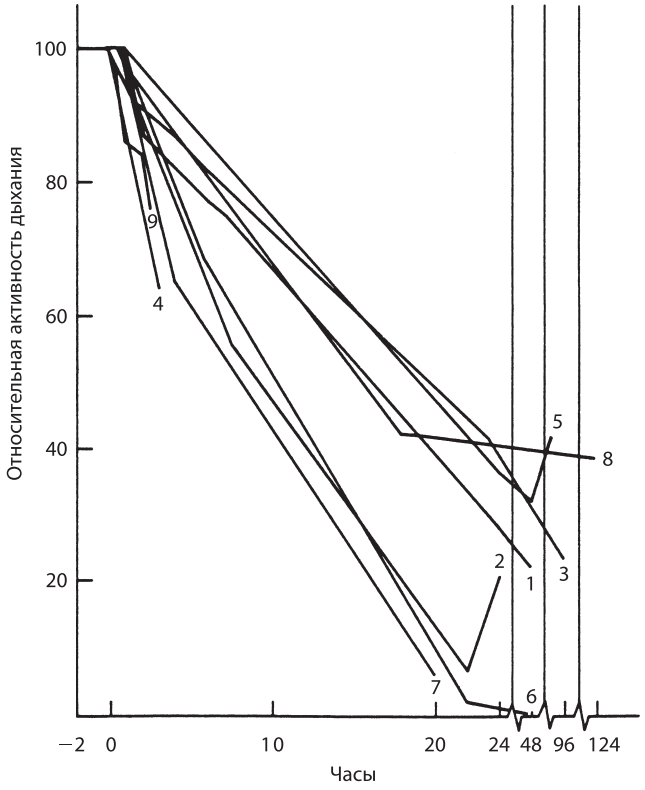


Рисунок 8.6. Влияние перерезания мицелия (и отделения его таким образом от растительного источника углеводов) на дыхание эктомикоризного мицелия. Кривые представляют относительную активность дыхания (в процентах от значения до перерезания) для девяти различных сочетаний видов грибов и растений. Из Söderström, Read, 1987, с разрешения.

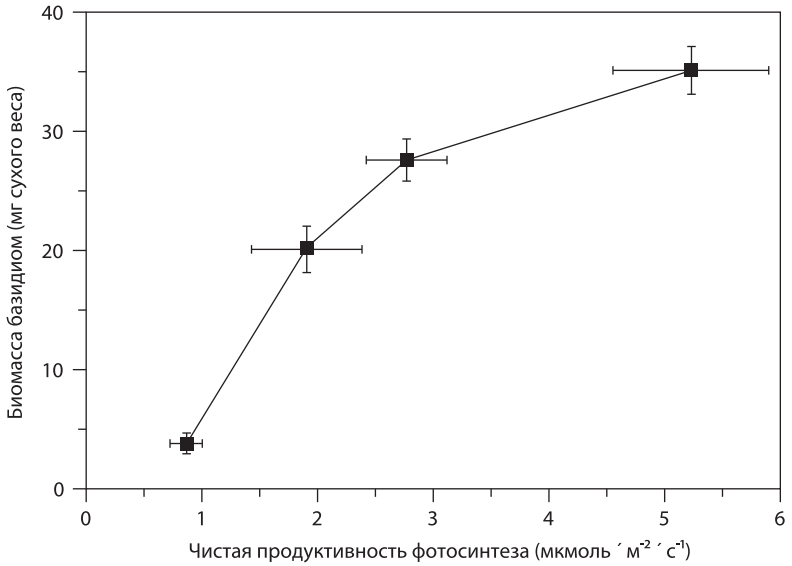


Рисунок 8.7. Влияние чистой продуктивности фотосинтеза у сеянцев *Pinus strobus* на биомассу плодовых тел ассоциированного с ними грибного симбионта *Laccaria bicolor* через 20 дней. Разброс — стандартная ошибка среднего. Из Lamhamedi et al., 1994, с разрешения.

доли углерода в подземной части вело к некоторому уменьшению биомассы сеянцев у ЭМ растений.

М.Д. Джонс с соавт. рассматривали вклад С в микоризы как затрату растения на симбиоз (Jones et al., 1991). Авторы учитывали эффективность как количество поглощаемого Р на единицу С, израсходованного под землей, у черенков *Salix viminalis*, колонизированных *Thelephora terrestris* или выращенных в безмикоризном состоянии. Эффективность была рассчитана по формуле $\Delta P/\Delta C_b$, где ΔP — количество Р, поглощаемое растениями за определенный период времени, а ΔC_b — общее количество С, переданное в подземную часть за тот же период (Koide, Elliott, 1989) (см. гл. 4). C_b включает С, встраивающийся в корень или грибные структуры, потерянный при дыхании и отложенный в почве. Показатель C_b рассчитывали и для ЭМ, и для немикоризных растений, которые были импульсно помечены перед каждым сбором образцов в течение периода до первого сбора (0–50 дней) и с момента первого сбора до последнего (50–98 дней).

Для вычисления значения C_b использовали два способа. В первом из них этот показатель вычисляли как:

$$C_{b(Pn)} = P_n \frac{\%C_{BG}}{100\ 2\ \ \%C_{SR}} 57\,600$$

,

где $C_{b(Pn)}$ — количество С в подземной части, в мМоль С за период 24 ч; P_n — чистая продукция фотосинтеза в ммоль С/с на всю надземную часть; $\%C_{BG}$ — доля общего поглощенного $^{14}CO_2$ в подземной части за период 9 дней; $\%C_{SR}$ — доля поглощенного $^{14}CO_2$, высвобожденного при дыхании надземной части; 57 600 — продолжительность светового дня в секундах. Разность $100–\%C_{SR}$ — поправка на то, что P_n приводится без учета дыхания побегов. Затем была построена кривая зависимо-

сти $C_{b(Pn)}$ от времени и получено окончательное равенство для всего периода между сборами, выражающее общее количество подземного С за этот период ($\Delta C_{b(Pn)}$).

При втором способе в качестве комплексного показателя количества С, откладываемого в тканях за определенный период, применяли массу надземной части. Отношение между С, запасенным в тканях побегов, и долей подземного С, определяемое с помощью метки ^{14}C, было затем использовано для прямого расчета ΔC_b:

$$\Delta C_{b(Wt)} = \Delta W_s \frac{\%C_{BG}}{\%C_{ST}},$$

где ΔW_s — средний прирост массы побегов за период времени, а $\%C_{ST}$ и $\%C_{BG}$ — средние доли фиксированного ^{14}C в тканях побегов и подземной части соответственно. Для первого периода были использованы значения $\%C_{ST}$ и $\%C_{BG}$ по данным первого сбора. Для второго периода брали взвешенные (т.е., с учетом периода времени между отбором образцов) средние значения $\%C_{ST}$ и $\%C_{BG}$ для второго, третьего и четвертого сборов. Сухой вес переводили в граммы С, используя коэффициент 0,5 г С/г сухого веса.

Количество подземного С было стабильно более высоким у ЭМ, чем у немикоризных растений на протяжении всего периода эксперимента (рис. 8.8).

При интеграции данных, представленных на рисунке 8.6, было показано, что в течение всего периода до первого сбора доля С в подземной части ($\Delta C_{b(Pn)}$) у ЭМ растений в 2,5 выше, чем у безмикоризных (табл. 8.5). Выраженное в виде доли от массы распределение С ($\Delta C_{b(Wt)}$) было в 1,75 раз выше у ЭМ растений. Так как колонизированные растения поглощали в три раза больше Р из почвы за тот же самый период, они имели более высокую эффективность использования Р по результатам обоих способов расчета. Во второй половине периода проведения эксперимен-

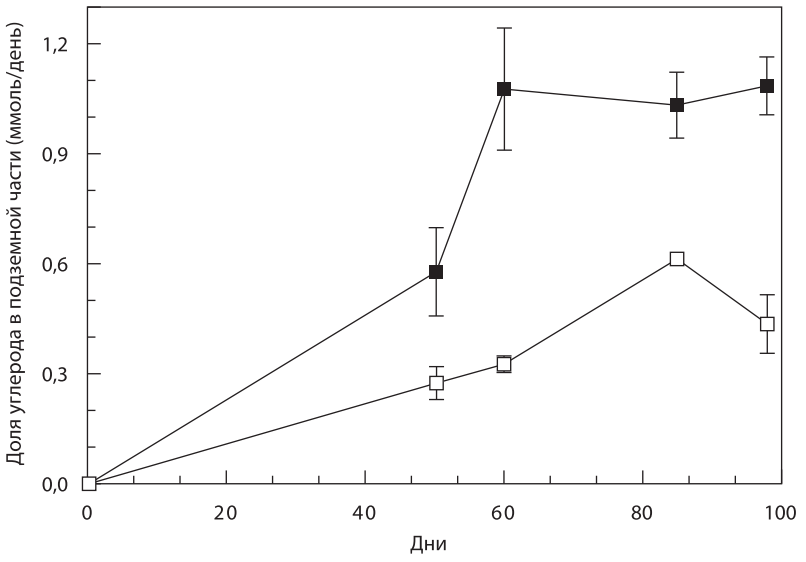


Рисунок 8.8. Доля углерода в подземной части ($C_{b(Pn)}$) (ммоль С/день) у микоризных (■) и немикоризных (□) растений *Salix viminalis* в течение 98-дневного периода роста. Представлены средние значения из трех повторностей на 50-й, 60-й и 85-й дни и четырех (М) или пяти (НМ) повторностей на 98-й день ± стандартная ошибка среднего. Из Jones et al., 1991, с разрешения.

та разница в поглощении P между ЭМ и немикоризными растениями была меньше, и поэтому эффективность усвоения P была более высокой у безмикоризных растений. Анализ затрат и выгоды показывает, что затраты, необходимые для образования и поддержания структур для поглощения питательных веществ, наиболее низки на самых ранних этапах роста, тогда как выгода в форме притока P в это время максимальна. Такой характер взаимоотношений, как предполагают, будет соответствовать требованиям многолетних растений в природных условиях, где, как в умеренной и бореальной зоне, максимальная потребность в питании будет приходиться на весенний период (Jones et al., 1991).

Таблица 8.5. Поглощение P, количество C, переносимое в подземную часть и эффективность усвоения P у микоризных растений *Salix viminalis* в течение 98-дневного периода роста (см. текст).

Микоризный статус	Период роста (дни)	ΔP (мкмоль)	$\Delta C_{b(Pn)}$ † (ммоль)	$\Delta C_{b(Wt)}$ ‡ (ммоль)	$\Delta P/\Delta C_{b(Pn)}$ † (мкмоль P/ ммоль C)	$\Delta P/\Delta C_{b(Wt)}$ ‡ (мкмоль P/ ммоль C)
Микоризное	0-50	50,1	14,2	17,0	3,52	2,94
Немикоризное	0-50	17,1	5,7	9,7	2,97	1,75
Микоризное	50-98	25,6	46,6	69,8	0,55	0,37
Немикоризное	50-98	17,9	22,0	21,2	0,82	0,84

Из Jones et al., 1991. ΔC_b — количество C, переносимое в подземную часть за определенный период времени, включая углерод, откладывающийся в корнях и грибных структурах, выделенный при дыхании корней и почвы и поступающий в почву. ΔP — количество P , поглощенное за тот же период. † Значения получены на основании измерения фотосинтеза. ‡ Значения получены на основании измерения веса. Данные для 3–5 растений, помеченных ^{14}C перед каждым сбором.

М.Д. Джонс с соавт. проанализировали рост и C и P баланс у *Eucalyptus coccifera* при колонизации ЭМ или АМ грибами, сравнивая состояние микоризованных и безмикоризных растений (Jones et al., 1998). Стимуляция роста была достоверно более высокой у ЭМ растений, чем у АМ или неколонизированных, но при внесении $^{14}CO_2$ после 89 дней роста не было выявлено значительных различий по количеству C в подземной части. Это удивительно, так как ЭМ растения образуют в 3–7 раз больше свободного мицелия и получают существенно большее количество P, чем растения, состоящие в АМ симбиозе (см. также гл. 10). Авторы полагают, что невозможность выявить влияние ЭМ на долю подземного C обусловлена малыми размерами и низкой массой фракции корней (0,21–0,27) у использованных в эксперименте молодых растений. В более раннем опыте различия в доле подземного C между растениями *Salix viminalis* в ЭМ и АМ состоянии увеличивались со временем, но не были достоверны до тех пор, пока масса фракции корней ЭМ растений не превысила 0,35 (Durall et al., 1994).

Сезонность распределения C обычно не принимается во внимание. Согласно литературным данным (напр., Shiroya et al., 1966; Gordon, Larson, 1968; Ursino et al., 1968; Glerum, Balatinecz, 1980), основной приток C в подземную часть системы происходит не весной, а ближе к концу вегетационного сезона после завершения роста стеблей и закладки почек. В этот же период происходит основной рост корней у большинства типично ЭМ древесных пород, совпадающий по времени с позднелетней волной образования плодовых тел у ЭМ макромицетов (Lyr, Hoffman, 1967). Поскольку их формирование, как показано выше, зависит от притока ассимилятов, подобные наблюдения подразумевают, что это также период особенно высокой ак-

тивности свободного мицелия. Существуют данные о четкой сезонности поглощения P (см. гл. 10) ЭМ корнями *Abies balsamea*, когда максимальная скорость, опять же, наблюдалась в августе, после закладки почек (Langlois, Fortin, 1984). Эта особенность может также отражать перенос большей доли C в подземную часть. Потребность в увеличении притока питательных веществ осенью вполне ожидаема в растительных сообществах бореальной и умеренной зоны, так как для переживания зимнего периода необходимо значительное накопление определенных клеточных компонентов, в особенности мембранных фосфолипидов, которые мобилизуются весной при активном росте надземной части (Siminovitch et al., 1975).

Факторы окружающей среды, особенно, влажность почвы, могут влиять на сезонность процессов, происходящих в ЭМ. При постановке лабораторных экспериментов при стабильных условиях освещенности и продолжительности светового дня, а также при сборе ЭМ в полевых условиях, важно иметь в виду, что результаты, полученные в определенный момент времени, могут не отражать в точности ситуацию, наиболее типичную для природных условий. Необходимо проведение более масштабных исследований сезонности функционирования ЭМ систем, несмотря на то, что, вероятно, основная их активность приходится скорее на конец, чем на начало вегетационного сезона, как предположили М.Д. Джонс с соавт. (Jones et al., 1991).

Не связанное с питанием влияние на усвоение углерода

Образование ЭМ симбиоза может влиять на C баланс растения путем целого ряда взаимосвязанных процессов, но, особенно, посредством влияния на результирующую продукцию фотосинтеза и минеральное питание. Эти эффекты могут быть отмечены и в листьях-донорах, и в корнях-акцепторах, где C поглощают также симбионты. Влияние ЭМ колонизации можно обнаружить в листьях-донорах. Регуляция синтеза сахарозы в цитозоле листа происходит преимущественно через активность сахарозофосфатсинтазы (СФС) и фруктозо-2,6-бифосфатазы (ФБФазы), второй фермент ингибируется метаболитом-эффектором, фруктозо-2,6-бифосфатом (Ф26БФ) (Quick, Schaffer, 1996). А. Лоуи с соавт. писали о возрастании активности СФС и снижении уровня ингибитора ФБФазы у ЭМ сеянцев ели (*Picea abies*) (Loewe et al., 2000). Это указывает на увеличение способности к синтезу сахарозы в тканях-донорах у ЭМ растений. Этот эффект ЭМ колонизации почти наверняка связан с ролью грибного партнера в поглощении ассимилятов, продуцируемых в тканях-донорах. В настоящее время общепризнано значение акцепторной силы в определении скорости ассимиляции C в листьях (Herold, 1980; Gifford, Evans, 1981; Sonnewald et al., 1994; Quick, Shaffer, 1996). В случае микориз предполагается, что оно выражается в способности поддерживать результирующий поток C в сторону грибного симбионта (Lewis, Harley, 1965a; Nehls et al., 2001) и увеличивать общую потребность корня в углероде (Finlay, Söderström, 1992) при непосредственном влиянии грибного симбионта на ассимиляцию C растением. Остается оценить относительную значимость для регуляции наблюдаемых сдвигов в углеродном балансе растения повышения притока питательных веществ от ЭМ грибов и увеличения силы поглощения, происходящего вследствие их присутствия,.

Несмотря на то, что в нескольких более ранних исследованиях было показано увеличение скорости фотосинтеза у ЭМ растений по сравнению с немикоризными (Reid et al., 1983; Nylund, Wallander, 1989; Loewe et al., 2000), сопутствующее влияние изменений в балансе минерального питания в листве колонизированных растений дела-

ет невозможным разграничение влияния связанных и несвязанных с питанием факторов в подобных экспериментах. Разграничение может быть получено при внесении питательных веществ к немикоризным растениям в объеме, компенсирующем выгоду от грибной колонизации. Результаты экспериментов с использованием таких растений подтверждают, что акцепторная сила ЭМ может сама по себе быть основным фактором, влияющим и на ассимиляционную активность тканей-доноров, и на ток веществ к корням (Dosskey et al., 1990; Rousseau, Reid, 1990; Conjeaud et al., 1996; Wright et al., 2000). ЭМ и немикоризные сеянцы *Pinus taeda* были выращены при разном содержании P, поступающего из внешних источников к неколонизированным растениям (Rousseau, Reid, 1990). Затем провели сравнение продуктивности фотосинтеза у ЭМ растений, в слабой, умеренной или сильной степени колонизированных грибом, с тем же показателем у немикоризных растений при разных уровнях поступления P. Прослеженная взаимосвязь между развитием микоризы, чистой продукцией фотосинтеза и содержанием P в листьях (рис. 8.9) указывает на то, что при низкой и средней степени колонизации ассимиляция у сеянцев соотносилась с увеличением концентрации P в листьях так же, как и у неколонизированных растений, что предполагает зависимость фотосинтеза от увеличения концентрации P. Однако при высокой степени колонизации чистая продукция фотосинтеза у ЭМ растений была значительно больше (до 17%), чем у немикоризных при той же самой концентрации P в листьях. Очевидно, что это предполагает наличие влияния, не связанного с содер-

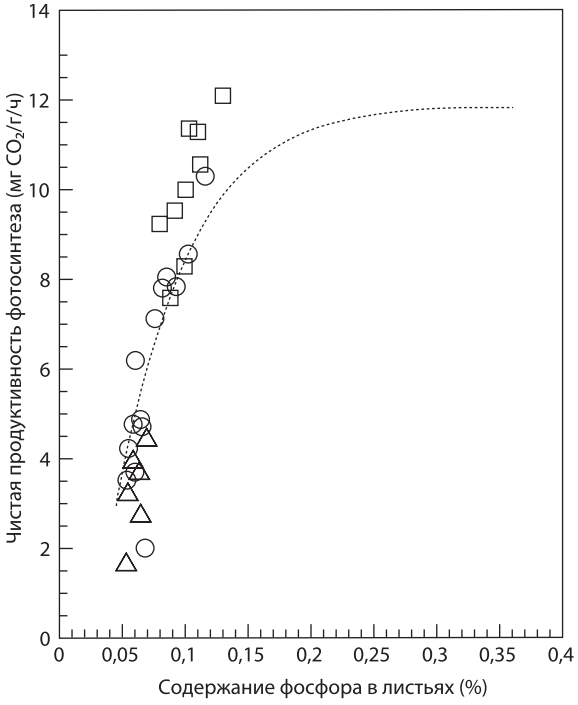


Рисунок 8.9. Зависимость чистой продуктивности фотосинтеза (мг CO_2/г/ч) от концентрации P в листьях (процентная доля от сухого веса) у эктомикоризных сеянцев. Разные символы обозначают сеянцы с различной концентрацией глюкозамина (мг/г), полученного от грибного симбионта, ассоциированного с корнями: Δ — 0–7,99 мг; ○ — 8–15,99 мг; □ — 16–24 мг. Пунктирные линии показывают регрессию, полученную по немикоризным сеянцам. Из Rousseau, Reid, 1990, с разрешения.

жанием P колонизации на фотосинтез. Возможно, что увеличение акцепторной силы, вызванное высокой степенью колонизации, обусловливает повышение ассимиляции (Rousseau, Reid, 1990), хотя выдвигались и альтернативные объяснения, например, изменение гормонального баланса, индуцируемое грибным симбионтом. Также заслуживает внимание возможность того, что другие вещества, помимо P, могут становиться лимитирующим фактором для растений с высокой степенью колонизации, несмотря на адекватный уровень поступления питания.

Повышение продуктивности фотосинтеза у ЭМ растений, конечно, может происходить независимо от улучшения питания (Dosskey et al., 1990). Колонизация *Pseudotsuga menziesii* видом *Rhizopogon vinicolor* приводила к значительному повышению продукции фотосинтеза, при том, что два других грибных симбионта, *Hebeloma crustuliniforme* и *Laccaria laccata* не оказывали такого влияния. Несмотря на повышение уровня результирующей ассимиляции, сеянцы, колонизированные *Rhizopogon*, были мельче, чем контрольные растения. Аналогичный результат был получен для сеянцев *Pinus pinaster* при колонизации *Hebeloma cylindrosporum* (Conjeaud et al., 1996). При достоверном повышении продукции фотосинтеза сравнительно с немикоризными растениями, при таких же или даже более высоких концентрациях N и P в тканях наблюдалось снижение скорости роста на 35%. В таких случаях стимуляция фотосинтеза, возникающая при повышении акцепторной силы, недостаточна для компенсации затрат на образование микоризы и ассоциированного с ней свободного мицелия. Сходный эффект наблюдали у *Betula pendula* при колонизации *Paxillus involutus* (Wright et al., 2000). При анализе суточного углеродного бюджета ЭМ и немикоризных растений, соответствующих им по количеству поступающих питательных веществ, выявлено, что чистое количество ассимилированного C на единицу сухого веса было на 29% выше у колонизированных, чем у безмикоризных растений (табл. 8.6). Это вновь подтверждает важную роль акцепторной силы в определении активности ассимиляции C. Однако, так как у ЭМ растений при дыхании корневых систем затрачивается больше C, чем у немикоризных, суммарное поступление C у обеих категорий растений было сходным. В целом, общая биомасса ЭМ растений была достоверно ниже, чем у аналогичных неколонизированных, что указывает на недостаточность повышения ассимиляции C для удовлетворения потребностей одновременно и растительного и грибного партнеров.

Таблица 8.6. Суточный углеродный бюджет немикоризных (НМ) и образующих эктомикоризу с *Paxillus involutus* (М) растений березы.

	обмен CO_2			
	мкмоль CO_2/растение/день		мкмоль CO_2/г сухого веса/день	
	Немикоризное	Микоризное	Немикоризное	Микоризное
Чистая ассимиляция CO_2	690 ± 158	444 ± 28	2233 ± 394	2870 ± 437
Темновое дыхание побегов	123 ± 18	79 ± 3*	355 ± 21	516 ± 95
Дыхание корневой системы	225 ± 67	252 ± 43	593 ± 33	1029 ± 136**
Прирост углерода на целое растение (НМ) или на растение и гриб (М)	342 ± 94	113 ± 44	1394 ± 257	1325 ± 326

Из Wright et al., 2000. Данные приведены в расчете или на единицу сухого веса (мкмоль CO_2/г сухого веса/день), или на особь растения (мкмоль CO_2/растение/день). Значения даны в виде среднего ± стандартная ошибка (n = 4). Данные по каждому параметру для НМ и М растений сравнивали методом однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA). *P <0,05, ** P <0,01.

Распределение углерода на уровне сообщества

Первая оценка потребности ЭМ грибов в углероде, полученная в полевых условиях, была основана на образовании плодовых тел (Rommell, 1939b). Было показано, что это количество С составляет 10% от вклада растений в ежегодную продукцию древесины. При расчете продукция плодовых тел принималась равной 180 кг/га/год, что некоторые исследователи считают высоким значением. При учете сухой массы надземных плодовых тел в разных типах леса в Северном полушарии были получены значения в интервале от 3 до 180 кг/га/год (Fogel, Trappe, 1978). Однако для 180-летнего леса, образованного *Abies amabilis*, приводятся значения 380 кг/га/год для подземных и 30 кг/га/год для надземных плодовых тел (Vogt et al., 1982). Кроме того, в этих лесах был отмечен «урожай» склероциев *Cenococcum* 2700 кг/га/год. При соединении всех этих значений с оценками грибной биомассы в чехлах и сети Гартига было подсчитано, что 15% чистой первичной продукции передается грибному симбионту, значение, которое не учитывает ни вегетативный мицелий в почве, ни возможность увеличения доли С за счет оборота ЭМ окончаний (Vogt et al., 1982).

Необходимым условием учета углеродных затрат ЭМ симбиозов является оценка ежегодной продукции вегетативного мицелия. Разумеется, сложно определить биомассу ЭМ гиф в смешанных сообществах лесных почв. Однако в настоящее время некоторые методы подсчета стали доступны. На основании регрессионной зависимости между дыханием и биомассой мицелия было подсчитано, что в почвах в сосновом лесу в Швеции, где преобладал вид *Lactarius rufus,* количество ЭМ гиф составляло 200 м/г почвы (Finlay, Söderström 1989). Это значение очень близко к полученному для мицелиальных систем *Suillus bovinus* в камерах для наблюдений с торфом в качестве субстрата (Read, Boyd, 1986) (см. гл. 6). Также оно согласуется с представленными ранее оценками 100–700 м/г для длины физиологически активных гиф (окрашенных флуоресцеин-диацетатом) в горизонте FH почвы в лесах Швеции (Söderström, 1979). При переводе в грибную биомассу значение 200 м/г эквивалентно 3,5 кг живого мицелия на га/год. При протяженности срока оборота равной неделе в течение пятимесячного вегетационного сезона продуктивность гиф будет составлять 70 кг/га/год. Это более чем вдвое превышает оценку по сухой массе плодовых тел *L. rufus*, которая для лесов Швеции равняется примерно 30 кг/га/год (Richardson, 1970). Основываясь на результатах, полученных методом закапывания мешочков (гл. 6), Х. Валландер с соавт. рассчитали значения ежегодной продукции ЭМ мицелия 125–200 кг/га/год для разнопородного хвойного леса и 590 кг/га/год для елового леса, что составляет 80% от общей ЭМ грибной биомассы (Wallander et al., 2001, 2004). Тем не менее, согласно более новым данным, даже эти достаточно большие цифры могут быть существенно заниженной оценкой (Hendricks et al., 2006).

Для определения общей ЭМ биомассы также необходимо учитывать значения продукции и ее оборота для тонких корней, которые в бореальных лесных сообществах полностью микоризны (Taylor et al., 2000). К сожалению, существуют значительные противоречия в оценке этих параметров. В некоторых исследованиях, основанных на бурении почвы (напр., Persson, 1978; Vogt et al., 1982; Gill, Jackson, 2000), показано, что тонкие корни (<2 мм диам) в бореальных и умеренных лесах обновляются несколько раз в год. Высокие значения, полученные этим методом, предполагают, что образование и смена тонких корней – основное краткосрочное предназначение доли растительного С в подземной части. Напротив, данные, полученные недавно разработанными методами прямого учета распределения С, свидетельствуют против этой точки зрения (Högberg, Read, 2006). С применением технологии FACE, обогащения атмосферы углекислым газом, позволяющей мечение

продуктов фотосинтеза $^{13}CO_2$, была отмечена гораздо меньшая скорость смены тонких корней, со средним значением около 4 лет (Andrews et al., 1999). Результаты измерений на основе подписи ^{14}C, оставшегося «в наследство» от испытаний ядерного оружия (Gaudinski et al., 2000, 2001), согласуются со значениями, полученными с помощью технологии FACE, определяя период оборота тонких корней как 3–18 лет.

Новые данные о сроках существования грибных компонентов микоризы свидетельствуют о том, что, в противоположность тонким корням, они имеют краткую продолжительность жизни. Используя метод бомбардировки ^{14}C Э.А. Хобби с соавт. показали, что срок существования плодовых тел ЭМ грибов порядка недели, что соответствует также визуальным наблюдениям (Hobbie et al., 2002). Еще одно доказательство того, что образование тонких корней не может быть основным назначением продуктов фотосинтеза в подземной части — снижение тока CO_2, связанного с дыханием почвы, на 56% за 14 дней после кольцевания деревьев в конце вегетационного периода (рис. 8.10; Högberg et al., 2001). Это можно считать скромной оценкой вклада микориз в дыхание, так как показано, что запас крахмала в корнях используется при сокращении поступления С из кроны. Вместе с почти немедленным прекращением образования плодовых тел у ЭМ грибов после кольцевания (табл. 8.7), эти результаты показывают, что в данное время года основным акцептором ассимилятов в подземной части является грибной мицелий и ассоциированные с ним репродуктивные структуры. Было продемонстрировано, что свободный ЭМ мицелий может представлять собой основной путь поступления С в почвенный пул органических соединений, значительно превосходящий вклад листового опада и оборота тонких корней (Godbold et al., 2006). Эти наблюдения согласуются со снижением дыхательной активности после отделения гиф (Söderström, Read, 1987; см. рис. 8.6) и сокращения образования плодовых тел после затенения кроны (Lamhamedi et al., 1994; см. рис. 8.7).

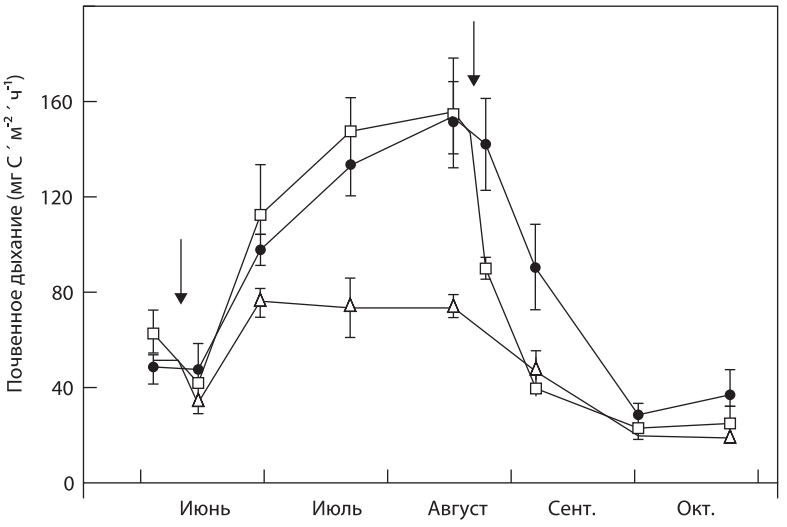


Рисунок 8.10. Ток дыхательного CO_2 почвы на площадках с *Pinus sylvestris*: контрольных, без кольцевания (●), при раннем кольцевании (Δ) и позднем кольцевании (□). Стрелками отмечено раннее (июнь) и позднее (август) кольцевание. После раннего кольцевания почвенное дыхание снизилось на ~54% за один месяц, а после позднего — на 37% за 5 дней. Из Högberg et al., 2001.

Таблица 8.7. Число видов грибов, их плодовых тел и их сухой вес на пробных площадях в 50-летнем лесу из *Pinus sylvestris* (Ахеден, Швеция) в условиях раннего (июнь) и позднего (август) кольцевания деревьев сравнительно с контролем (без кольцевания).

Условия эксперимента	Число видов	Число плодовых тел	Биомасса (г сух. веса)
Контроль	11 ± 3	252 ± 116	84,4 ± 24,4
Раннее кольцевание	1 ± 1 (72)	4 ± 4 (72)	0,5 ± 0,5 (72)
Позднее кольцевание	10 ± 1 (2–3)	108 ± 48 (2–3)	40,9 ± 8,5 (2–3)

Из Högberg et al., 2001. Цифры в скобках — число дней с момента кольцевания. Образование плодовых тел практически прекратилось через 72 дня после раннего и снизилось более чем вдвое в течение 2–3 дней после позднего кольцевания.

Исследование, проведенное с помощью метода кольцевания, выявило еще две особенности, подчеркивающие важность сезонности при определении С баланса ЭМ сообщества. Во-первых, снижение активности дыхания в течение 5 дней после кольцевания в июне, было на 27% меньшим, чем в сентябре. Возможно, в какой-то мере, это можно отнести на счет того, что хвойные умеренных лесов в начале сезона используют С преимущественно для роста побега, хвои и почек (Hansen et al., 1997). Второй возможный фактор — то, что в это время года корни содержат значительно больше крахмала, потенциального субстрата дыхания (Högberg et al., 2001). Во-вторых, есть данные, что уровень дыхательной активности наиболее высок в августе-сентябре, то есть уже после периода максимальной инсоляции и высоких температур (июнь-июль), следовательно, эти факторы не могут играть первостепенную роль в качестве движущей силы дыхательной активности. М.Н. и П. Хогберги показали снижение микробной биомассы примерно на 32% за 1–3 месяца после проведения кольцевания на площадках и рассчитали, что одна треть общей микробной биомассы почвы приходится на ЭМ мицелий (Högberg, Högberg, 2002). Эти авторы подчеркнули, что возможный вклад ЭМ биомассы в дыхание почвы недоучитывается, так как дыхание гетеротрофного сообщества, возможно, стимулируют субстраты, высвобождающиеся при разложении ЭМ структур. В последующей работе, через два года после кольцевания, было показано, что продуктивность дыхания на пробных площадях снизилась на 65% (Bhupinderpal et al., 2003). Такую характеристику вклада микоризных корней и мицелия в дыхание почвы можно считать более точной, потому что к этому времени истощаются альтернативные субстраты, появившиеся в результате проведения кольцевания, и, вероятно, используемые для поддержания гетеротрофного сообщества.

Существуют две модели распределения С в подземной части сообщества. Первая предполагает, что образование тонких корней и их смена — основное назначение поступающих ассимилятов. Вторая показывает, что корни — менее значимый акцептор по сравнению с такими компонентами ЭМ системы как мицелий и плодовые тела грибов, и их образование и активность тесно связана с притоком продуктов фотосинтеза. Расчеты, основанные на первой модели, дают значения для продукции тонких корней в сосновом лесу порядка 2030 кг/га/год (Persson, 1978). По оценке с запасом 90% этих корней являются ЭМ, и 40% ЭМ корня приходится на грибные структуры (Harley, McCready, 1952b; Vogt et al., 1982), следовательно, ежегодно должно образовываться 730 кг грибных чехлов. Таким образом, ежегодная продукция грибных структур (мицелий — 70 кг, плодовые тела — 30 кг, чехлы — 730 кг, см. выше) будет составлять 830 кг/га. Если содержание С в грибных структурах принять за 40%, а эффективность дыхательной активности — за 60%, потребность в С ЭМ грибов в лесу будет равняться 830 кг С/га/год. Фотосинтетиче-

ская продуктивность того же леса оценивается как 5800 кг С/ га/год (Linder, Axelsson, 1982). Исходя из вышеописанного, ЭМ грибы используют около 15% ассимилированного С. Это значение, как указывают Р.Д. Финлей и Б. Содерстром (Finlay, Söderström, 1992), согласуется с данными, полученными другими исследователями (напр., Vogt et al., 1982; Rommell, 1939b).

Полученные значения, возможно, нуждаются в ревизии в свете гипотезы о том, что тонкие корни, а, следовательно, и грибные чехлы, имеют более продолжительный срок существования, возможно, как минимум, в четыре раза более протяженный, чем показано при бурении почвы. При снижении оценок доли С, необходимого для, возможно, меньшей продукции тонких корней, значения как для мицелиального компонента (Wallander et al., 2001, 2004), так и для плодовых тел ЭМ грибов (Högberg et al., 2001) в этих типах леса могут быть значительно выше, чем предполагали ранние исследования. Так, при том, что оценки продукции биомассы чехлов могут быть снижены в четыре раза, значения для мицелиальной биомассы и продукции плодовых тел должны быть увеличены шестикратно и четырехкратно соответственно. Согласно данным ранних вычислений, принимая такую же конверсию С и коэффициенты эффективности, значения 172 кг/га/год для оборота тонких корней, 420 кг/га/год для мицелия и 12 кг/га/год для плодовых тел эквивалентны доле углерода 722 кг/га/год. Эта цифра составляет около 12,5% ежегодной первичной продукции лесного сообщества.

Заключение

Построение кривых зависимости ответов на питательные вещества способствует оценке влияния ЭМ колонизации на рост растения. Когда растения находятся в условиях нехватки такого элемента, как Р, существует пороговое значение, ниже которого рост не происходит. Посредством улучшения доступа к лимитирующему рост веществу, колонизация может существенно снижать этот порог. Степень ответа растения различается в зависимости от грибного симбионта, ответная реакция имеет четко выраженный характер на видовом и даже внутривидовом уровне и зависит как от эффективности использования источника питательных веществ, так и от С потребностей, удовлетворяемых растением. В настоящее время выяснено, что связь между эффективностью эксплуатации источника питания и потребностью в С можно изучать с применением анализа выгоды-затрат. Затраты и выгоды в ЭМ симбиозах, как вновь показано, различаются в зависимости от вида грибного партнера и условий эксперимента.

Сделаны новые открытия в области молекулярно-биохимических механизмов, задействованных в транспорте С от автотрофа к гетеротрофу. Понимание природы и локализации биохимических путей транспорта в контактной зоне между симбионтами пока не претерпело серьезных изменений, но новые исследования позволили идентифицировать специфичные транспортеры сахаров и выявить некоторые из механизмов регуляции транспорта.

Сейчас больше известно о взаимосвязи между током ассимилятов, активностью свободного мицелия и образованием плодовых тел. На основании результатов лабораторных экспериментов подсчитано, что от 10 до 20% углерода из продуктов фотосинтеза передается в вегетативный мицелий ЭМ грибов, но основным достижением является то, что такие исследования были проведены и в полевых условиях. Прекращение поступления продуктов фотосинтеза после кольцевания стволов сосны быстро приводило к сильному снижению выделения в почве CO_2 в результате дыхания и почти сразу же – к остановке образования плодовых тел. Расчеты на

основе данных такого типа экспериментов показывают, что ЭМ мицелий составляет, по меньшей мере, треть, а возможно, и существенно большую долю микробной биомассы почвы. Представляя собой основной акцептор растительного С, грибной симбионт напрямую влияет на активность ассимиляции в листьях, возможно, путем положительной обратной связи при распределении С в подземной части сообщества. Для определения относительной значимости микоризных сообществ как акцепторов С на уровне экосистем необходимо проведение экспериментов, связанных с изменением отношений донор-акцептор, в полевых условиях, в лесных фитоценозах разных типов.

9
Мобилизация азота и азотное питание эктомикоризных растений

Введение

Ограничение роста растений низкой доступностью N — характерная особенность многих экосистем, где преобладают эктомикоризные (ЭМ) виды. Так, в бореальных (Tamm, 1991) и умеренных (Ellenberg, 1988) лесах Северного полушария доступность N является важнейшим фактором, определяющим продуктивность. Представления о динамике N в таких сообществах было существенно расширено выявлением того факта, что для ЭМ растений в лесах доступные формы азота могут быть различными. Несмотря на ранние предположения А.Б. Франка (Frank, 1894), что ЭМ колонизация может обеспечивать растениям доступ к органическим формам N, мнение о том, что минеральный N является единственным важным источником этого элемента, преобладало на протяжении большей части прошедшего столетия. На потенциальную значимость органических источников N в питании микоризных растений было повторно обращено внимание при изучении вначале эрикоидной микоризы (ЭрМ) (Bajwa et al., 1985; см. гл. 11), а затем ЭМ симбиозов (Abuzinadah, Read, 1986a, b; Read, 1991a; Bending, Read, 1995a, b; Chalot, Brun, 1998; Emmerton et al., 2001a, b; Nasholm, Persson, 2001). Подчеркнув то, что активность грибных симбионтов может обеспечивать растения доступом к формам N, которые иначе были бы совершенно недоступны, эти исследования обусловили возобновление интереса к роли органического N в питании растений. В результате, в настоящее время сложились более адекватные представления о спектре источников N, возможно, используемых в питании ЭМ растений, и об условиях окружающей среды, при которых будет преобладать та или иная форма. Сейчас все больше внимания уделяется происходящим на молекулярном и биохимическом уровне событиям, связанным с мобилизацией, ассимиляцией и транспортом всех потенциально доступных форм N, и развитию представлений о факторах окружающей среды, создающих экологический контекст этих процессов.

Усвоение азота эктомикоризными грибами в чистой культуре

Неорганические источники азота

ЭМ грибы, которые удается успешно выращивать в чистой культуре, по набору используемых для роста соединений N сходны с другими видами. Ранние исследователи (Norkrans, 1950; Rawald, 1963; Lundeberg, 1970) обнаружили способность к усвоению аммония и нитрата у целого ряда видов и штаммов ЭМ и сапротрофных грибов, которые были изучены (более подробно см. в Harley, Smith, 1983). Не было выявлено никаких особенностей, отличающих группу ЭМ грибов, и более поздними работами эти наблюдения были подтверждены (France, Reid, 1984; Littke et al., 1984; Genetet et al., 1984; Plassard et al., 1991). Большинство видов грибов быстрее растет на аммонии, и некоторые, но не все, способны также усваивать нитраты. Экспериментальное изучение поглощения N связано с трудностями, создаваемыми изменением pH, которое может быть очень существенным в случае часто используемых сред без буфера. Поглощение аммония приводит к заметному снижению pH, которое может приводить к резкому сокращению роста. Значение pH сильно влияет на форму, в которой N присутствует в среде. Значение pKa для протонирования аммиака равно 9,25, поэтому в большинстве сред и при почти любых условиях культивирования преобладающей формой азота будет скорее аммоний, чем аммиак. Это влияет на процессы мембранного транспорта, вероятно, участвующие в поглощении. Поглощение нитрата, а также высвобождение аммония из амидов или других быстро гидролизующихся соединений вызывает повышение pH, обычно более медленное и имеющее менее выраженное влияние на рост, чем снижение pH. Несмотря на подобные проблемы, получены обширные данные, хотя между разными видами и штаммами ЭМ грибов существуют значительные различия в требованиях к источникам неорганического N.

По способности использовать нитрат среди ЭМ грибов существует удивительное разнообразие как на межвидовом (France, Reid, 1984; Plassard et al., 1986; Anderson et al., 1999), так и на внутривидовом уровне (Ho, Trappe, 1987; Anderson et al., 1999). Некоторые ЭМ симбионты, наиболее охотно использующие нитрат, такие, как представители рода *Hebeloma*, являются пионерными видами в нарушенных местообитаниях, где наиболее вероятно присутствие азота именно в этой форме (Marmeisse et al., 1998). Усвоение нитрата видом *Hebeloma cylindrosporum*, определенные штаммы которого могут достигать при внесении нитрата в 10 раз более высокой биомассы, чем в случае аммония, было подробно изучено (Plassard et al., 1991, 1994). Значение K_m для поглощения нитрата у этого вида 67 мкМ (Plassard et al., 1994), по сравнению с 12 мкМ для *Rhizopogon roseolus* (Gobert, Plassard, 2002), указывает на значительные межвидовые различия ЭМ грибов по сродству к нитрату. У последнего вида поглощение этого вещества происходит с постоянной скоростью, независимо от предварительной обработки мицелия 0,05 мМ раствором нитрата, что предполагает отсутствие индуцируемого нитратом транспортера у данного организма. Из *H. cylindrosporum* был выделен ген (*NRT2*), кодирующий транспортер нитрата (Jargeat et al., 2003). Полипептид, кодируемый этим геном, характеризуется наличием 12 трансмембранных доменов, которые, как предполагают, составляют длинную, возможно, внутриклеточную, петлю и короткий хвост, оканчивающийся углеродом. Транскрипция гена *NRT2* подавляется аммонием и стимулируется при низком уровне поступления нитрата и простых источников органического N извне.

Были получены представления о молекулярных событиях и физиологических процессах, связанных с ассимиляцией азота. Гены, кодирующие участвующие в

ней белки, индуцируются нитратом и подвергаются N катаболитной репрессии. У *Hebeloma cylindrosporum* были клонированы два гена нитратредуктазы (Jargeat et al., 2000). Один из них (*nar 1*) был транскрибирован, и показано, что он кодирует полипептид из 908 аминокислотных остатков, а другой (*nar 2*) считают предковым, но не функциональным дубликатом *nar 1*. При превышении базового уровня транскрипция *nar1* подавляется высокой концентрацией аммония, но заметно индуцируется в присутствии нитрата или при низком общем содержании N. Также транскрипция происходит, когда единственным источником N в среде являются органические соединения, такие как глицин. Это указывает на необязательность притока нитрата извне для индукции транскрипции данного гена. Экспрессия гена *Nar1* у *H. cylindrosporum*, таким образом, регулируется преимущественно доступностью аммония. Авторы предполагают, что отсутствие системы индукции нитратами может служить адаптацией к лесным почвам, где множество различных источников N присутствует в низких концентрациях.

Так как аммоний представляет собой основной источник минерального N в лесных почвах (Read, 1991a; Marschner, Dell, 1994), неудивительно, что большинство ЭМ грибов при росте в культуре предпочитает использовать ион аммония. Кинетика и энергетика поглощения аммония была изучена на примере *Paxillus involutus* (Javelle et al., 1999). K_m и V_{max} имели значения 180 и 380 мкМ соответственно. При постановке экспериментов применяли кратковременную (несколько часов) и долговременную (несколько дней) инкубацию, и было установлено, что поглощение аммония сильно зависит от наличия органических источников N, таких как глутамат и лейцин. Эти данные представляют интерес с точки зрения экологии ввиду часто наблюдаемого совместного присутствия соединений с аминогруппой и аммония в почвах, где обитают ЭМ растения (Read et al., 2004).

Так же, как и у других грибов, у ЭМ видов большая часть ассимилированного N из аммония переходит в амидную группу глутамина по глутаминсинтетазному (ГС/ГОГАТ) пути или в аминогруппу глутамата по глутаматдегидрогеназному (ГДГ) пути. Могут быть использованы оба пути, но относительная значимость каждого из них зависит от вида грибного симбионта.

В настоящее время клонированы гены белков, участвующих в поглощении аммония и транспорте, и это способствовало выявлению их функций и механизмов регуляции. Ген транспортера аммония *AMT1* был клонирован у *Tuber borchii* (Montanini et al., 2002) и *Hebeoma cylindrosporum* (Javelle et al., 2001, 2003a). Это высокоаффинный транспортер, который экспрессируется только в условиях дефицита N (Javelle et al., 2003a). У второго вида также выявлены другие транспортеры, *AMT2* и *AMT3* (Javelle et al., 2001). Один из них, *AMT3*, низкоаффинный транспортер, для которого характерен высокий уровень экспрессии, но при этом невысокая степень регуляции. Помимо генов транспортеров, были клонированы и описаны гены, кодирующие ГС (*GLNA*) и ГДГ (*HDGA*) (см. ниже) (Javelle et al., 2003b, 2004). Это исследование позволило создать модель, описывающую поглощение и регуляцию транспорта аммония у *H. cylindrosporum* (см. рис. 9.1). При низком содержании аммония, транскрибируются регуляторные гены *AMT1*, *AMT2*, *AMT3*, *GLNA* и *HDGA*, что влечет за собой повышение способности к поглощению аммония и его превращениям. При увеличении доступности аммония *AMT1*, *AMT2* и *HDGA* эффективно репрессируются, сокращая способность мицелия ассимилировать это соединение. В последнем случае можно ожидать, что активность *AMT3* и *GLNA* обеспечит базовый уровень ассимиляции аммония. Модель предполагает, что уровень транскриптов *AMT1* и *AMT2* контролируется посредством влияния на внутриклеточное содержание глутамина, в то время как накопление *HDGA* мРНК регулируется аммонием (пунктирные линии на рис. 9.1).

Высокоаффинный транспортер аммония *AMP1* принадлежит к генному семейству *MEP2*, участвующему в пролиферации мицелия у грибов и играющему важ-

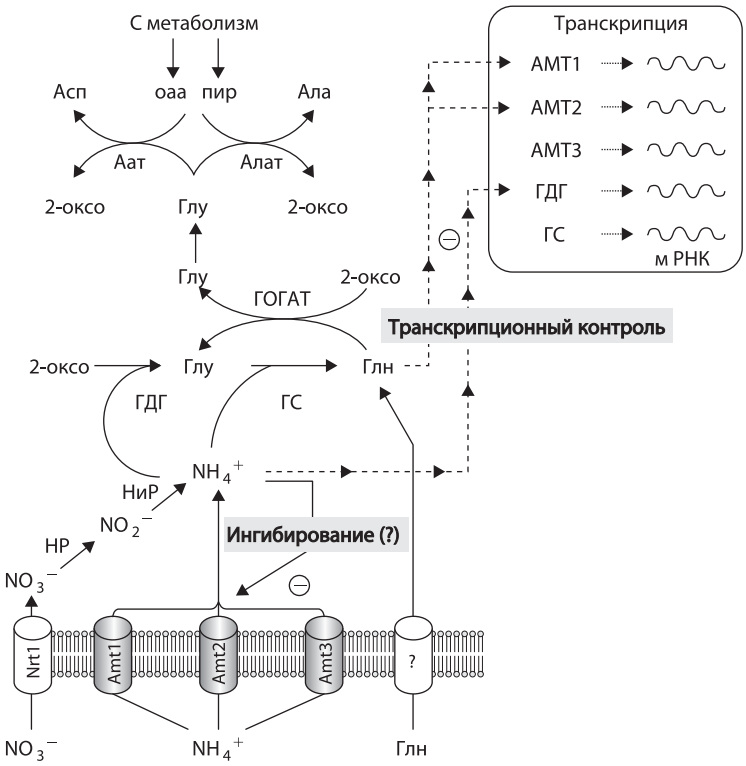


Рисунок 9.1. Модель, описывающая регуляцию транспорта и ассимиляции азота у *Hebeloma cylindrosporum*. Эктомикоризный гриб способен использовать в качестве источников азота нитрат, аммоний и аминокислоты. При низком содержании аммония транскрибируются гены *AMT1*, *AMT2*, *AMT3*, *GDH* (*GDHA*) и GS (*GLNA*), что приводит к усилению поглощения аммония и активизации метаболизма. При избытке аммония *AMT1*, *AMT2* и *GDHA* подвергаются эффективной репрессии, и ассимиляция аммония сокращается. В таких условиях *AMT3* и *GLNA* будут поддерживать базовый уровень ассимиляции аммония. Уровень транскриптов *AMT1* и *AMT2* контролируется внутриклеточным содержанием глутамина, в то время как уровень *GDHA* и *NAR1* мРНК контролируется аммонием (пунктирные линии). Активность поглощения аммония может напрямую регулироваться содержанием NH_4^+ внутри клетки (пунктирные линии). *2-оксо* — 2-оксоглутарат, *оаа* — оксалоацетат, *пир* — пируват, *ГОГАТ* — глутаматсинтаза, *Аат* — аспартатаминотрансфераза, *Алат* — аланинаминотрансфераза, *HP* — нитратредуктаза, *HuP* — нитритредуктаза, *Nrt1* — транспортер нитрата. Из Javelle et al., 2003b, с разрешения.

ную роль при переходе между дрожжевой и мицелиальной стадиями (*Saccharomyces cerevisiae*) (Madhani, Fink, 1998). Так как встраивание генов *AMP1* и *2 Hebeloma crustuliniforme* в *MEP2*-дефицитный штамм *S. cerevisiae* восстанавливало способность дрожжей образовывать псевдомицелий, было сделано предположение, что эти транспортеры аммония могут также выступать как аммонийные сенсоры, стимулирующие пролиферацию гиф в ответ на низкое содержание аммония в среде (Javelle et al., 2003b). Подобные данные свидетельствуют о том, что гены, для кото-

рых определены специфичные функции в процессах питания, могут также играть роль в других сферах, в данном случае, запускать морфогенетические изменения. Весьма интересна возможность того, что обе эти функции проявляются совместно, способствуя улавливанию аммония.

При изучении основных путей метаболизма N у *Cenococcum geophilum* (Genetet et al., 1984; Martin, 1985; Martin et al., 1988a), *Hebeloma cylindrosporum* (Chalot et al., 1991) и *Laccaria laccata* (Brun et al., 1992) было установлено, что у этих видов преобладает ГС путь ассимиляции аммония. Показано, что ГС составляет около 3% от общего растворимого белкового пула у *L. laccata*, что значительно превышает значение для ГДГ, составляющее только 0,15%. При использовании в качестве метки ^{15}N-аммония выявили, что до 40% ассимилированного ^{15}N находится в составе амидогрупп. ГС *L. laccata* имеет очень высокое сродство к аммонию, и, следовательно, по крайней мере, у этого вида, ГС путь является основным при ассимиляции аммония (Brun et al., 1992). Это может быть справедливо для многих видов ЭМ грибов, и данные согласуются с ранними работами, в которых показано, что в отделенных микоризных окончаниях *Fagus* в присутствии аммония темновая фиксация $^{14}CO_2$ приводит к избирательному встраиванию метки в глутамин (Harley, 1964; Carrodus, 1967).

Был клонирован и описан ген *GLNA*, кодирующий ГС у *Hebeloma cylindrosporum* (Javelle et al., 2003a). Была отмечена единичная мРНК размером 1,2 т.п.н. Пересадка грибной культуры со среды, содержащей аммоний, на среду без азота привела к повышению активности ГС. Однако когда к мицелию снова поступил аммоний, количество транскриптов *GLNA* осталось без изменений или незначительно снизилось, что предполагает наличие у ГС *H. cylindrosporum* низкого уровня регуляции при высокой экспрессии.

Не следует пренебрегать также ролью ГДГ. К примеру, у *Hebeloma crustuliniforme* ассимиляция аммония, вероятно, происходит в основном по ГДГ пути (Quoreshi et al., 1995). Известны две формы этого фермента, НАД (ЕС 1.4.1.2)- и НАДФ (ЕС 1.4.1.4)-зависимая. Первой приписывают катаболические функции, в то время как вторая, как полагают, участвует в биосинтезе глутамата. Обе формы были обнаружены и описаны у ЭМ гриба *Laccaria laccata* (Dell et al., 1989; Ahmad et al., 1990; Brun et al., 1992; Botton, Chalot, 1995; Garnier et al., 1997). Их свойства сходны с таковыми у НАДФ-ГДГ *Neurospora crassa* и дрожжей (Stewart et al., 1980). Когда ГС ингибируется метионинсульфоксимином (МСО), в мицелии ЭМ грибов накапливаются глутамат, аланин и аспартат, что подтверждает наличие и активность ГДГ пути. Эти данные свидетельствуют о том, что ассимиляция аммония, по крайней мере, у этих видов грибов происходит параллельно по ГДГ и ГС/ГОГАТ путям (см. также Chalot et al., 1994a, b). Необходимо изучение других грибных симбионтов, так как при низкой активности ГС у *Pisolithus tinctorius* (Ahmad et al., 1990) МСО блокирует синтез аминокислот, что подразумевает действие ГС/ГОГАТ пути. НАДН-зависимая ГОГАТ была обнаружена у *Laccaria bicolor* (Vezina et al., 1989), но нестабильность этого фермента делает затруднительной его характеристику, и его статус у ЭМ грибов остается неясным.

Ген, кодирующий НАДФ-ГДГ (*HDGA*) был клонирован и описан у *Laccaria bicolor* (Lorillou et al., 1996), *Hebeloma cylindrosporum* (Javelle et al., 2003a) и *Tuber borchii* (Vallorani et al., 2002). Количественное определение накопления мРНК при помощи цДНК зонда, кодирующего НАДФ-ГДГ у *L. bicolor*, подтвердило, что рост мицелия на среде с нитратом и среде без азота приводит к повышению накопления транскриптов, кодирующих НАДФ-ГДГ (Lorillou et al., 1996). В случае *H. cylindrosporum* при переносе культуры со среды с концентрацией аммония 3 мМ на среду без азота произошло 12-кратное повышение уровня транскриптов ГДГ, что соответствует увеличению ферментативной активности в том же объеме. Напротив,

при внесении аммония происходило быстрое сокращение транскриптов ГДГ, коррелирующее со спадом ГДГ-специфичной активности. Упомянутые выше исследования дают обзор физиологических событий и генов, участвующих в процессе ассимиляции минеральных источников N. Однако все они проведены на очень малом количестве видов ЭМ грибов, и весьма желательным представляется анализ более широкого круга симбионтов, особенно характерных для определенных типов почв или растительных сообществ.

Органические источники азота

Способность некоторых ЭМ грибов использовать органические источники N известна уже в течение многих лет (см. Harley, Smith, 1983). Г. Лундеберг в культуральных исследованиях целого ряда видов и штаммов выявил несколько представителей рода *Suillus*, растущих на среде с аспарагином и глицином лучше, чем при добавлении неорганического N (Lundeberg, 1970). Здесь вновь проявляется значительное разнообразие между видами и даже штаммами грибов. У различных штаммов *Paxillus involutus* были изучены предпочтения в отношении источников N (Laiho, 1970). Все штаммы обладали способностью усваивать гидролизат казеина, пептон и смесь аминокислот, и все изоляты давали хороший рост на среде с глутаматом и аргинином. Способность к использованию в качестве единственного источника N других аминокислот была низкой и вариабельной. Не было отмечено случаев, когда органический источник N очень быстро и эффективно усваивался одним штаммом и был совершенно бесполезен для другого.

Для проверки возможности ЭМ грибов использовать органические N соединения из лесной почвы Г. Лундеберг использовал агаризованный гумус, в котором концентрация неорганических N соединений была очень низка, а органические вещества были помечены ^{15}N (Lundeberg, 1970). Грибы росли из инокулюма на границе между глюкозным агаром без азота и агаризованным гумусом. Ни один из ЭМ видов грибов не поглощал органический азот из гумуса в значительных количествах, хотя пять видов сапротрофов, образующих такие гидролитические ферменты как целлюлаза, пектиназа, протеиназа и лакказа, обладали такой способностью. Эти результаты согласуются с данными об использовании белкового азота видом *Suillus luteus* (Mosca, Fontana, 1975), и в итоге их стали рассматривать как подтверждение того, что ЭМ грибы, возможно, малоэффективны в усвоении органического N и должны конкурировать с другими организмами за азот неорганический, минерализованный свободноживущими представителями почвенной микрофлоры.

Представление о возможной значимости аминокислот как основного источника N для ЭМ грибов и колонизированных ими растений было подкреплено тем, что эти соединения, особенно, в кислых органических почвах, могут создавать существенный пул (Nemeth et al., 1987; Abuarghub, Read, 1988a; Kielland, 1997). Это привело к пересмотру роли ЭМ грибов в мобилизации аминокислот. Некоторые аминокислоты и амиды, в том числе, глутамин, глутамат и аланин, которые в значительных количествах встречаются в почвенном растворе, активно ассимилируются ЭМ грибами в чистой культуре и, при эквивалентных концентрациях N и C, могут поддерживать такую же продуктивность, как и аммоний в качестве единственного источника N (Abuzinadah, Read, 1988a; Finlay et al., 1992; Keller, 1996; Anderson et al., 1999) (табл. 9.1).

С применением меток и методов ингибирования ферментов на примере *Paxillus involutus* было продемонстрировано, что глутамат, глутамин и аланин абсорбируются в интактной форме и включаются, соответственно, ГС, ГОГАТ и алани-

Таблица 9.1. Прирост биомассы трех видов эктомикоризных грибов, *Suillus bovinus*, *Amanita muscaria* и *Hebeloma crustuliniforme* при выращивании с использованием ряда минеральных или в форме аминогруппы источников N в концентрации 60 мг N/л и при одинаковом соотношении C:N.

Источник азота	Масса добавленного источника N (г)	Масса добавленной глюкозы (г)	Прирост сухой массы за 30 дней (мг, среднее ± ошибка среднего)		
			S. bovinus	*A. muscaria*	*H. crustuliniforme*
Минеральный N					
$Ca(NO_3)_2 4H_2O$	0,504	3,004	17,7 ± 1,5	4,7 ± 0,3	12,6 ± 1,2
$(NH_4)_2 SO_4$	0,284	3,004	30,7 ± 1,2	26 ± 1,2	25,3 ± 1,4
Кислые аминокислоты					
L-аспарагиновая кислота	0,572	2,372	31,3 ± 2,6	34,3 ± 2,0	23,0 ± 0,9
L-глутаминовая кислота	0,632	2,216	32,0 ± 1,0	36,3 ± 1,5	24,9 ± 1,3
Основные аминокислоты					
L-аргинин	0,224	2,764	33,6 ± 1,8	34,0 ± 2,5	15,6 ± 0,7
L-лизин	0,392	2,528	17 ± 0,6	18,0 ± 0,1	5,9 ± 0,5
L-гистидин	0,300	2,688	5,0 ± 0,0	14,7 ±1,2	4,2 ± 0,4
Нейтральные аминокислоты					
L-аланин	0,380	2,528	31,6 ± 0,3	21,7 ± 1,2	20,4 ± 1,3
L-аспарагин	0,284	2,688	29 ± 1,5	23,3 ± 1,9	19,0 ± 0,7
L-цистеин	0,520	2,528	7,7 ± 0,3	3,3 ± 0,8	6,0 ± 0,5
L-цистин	0,516	2,528	6,0 ± 0,6	19,7 ± 0,7	5,6 ± 0,2
L-глутамин	0,312	2,608	29,3 ± 1,4	36,3 ± 0,3	18,1 ± 0,7
L-метионин	0,640	2,216	7,7 ± 0,3	2,3 ± 0,3	3,5 ± 0,2
глицин	0,324	2,688	5,7 ± 0,3	22,7 ± 1,4	9,9 ± 0,4
L-фенилаланин	0,708	1,588	11,3 ± 0,7	4,7 ± 0,7	4,3 ± 0,7
L-гидрокси L-пролин	0,560	2,528	3,7 ± 0,3	4,7 ± 0,3	4,2 ± 0,5
L-изолейцин	0,564	2,216	22,3 ± 2,3	7,3 ± 0,9	11,7 ± 0,3
L-лейцин	0,564	2,216	23,0 ± 3,2	7,3 ± 0,3	8,1 ± 0,4
L-пролин	0,492	2,216	4,0 ± 0,6	6,3 ± 0,9	4,4 ± 0,3
L-серин	0,452	2,258	27,7 ± 0,9	18,7 ± 0,7	16,3 ± 1,2
L-треонин	0,512	2,372	4,7 ± 0,3	6,7 ± 0,3	7,6 ± 0,3
L-триптофан	0,436	2,136	2,0 ± 0,0	2,7 ± 0,7	7 ± 0,1
L-тирозин	0,776	1,588	1,7 ± 0,3	5,3 ± 0,9	8,2 ± 1,0
L-валин	0,300	2,220	17 ± 1,2	11,3 ± 0,9	18,9 ± 3,1
Потеря N	-	3,004	7,3 ± 0,7	4,3 ± 0,3	6,2 ± 0,2

Из Abuzinadah, Read, 1988.

наминотрансферазой (АлАТ) в различные ассимиляционные пути (Chalot et al., 1994a, b). Здесь источники N будут дополнять пулы свободных аминокислот, которые дают значительное поступление C в мицелий, развивающийся на минеральных азотных соединениях. Например, для *Cenococcum geophilum* и *Sphaerosporella brunnea* было показано, что 16–40% C, внесенного в мицелий в виде 1-^{13}C глюкозы, поступало в аминокислотные пулы (Martin, Canet, 1986; Martin et al., 1988b). Таким образом, можно предполагать, что поступление извне аминокислот и амидов будет влиять на баланс и органического C, и N у ЭМ грибов.

Изучая ассимиляцию глутамина, глутамата и аланина при различных значениях pH, при наличии и в отсутствии аммония, нитрата и глюкозы, М. Шало с соавт., показали, что оптимум поглощения аминокислот находится в области низких значений pH (рис. 9.2). Ни аммоний, в концентрациях от 0,05 до 0,5 мМ, сходных с имеющимися в почве, ни глюкоза не влияли на поглощение (Chalot et al., 1995). За 5–6 недель поглощение аминокислот снижалось в 4–10 раз по мере старения мицелия, хотя объем эндогенных пулов закономерно увеличивался. Экстраполяцию данных об обороте пулов в условиях чистой культуры на симбиотические системы следует проводить с осторожностью ввиду отсутствия оттока ассимилированных соединений N, который в ЭМ обеспечивается ростом гриба или ассоциированного с ним растения.

Известно, что аминокислоты переносятся с помощью механизма протонного симпорта. При изучении энергетики и специфичности общего аминокислотного транспортера у *Paxillus involutus* было показано, что в случае глутамата, кинетика зависимого от концентрации поглощения не подчиняется простой модели Михаэлиса-Ментен (Chalot et al., 1996). Более того, имеются два самостоятельных элемента поглощения: насыщаемое и зависимое от переносчика и ненасыщаемый

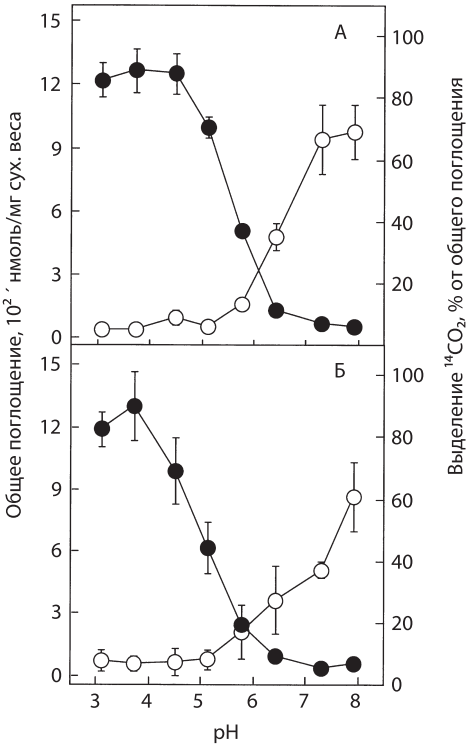


Рисунок 9.2. Влияние pH внешней среды на поглощение (●) и выделение (○) L-глутамата и L-глутамина эктомикоризным грибом *Paxillus involutus*. Приведены средние значения из трех повторностей ± стандартная ошибка среднего. Из Chalot et al., 1995, с разрешения.

процесс, подобный диффузии. Вновь была продемонстрирована зависимость поглощения аминокислот у этого вида гриба от pH, оптимум лежал в области 3,9–4,3 для глутамина и глутамата и 3,9–5,0 для аланина и аспартата. И зависимость от pH и восприимчивость процессов поглощения к ингибиторам, таким как 2,4 динитрофенол, соответствуют механизму протонного симпорта при поглощении аминокислот у *P. involutus*. Результаты исследования этого вида предполагают использование широкого круга субстратов, что согласуется с функциями общей аминокислотной пермеазы (Chalot et al., 2002, 2006).

Был выделен ген, кодирующий аминокислотный импортер у *Amanita muscaria* (*AmAAP1*), и активность его транскриптов характеризовалась гетерологичной экспрессией у дрожжей (Nehls et al., 1999). В этом исследовании было подтверждено, что белок является высокоаффинной общей аминокислотной пермеазой со значением K_m 22 мкмоль для гистидина и до 100 мкм для пролина. В присутствии аминокислот была отмечена низкая конститутивная активность транспортера. Напротив, в условиях N голодания или в присутствии нитрата или фенилаланина, соединений, ни одно из которых не используется в качестве источника N *A. muscaria*, экспрессия этого гена существенно повышалась. Был сделан вывод, что у *A. muscaria*, как и у дрожжей и *Aspergillus nidulans*, экспрессия генов аминокислотных транспортеров регулируется на уровне транскрипции посредством N репрессии (Nehls et al., 1999). *AmAAP1* имеет более высокое сродство к основным, чем к кислым или нейтральным аминокислотам, что может быть связано с преобладанием основных соединений с аминогруппой в кислых лесных почвах. Существует предположение, что помимо участия в поглощении аминокислот для питания, усиление экспрессии при N голодании может предотвращать утрату аминокислот путем истечения из гиф, когда подходящие источники N недоступны (Nehls et al., 1999). Из *Hebeloma cylindrosporum* методом функциональной комплементации транспортер-дефицитного штамма дрожжей был выделен транспортер аминокислот (*HcBap1*) (Wipf et al., 2002).

В то время как одни аминокислоты, присутствующие в почвенном растворе, несомненно происходят из свободных пулов этих молекул в живых тканях растений и микроорганизмах, другие, вероятно, являются продуктом распада полимеров пептидов и белков, осуществляемого организмами-редуцентами в почве. Так как полимеры составляют основной запас N во многих ЭМ лесных почвах (см. гл. 15), важно определить, могут ли они быть доступны для ЭМ грибов. Р.А. Абузинада и Д.Дж. Рид показали, что *Suillus bovinus* (рис. 9.3Б), *Rhizopogon roseolus* и *Pisolithus tinctorius* активно используют набор аланиновых пептидов от ди- до пентапептидов (Abuzinadah, Read, 1986a). Гекса-аланин также усваивался, но более медленно. Вид *Laccaria laccata*, напротив, на всех перечисленных субстратах давал слабый рост (рис. 9.3А).

По данным ранних экспериментов, поглощение меченых ^{14}C пептидов было более медленным, чем аминокислот (Chalot, Brun, 1998). Позднее было продемонстрировано, что вид *Hebeloma cylindrosporum* способен к поглощению ди- и трипептидов и росту с использованием их в качестве единственного источника N (Benjdia et al., 2006). С применением библиотеки цДНК у *H. cylindrosporum* были выделены транспортеры пептидов (*HcPTR2A* и *B*) посредством функциональной комплементации у дрожжей, и показано, что они регулируют поглощение дипептидов. *HcPTR2A* участвует в высокоэффективном поглощении пептидов в условиях ограниченной доступности N, а *HcPTR2B* экспрессируется конститутивно.

Способность ЭМ грибов использовать белки в качестве источника N известна давно (Melin, 1925; Lundeberg, 1970), но степень грибной протеолитической активности не была выявлена в полной мере. Используя растворимые белки растительного и животного происхождения, Р.А. Абузинада и Д.Дж. Рид проанализировали

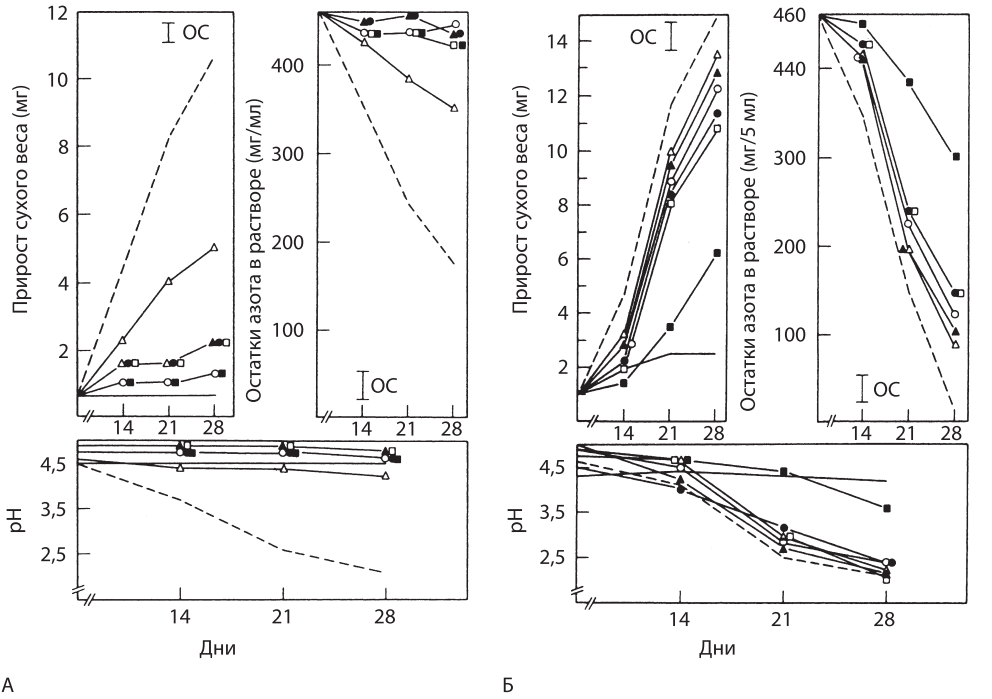


Рисунок 9.3. Сухой вес мицелия, остатки N и pH культуральной среды А *Laccaria laccata* и Б *Suillus bovinus* при выращивании на жидкой среде, содержащей ----- аммоний; Δ — аланин; ряд пептидов аланина с длиной цепочки 2–6 (▲ — A2; ○ — A3; ● — A4; □ — A5; ■ — A6) или —, не содержащей N. Приведены средние значения из трех повторностей ± стандартная ошибка среднего (ОС). Из Abuzinadah, Read, 1986a, с разрешения.

восемь ЭМ видов грибов в широком диапазоне pH на способность усваивать эти полимеры в качестве единственного источника (Abuzinadah, Read, 1986a, b). Некоторые ЭМ грибы с бычьим сывороточным альбумином (БСА, молекулярная масса 67 000, содержание N 16%) и глиадином (молекулярная масса около 30 000, содержание N 14%) в качестве источника N образовывали биомассу, равную или даже превышающую полученную с аммонием. Эти виды, в том числе, *Amanita muscaria*, *Cenococcum geophilum*, *Paxillus involutus*, *Rhizopogon roseolus*, *Suillus bovinus* и *Hebeloma crustuliniforme*, получили название «белковые грибы». Напротив, *Laccaria laccata* и *Lactarius rufus*, так называемые «небелковые грибы», образовывали очень мало мицелия на указанных органических N субстратах. Вид *Pisolithus tinctorius* занимал промежуточное положение. При последующем изучении *Pisolithus* показан в целом низкий уровень способности к усвоению БСА, но также наблюдались значительные межвидовые и внутривидовые различия (Anderson et al., 1999).

У *Amanita rubescens*, *Cenococcum geophilum* и *Hebeloma crustuliniforme* наблюдалась более высокая протеолитическая активность при использовании богатой белками фракции лесной подстилки, чем БСА или желатина (El-Badaoui, Botton, 1989). Проявлялись заметные различия во влиянии этих коммерческих препаратов белков на рост грибов. Например, Л. Хатчисон протестировал очень большое количество видов грибов на способность к разложению желатина до аминокислот, но показать ферментативную активность не удалось даже для видов, способных к гидролизу

БСА и глиадина, таких как *H. crustuliniforme* и *Paxillus involutus* (Hutchison, 1990). Внеклеточная кислая протеиназа *H. crustuliniforme* была очищена и охарактеризована (Zhu et al., 1990). Фермент был наиболее стабилен и имел самую высокую активность при значениях pH 2–5. Белок и некоторые аминокислоты, особенно, глицин (табл. 9.2), присутствуя в качестве единственных источников N, индуцировали активность. На образование фермента не влияло добавление аммония в концентрации 3,2 мМ, но при более высоком содержании этого вещества оно подавлялось. Для продукции фермента было необходимо наличие простых источников C, и при внесении глюкозы в концентрации от 0,5 до 2,0% репрессии не происходило (Zhu et al., 1994). Следовательно, получается, что как и в случае ЭрМ гриба *Rhizoscyphus ericae* (Leake, Read, 1991; см. гл. 11), кислая протеиназа *H. crustuliniforme* в основном регулируется путем индукции. Ее образование может подавляться присутствием некоторых форм N, но катаболитная репрессия в общем не играет важной роли. Данные о том, что добавляемые поодиночке аминокислоты могут играть роль индукторов, имеют большое значение, так как недавно было выяснено, что в почвах, где развиваются ЭМ корневые системы, могут содержаться объемные пулы таких соединений (Abuarghub, Read, 1988a; Kielland et al., 1994).

Таблица 9.2. Влияние различных источников азота на рост и образование протеиназ у *H. crustuliniforme* через 20 дней выращивания[1].

Источник азота[2]	Концентрация	Сухая масса (мг/чашка)	Протеиназная активность		
			(единиц/мг сухой массы)	(% от контроля)	окончательное значение pH
Аммоний	3,2 мМ	21,3 ± 1,5	32,4 ± 2,1	Контроль	2,8
Аспарагин	10 мМ	36,1 ± 3,4	16,7 ± 1,2	52	5,4
Глицин	10 мМ	10,4 ± 1,6	74,7 ± 3,4	230	5,3
Глутамин	10 мМ	89,2 ± 5,6	8,6 ± 0,9	27	6,5
Гидролизат казеина	0,04%	37,4 ± 2,7	9,6 ± 2,1	30	6,4
Казеин	0,04%	36,1 ± 3,6	18,4 ± 2,7	57	4,9
Желатин	0,04%	44,7 ± 3,2	60,1 ± 3,2	185	4,8
Глиадин	0,04%	25,7 ± 2,1	52,9 ± 4,6	163	4,1
БСА	0,04%	28,6 ± 2,4	70,8 ± 5,2	219	4,5

Из Zhu et al., 1994.

[1] — данные представлены в виде среднего значения ± стандартное отклонение из 5 повторностей;

[2] — источники азота были добавлены к основной среде, содержащей 1% глюкозы.

Из мицелия *Amanita muscaria* были выделены и охарактеризованы две аспартатные pH-зависимые протеазы (Nehls et al., 2001c). AmProt1 с молекулярной массой около 45 кДа образуется преимущественно при значениях pH до 5,4, с оптимумом в районе 3,0, в то время как экскреция AmProt2 с молекулярной массой 90 кДа была заметна только в интервале значений pH от 5,4 до 6,3, и pH оптимум активности был несколько более высоким. Один клон цДНК, предполагаемо кодирующий AmProt1, был идентифицирован, и показано, что он также экпрессируется зависимо от величины pH. Ограничение по C и N существенно повышало уровень экспрессии AmProt1. Однако при том, что голодание только по N повышало уровень экспрессии гена в 3–4 раза, отсутствие источника C повышало уровень транскриптов до 12 раз независимо от наличия N в среде. Таким образом, можно ожидать, что эндоген-

ный уровень С в ЭМ гифах может играть значительную роль в контроле протеолитической активности.

Вид *Hebeloma crustuliniforme* в случае, когда белок является единственным источником N демонстрирует пролонгированную лаг-фазу, за которой следует фаза более активного роста, во время которой разложение белков приводит к накоплению аминокислот в среде (Read et al., 1989) (рис. 9.4). Впоследствии они ассимилируются, но только после того, как концентрация белка сильно снизится. Ни на одной из стадий роста не было отмечено высвобождение аммония. Конечно, ионы аммония становятся заметны, только когда соединения с аминогруппой в среде практически истощаются. К этому этапу С голодание у гриба, вероятно, приводит к деаминированию остаточных соединений и высвобождению и утилизации С скелетов. Подобное голодание и связанное с ним высвобождение аммония может быть артефактом условий чистой культуры, проявлением, нехарактерным для природных симбиозов, где С гарантированно поступает от растения. Более того, отсутствие появления аммония в среде на более ранних стадиях роста может отражать сравнительную скорость деаминирования белка (если таковое происходит) и поглощения аммония, которое, вероятно, в растущем мицелии будет высоким.

Доступность белков в почве зависит от их структуры и растворимости, а также от взаимодействий с другими компонентами почвы. Так, относительно нерастворимый желатин менее доступен в культуральных условиях, чем растворимый БСА, но

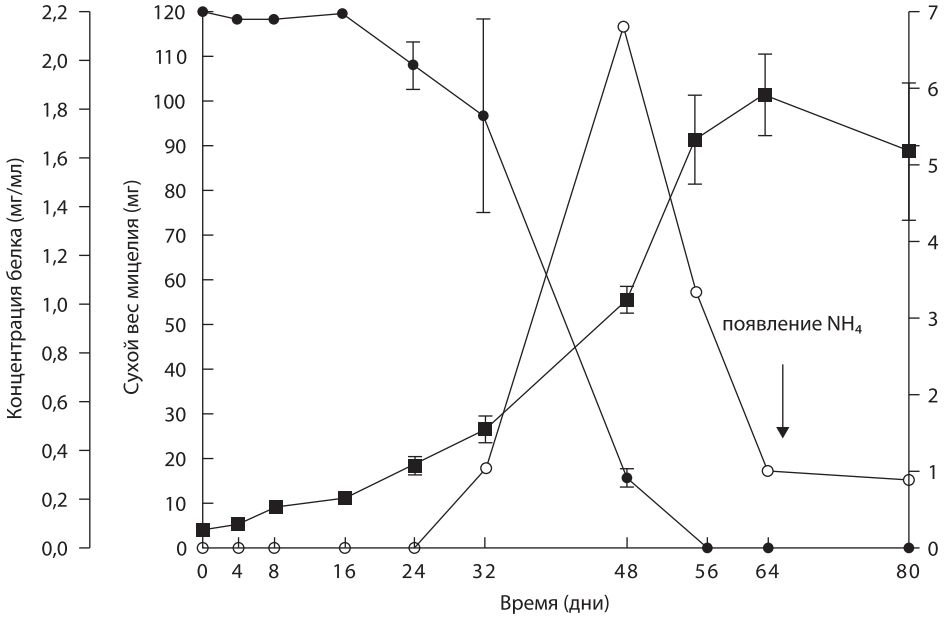


Рисунок 9.4. Зависимость между использованием белка, продукцией биомассы мицелия и выделением аминокислот при выращивании *Hebeloma crustuliniforme* в жидкой культуре с белком в качестве единственного источника N. Обратите внимание, что аммоний не появляется в среде до тех пор, пока весь белок не будет использован, и гриб не начнет испытывать С голодание. ● — концентрация белка; ○ концентрация аминокислот; ■ — сухой вес мицелия. Приведены средние значения ± стандартная ошибка среднего. Из Read et al., 1989, с разрешения.

в почве все белки могут стать недоступными из-за реакций с фенольными соединениями, ионных реакций с органическими веществами почвы и глинами или из-за физической закупорки почвенных пор. Способность ЭМ грибов к использованию таких малодоступных источников может очень сильно увеличиваться сравнительно с сапротрофами, так как в условиях симбиоза первые не зависят от органического С почвы. Как минимум, по этой причине необходимо проведение исследований способностей грибов к усвоению тех или иных субстратов в интактных симбиотических системах, где имеется нормальный путь поступления органического С.

Усвоение азота микоризными окончаниями и интактными растениями

Неорганические источники азота

При сравнении способности ЭМ и немикоризных корней *Picea abies* к поглощению нитрата и аммония было показано, что ни микоризный статус растений, ни форма вносимого N не оказывала значительного влияния на кинетические характеристики процесса поглощения (Eltrop, Marschner, 1996) (табл. 9.3). Значения K_m для поглощения нитрата были немного ниже, чем для аммония, что предполагает более высокое сродство к второму соединению. Однако делать обобщения на основании таких данных следует с осторожностью, так как впоследствии было показано, что скорость поглощения метиламмония, аналога аммония, сильно зависит от видовой принадлежности грибного симбионта. Корни, колонизированные *Lactarius subdulcis*, обладали более высоким сродством к этому соединению, чем те, в которых симбионтом был вид *Russula ochroleuca* (Wallenda, Read, 1999) (табл. 9.4). Этими различиями может частично объясняться высокая вариабельность значений K_m для поглощения метиламмония, наблюдаемая у собранных в природных условиях ЭМ корневых окончаний *Salix* и *Betula* (Kielland, 1994) (табл. 9.5).

Таблица 9.3. Кинетические параметры поглощения (сродство к субстрату K_m в мкМ и максимальная скорость поглощения V_{max} в мкмоль/г свежей массы/ч, по Лайнуиверу-Бурку) аммония и нитрата в интактных корневых системах немикоризных и микоризованных сеянцев ели обыкновенной в возрасте 22 недель.

	Аммоний		Нитрат	
	K_m	V_{max}	K_m	V_{max}
N в виде NH_4NO_3				
немикоризные	227	0,38	214	0,28
Laccaria laccata	229	0,55	207	0,33
Paxillus involutus	222	0,47	228	0,32
Pisolithus tinctorius	236	0,53	367	0,51
N в виде $(NH_4)_2SO_4$ или KNO_3				
немикоризные	567	0,96	98	0,46
Pisolithus tinctorius	334	1,24	263	0,97

Азот вносили в виде NH_4NO_3 или в виде $(NH_4)_2SO_4$ или KNO_3 в общей концентрации 800 мкмоль. Данные из Eltrop, Marschner, 1996.

Таблица 9.4. Кинетические параметры поглощения метиламмония и аминокислот микоризными корнями бука, рассчитанные методом нелинейного регрессионного анализа в интервале концентраций субстрата 0,001–0,25 моль/м.

Вид гриба	Соединение	V_{max}	K_m
Lactarius subdulcis	Метиламмоний	48,5 ± 6,2	220 ± 62
	Глутамин	12,4 ± 0,9	79 ± 13
	Глицин	22,8 ± 4,2	197 ± 67
	Глутаминовая кислота	10,1 ± 1,3	115 ± 33
Russula ochroleuca	Метиламмоний	27,9 ± 7,2	555 ± 191
	Глутамин	1,4 ± 0,1	86 ± 20
	Глицин	3,1 ± 0,3	233 ± 35
Xerocomus chrysenteron	Метиламмоний	40,8 ± 8,0	441 ± 122
	Глутамин	16,5 ± 1,5	80 ± 18
	Глицин	18,7 ± 2,5	84 ± 26

Значения $V_{ma}x$ (мкмоль/г сухой массы/ч) и K_m (ммоль/м^3) (± стандартная ошибка) были рассчитаны по нелинейным кривым на основе экспериментальных данных по уравнению Михаэлиса-Ментен [v = (V_{max}´ [S])/(K_m + [S])] в интервале концентраций субстрата 0,001–0,25 моль/м^3. Место сбора образцов: Хазерсэйдж, Дербишир, Великобритания. Из Wallenda, Read, 1999.

Таблица 9.5. Кинетические параметры поглощения метиламина (аммония) отделенными корневыми окончаниями основных видов растений из четырех сообществ арктической тундры.

Сообщество	Виды	Тип микоризы	Константа полунасыщения, K_m (мкмоль/л)	Максимальная поглощающая способность, V_{max} (мкмоль/г/ч)
СВ	*Betula nana*	ЭМ	67	5,6
ВЛ	*Carex aquatilis*	НМ	153	17,8
	Eriophorum angustifolium	НМ	935	17,8
ДТ	*Betula nana*	ЭМ	3821	142,8
	Carex bigelowii	НМ	78	5,4
	Eriophorum vaginatum	НМ	242	13,7
	Ledum palustre	ЭрМ	256	7,6
	Salix pulchra	ЭМ	1197	75,9
КТ	*Betula nana*	ЭМ	663	31,7
	Salix pulchra	ЭМ	6717	272,8

Кинетические константы были рассчитаны из измерений в четырех повторностях при каждой из четырех концентраций раствора. Сокращения: ВЛ — влажный луг, ДТ — дерновинная тундра, КТ — кустарниковая тундра, НМ — немикоризные, СВ — сухой верещатник, ЭМ — эктомикориза, ЭрМ — эрикоидная микориза. Из Kielland, 1994.

Было изучено дальнейшее распределение ^{15}N из меченого нитрата и аммония, вносимого в свободный мицелий, ассоциированный с интактными ЭМ растениями (Finlay et al., 1988, 1989; Ek et al., 1994a). Было выявлено, что основным акцептором поглощенного N является глутамин, а также аланин, аргинин и аспартат-аспарагин (Finlay et al., 1992; Martin, Botton, 1993; Botton, Chalot, 1995). Вклад аргинина в пул аминокислот и амидов различается у разных видов грибов, и было сделано предположение, что он может зависеть от степени накопления в вакуолях, где аргинин может участвовать в стабилизации полифосфата (полиР) (Finlay et al., 1992; см. гл. 10). Результаты экспериментов с применением ^{15}N в интактных ЭМ растениях, согласуются с более ранними, полученными методом внесения ^{14}C в отделенные корневые окончания, данными, которые подтверждают, что глутамин является основной формой для транспорта N по мицелию и через контактную зону к растению (Harley, 1964; Carrodus, 1967; Reid, Lewis, в Lewis, 1976). Несомненно, транспорт в интактных системах происходит очень быстро (Finlay et al., 1988, 1989). Эксперименты с меткой ^{15}N показали избирательное поглощение NH_4^+ из нитрата аммония грибом *Paxillus involutus* в симбиозе с *Betula pendula*, а также ингибирование аммонием ассимиляции $^{15}NO_3$ в свободном мицелии (Ek et al., 1994a). Аммоний переходит в форму глутамина в зоне поглощения, что является еще одним доказательством значимости этого амида в транспортных процессах.

Р. Франс и К. Рид представили модель механизмов, предполагаемо значимых для ассимиляции аммония ЭМ корнями, в которой были отмечены пути, включающие ГС, ГОГАТ и ГДГ (France, Reid, 1983). Дальнейшие исследования обнаружили разнообразие способов влияния растения на активность гриба в симбиозе, а также значительные различия между разными парами симбионтов (Martin, Botton, 1993; Botton, Chalot, 1995) (рис. 9.5). Тогда как ГДГ-ГС путь преобладает у грибов, ассимиляция аммония у высших растений, как известно, происходит преимущественно через ГС/ГОГАТ путь (Robinson et al., 1991; Oaks, 1994; Miflin, Lea, 1976). Если грибные и растительные клетки отличаются путями ассимиляции неорганического N, важно определить, насколько они регулируются в ЭМ состоянии. В некоторых случаях проявляется понижающая регуляция ферментов грибов вблизи растительных тканей, что дало основание для возникновения теории метаболической зональности (Martin et al., 1992), в то время как в других ситуациях активность оставалась неизменной. Так в микоризах *Picea*, образованных видами *Hebeloma*, активность НАДФ-ГДГ была максимальной в свободном мицелии и чехле, но снижалась в сети Гартига (Dell et al., 1989). Этому соответствует также количественная оценка полипептида ГДГ, полученная с помощью иммунологического метода мечения золотом. Количество фермента закономерно снижалось от периферических клеток чехла к сети Гартига (Chalot et al., 1990a). С другой стороны, в микоризах *Fagus* и активность (Dell et al., 1989), и количество (Chalot et al., 1990a) ГДГ заметно снижались в чехле, образованном как *Hebeloma* или *Cenococcum geophilum*, так и *Paxillus involutus*.

Сходная ситуация наблюдалась у микоризных окончаний *Fagus* с *Lactarius*-типа ЭМ, когда успешное встраивание $^{15}NH_4$ в амидогруппу глутамина, глутамата и аланина совпадало с активностью ГС (Martin et al., 1986). Важность этого пути была подтверждена при инкубации корней в МСО, который ингибировал встраивание ^{15}N в глутамин и глутамат на 90%. Свидетельства участия ГС/ГОГАТ были получены посредством использования ингибитора ГОГАТ азасерина, который полностью блокировал синтез глутамата из аммония. Подобные данные предполагают полную понижающую регуляцию грибной ГДГ у некоторых типов ЭМ, хотя остается возможность экспрессии и некоторой активности в мицелии, когда он растет вдали от корня. Кроме того, источники N (аммоний или нитрат) и их концентрация (обогащенный N субстрат или голодание по N) регулируют биосинтез и активность НАДФ-ГДГ путем изменения накопления мРНК ГДГ у *Laccaria laccata* S238, что

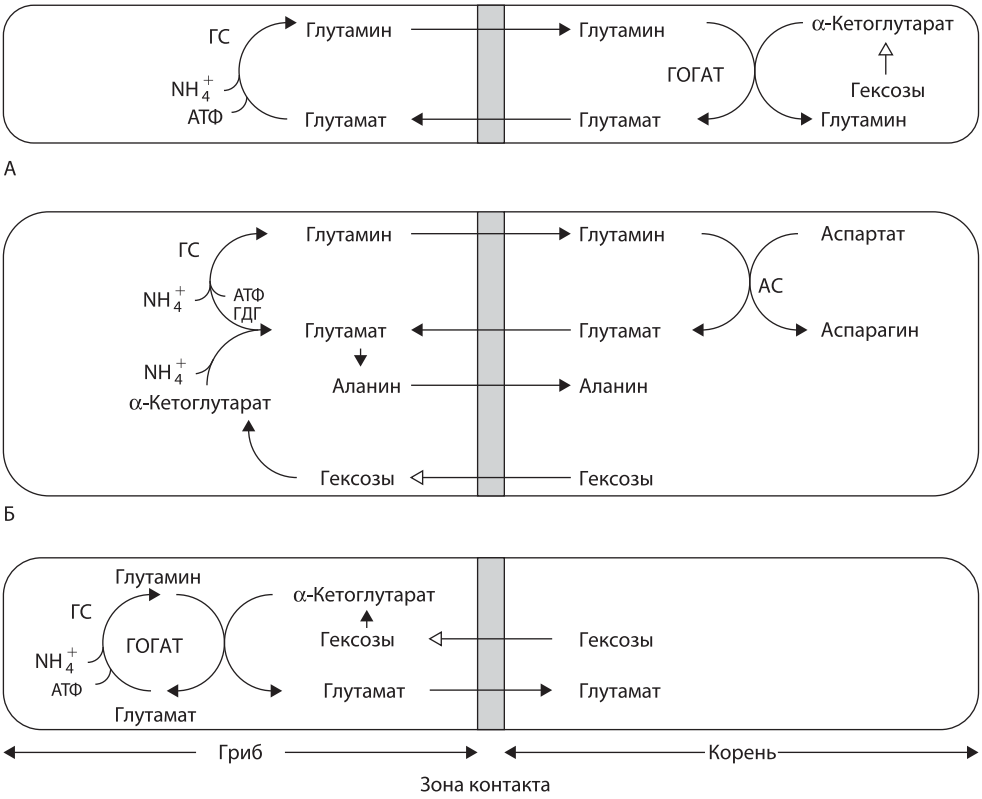


Рисунок 9.5. Предполагаемое расположение ферментов ассимиляции аммония в эктомикоризах разных типов. А — *Fagus*: глутаминсинтетаза (ГС) гриба и глутаматсинтаза (ГОГАТ) корня. Б — *Picea*: НАДФ-глутаматдегидрогеназа (ГДГ) и ГС гриба и аспарагинсинтетаза (АС) корня. В — микоризы *Pisolithus*: ГС и ГОГАТ гриба. С изменениями из Martin, Botton, 1993.

предполагает возможность регуляции через доступность почвенного N (Lorillou et al., 1996).

Еще одним доказательством роли концентрации аммония в регуляции путей ассимиляции этого соединения грибами (в условиях чистой культуры) являются данные, полученные с применением ЯМР спектроскопии для отслеживания метки ^{15}N после внесения $^{15}NH_4$ в культуру *Laccaria bicolor* (Martin et al., 1994). Быстро растущий мицелий переводит $^{15}NH_4$ в форму глутамина по ГС пути, который, возможно, является основным. Однако когда этот путь блокируется МСО, становится заметной активность ГДГ. В фазе стационарного роста при низкой концентрации аммония в среде действуют оба пути. Пути ассимиляции аммония и распределение участвующих в нем ферментов очень важно учитывать при изучении механизмов транспорта N через контактную зону симбионтов. Были выявлены три основных типа встраивания N (Martin, Botton, 1993). У *Fagus* ГС локализована в грибном чехле, а ГОГАТ в корне. У *Picea*, ГДГ и ГС встречаются в свободном мицелии и чехле соответственно, а аспарагинсинтетаза (АС) — в корне. Третий тип представлен в ЭМ *Pisolithus tinctorius*, где действует ГС/ГОГАТ путь (рис. 9.5). Следует заметить,

что приведенная на рисунке 9.5 схема транспорта гексоз от растения к грибу сильно упрощена, потому что (как указано в гл. 8) транспорт органического С, возможно, включает приток сахарозы в апопласт и ее гидролиз до гексоз перед поглощением грибом.

Изучение поглощения и транспорта растворимых веществ лучше всего проводить в системах, где источник питательных веществ (почва) и основные акцепторы (транспирирующие побеги) являются интактными. Усиление поглощения аммония по сравнению с немикоризными растениями было показано при колонизации сеянцев *Tsuga heterophylla*, *Picea sitchensis* и *Pseudotsuga menziesii* видом *Hebeloma crustuliniforme* в интервале значений pH 3–7 (Rygiewitz et al., 1984). У всех трех видов в микоризном состоянии скорость поглощения была достоверно более высокой. Однако абсолютные количества поглощаемых веществ всегда были ниже и у ЭМ и у немикоризных растений при кислой реакции среды. При внесении $^{15}NH_4$ в дистальную часть мицелиальных систем *Rhizopogon roseolus*, *Suillus bovinus*, *Paxillus involutus* и *Pisolithus tinctorius*, растущих в торфяном субстрате от колонизированных корней *Pinus sylvestris* (Finlay et al., 1988). При изучении распространения метки ^{15}N через 72 ч после внесения было показано ее присутствие в глутамат-глутамине, аспартат-аспарагине и аланине при любых сочетаниях гриб-растение, за исключением симбиозов с участием *P. involutus*, в которых метка в аспартат-аспарагине отмечена не была. По прошествии времени 5–50% аминокислот в побегах также несли метку, что указывает на очень быстрое прохождение транспортных процессов. В пределах растения уровень обогащения ^{15}N был одинаков, несмотря на большие различия в объеме пулов различных аминокислот, что указывает на быстрое уравновешивание пулов, достигаемое при действии аминотрансфераз.

М. Шало с соавт. предложили альтернативу мнению о том, что ассимиляция аммония происходит преимущественно по пути ГС-зависимого накопления глутамина (Chalot et al., 2006). Они предполагают (рис. 9.6), что N, поглощенный в форме аммония, может перемещаться и транспортироваться через ЭМ контактную зону как в форме аммония, так и в виде нейтрального аммиака. Доказательством существования такой возможности может служить специфичный для корней высокоаффинный импортер аммония (*PttAMT1.2*), описанный у осины (*Populus tremula*), уровень экспрессии которого значительно повышается, независимо от содержания N, при образовании ЭМ (Selle et al., 2005). Сильная понижающая регуляция генов, кодирующих ГС в грибных клетках, контактирующих с корнем (Wright et al., 2005) и спад активности ферментов, участвующих в ассимиляции N, в процессе ЭМ колонизации (Blaudez et al., 1998) вносят вклад в поддержание необходимой для транспорта концентрации аммония в зоне контакта симбионтов.

Природа возможных механизмов транспорта аммония пока остается в области гипотез (Selle et al., 2005; Chalot et al., 2006). Возможна диффузия аммиака через цитоплазматическую мембрану в межфазный апопласт сети Гартига. Если она происходит, то низкие значения pH апопласта (Nenninger, Heyser, 1998) будут приводить к протонированию аммиака и предотвращению его возврата путем диффузии. Наблюдаемая N-зависимая репрессия гена импортера аммония у грибного партнера (Javelle et al., 2003a) также может ингибировать обратный отток. Отток аммония в белки, как описано у дрожжей (Guaragnella, Butow, 2003), может вносить вклад в экспорт аммония в зоне контакта гриб-растение. Есть данные, что гены, кодирующие белки, гомологичные таковым у дрожжей, экспрессируются у *Amanita muscaria* (Tarkka et al., 2006). Также предполагалось возможное участие неспецифичных канальных белков, таких как аквапорины, и зависимых от разности потенциалов катионных каналов в импорте аммония у ЭМ растений (Chalot et al., 2006).

Возможность того, что аммоний может быть, как минимум, одной из форм азота, переносимых через ЭМ контактную зону, стали рассматривать, когда сходный

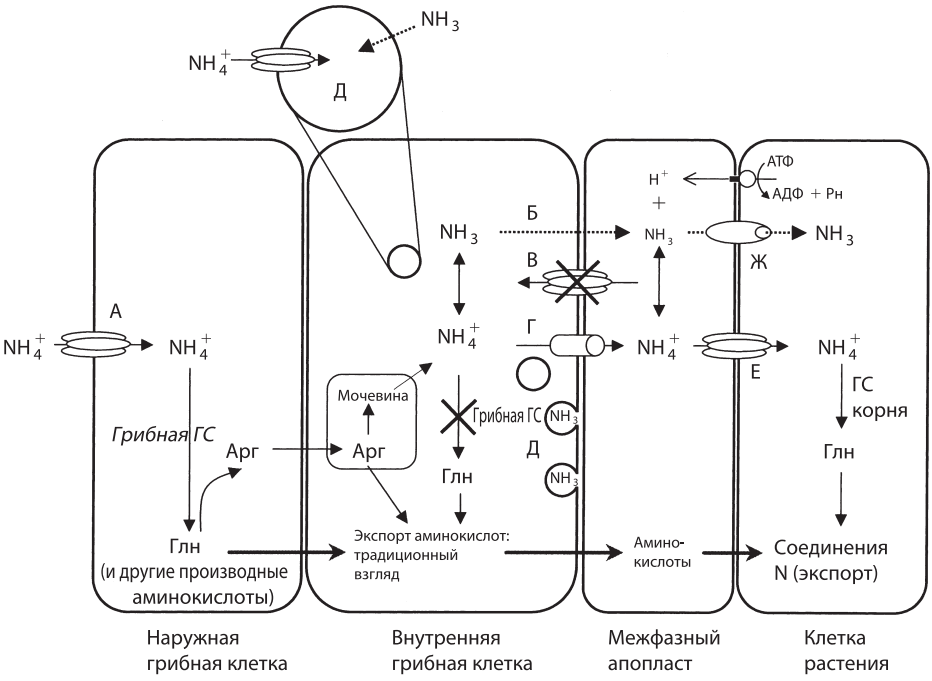


Рисунок 9.6. Возможные механизмы транспорта аммония (А–Ж) через различные микоризные зоны контакта по Chalot et al., 2006. А — после того, как аммоний поглощается из почвы транспортерами аммония на цитоплазматической мембране (Amt) гиф свободного мицелия, специфичные поры в септах обеспечивают симпластную непрерывность и транспорт аммония от клетки к клетке. Передача N от гриба к клеткам корня происходит в межфазном апопласте или, согласно традиционным взглядам (горизонтальные стрелки внизу), в виде органических соединений N, или в форме аммиака. Механизмы транспорта органического азота еще не выявлены, но они могут иметь первостепенную важность при поглощении N грибом в органической форме. Б — при миллимолярных концентрациях аммония в грибных клетках концентрация аммиака в цитозоле может быть значительно выше, чем в апопласте, создавая таким образом градиент для пассивной диффузии аммиака. Эта модель требует поддержания низких концентраций аммиака, возможно, путем его встраивания в кислоты, обеспечивающимся низкими значениями pH, которые, как предполагают, обусловлены в микоризной контактной зоне повышенной активностью H+-АТФазы на граничной растительной мембране. Механизм экскреции, основанный преимущественно на диффузии аммиака, представляется сомнительным, так как этот процесс не подлежит контролю. Целый ряд мембранных белков может выполнять функцию переноса аммиака из грибного цитозоля в межфазный апопласт. В — предполагается, что экспрессия ряда генов Amt будет ниже на цитоплазматической мембране гиф ЭМ чехла сравнительно со свободными гифами. Г — в транскриптомных исследованиях различных ЭМ симбиозов были показаны грибные системы оттока, которые могут высвобождать аммиак на грибной мембране. Д — диффузия аммиака либо активный транспорт аммония через системы Amt в кислотные везикулы будут обеспечивать компартментализацию избытка аммиака. Везикулы с аммиаком могут затем передвигаться с помощью микротрубочек к симбиотической мембране, где будут сливаться с ней и высвобождать аммиак в межфазный апопласт. Е — дальнейший транспорт аммиака из апопласта к цитоплазме растения-хозяина может происходить при участии растительных Amt. Ж — неспецифичные каналы, такие как

аква-аммониапорины или потенциал-зависимые катионные системы могут также принимать участие в транспорте аммиака из межфазного апопласта в цитоплазму растительной клетки. Сокращения: Арг — аргинин; Глн — глутамин; ГС — глутаминсинтетаза. Из Chalot et al., 2006.

путь обнаружили в АМ симбиозах (см. гл. 5). Относительно обоих типов симбиоза нужно отметить, что транспорт аммония или аммиака связан с возможными проблемами регуляции pH и баланса зарядов (Raven, Smith, 1976). Выяснить, как решаются эти проблемы у растений — интересная задача для будущих исследователей.

Исследования влияния ЭМ колонизации на ассимиляцию нитрата и рост растения выявили различия между ситуацией, наблюдаемой в аксеничных и в симбиотических системах. При использовании изолята *Hebeloma crustuliniforme*, для которого в чистой культуре была показана избирательная ассимиляция нитрата, не было отмечено прямого влияния гриба на поглощение или восстановление нитрата микоризными растениями *Pinus pinaster* (Scheromm et al., 1990a). В экспериментах с тем же видом гриба не было обнаружено различий в поглощении нитрата между колонизированными и неколонизированными растениями *Picea sitchensis* и *Tsuga heterophylla* (Rygiewitz et al., 1984). Однако у колонизированных сеянцев *Pseudotsuga* наблюдалось усиление поглощения нитрата. Кислотность была основным фактором, определяющим поглощение нитрата у растений обоих типов, оно усиливалось при снижении значений pH.

Таблица 9.6. Уровни обогащения ^{15}N (% избыточных атомов) в свободных аминокислотах в эктомикоризных системах *Fagus sylvatica* с микобионтом *Paxillus involutus* при внесении меченного ^{15}N аммония или нитрата.

Источник N	Мицелий		Микоризные окончания		Корни		Побеги	
	NO_3^-	NH_4^+	NO_3^-	NH_4^+	NO_3^-	NH_4^+	NO_3^-	NH_4^+
Аминокислота								
Ala	30,8	57,9	25,9	38,6	6,4	13,0	0,0	0,0
Gly	11,5	24,7	4,7	7,9	0,0	1,9	0,0	0,4
Thr	2,5	8,0	1,1	1,6	0,8	2,4	0,0	0,0
Ser	8,6	26,6	3,1	41,3	0,9	6,5	0,1	2,0
Leu	0,0	6,7	0,0	3,7	2,7	7,1	0,0	0,5
Ileu	3,5	5,	0,9	6,6	5,5	7,8	0,0	0,0
Gaba	30,8	61,5	22,0	29,8	5,1	16,2	0,0	1,0
Pip	0,0	0,0	11,9	1,3	0,0	0,3	0,0	0,0
Asx	30,0	53,9	14,0	17,7	4,6	16,	1,4	1,3
Glx	37,7	68,5	25,3	51,1	6,4	21,0	0,0	2,1
Lys	0,9	5,8	1,2	3,5	1,3	3,1	0,0	0,0
Tyr	9,9	10,7	2,6	5,3	1,0	13,2	0,0	9,5
Arg	1,2	0,0	6,8	11,1	0,4	4,1	0,0	0,0
№1	38,1	69,6	28,5	56,1	6,6	23,3	0,0	1,4
Среднее	14,7	28,5	10,6	19,7	2,9	9,8	0,1	2,1

Из Finlay et al., 1989. Приведены средние значения для парных ростовых камер. №. 1 — неидентифицированная аминокислота. Pip — пипеколиновая кислота.

При внесении $^{15}NO_3$ в свободный мицелий *Paxillus involutus* в симбиозе с *Fagus sylvatica* и сравнении характера поглощения, ассимиляции и транспорта метки с системой, в которую вносили $^{15}NH_4$, было показано, что ^{15}N поглощался из обоих источников, встраивался в ряд свободных аминокислот и транспортировался в побеги (Finlay et al., 1989) (табл. 9.6). Однако показатели обогащения для большинства свободных и связанных в белках аминокислот обычно были выше в системах с $^{15}NH_4$, чем с нитратом. Ассимилированный из нитрата N составлял только 62% от полученного из аммония (табл. 9.7). Эти результаты весьма интересны, но следует иметь в виду наличие генетической изменчивости по отношению к усвоению нитрата, особенно, у рас вида *P. involutus* (Laiho, 1970). Существует возможность того, что если корни таких древесных пород как *Fagus* постоянно находятся в условиях обилия нитрата, отбор может благоприятствовать колонизации грибами, избирательно использующими это соединение азота.

Таблица 9.7. Уровни обогащения ^{15}N (% избыточных атомов) во встроенных в белки аминокислотах в эктомикоризных системах *Fagus sylvatica* с микобионтом *Paxillus involutus* при внесении меченного^{15}N аммония или нитрата.

Источник N	Мицелий		Микоризные окончания		Корни		Побеги	
	NO_3^-	NH_4^+	NO_3^-	NH_4^+	NO_3^-	NH_4^+	NO_3^-	NH_4^+
Аминокислота								
Ala	1,1	4,7	3,8	6,8	1,6	4,1	0,3	0,3
Gly	0,2	1,6	3,1	3,4	1,5	3,0	0,2	0,0
Val	1,2	2,8	2,6	3,4	1,5	2,4	0,0	0,2
Ser	1,3	1,9	2,9	2,9	1,6	2,3	0,2	0,0
Leu	1,8	4,	4,4	5,3	1,8	3,2	0,1	0,0
Ileu	1,1	3,6	3,7	4,8	1,7	3,1	0,0	0,0
Pro	0,6	3,3	1,9	2,8	1,2	1,9	0,0	0,0
Asx	2,1	5,4	5,0	6,2	2,0	4,5	0,4	0,0
Phe	1,0	2,8	3,2	3,7	2,3	3,5	0,1	0,0
Glx	3,5	9,3	6,0	8,3	2,2	4,4	0,2	0,0
Lys	1,3	1,14	1,4	1,5	0,7	1,1	0,3	0,0
Tyr	1,0	0,1	0,8	1,5	0,5	1,6	0,5	0,0
Arg	3,2	1,4	2,9	1,3	1,2	3,4	1,3	1,4
Среднее	1,6	2,7	2,8	3,4	1,4	2,6	0,3	0,2

Из Finlay et al., 1989. Приведены средние значения для парных ростовых камер.

Органические источники азота

С тех пор как Э. Мелин и Х. Нильсон (Melin, Nilsson, 1953a) продемонстрировали поглощение и транспорт ^{15}N-глутамата *Suillus granulatus* в ЭМ симбиозе с *Pinus*, проведено на удивление мало исследований утилизации аминокислот интактными ЭМ растениями. При внесении аспарагиновой кислоты и серина в концентрации 0,5 мМ в ЭМ и немикоризные сеянцы *Picea sitchensis* показано, что в то время как оба источника N подавляют рост немикоризных растений, ингибиторный эффект аспарагиновой кислоты не проявлялся в отношении ЭМ сеянцев, а влияние сери-

на было менее выраженным (Alexander, 1983). Понятно, что при высоких концентрациях аминокислот их токсичность может представлять собой проблему для обоих симбионтов. Накопление аланина, аргинина и аспарагиновой кислоты в ЭМ корнях *Pseudotsuga menziesii* и *Tsuga heterophylla* было продемонстрировано в краткосрочных исследованиях поглощения с применением колонизированных и неколонизированных растений (Sangwanit, Bledsoe, 1987). Был проведен сравнительный анализ кинетики поглощения аминокислот глутамина и глицина отделенными ЭМ окончаниями разных типов у сосны, ели и бука (Wallenda, Read 1999). Все они поглощали аминокислоты через высокоаффинные транспортные системы. Кинетические параметры (табл. 9.8) указывают на то, что ЭМ корни имеют сходное или даже более высокое сродство (меньшие значения K_m) к глутамину и глицину, чем к метиламмонию. Это подтверждает возможность внесения данными органическими соединениями существенного вклада в общее поглощение N ЭМ растениями. В дальнейшем были получены данные, демонстрирующие, как и в случае аммония (см. выше), значительные различия кинетических свойств поглощения аминокислот у одного вида растения, определяемые грибным партнером.

Таблица 9.8. Кинетические параметры поглощения аминокислот микоризными корнями, собранными по градиенту север-юг в Европе.

Древесная порода	Глутамин		Глицин	
	V_{max}	K_m	V_{max}	K_m
	Lactarius subdulcis			
Fagus sylvatica	13,3 ± 1,0	81 ± 14	18,1 ± 1,5	105 ± 18
Fagus sylvatica	11,6 ± 1,2	77 ± 18	14,5 ± 1,1	102 ± 16
Fagus sylvatica	12,4 ± 0,9	79 ± 13	22,8 ± 4,2	197 ± 67
	Russula ochroleuca			
Fagus sylvatica	5,3 ± 0,6	79 ± 21	4,4 ± 0,9	127 ± 49
Picea abies	нд	нд	4,8 ± 0,6	135 ± 30
Fagus sylvatica	1,4 ± 0,1	86 ± 20	3,1 ± 0,3	233 ± 35
	Неидентифицированные морфотипы			
Pinus sylvestris	11,6 ± 1,6	130 ± 38	8,3 ± 1,0	50 ± 17
Picea abies	7,7 ± 1,4	36 ± 22	10,7 ± 1,8	42 ± 20
Picea abies	24,7 ± 3,1	104 ± 29	нд	нд
Picea abies	24,0 ± 6,7	111 ± 59	34,1 ± 5,6	113 ± 38
Fagus sylvatica	14,7 ± 1,6	19 ± 8	17,9 ± 1,7	21 ± 7

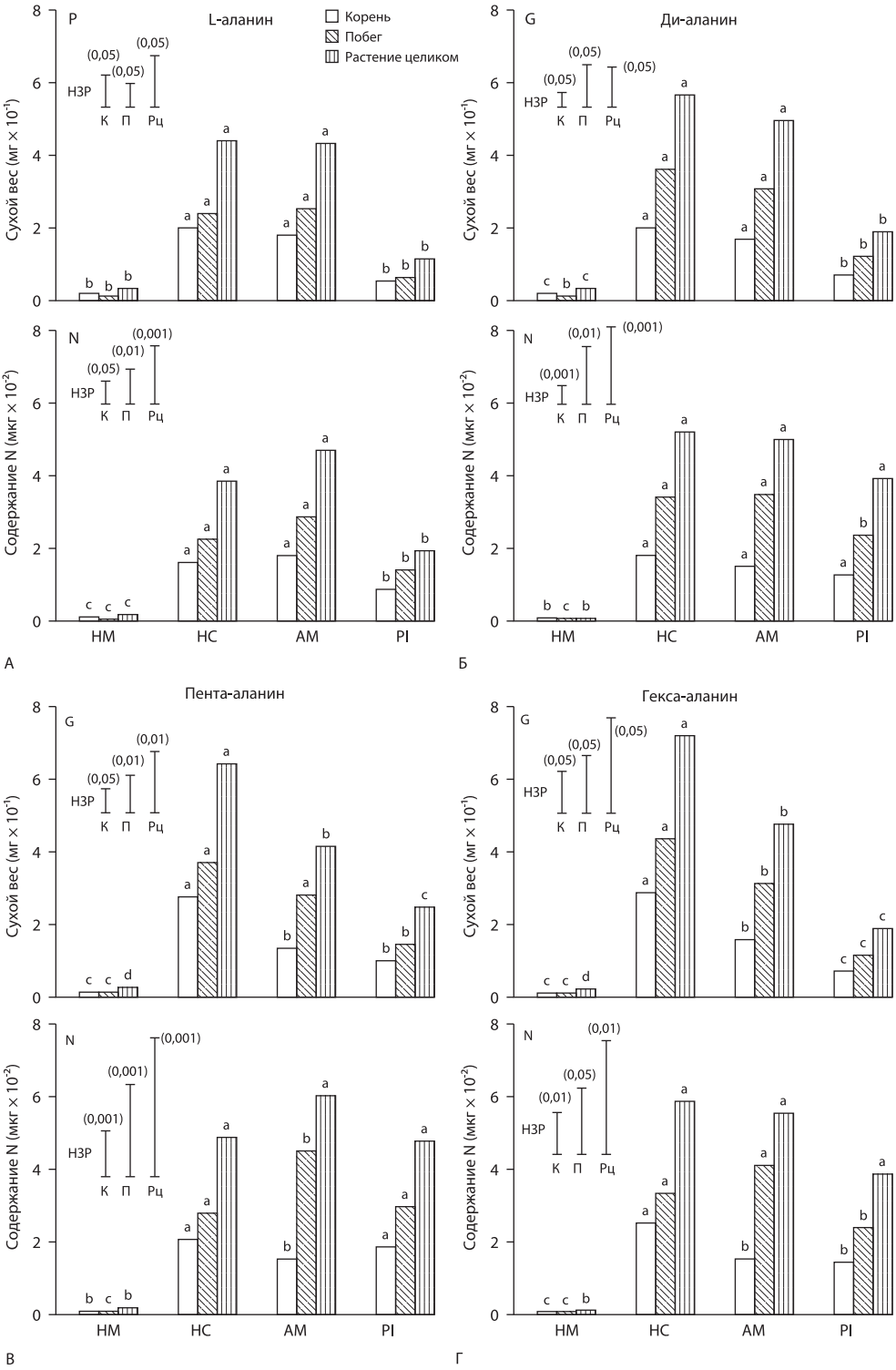
Значения $V_{ma}x$ (мкмоль/г сухой массы/ч) и K_m (ммоль/м^3) (± стандартная ошибка) были рассчитаны по нелинейным кривым на основе экспериментальных данных по уравнению Михаэлиса-Ментен [v = (V_{max} ´ [S])/(K_m + [S])] в интервале концентраций субстрата 0,001–0,25 моль/м^3.; нд. — нет данных. Из Wallenda, Read, 1999.

Было показано, что ЭМ колонизация березы (*Betula pendula*) видом *Paxillus involutus* приводит к серьезным изменениям метаболических путей поступающих извне аминокислот (Blaudez et al., 2001). Поглощение ^{14}C глутамата усиливалось до восьми раз, особенно на ранних стадиях образования ЭМ. Кроме того, было показано, что глутамин является основным акцептором ^{14}C в ЭМ корнях. В немикоризных корнях, напротив, основными носителями метки оказались цитруллин и нерастворимые соединения.

При выращивании березы с аланином или пептидами аланина в качестве единственного источника N в течение более длительного периода времени показаны очень ярко выраженные ответные реакции на ЭМ колонизацию (Abuzinadah, Read, 1989a). При отсутствии колонизации сеянцы *Betula* не были способны усваивать аланин и испытывали дефицит азота. При колонизации *Hebeloma crustuliniforme*, *Amanita muscaria* или *Paxillus involutus*, растения, напротив, активно росли, и содержание N в их тканях соответствовало показателям для здоровых растений. Когда к растениям вносили пептиды аланина с длиной цепочки 2–6 единиц, также не наблюдалось роста в отсутствие колонизации, но у ЭМ растений скорость роста и содержание N значительно возрастали. В симбиотической эффективности трех видов грибов были отмечены некоторые различия. Для *H. crustuliniforme* показан более высокий прирост биомассы и содержание N у растения, чем для *A. muscaria*, вида, который, в свою очередь, оказался более эффективным, чем *P. involutus*. Значения прироста биомассы и содержания N были, в целом, выше при использовании пептидов, чем аминокислот, и у растений, колонизированных двумя более эффективными симбионтами, самые высокие значения получены для наиболее длинноцепочечных пептидов (рис. 9.7).

Растения, колонизированные ЭМ грибами, способными к гидролизу БСА и глиадина, демонстрировали усиление роста и увеличение концентрации N при использовании этих белков в качестве единственного источника N. Так, при внесении БСА биомасса у *Pinus contorta* при колонизации *Rhizopogon roseolus* или *Suillus bovinus* была достоверно более высокой, чем у немикоризных растений, и значения были сходными с таковыми для растений, выращенных на аммонии с аналогичными концентрациями N. При колонизации *Pisolithus tinctorius*, видом, для которого в условиях чистой культуры показана менее высокая протеолитическая активность, доступ к субстрату был ограниченным, и рост растений был не таким мощным (Abuzinadah et al., 1986; рис. 9.8А, Б). «Белковый» гриб *Hebeloma crustuliniforme* давал сходные ответные реакции у *Betula pendula*, *Picea sitchensis* и *Pinus contorta*, при том, что ни один из этих видов не имел доступа к N в белке без колонизации (Abuzinadah, Read, 1986b). ЭМ колонизация также оказывает значительное влияние на усвоение N сеянцами *Eucalyptus* (Turnbull et al., 1995). И *E. grandis* и *E. maculata* использовали аминокислоты и белки в ЭМ состоянии, а у немикоризных сеянцев такая способность отсутствовала. Оба вида при колонизации *Elaphomyces* spp. росли лучше, чем немикоризные растения, при внесении белка, а также аминокислот аргинина, аспарагина и гистидина (рис. 9.9А). Несмотря на то, что оба растения при колонизации *Pisolithus* spp.усваивали белок менее активно (рис. 9.9Б), ЭМ растения были значительно крупнее, чем соответствующие им немикоризные. При моноксеничном выращивании *Betula* с определенными микоризными или сапротрофными грибами, наибольший прирост биомассы и содержание полученного из белка N наблюдались при колонизации *Amanita muscaria* и *Hebeloma crustuliniforme*, а вид *Paxillus involutus* был несколько менее эффективным симбионтом (Abuzinadah, Read, 1988). В присутствии сапротрофа *Ulocladium botrytis* или ЭрМ

Рисунок 9.7. Рост (Р) и содержание азота (N) корней (прозрачные столбцы), побегов (столбцы с диагональной штриховкой) и растений целиком (столбцы с вертикальной штриховкой) *Betula pendula*, колонизированных *Hebeloma crustuliniforme* (НС), *Amanita muscaria* (АМ), *Paxillus involutus* (PI) или неколонизированных (НМ) при выращивании с разными аминокислотами и пептидами в качестве единственного источника N в течение 75 дней. Вертикальные линейки обозначают наименьшее значимое различие (НЗР) для корней (К), побегов (П) и растений целиком (Рц). А — аланин; Б — ди-аланин; В — пента-аланин; Г — гекса-аланин. Из Abuzinadah, Read, 1986b, с разрешения.


А
Б
В
Г
L-аланин
Ди-аланин
Пента-аланин
Гекса-аланин
Корень
Побег
Растение целиком
Сухой вес (мг × 10⁻¹)
Содержание N (мкг × 10⁻²)
НЗР
К
П
Рц
НМ
НС
АМ
РІ

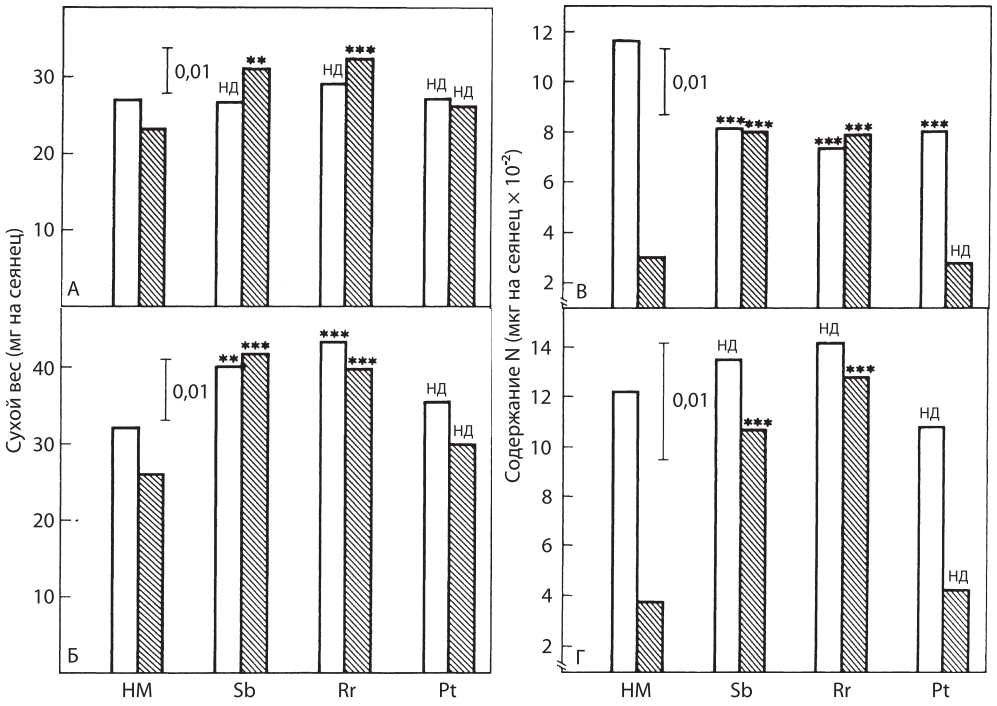


Рисунок 9.8. Сухой вес (А, Б) и содержание азота (В, Г) у *Pinus contorta* при колонизации *Suillus bovinus* (Sb), *Rhizopogon roseolus* (Rr) или *Pisolithus tinctorius* (Pt) и в немикоризном состоянии (НМ) после 40 (А, В) или 80 (Б, Г) дней выращивания с аммонием (прозрачные столбцы) или бычьим сывороточным альбумином (заштрихованные столбцы) в качестве единственного источника N. Вертикальные линейки обозначают наименьшее значимое различие, звездочками показана достоверность различий между микоризными и немикоризными растениями в каждом типе эксперимента. * P<0,05; ** P<0,01; *** P<0,001; НД, различие недостоверно. Из Abuzinadah et al., 1986, с разрешения.

гриба *Rhizoscyphus ericae* никаких ростовых ответов или увеличения результирующего содержания N у *Betula* отмечено не было. Напротив, инокуляция сапротрофом *Oidiodendron griseum*, хотя и давала меньший прирост биомассы и общее содержание N, чем *A. muscaria* или *H. crustuliniforme*, усиливала накопление N в тканях *Betula*, прежде всего, потому, что азот становился доступнее в результате минерализации (Abuzinadah, Read, 1989b).

Эти результаты показывают сложность экстраполяции экспериментальных данных, полученных в моноксеничных условиях. В этом случае немикоризный сапротроф предположительно переводит белок в форму, в которой он может быть поглощен и ассимилирован растением. В многовидовом сообществе гетеротрофов мала вероятность накопления таких продуктов. Очевидно, что объем выгоды, получаемой растением от своего грибного партнера, будет зависеть от факторов, включающих совместимость симбионтов, их способности конкурировать с другими почвенными или ризосферными организмами за ресурсы и, при получении доступа к субстрату, мобилизовать содержащиеся в нем питательные вещества. Действие этих факторов возможно корректно учесть только в природных смешанных систе-

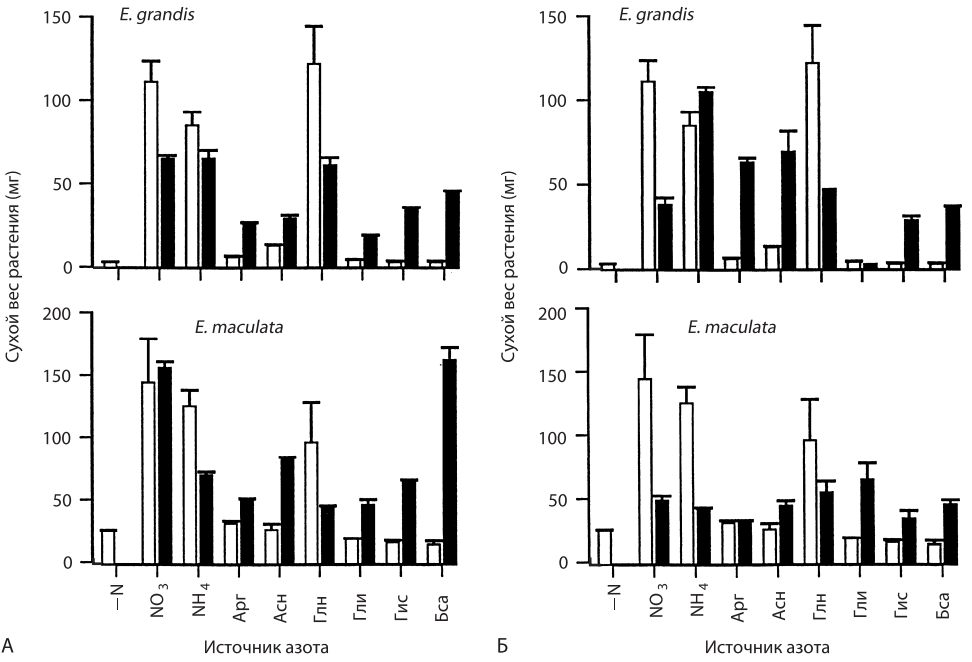


Рисунок 9.9. Рост сеянцев *Eucalyptus grandis* и *E. maculata* в агрикультуре с использованием различных неорганических и органических источников N в немикоризном состоянии (прозрачные столбцы) или при формировании эктомикоризы (столбцы с заливкой) с (А) *Elaphomyces* spp. или (Б) *Pisolithus* spp. Приведены средние значения для выборки из12 растений ± стандартная ошибка среднего. Из Turnbull et al., 1995, с разрешения.

мах, включающих как симбиотрофы, так и сапротрофы, хотя в таких условиях будет очень сложно выяснить механизмы, обусловливающие влияние на поглощение.

Дж. Дайтон с соавт. (Dighton et al., 1987) решали эту проблему путем изучения разложения N-содержащих субстратов, таких как порошок из шкурок животных и хитина, ЭМ растениями *Pinus contorta*, выращенными в присутствии или отсутствии сапротрофного базидиомицета *Mycena galopus*. Когда корни растения были колонизированы ЭМ грибами *Hebeloma crustuliniforme* или *Suillus luteus*, происходило достоверно более высокое разложение этих субстратов, сопряженное с усилением роста растения. В присутствии сапротрофа эффективность ЭМ грибов в отношении получения N сильно снижалась. Однако интерпретация этих результатов осложнена добавлением легкодоступного C в среду, увеличивающим отношение C:N и, возможно, усиливающим до нереального в природе уровня способность сапротрофа конкурировать за N из органических субстратов. Очевидно, что одним из преимуществ, имеющихся у всех микоризных грибов в симбиозе, является отсутствие зависимости от C из органических соединений почвы. Следовательно, отношение C:N (или C:P и т.д.) субстрата будет для них значительно менее важным, чем для сапротрофов.

В конечном счете, оценка роли ЭМ грибов в мобилизации N в природных условиях может быть получена только путем внесения к колонизированным растениям субстратов, которые в норме могут находиться в почве, в присутствии естественных популяций микроорганизмов. Растения *Pinus sylvestris*, колонизированные

Suillus bovinus или *Thelephora terrestris*, выращивали на нестерильном торфе в прозрачных камерах для наблюдений (Bending, Read, 1995a). Свежесобранное органическое вещество из ферментативного горизонта (FH) подстилки соснового леса добавляли в весовых аликвотах на пластиковых поддонах. При получении вносимых органических соединений мицелий ЭМ грибов обычно интенсивно пролиферировал, образуя плотные скопления на субстрате (см. приложение 6.2В, Г). После определенного периода заселения органического вещества в нем измеряли общее содержание N и определяли количество минерализованного N за период инкубации. В контроле не было отмечено значительной потери N, в то время как в органическом веществе, колонизированном обоими видами грибов, наблюдалось существенное (23%) истощение N при колонизации *S. bovinus* и 13% в случае *T. terrestris* (рис. 9.10). Эти значения сходны с полученными Дж.А. Энтри с соавт., измерявшими снижение концентрации N в подстилке *Pseudotsuga menziesii* при колонизации образующим маты мицелием микоризного гриба *Hysterangium setchelli* в природных условиях (Entry et al., 1991b). В течение года авторы наблюдали сокращение исходного содержания N в подстилке на 32%. В ходе эксперимента с внесением опада разных древесных пород и использованием *Paxillus involutus* в качестве микобионта *Betula pendula* было подтверждено, что ЭМ колонизация подстилки приводит к увеличению биомассы растения, но характер усвоения отдельных питательных веществ отличался от показанного для других ЭМ симбионтов (Bending, Read, 1995a; Perez-Moreno, Read, 2000). Только в одном типе опада потеря N превышала 10% и, в то время как общее содержание N в сеянце возрастало при колонизации, концентрация N в тканях достоверно не различалась у ЭМ и немикоризных растений. В этом эксперименте P из опада усваивался ЭМ растениями более эффективно, чем N. Возможно, что различный характер использования питательных веществ в двух экспериментах, по крайней мере, частично, объясняется различием видов грибных симбионтов. Таким образом, помимо общего заключения о том, что ЭМ колонизация способствует мобилизации и поглощению питательных веществ из органических остатков горизонта FH, следует избегать дальнейших обобщений на основании наблюдений взаимоотношений определенной пары гриб-растение.

За экспериментами, в которых растительный опад изучали как потенциальный источник N для ЭМ растений, последовали работы, в которых отдельные компоненты типичной бореальной лесной микоризосферы присутствовали в качестве субстратов. Из них были выбраны пыльца (Perez-Moreno, Read, 2001a), семена (Tibbett, Sanders, 2002), нематоды (Perez-Moreno, Read, 2001b) и коллемболы (Klironomos, Hart, 2001) на основании того, что, по крайней мере, в течение части вегетационного периода, клеточные компоненты этих субстратов представляют собой обильный и быстро включающийся в круговорот источник питательных веществ (см. гл. 15). В случае пыльцы количество N, содержащееся в весовых аликвотах субстрата, сокращалось на 76% при внесении в растения в симбиозе с *Paxillus involutus*, в то время как в немикоризных системах за тот же период времени было мобилизовано только 42% азота, предположительно сапротрофными организмами. При том, что большая доля экспортируемого N была обнаружена в ЭМ растениях, немикоризные получали этот элемент в сравнительно малых количествах. Когда высушенные на воздухе останки нематод в сходных экспериментах являлись единственным дополнительным источником N, 68% передавалось в ЭМ системы и только 37% - в системы без грибного симбионта (Perez-Moreno, Read, 2001b).

До сих пор мало известно о метаболических процессах, участвующих в мобилизации N из органических остатков, встречающихся в природе. Их колонизация микоризным мицелием как в природных условиях (Griffiths, Caldwell, 1992), так и в микрокосмах (Bending, Read, 1995b) приводит к значительному усилению протеолитической активности. Эти наблюдения вместе с данными о протеолитической ак-

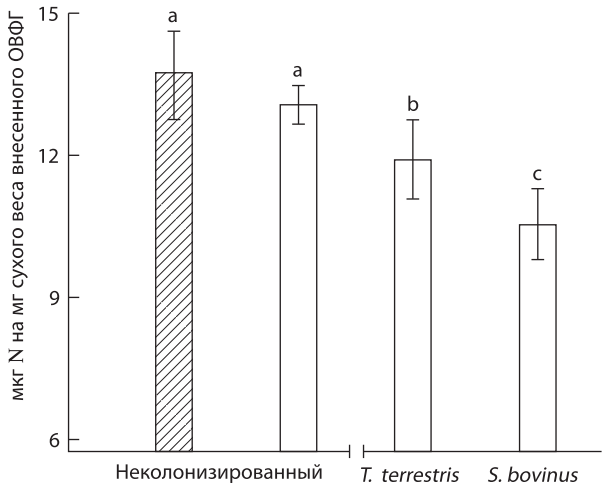


Рисунок 9.10. Усвоение N из опада ферментативного горизонта лесной почвы. Заштрихованный столбец показывает содержание N в начале эксперимента, а прозрачные столбцы — содержание N после инкубации в опаде, неколонизированном или колонизированном мицелием *Thelephora terrestris* или *Suillus bovinus* в симбиозе с *Pinus sylvestris*. ОВФГ — органическое вещество ферментативного горизонта. Варианты, обозначенные разными буквами, достоверно различаются при $P<0{,}01$. Из Bending, Read, 1995a, с разрешения.

тивности грибов в чистой культуре и на колонизированных растениях в асептических условиях предполагают прямое участие ЭМ симбиозов в мобилизации N из природных субстратов, но не предоставляют четких доказательств этого. Альтернативным объяснением может служить предположение, что присутствие ЭМ мицелия в субстрате каким-то образом способствует повышению активности сапротрофов. Очевидно, что ЭМ грибы путем интенсивной колонизации субстрата и образования организованных мицелиальных агрегатов, соединяющих корни с источниками питательных веществ, во многих случаях способны весьма эффективно обнаруживать и транспортировать азотсодержащие соединения.

Заключение

Легкость выращивания многих ЭМ грибов в чистой культуре способствовала исследованию их способности к использованию разных форм N. Большинство видов активно усваивают аммоний, нитрат и некоторые простые органические соединения N, хотя эти способности различаются как на межвидовом, так и на внутривидовом уровнях. Множество новых данных было получено относительно биохимии процессов ассимиляции N, особенно, в отношении ферментов, участвующих в ассимиляции аммония, который у многих ЭМ грибов является самым предпочтительным источником неорганического N. Эти исследования были расширены до изучения ассимиляции N грибами при выращивании в симбиозе с растениями и, что важно, было изучено влияние самого растения на ход событий. Были получены данные о событиях на молекулярном уровне, происходящих при поглощении и транспорте

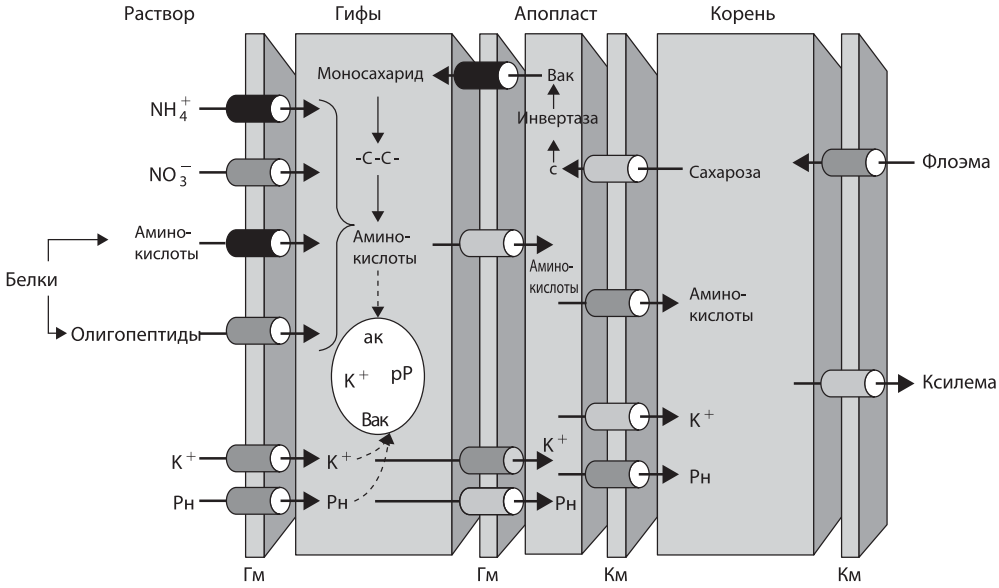


Рисунок 9.11. Основанное на современных представлениях схематическое изображение расположения и функций транспортеров азота в эктомикоризных структурах. Черные цилиндры обозначают структуры, в которых как минимум один член семейства транспортеров был полностью охарактеризован путем функциональной комплементации в дефицитном штамме дрожжей. Темно-серые цилиндры обозначают предполагаемые транспортеры, в которых гены-кандидаты были идентифицированы методом учета маркерных экспрессирующихся последовательностей. Светло-серые цилиндры обозначают гипотетические транспортеры. Также показаны транспортеры, предположительно участвующие в переносе углеводов, карбоксилировании N соединений и транспорте ионов фосфора (Р) и калия (K^+). Гм — грибная цитоплазматическая мембрана; Км — цитоплазматическая мембрана клетки корня; ак — аминокислоты; рР — полифосфат; Вак — вакуоль; с — сахароза; мс — моносахарид; сс — карбоксилирование. С изменениями из Chalot et al., 2002, с разрешения.

нитрата и аммония. Это способствовало лучшему пониманию механизмов и путей поглощения N из минеральных источников в ЭМ симбиозах.

Растет количество данных о том, что большая часть N, содержащегося в поверхностном слое почвы, занятом ЭМ корнями, находится в органической форме, и некоторые ЭМ грибы имеют доступ к этим более сложным источникам N. Акценты сместились, с одной стороны, на характеристику основных источников органического N в лесных почвах и степень их доступности для ЭМ грибов и, с другой, на изучение молекулярных и биохимических событий, происходящих при поглощении, ассимиляции и транспорте органических азотсодержащих соединений.

В молекулярных исследованиях, в основном с использованием *Amanita muscaria* (Nehls et al., 1999) или *Hebeloma* spp. (Javelle et al., 2001; Wipf et al., 2002; Selle et al., 2005; Wright et al., 2005; Benjdia et al., 2006), путем выявления профилей N-зависимой экспрессии у генов азотных импортеров было выяснено, как поглощение N грибом и его транспорт к растению осуществляются в природе (рис. 9.11). Экспрессия этих генов, вероятно, регулируется содержанием N внутри гифы. Оно

будет относительно небольшим при низких внешних концентрациях N в почвенном растворе, но более высоким в накапливающих азот тканях чехла, окружающего корень. При таких обстоятельствах в почвенной части симбиотической системы можно ожидать мощную экспрессию N импортеров. Напротив, их активность в гифах сети Гартига, примыкающих к корню, будет подавляться. Эта репрессия будет ингибировать обратное всасывание соединений N грибом в контактной зоне и способствовать транспорту N в форме аминокислот или аммиака к растению.

Очень важно понимать, что пути и процессы импорта и переноса N через зоны контакта в ЭМ связаны с таковыми в метаболизме углерода и имеют противоположное направление (рис. 9.11 и см. гл. 8). Кроме того, способность улавливать и ассимилировать N будет зависеть от доступности других макроэлементов, фосфора (P) и калия (K). Процессы поглощения и транспорта этих элементов описаны в следующей главе.

10
Поглощение фосфора, катионный обмен, накопление тяжелых металлов и водный обмен у эктомикоризных растений

Введение

Представления о том, что эктомикоризы важны преимущественно при поглощении азота (N), возникли давно и были подробно изложены А.Б. Франком (Frank, 1894). Эта точка зрения оказывала заметное влияние на исследователей в течение всей первой половины двадцатого века. Ее позиции несколько ослабли после выхода работы, продемонстрировавшей, что микоризная колонизация *Pinus strobus* приводит к увеличению концентрации фосфора (P) и калия (K), так же как и N (Hatch, 1937) (табл. 10.1). Автор придерживался мнения, что значение эктомикориз заключается в их способности усиливать поглощение любого питательного вещества, количества которого недостаточны. Эту широкую концепцию эктомикоризных (ЭМ) функций разделяли многие другие исследователи, изучавшие *P. strobus* (Mitchell et al., 1937; Finn, 1942). Тем не менее, некоторые работы того же периода (напр., McComb, 1938; McComb, Griffith, 1946; Stone, 1950) показывают, что поглощение P усиливается в большей степени, чем других элементов питания. Такие данные были опубликованы в течение нескольких лет после первого коммерческого выпуска ^{32}P, что значительно повысило точность прослеживания транспорта P в биологических системах. Доступность изотопа фосфора привела к смещению акцентов на P питание ЭМ растений, и был выполнен ряд работ, посвященных поглощению ^{32}P (Kramer, Wilbur, 1949; Harley, McCready, 1950; Melin, Nilsson, 1950). Они задали направление исследований в области поглощения P и питания эктомикориз, и в результате изучение усвоения других элементов практически прекратилось до 1980-х гг. (см. Harley, Smith, 1983).

Эти пионерные работы заложили основы для гораздо более подробных исследований поглощения P растениями в целом, но более широкая концепция функций ЭМ (Hatch, 1937; Harley, Smith, 1983) больше соответствует совокупности полученных данных. Как отмечено в гл. 15, в природе часто возникают ситуации, когда дефицит P является основным фактором, лимитирующим продуктивность растений, и в таких условиях ЭМ колонизация может играть особенно важную роль в P питании, что требует дальнейших исследований этой проблематики. В более распространенных случаях, когда рост растений ограничивают другие питательные вещества, необходимо особое внимание уделять работе с этими элементами. В

то время как изучение поглощения N было начато давно и ведется весьма активно (см. гл. 9), сравнительно немногие исследователи рассматривают возможную роль ЭМ колонизации в улавливании K, а работы, касающиеся других важных в контексте питания основных катионов, магния (Mg) и кальция (Ca), очень немногочисленны. К счастью, как указано далее в этой главе, в настоящее время наблюдается всплеск интереса к этим элементам. Широкое применение стабильных изотопов калия (^{41}K), магния (^{25}Mg) и кальция (^{44}Ca) для прослеживания движения этих ионов по свободному мицелию и через ЭМ чехол предоставляет возможности для получения новой информации.

Таблица 10.1. Рост и специфичное поглощение азота, фосфора и калия у сеянцев *Pinus strobus*.

Степень микоризной инфекции	Сухой вес (мг)	Вес корня (мг)	Азот		Фосфор		Калий	
			О	С	О	С	О	С
Микоризные (+)	448	180	5,39	0,030	0,849	0,0047	3,47	0,019
	361	170	4,62	0,027	0,729	0,0042	2,57	0,015
Неинфицированные (0)	300	174	3,16	0,013	0,229	0,0013	1,04	0,006
	361	182	2,51	0,018	0,268	0,0015	1,94	0,011
	301	152	2,40	0,016	0,211	0,0014	1,17	0,008

Данные взяты из Hatch, 1937. О — общее поглощенное количество, мг; С — специфичное поглощение мг/мг сухого веса корня.

Поглощение фосфора отдельными микоризными окончаниями и безмикоризными корнями

Большинство доскональных экспериментальных работ, посвященных механизмам поглощения эктомикоризами питательных веществ, в особенности, P, было проведено на отделенных корнях, у которых удалена система свободного почвенного мицелия и нарушен водный режим. Основной причиной использования отделенных микоризных окончаний для исследования определенных аспектов микоризной физиологии служит возможность получения однотипных образцов для изучения процессов поглощения. Целостная корневая система состоит из микоризных окончаний, неколонизированных материнских корней и вторично утолщенных осей в разных пропорциях, поэтому на основании работы с ней почти невозможно делать выводы о механизмах, действующих в ЭМ корнях. Можно без труда получить большое количество сходных корневых окончаний из поверхностных слоев лесной почвы, отмыть и подготовить их к работе. Конечно, отдельные микоризы и немикоризные корни могут также быть получены от растений, асептически выращенных в лаборатории, но получение их в количествах, необходимых для проведения экспериментальной работы, весьма трудоемко.

Критика использования отделенных микориз применима ко всем экспериментам с отдельными корнями и направлена на такие моменты, как прекращение транспирационного тока и возможность углеродного голодания тканей во время проведения опыта. В случае эктомикориз возникает еще одна проблема, а именно, отделение корня от той части, которая, согласно все увеличивающемуся числу данных, является основной поглощающей структурой, то есть, свободного мицелия. Если на время оставить в стороне эти проблемы, можно заключить, что факторы, влияющие

на скорость абсорбции питательных веществ отделенными эктомикоризами, сходны с обусловливающими поглощение растительными структурами, в том числе, корнями. Это значимый вывод из работ группы Дж. Харли с использованием корней *Fagus*, колонизированных, наиболее вероятно, *Lactarius subdulcis* (см. приложение 6.1Б) (напр., Harley, McCready, 1952a, b; Harley et al., 1953, 1954, 1956; Harley, Jennings, 1958; Harley, Wilson, 1959; Carrodus, 1966 и см. Harley, Smith, 1983), который привлек внимание к тому факту, что в природе в большей степени распространено поглощение питательных веществ микоризами, чем неколонизированными корнями. Последующей задачей будет являться выяснение, каким образом физиология абсорбции у эктомикориз отличается от таковой у неколонизированных корней. Работа с отделенными микоризами основывается на представлении о том, что гифы чехла, покрывающие корень, сходны со свободным мицелием, и характеристики поглощения гиф чехла можно экстраполировать на гифы в почве. Как можно видеть из обсуждения изменения ферментативной активности в мицелии и чехле (см. гл. 6), это допущение представляет собой достаточно грубое приближение.

Развитие грибного чехла, а также функционирование свободного мицелия оказывают значительное влияние на продолжительность активного поглощения корневой системой. Наиболее активные неколонизированные кончики корней отличаются от микоризных окончаний по способу роста. Хорошо известно, что скорость поглощения в области кончика растущего корня гораздо выше, чем в зоне рядом с ней. Для ЭМ окончаний это не совсем верно. Было установлено, что поглощение P микоризами *Fagus* не изменяется существенно на расстоянии до 12 см (McCready C.C., неопубликованные данные). Однако скорость абсорбции у ЭМ и немикоризных корней может очень сильно различаться, как показано в таблице 10.2 (Harley, McCready, 1950; Bowen, Theodorou, 1967). Различия были выявлены также методом авторадиографии (Kramer, Wilbur, 1949; Harley, McCready, 1950), показавшей активное накопление P в микоризах и в самых кончиках неколонизированных корней, но более нигде. Г.Д. Боуэн исследовал длинные корни *Pinus radiata* с помощью счетчика Гейгера после внесения ^{32}P и установил, что, в то время как зоной наиболее активного накопления у неколонизированных корней является кончик и апикальные области развивающихся коротких корней, у длинных корней, несущих микоризы, P откладывался в апексе и, особенно, в ЭМ окончаниях (Bowen, 1968).

Таблица 10.2. Относительные скорости поглощения фосфата отделенными микоризными окончаниями и немикоризными корнями.

Источник и растение-хозяин	Полностью инфицированные	Неинфицированные	При слабом развитии чехла
Harley, McCready, 1950 *Fagus sylvatica*	5,18	0,88	4,76
	6,68	0,75	1,20
	1,97	0,42	0,62
	2,72	0,61	-
	1,69	0,72	2,13
Bowen, Theodorou, 1967 *Pinus radiata*	7,5	3,5	-
	15,5		
	15,0	5,5	5,5

Значения для каждого растения-хозяина приведены в виде отношения одного к другому.

С применением ^{32}P было показано, что при помещении отрезанных корней в раствор усиливалось накопление Р в грибном чехле (Harley, McCready, 1952a). При отделении грибного слоя от растительной ткани (см. рис. 8.2B) возможно оценить относительное количество этого элемента, накапливающееся в структурах каждого из симбионтов. Позднее этот метод был применен для более детального анализа, в особенности, количеств С (см. гл. 8), а также Р и других питательных веществ. В случае Р после поглощения при низких концентрациях около 90% абсорбированного вещества было обнаружено в чехле, и впоследствии эти данные подтверждались неоднократно. Было установлено, что отделение микоризного окончания не влияло на накопление (Harley, McCready, 1952a). Авторы сравнили распределение Р между чехлом и тканями корня в микоризах, соединенных со взрослыми деревьями в лесу, и у отделенных микоризных окончаний. Сравнение проводилось для трех случаев: когда деревья находились в безлистном состоянии, когда листья развивались и когда они были сформированы полностью. Во всех случаях наблюдалось значительное накопление Р в чехле (табл. 10.3), но степень абсорбирования Р на поверхности чехла не определялась.

Таблица 10.3. Доля фосфора, накапливающегося в грибном чехле микориз *Fagus* при наличии соединения с корневой системой или в отделенном виде. Эксперименты проведены в Бэгли Вуд с корнями взрослых деревьев в течение трех сезонов. Отдельные микоризные окончания сохранялись в аэрированном растворе фосфата при pH 5,5 и температуре окружающей среды.

Признаки микориз	Присоединенные				Отделенные			
Дата	31 марта	11 мая	23 июля		31 марта	11 мая	23 июля	
мМ $KH_2{}^{32}PO_4$	0,074	0,32	0,16	1,6	0,074	0,32	0,16	1,6
Средняя доля в чехле	88	88	90	87	91	89	85	91
Интервал	74-96	83-94	89-94	86-93	85-96	79-93	83-89	91-93

Данные взяты из Harley, McCready, 1952a.

Эти наблюдения Дж. Харли и К. МакКриди (Harley, McCready, 1952a) продолжались только до июля и не предполагали существенной сезонной изменчивости в скорости поглощения Р из раствора. Впоследствии было показано, что способность к абсорбции Р у эктомикоризных корней *Abies balsamea* (Langlois, Fortin, 1984) и *Picea sitchensis* имеет четкие сезонные различия. Максимальная скорость достигается в конце лета или осенью после завершения роста и удлинения побегов. Кроме того, следует иметь в виду, что характер накопления, описанный Дж. Харли и К. МакКриди (Harley, McCready, 1952a, b), был во всех случаях присущ ЭМ корням с удаленным свободным мицелием. При сравнении кинетики поглощения Р такими корнями с параметрами в интактных микоризных системах (van Tichelen, Colpaert, 2000) было замечено, что скорость поглощения в отделенных корнях существенно ниже (рис. 10.1 и см. ниже). Несмотря на различия экспериментальных условий и физиологии микобионтов, которые могут влиять на подобные эффекты, весьма вероятно, что ликвидация мицелиальной сети должна оказывать заметное влияние на наблюдаемую скорость поглощения Р.

Дж. Харли и К. МакКриди (Harley, McCready, 1952a, b) получили свои данные в результате препарирования корней после периода экспозиции в растворах, содержащих ортофосфат. Следует обратить внимание на два момента. Во-первых, так как находящийся снаружи раствор контактировал с чехлом, накопление могло на-

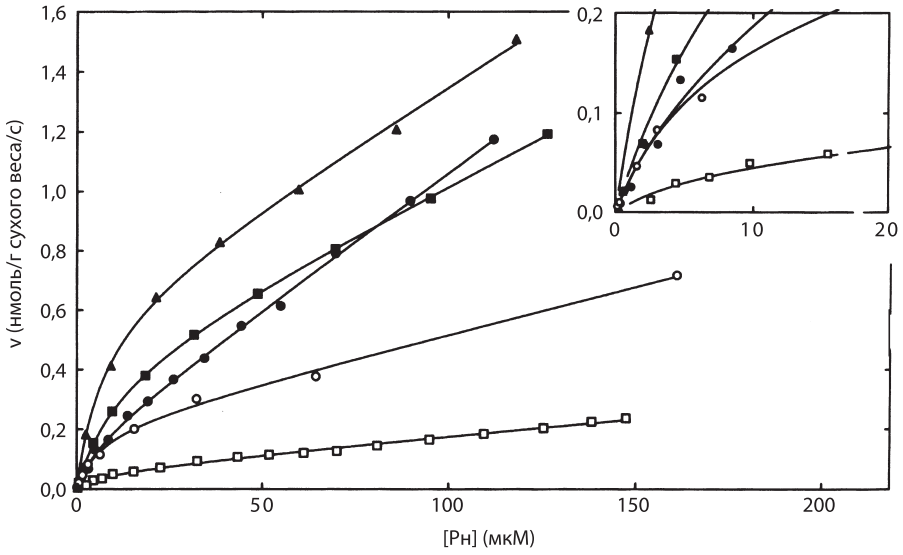


Рисунок 10.1. Кривые Михаэлиса-Ментен, показывающие суммарное поглощение ортофосфата (Рн) у интактных микоризных и немикоризных сеянцев *Pinus sylvestris* в зависимости от концентрации раствора Рн (0,2–160 мкМ). На выноске приведена зависимость при самых низких концентрациях Рн, наиболее характерных для почвенного раствора. Измерения проводили через 9 недель после инокуляции, и данные подставляли в двухфазное уравнение Михаэлиса-Ментен. ▲ — *Paxillus involutus*; ■ — *Suillus bovinus*; ● — *Thelephora terrestris*; □ немикоризные. Для сравнения на графике приведены данные по отдельным микоризным окончаниям *Fagus sylvatica – Lactarius subdulcis* (○) (Harley, McCready, 1952b; с разрешения). Из van Tichelen, Colpaert, 2000.

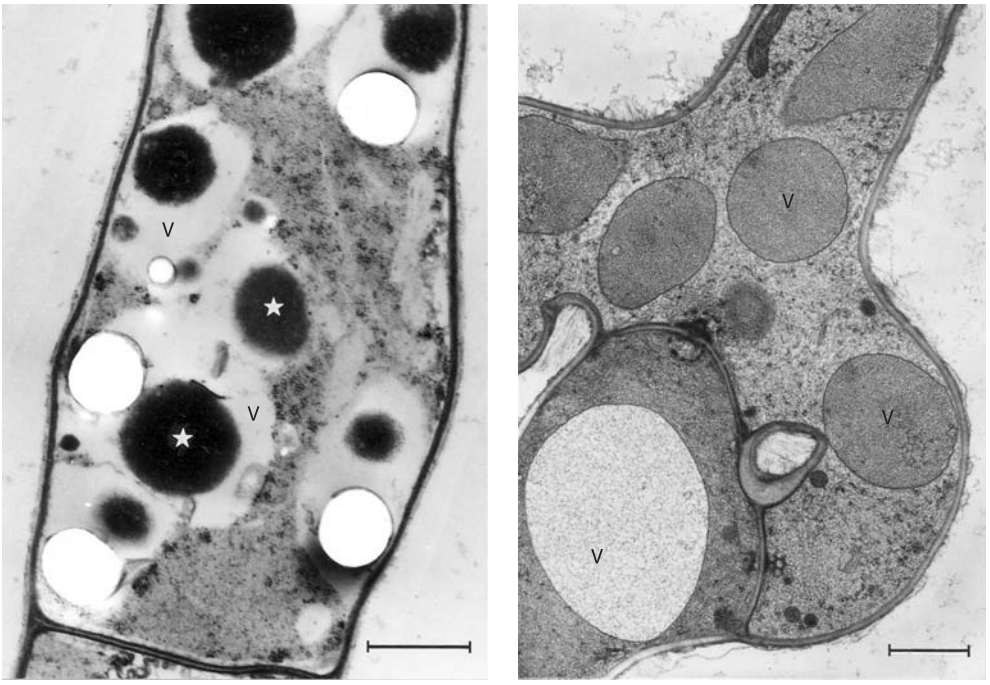
чаться, как только Р абсорбировался на его поверхности или по мере прохождения через грибные структуры к самому корню. Во-вторых, накопление может быть зависимым от видовой принадлежности гриба и его активности. В результате анализа микориз *Pinus halepensis* методом электронного зондирования был сделан вывод, что Р накапливается преимущественно в грибном чехле и области сети Гартига, а в растительных тканях его содержание ниже (Garrec, Gay, 1978). Так как чехол, накапливает ли он питательные вещества постоянно, или действует как временное хранилище, отделяет растительные ткани от почвы, механизм проникновения веществ через его гифы и факторы, влияющие на скорость транспорта, требуют дальнейшего исследования.

Абсорбция ортофосфата отдельными микоризными окончаниями *Fagus* приводит к его немедленному встраиванию в нуклеотиды и сахара (Harley, Loughman, 1963). И в отделенном грибном чехле, и в растительных тканях происходит быстрое связывание вносимого ^{32}Р, но в интактных микоризах сердцевинные ткани получают меньше Р, медленнее встраивают ортофосфат в другие соединения, так что только около 10–20% поглощенного количества стабильно проходит через чехол к корню. Изучая период этерификации Р, попадающего в корень, Дж. Харли и Б. Логман показали, что меченый ортофосфат давал изначально 100%-ную радиоактивность в этих тканях, а затем ее доля сокращалась, по мере того, как метка включалась в нуклеотиды, сахарофосфаты и другие фракции. Так как и чехол и тка-

ни растения демонстрировали один и тот же характер метки растворимых соединений Р при раздельном поглощении из радиоактивных растворов, был сделан вывод о том, что в интактных отдельных микоризных окончаниях Р проходит от чехла к тканям растения именно в форме ортофосфата при поступлении извне низких концентраций этого элемента.

Были изучены возможные пути переноса Р сквозь чехол из внешнего раствора к растению (Harley, McCready, 1952b; Harley et al., 1958). Исследователи показали, что чехол предотвращает поглощение растением Р с максимальной скоростью, за исключением тех случаев, когда в растворе этот элемент присутствует в высокой концентрации. Авторы пришли к заключению, что при низком содержании Р, таком, как бывает в почвах, диффузия с более или менее существенной скоростью сквозь чехол не происходит. Она возможна при концентрациях свыше 1 мМ, но с позиции экологии такие цифры нереальны. Фосфор, проходящий через чехол к растительной ткани, не уравновешивался количеством Р в грибных структурах. Если это так, то, как показано в исследовании Дж. Харли с соавт. (Harley et al., 1954), можно ожидать лаг-фазу при поступлении Р в ткани, и количество Р, проходящего по пути к сердцевине, будет связано с продолжительностью этого этапа. При использовании низких внешних концентраций Р лаг-фаза будет весьма короткой, так что количество фосфора в чехле, нужное для уравновешивания проходящего неорганического Р, будет небольшим — порядка 0,017 мкг Р на l00 мг сухого веса микориз. Это очень мало в сравнении с количествами Р, присутствующего в чехле, и было сделано заключение, что ортофосфат вначале включается в метаболические пулы грибного симпласта в чехле, составляющие малую долю от общего содержания Р, как и в других типах корней (Crossett, Loughman, 1966).

Вслед за поглощением фосфора ЭМ грибы, как в культуре, так и в условиях симбиоза, синтезируют полифосфаты (полиР), запасающиеся в вакуолях, таким образом поддерживая относительно низкие концентрации Рн в цитозоле. В эктомикоризах некоторое количество Р в свободном мицелии и чехле присутствует в виде полиР. Это было отмечено для *Eucalyptus* (Ashford et al., 1975), а впоследствии показано также для эктомикоризы *Pinus radiata*, арбутоидных микориз *Arbutus unedo* и арбускулярных микориз *Liquidambar syraciflua* (Ling Lee et al., 1975). С применением цитохимических методов (см. Ling Lee et al., 1975) Дж. Чилверс и Дж. Харли обнаружили частицы, предполагаемо являющиеся полиР, в чехле микориз *Fagus* (Chilvers, Harley, 1980). Количество и размер частиц возрастали в ходе абсорбции Р, скорость возрастания совпадала со скоростью поглощения, и факторы, оказывающие влияние на оба процесса, были одинаковыми. Было сделано предположение, что полиР сохраняется в виде длинноцепочечных нерастворимых гранул, но эта точка зрения недавно была пересмотрена (см. ниже). Образование полиР в микоризах *Fagus* продолжали изучать (Harley, McCready, 1981), используя метод экстракции и осаждения (см. Aitchison, Butt, 1973). С допущением, что в экстракте почти не происходило гидролиза, и осаждение $BaCl_2$ было полным, был сделан вывод о том, что большое количество Р накапливается в гифах чехла в форме полиР. В более современных работах была подтверждена локализация полиР в грибных вакуолях (Ashford et al., 1994; Ashford, Orlovich, 1994; Gerlitz, Gerlitz, 1997; Bücking, Heyser, 1999), в которых значения pH исходно низкие (Rost et al., 1995). В намного более ранних исследованиях предполагалось, что полиР находится в виде гранул, стабилизированных Ca^{2+} или аргинином (напр., Ashford et al., 1975; Ling-Lee et al., 1975). Выдвигались гипотезы об участии таких полиР гранул как в хранении, так и в транспорте по грибным гифам и эктомикоризному чехлу. В дальнейшем было сделано предположение, что гранулы могут быть артефактом приготовления препаратов, и гипотезы об их функциях следует пересмотреть (Orlovich, Ashford, 1993; см. рис. 10.2).



А Б

Рисунок 10.2. Влияние методов фиксации на сохранение и распределение полифосфата у *Pisolithus tinctorius*. А — гифа, фиксированная глютаровым альдегидом и заключенная в смолу при тройственном окрашивании. Обратите внимание на округлые электроноплотные гранулы (отмечено звездочками) в вакуолях (V). Трансмиссионная электронная микроскопия. Б — окрашенный ультратонкий срез участка гифы около пряжки. Материал подготовлен методом замораживания-замещения. Вакуоли (V) содержат электроноплотный равномерно распределенный материал. Дискретные гранулы отсутствуют. Трансмиссионная электронная микроскопия. Масштаб 1 мкм. Из Orlovich, Ashford, 1993, с разрешения.

Давно известны полученные методом ЯМР спектроскопии данные, что, по крайней мере, часть полиР в грибном чехле ЭМ *Fagus* находится в виде короткоцепочечных молекул (см. Harley, Smith, 1983). Ф. Мартин с соавт., также с применением метода ^{31}P ЯМР, показали наличие крупной растворимой полиР фракции в мицелии *Cenococcum geophilum* и *Hebeloma crustuliniforme* (Martin et al., 1985). ПолиР, представленные в виде цепочек длиной более 70 ортофосфатных остатков или в виде нерастворимого осадка (гранул) не могут быть обнаружены методом ЯМР спектроскопии. Важно, что поведение полиР в мицелии, выявленное с помощью ЯМР, было сходно с показанным путем подсчета гранул, возможно, артефактных, в отделенных микоризных окончаниях (Chilvers, Harley, 1980; Strullu et al., 1981a, b, 1982). Накопление полиР различалось на разных стадиях развития. Оно было низким в быстрорастущем молодом мицелии и линейным на ранних и поздних этапах стационарной фазы, когда Р был достаточно обилен сравнительно с N. При перенесении мицелия на среду с низким содержанием Р, методом ЯМР спектроскопии была показана мобилизация полиР, быстрая у *H. crustuliniforme* и более мед-

ленная у *C. geophilum*. Ф. Мартин с соавт. рассмотрели очевидно противоречивые данные о форме полиР и пришли к выводу, что время спин-решёточной релаксации ядер ^{31}P у обоих видов грибов было связано с объемом пула относительно подвижного полиР, возможно представленного в форме «макромолекулярных агрегатов» (Martin et al., 1985). Авторы не обнаружили никаких свидетельств существова-

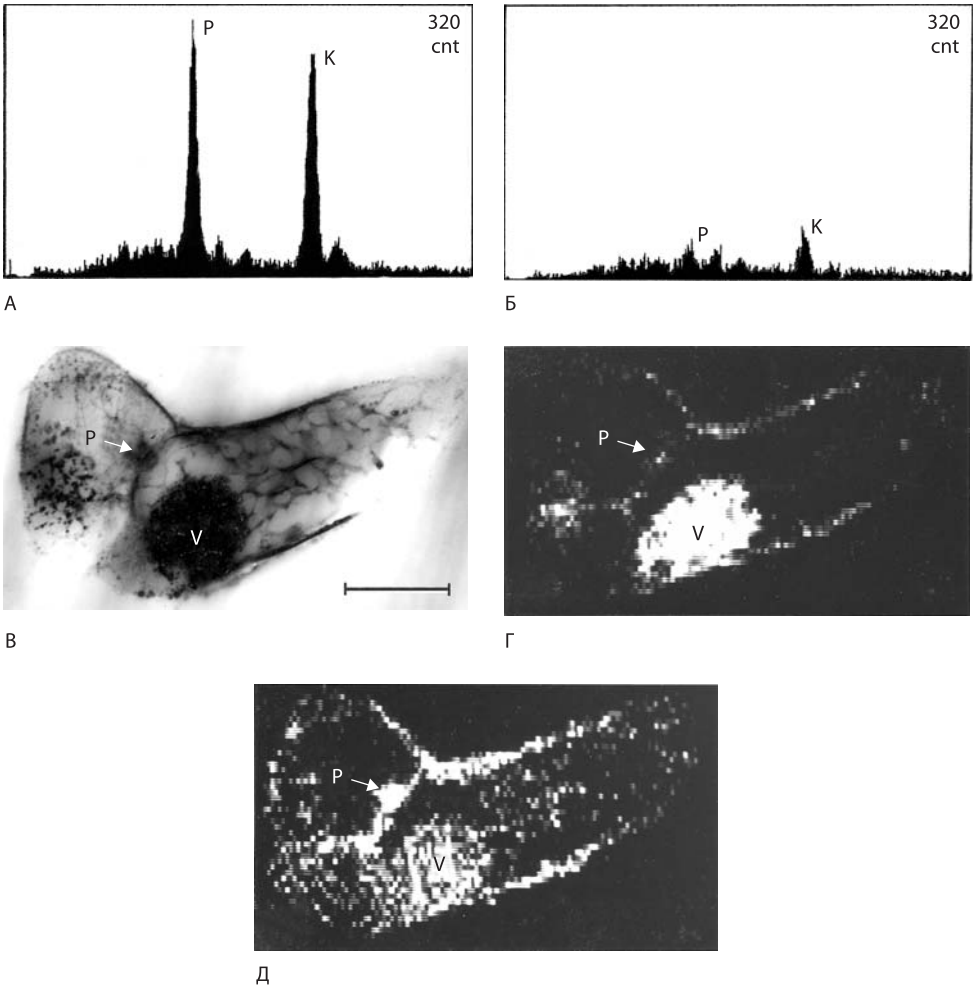


Рисунок 10.3. Распределение Р и К в гифе *Pisolithus tinctorius*. А, Б — рентгенографические спектры анализа неокрашенной гифы, метод замораживания-замещения, сухая резка на расстоянии 1 мкм. Полная вертикальная шкала, измеренная в единицах рентгеновского излучения, приведена в правом верхнем углу каждого спектра. Вакуоль с высокими пиками Р и К (А) и цитоплазма со сравнительно небольшими пиками обоих элементов (Б). В — область гифы около пряжки. Обратите внимание на крупную вакуоль (V). Трансмиссионная электронная микроскопия. Масштаб 2 мкм. Г, Д — рентгенографические карты гифы с рисунка (В) со сходным размещением Р (Г) и К (Д) в вакуоли. Из Orlovich, Ashford, 1993, с разрешения.

ния гранул и сочли «совершенно необходимым» исследование очищенных гранул с помощью ЯМР спектроскопии. Согласно данным, полученным при анализе материала, обработанного методом безводного замораживания-замещения, у *P. tinctorius* полиР равномерно распределены по грибным вакуолям и стабилизированы K^+ (Orlovich, Ashford, 1993) (рис. 10.3). ПолиР из порядка 15 ортофосфатных остатков были экстрагированы из мицелия и идентифицированы методами хроматографии, гель-электрофореза и ^{31}P ЯМР. Также в этой работе было показано образование гранул, стабилизированных Ca^{2+}, при химической фиксации, что объясняет частое обнаружение подобных «структур». Тем не менее, рентген-микроаналитическое исследование тонких срезов тканей, приготовленных без фиксации такого рода, показывает, что в гифах ЭМ грибов присутствуют полиР гранулы (Bücking, Heyser, 1999). Состояние, в котором находятся полиР (жидкое или твердое), до сих пор остается предметом дискуссий. ПолиР локализованы в грибных вакуолях и в тубулярных цистернах ЭМ грибов, характеризующихся кислой средой (Orlovich, Ashford, 1993; Ashford et al., 1994). Следовательно, полиР несут мощный отрицательный заряд, который должен быть уравновешен путем ассоциации с катионами. Положительно заряженные азотные соединения, такие как основная аминокислота аргинин, могут играть роль нейтрализующих агентов, но при микроаналитических исследованиях было получено доказательство непосредственной ассоциации Р в вакуолях с ионами K^+ и Mg^{2+} (Orlovich, Ashford, 1993; Bücking, Heyser, 1999).

Была предложена гипотеза, что грибные вакуоли представляют собой тубулярные системы, вдоль по которым перемещаются полиР (Ashford, 1998) (рис. 10.4). Если этот процесс происходит, то он неизбежно включает котранспорт ионов K и Mg с Р в направлении растения (см. ниже). Компартментализация полиР приведет к тому, что большая часть Р в чехле будет отделена от лабильной фракции Р, которая может перемещаться в ткани растения.

Продолжается экспериментальное изучение механизмов транспорта Р от ЭМ партнера через межфазный апопласт в корень растения. В ходе краткосрочных экспериментов с мечением отдельных корней *Fagus* было показано, что меченый ^{32}P ортофосфат движется от грибного симбионта к растению (Harley, Loughman, 1963). Разность электрохимических потенциалов между сетью Гартига и апопластом способствует пассивному оттоку вещества от грибных структур в апопласт. Однако скорость выхода Р из гиф гриба, в общем, достаточно низка, поэтому механизм, обусловливающий отток, одновременно будет сокращать возвращение фосфора или его обратное всасывание, которое вероятно в зоне контакта. Поглощение растительным симбионтом должно быть активным, так как Р накапливается в клетках против мощного градиента электрохимического потенциала. Недавно были идентифицированы гены транспортеров, возможно, принимающих участие в поглощении Р грибным партнером из почвы, а также растительных генов, предполагаемо участвующих в транспорте в симбиотической контактной зоне. Несколько низко- и высокоаффинных транспортеров было выявлено у *Laccaria bicolor* и *Hebeloma cylindrosporum*, но какую роль они могут играть в поглощении Р из почвы или его перераспределении в грибных структурах, пока неизвестно. Что касается растительного партнера, у *Populus* было идентифицировано 13 гомологов высокоаффинных Рн транспортеров семейства Pht1. Один из них избирательно экспрессируется в ЭМ корневых окончаниях. Предполагается, но пока еще не показано, что экспрессия будет локализована в клетках растения, прилегающих к сети Гартига (Martin, 2007). Существуют предположения, что поступление Р в растение может быть количественно сопряжено с утратой сахаров в межфазном апопласте. Однако до сих пор не было выявлено никаких механизмов, определяющих связь притока Р с оттоком сахаров.

Было показано, что перенос Р через ЭМ зону контакта регулируется концентрацией ортофосфата в цитоплазме сети Гартига и его притоком в межфазный апо-

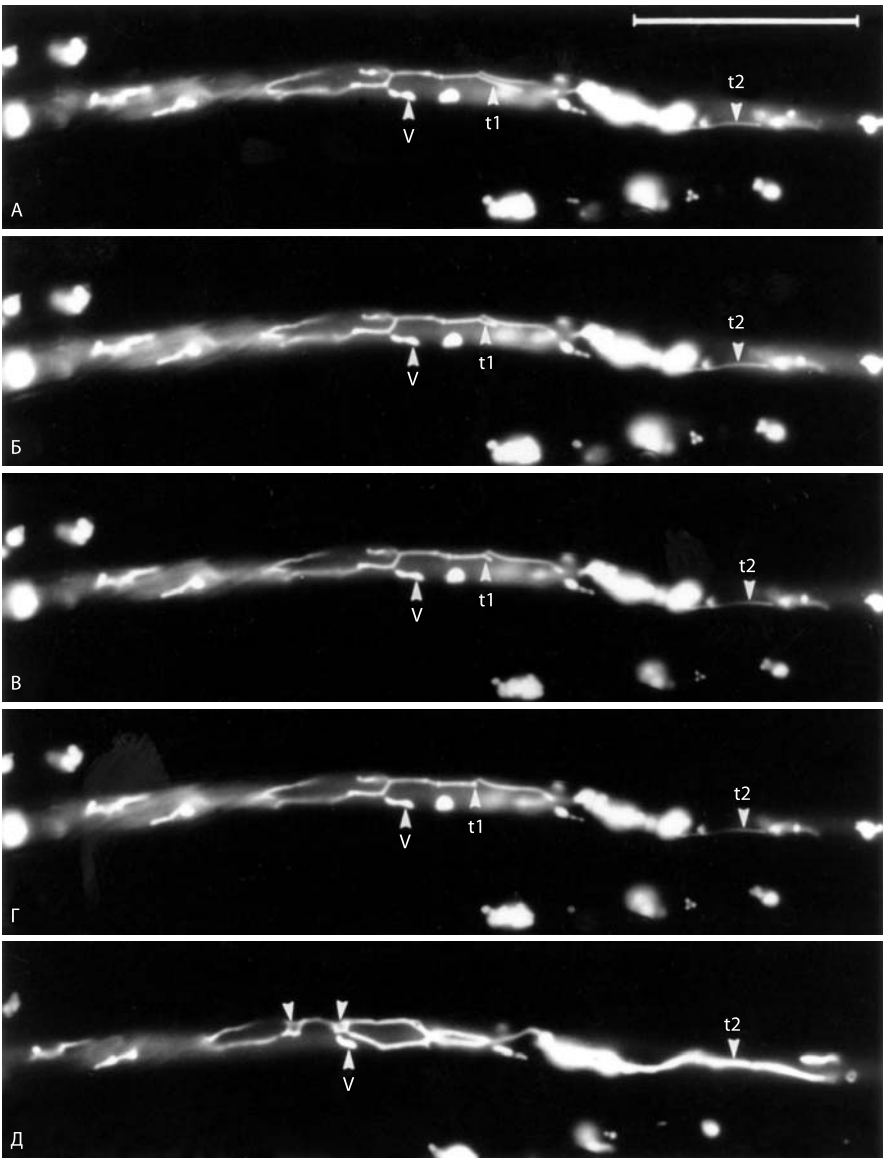


Рисунок 10.4. Покадровая микрофотография А–Д через интервалы в 4 секунды в одном и том же фокальном плане, показывающая движение трубчатого ретикулума в апикальной клетке гифы *Pisolithus tinctorius* после внесения карбоксифлуоресцеина. Вакуоль (v) сохраняет соединение с ретикулумом посредством тонкого флуоресцентного мостика по всей длине. Последовательность снимков показывает постепенное сокращение трубочки (t1), являющейся ответвлением ретикулума. В определенной точке ответвления (отмечено головками стрелок) видна дисковидная кольцевая структура, окружающая нефлуоресцентную область. Трубочка (t2), вначале очень тонкая (А–Г), поглощается (Д) более толстой трубочкой, сливающейся с вакуолью. Из Shepherd et al., 1993b, с разрешения.

пласт (Bücking, Heyser, 2000). Авторы подчеркивают сильную зависимость поступления P в микоризу и транспорта к хозяину от вида грибного симбионта. В микоризах, образованных *Suillus bovinus*, увеличение притока P к корням *Pinus sylvestris* не влияло на транспорт этого элемента через ЭМ контактную зону к растению, но в случае микориз *Pisolithus tinctorius* проявлялся эффект зависимости от поступления вещества. Таким образом, делать обобщения на основании исследования отдельной микоризной системы следует с большой осторожностью.

Поглощение фосфора интактными растениями

После поглощения в отделенных корневых окончаниях происходит медленный транспорт, что согласуется с результатами экспериментов с целыми растениями *Pinus radiata*, в которых сеянцы выращивали в горшках в теплице в течение 17 недель при двух уровнях содержания P (Morrison, 1957a, 1962a). При высокой концентрации P немикоризные растения развивались несколько лучше, чем ЭМ, но при низком содержании этого элемента ситуация была обратной. Затем к обоим типам растений вносили меченый ^{32}P. Во всех экспериментах движение ^{32}P к верхушке побега у немикоризных растений было вначале быстрым, но затем замедлялось и почти сходило на нет, но могло быть ускорено внесением P в почву. Движение P в побеги у ЭМ растений, хотя вначале шло с меньшей скоростью, чем у немикоризных, стабильно продолжалось в течение недель и слабо зависело от внесения меченого P в почву. Со временем накопление ^{32}P в верхушках побегов у ЭМ растений превосходило немикоризный контроль. Если ЭМ и немикоризные растения испытывали голодание по P после периода поглощения ^{32}P, радиоактивная метка продолжала поступать в побеги ЭМ растений в течение трех недель, но очень быстро прекращала движение у немикоризных. Такое поведение может объясняться накоплением P в грибном чехле, а также стабильной скоростью транспорта к растению в период, когда P доступен. При дефиците этого элемента происходит мобилизация запаса в чехле. Исследования такого рода информативны при изучении распределения P в растении, но мало говорят о процессах поглощения свободным мицелием P из почвы.

Было проведено сравнение сеянцев *Pinus radiata* с сильно различающейся степенью развития свободного мицелия (Stone, 1950). Растения с более обширной мицелиальной системой поглощали ^{32}P из почвы быстрее и транспортировали в хвою большую его часть. Сходным образом Э. Мелин и Х. Нильссон показали, что ^{32}P ортофосфат, вносимый в ассоциированный с *P. sylvestris* свободный мицелий, транспортировался по гифам в корень, а затем по растению в хвою (Melin, Nilsson, 1950). Для симбиоза *P. radiata* и *Rhizopogon luteolus* также был подтвержден транспорт P по ЭМ ризоморфам (Skinner, Bowen, 1974a, b). Поглощение P ризоморфами ингибировалось цианидом и зависело от температуры, а дальнейший перенос осуществлялся на расстояния до 12 см. Однако по степени роста гриба в почве были отмечены существенные различия между штаммами и для одного изолята в разных почвенных условиях (Skinner, Bowen, 1974b). Подобные эксперименты обращают внимание на необходимость подробного описания образования свободных гиф и ризоморф при изучении эффективности разных сочетаний штамма гриба и генотипа растения. Различия микобионтов по поглощающей способности были отмечены в исследованиях с использованием сеянцев *Pinus sylvestris*, выращенных в немикоризном состоянии или с часто встречающимися видами ЭМ грибов (Colpaert et al., 1999; van Tichelen, Colpaert, 2000). При внешней концентрации Pн 10 мкМ у ЭМ сеянцев, колонизированных *Thelephora terrestris* и *Paxillus involutus* скорость

поглощения Р превышала таковую у немикоризных растений в 2,5 и 8,7 раз соответственно. Была выявлена положительная корреляция между скоростью поглощения Р и биомассой свободного мицелия каждого из микобионтов, измеренной методом учета эргостерина. При подробном кинетическом анализе также проявилось влияние микобионта, определяющее способность *P. sylvestris* к поглощению Р (van Tichelen, Colpaert, 2000). Суммарное поглощение Р зависело от концентрации и подчинялось правилам кинетики Михаэлиса-Ментен. Тем не менее, был обнаружен процесс двойного поглощения, осуществляющийся при одновременном действии высоко- и низкоаффинных систем. Кривые Михаэлиса-Ментен (см. рис. 10.1) подтверждают значительные различия микобионтов по суммарному поглощению Р и вновь демонстрируют эффективность *P. involutus* в этом отношении. При сравнении скоростей поглощения Р у четырех микобионтов *P. sylvestris* с рассчитанными по данным для отделенных микоризных окончаний *Fagus sylvatica-Lactarius subdulcis* (см. в Harley, McCready, 1952a) (см. рис. 10.1 вставка; табл. 10.4) было установлено, что хотя системы высокого и низкого сродства присутствуют и в отделенных, и в интактных корнях, значения V_{max}, а также общая скорость поглощения Р выше у трех микобионтов сосны.

Таблица 10.4. Кинетические параметры поглощающей системы высокого сродства в интактных микоризных и немикоризных корневых системах *P. sylvestris*.

Время сбора	Инокуляция	Число растений	Число точек	Критерий согласия (среднее) R	Отклонение от модели (критерий серии) P	K_m(мкМ)	V_{max} (нмоль/г/с)
Неделя 7	*Paxillus involutus*	3	13	0,998	НД (0,73)	3,5	0,57
	Suillus bovinus	3	15	0,999	НД (0,52)	7,5	0,49
	Thelephora terrestis	3	20	0,997	НД (0,81)	8,7	0,13
Неделя 9	*Paxillus involutus*	3	9	0,999	НД (0,89)	5,9	0,62
	Suillus bovinus	3	10	0,999	НД (0,64)	10,2	0,52
	Thelephora terrestis	3	16	0,999	НД (0,81)	7,3	0,15
	Немикоризные	4	17	0,995	НД (0,11)	12,1	0,087
	Lactarius subdulcis		12	0,998	НД (0,99)	6,4	0,21

Данные взяты из van Tichelen, Colpaert, 2000. НД, отличие недостоверно. Значения K_m и V_{max} рассчитаны способом итерационной подстановки данных в уравнение (3) (сумма двух членов уравнения Михаэлиса-Ментен); приведены среднее и интервал (в скобках). Дано среднее число точек, использованное для этой процедуры, а также число проанализированных растений. Кинетические параметры, полученные для отделенных микориз *F. sylvatica – L. subdulcis*, исключены из сравнительного анализа (рассчитано для диапазона концентраций Рн 0,2–160 мкМ, из Harley, McCready, 1952b).

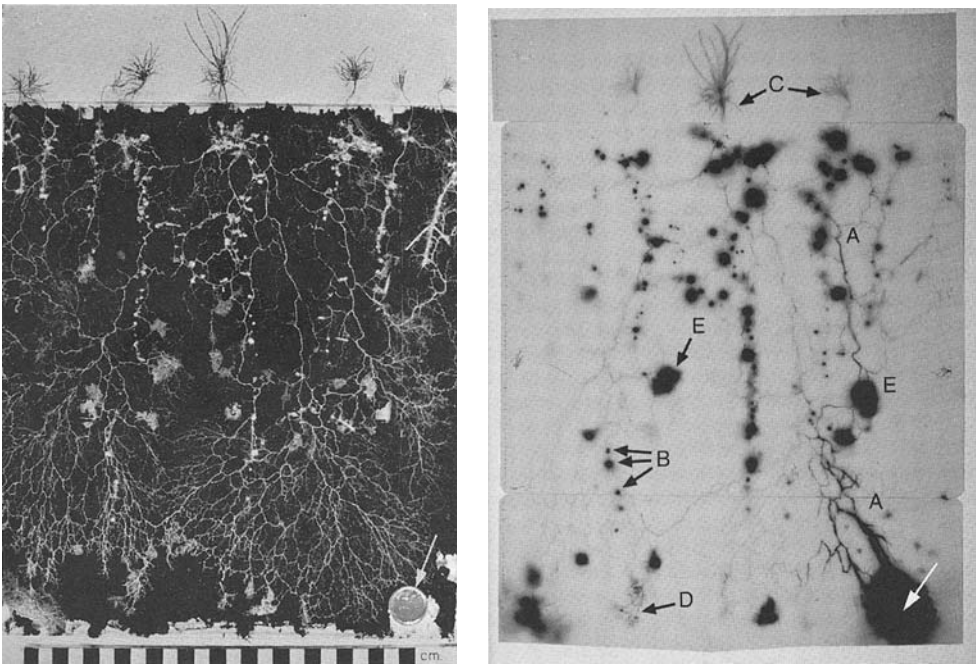
Р. Финлэй и Дж. Рид использовали метод авторадиографии для изучения поглощения ^{32}P свободным мицелием *Suillus bovinus* и транспорта к сеянцам *Pinus* spp., соединенным с этим грибом (Finlay, Read, 1986b) (рис. 10.5A). Колонизированный

грибом сеянец *Pinus sylvestris* был вначале перенесен в камеру для наблюдений, содержащую нестерильный торф, и система поддерживалась в течение периода времени, достаточного для колонизации мицелием *S. bovinus* как торфа, так и ряда неколонизировнных до того сеянцев *Pinus contorta*. ^{32}P-ортофосфат, внесенный на расстоянии около 30 см от корней сеянца, был абсорбирован грибом в течение 72 ч и передвигался сквозь торф и ЭМ корни всех растений, связанных мицелием гриба. ^{32}P накапливался в ЭМ корнях таким же образом, как описано в работах с отделенными корневыми окончаниями (см. выше). У некоторых сеянцев в тот же период времени происходил дальнейший транспорт ^{32}P к побегам. Распределение ^{32}P по свободному мицелию в торфе было нерегулярным. Очевидно, что ризоморфы обеспечивают основной путь транспорта на длинные дистанции, но существует также направленный перенос в сторону активно растущих гиф на краю мицелиального фронта и в участках плотных мицелиальных скоплений (рис. 10.5Б).

Свободноживущая часть эктомикориз чрезвычайно важна для колонизации почвы и может играть роль, сходную с отмеченной у арбускулярно-микоризных (АМ) гиф (см. гл. 5 и 6). Однако и степень развития свободного мицелия, и способность некоторых видов грибов усваивать P из малорастворимых органических источников у ЭМ в целом выше, чем в АМ симбиозах (Marschner, 1995; George, Marschner, 1996; см. гл. 5). Гифы не только распространяются за пределами зоны истощения питательных веществ, образующейся вблизи чехла, они также могут наращиваться и сменяться с малыми затратами C и элементов питания на единицу площади поглощающей поверхности. Кроме того, гифы пролиферируют в микрозонах почвы и используют находящиеся в них ресурсы (см. гл. 6). В лабораторных исследованиях показано, что пролиферация системы мицелия ЭМ грибов может значительно стимулироваться добавлением P в дефицитные по этому элементу субстраты (Wallander, Nylund, 1992; Ekblad et al., 1995; Jentschke et al., 2001a). Эти наблюдения вместе с данными о линейной зависимости между длиной свободного мицелия и фосфатазной активностью (Häussling, Marschner, 1989) (рис. 10.6) указывают на тесную связь поступления P к растению и активности поиска этого элемента в почве.

Были вычислены различия в площади потенциальной поглощающей поверхности между колонизированными *Pisolithus tinctorius* и *Cenococcum geophilum* и немикоризными сеянцами *Pinus taeda* (Rousseau et al., 1994). Также были исследованы различия во влиянии двух видов грибов на поглощение P растениями (табл. 10.5). Вид *P. tinctorius* стимулировал усиление ветвления корневых окончаний и, таким образом, повышал поверхность тонких корней, в отличие от *C. geophilum*. Основной вклад грибных симбионтов в изменение площади поглощения обеспечивается за счет свободных гиф, которые дают примерно 40-кратное увеличение в случае *P. tinctorius* и 25-кратное — в случае *C. geophilum* сравнительно с неколонизированным контролем. С большей длиной и, следовательно, площадью поглощения мицелия связано значительное возрастание получения P обоими видами грибов, что приводит к увеличению биомассы побегов у ЭМ растений, ассоциированных с *P. tinctorius*. Существование корреляции между развитием гиф и поглощением P вполне вероятно, но подобные исследования не представили убедительных доказательств наличия причинно-следственной связи этих двух процессов.

Для выявления подобной зависимости поглощение P нужно измерять как приток (поглощение на единицу длины корня в единицу времени) или специфичную скорость поглощения (поглощение на единицу веса в единицу времени). Давно известно, что влияние вида грибного симбионта может быть очень существенным, и как было отмечено, оценки специфичной скорости поглощения можно вычислить на основе имеющихся литературных данных (Bowen, 1973) (см. табл. 10.1). Полученные результаты свидетельствуют о том, что более высокое поглощение связано с улучшенным использованием почвы в плане усвоения малоподвижного P, даже



А Б

Рисунок 10.5. Транспорт ^{32}P по свободному мицелию *Suillus bovinus*, ассоциированному с сеянцами *Pinus sylvestris* и *P. contorta*. А — камера для наблюдений за корневой системой, в которой видны мицелиальные соединения между растениями и зоной внесения ^{32}P в обедненной среде Мелина-Норкранса (отмечено стрелкой). Б — авторадиография той же камеры, показано распределение ^{32}P через 82 ч. Метка накапливалась в ризоморфах (A), микоризных окончаниях (B) и побегах (C). Также отмечено некоторое накопление в растущем фронте мицелия (D). Из Finlay, Read, 1986b, с разрешения.

при том, что оценки могут быть заниженными из-за отсутствия данных о содержании питательных веществ в семенах.

Два исследования, одно с использованием *Eucalyptus pilularis* с неизвестным микобионтом, возможно, *Cenococcum geophilum* (Heinrich, Patrick, 1986) и второе, в котором изучали симбиоз *Salix viminalis* и *Thelephora terrestris* (Jones et al., 1991), однозначно показали, что ЭМ колонизация интактной корневой системы статистически достоверно повышает приток Р. П.А. Хейнрих и Дж. У. Патрик установили зависимость между количеством эктомикориз *Cenococcum*-типа и сухим весом сеянцев (рис. 10.7А), а также общим содержанием в них Р (рис.10.7Б) (Heinrich, Patrick, 1986). Для обеих зависимостей отмечены значимые корреляции. Для *Salix* приток Р к ЭМ корням был почти в три раза выше, чем к немикоризным. Существенное повышение поступления Р приводило к двукратному усилению роста (Jones et al., 1991). М.Д. Джонс с соавт. сравнивали способность ЭМ и АМ грибов увеличивать поглощение Р у *Eucalyptus coccifera* (Jones et al., 1998). Хотя два ЭМ симбионта, *T. terrestris* и *Laccaria bicolor*, различались по эффективности получения Р для растения, они оба были значительно «выгоднее», чем два вида АМ грибов, *Glomus caledonium* и *G. mosseae*. В целом, приток Р к ЭМ растениям увеличивался в 3,8 раза, а к АМ растениям — в 2,0 и 2,7 раз сравнительно с немикоризным состоянием.

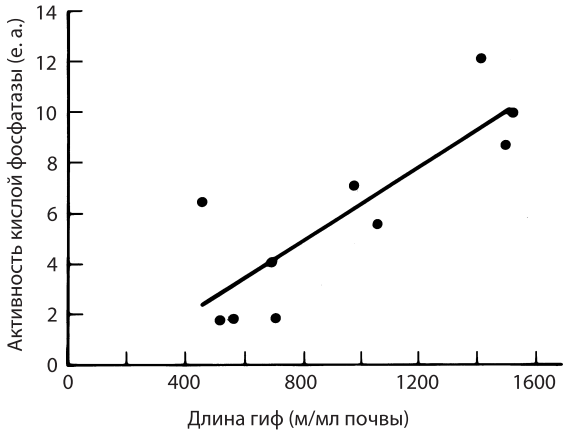


Рисунок 10.6. Зависимость между длиной гиф свободного мицелия и фосфатазной активностью (в единицах активности, е.а.) в гумусном слое, в котором росли микоризные растения *Picea abies*. Из Häussling, Marschner, 1989, с разрешения.

Таблица 10.5. Сравнение признаков растительного и грибного партнеров в симбиозе сеянцев *Pinus taeda* с *Pisolithus tinctorius* (Pt), *Cenococcum geophilum* (Cg) и неколонизированных растений (контроль).

	Pt	Cg	Контроль	P*
Микоризная инфекция (%)	69,5 a	66,5 a	0,0 b	<0,0001
Вес побегов (г)	1,09 a	0,830 b	0,710 b	0,015
Концентрация P в листьях (г)	0,066 a	0,043 b	0,034 b	<0,0001
Содержание P в побегах (мг)	0,669 a	0,340 b	0,238 c	<0,0001
Диаметр тонких корней (мм)	0,477 b	0,573 c	0,299 a	<0,0001
Отношение корень-побег	3,72 b	1,39 a	1,55 a	<0,0001
Площадь тонких корней ($мм^2$)	4,02 b	1,49 a	1,30 a	<0,0001
Площадь ($мм^2$/г почвы)				
Гифы	33,8 a	28,1 a	1,50 b	<0,0001
Ризоморфы	13,6 a	0,00 b	0,00 b	0,0012
Общая	47,4 a	28,1 b	1,50 c	<0,0001
Длина (м/г почвы)				
Гифы	6,42 a	2,80 b	0,28 c	<0,0001
Ризоморфы	0,36 a	0,00 b	0,00 b	0,0011
Общая	6,78 a	2,80 b	0,28 c	<0,0001
Сухой вес (мкг/г почвы)				
Гифы	4,98 a	7,85 b	0,22 c	<0,0001
Ризоморфы	14,3 a	0,00 b	0,00 c	<0,0001
Общая	19,3 a	7,85 b	0,22 c	<0,0001
Диаметр гиф (мкм)	1,60 a	3,18 b	-	<0,0001

Данные взяты из Rousseau et al., 1994. Значения в строке, отмеченные одинаковыми буквами, различаются недостоверно (тест Дункана, $P<0,05$). *P*, значения вероятностей однофакторного дисперсионного анализа ANOVA между различными вариантами инокуляции.

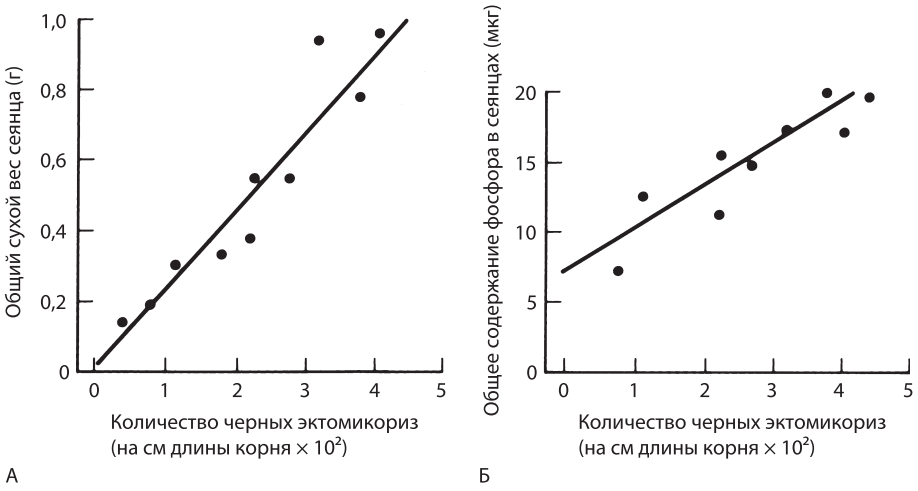


Рисунок 10.7. Рост и поглощение P у *Eucalyptus pilularis* при колонизации *Cenococcum geophilum* через 176 дней после посадки. А — зависимость между количеством черных эктомикориз и общим сухим весом сеянца. Б — зависимость между количеством черных эктомикориз и содержанием фосфата в сеянцах. Из Heinrich, Patrick, 1986, с разрешения.

В некоторых исследованиях показано, что развитие гиф в почве слабо отражает эффективность микоризы. Было выявлено, что те грибы, которые наиболее эффективно увеличивают поглощение P и рост *Eucalyptus globulus*, также наиболее обширно колонизируют корни растения, и поглощение P слабо коррелирует с длиной гиф (Thomson et al., 1994). Так, микобионт, наиболее значительно усиливающий рост растения, *Descocolea maculata*, образовывал наименьшее количество гиф на метр колонизированного корня, тогда как изоляты *Laccaria laccata* развивали больше свободного мицелия на метр корня, чем другие грибы, без особой видимой выгоды для растения. Подобные наблюдения указывают на то, что необходимо быть осторожным при общей оценке роли длины гиф в поглощении P. Очевидно, что следует принимать во внимание и другие важные факторы, такие как жизнеспособность и физиологические характеристики мицелия и совместимость симбионтов, также как и при использовании почвы для поиска новых растений-источников органического C.

Был опубликован целый ряд работ, посвященных ответным реакциям колонизированных и неколонизированных растений на изменение концентрации P. Одна из них, связанная с изучением *Eucalyptus* (Bougher et al., 1990) уже была описана выше (см. гл. 8). У *Pinus taeda* в лесной почве из Пьемонта через десять месяцев была отмечена положительная реакция на инокуляцию четырьмя видами грибов (*Pisolithus tinctorius*, *Rhizopogon roseolus*, *Scleroderma aurantium* и *Thelephora terrestris*) при любых вносимых концентрациях P, сравнительно с неинокулированным контролем (Ford et al., 1985). Ответ на *S. aurantium* был гораздо более выраженным, чем на другие виды грибов. Это было исследование, проводимое в горшках в теплице, предполагающее изоляцию, но сходные ответы на внесение P и инокуляцию можно ожидать и в полевых условиях. Однако авторы указывают, что попытки улучшить рост *P. taeda* в посадках на аналогичных почвах путем внесения P удобрений не привели к успеху, так как, на самом деле, лимитирующим факто-

ром в природных условиях был азот. Ростовые ответы на P были получены в горшечной культуре, так как ограничение по N было снято внесением азотных удобрений в начале эксперимента. Этот опыт предоставил информацию о потенциальной возможности ЭМ колонизации улучшать рост, но также показал, что на значимость роли грибов в природных условиях сильно влияют факторы окружающей среды (см. гл. 17).

Источники и мобилизация фосфора в почве

Некоторые сведения о природе и доступности источников P в почве были приведены в гл. 5. Основная часть P, содержащегося в поверхностных горизонтах лесных почв, где локализовано большинство микориз, представлена в органической форме (Dalal, 1977; Harrison, 1983). Это могут быть фосфомоноэфиры, такие как инозитолгексафосфат, часто называемый «фитат», или фосфодиэфиры, среди которых, вероятно, наиболее важны нуклеиновые кислоты и фосфолипиды. Вследствие этого, необходимо иметь в виду последние данные о том, что «фитат», возможно, неверно был сочтен основным органическим источником P в почве, и значимость исследований чистого фитата подвергается сомнению (Smernik, Dougherty, 2007, см. гл. 5). Некоторые моноэфиры, хотя и являются важными компонентами живых клеток, могут иметь малую продолжительность существования в почве из-за того, что они подвергаются действию эндогенных фосфомоноэстераз при разрушении клеток (см. Beever, Burns, 1980). Другие соединения значительно более устойчивы к разложению, поэтому существенная доля органического P в кислых почвах может присутствовать в форме инозитолпента- и гексафосфатов (Cosgrove, 1967; McKercher, Anderson, 1968). Фосфомоноэстеразы легко изучать, они были обнаружены у большинства ЭМ грибов, но в дальнейшем нужно исследовать и другие (возможно, еще не выявленные) ферменты, которые способны разлагать органические соединения P.

Существуют два свидетельства способности ЭМ грибов к образованию фосфомоноэстеразы, косвенное, полученное при изучении роста с фитатом в качестве единственного источника P, и прямое, на основании измерения фосфатазной активности с использованием паранитрофенилфосфата в качестве субстрата. Рост *Suillus granulatus*, *S. luteus*, *Cenococcum geophilum* и *Rhizopogon roseolus* был отмечен при внесении фитата Ca как единственного источника P, хотя было показано, что фитат Fe, гораздо чаще встречающийся в кислых органических почвах, использовался мало (Theodorou, 1968). Для вида *Rhizopogon luteolus* продемонстрировано образование двух типов фитаз (Theodorou, 1971). Э.М. Бартлетт и Д.Г. Льюис, изучавшие поверхностную фосфатазную активность микориз *Fagus*, также показали наличие более чем одной фосфатазы, так как активность имела двойной pH оптимум, и гидролизу подвергался целый ряд соединений P, включая неорганические пирофосфаты и органические соединения, особенно, инозитолфосфаты (Bartlett, Lewis, 1973). Авторы подчеркнули, что такая фосфатазная активность на поверхности грибного компонента эктомикориз будет приводить к быстрому возврату фосфатов из опада обратно в микоризную систему. Б. Уильямсон и И. Александр также изучали микоризы *Fagus* и обнаружили присутствие кислой фосфатазы в грибных структурах, не ассоциированной в значительной степени с контаминирующей микрофлорой (Williamson, Alexander, 1975). Авторы также разделяют мнение, что имеется более чем один фосфатазный фермент, и их свойства различны. Было показано, что микоризы *Picea sitchensis* имеют поверхностную фосфатазную активность, обратно коррелирующую с концентрацией экстрагируемого неорганическо-

го Р в почве (Alexander, Hardy 1981). В этом отношении очень показательна работа, где установлено, что фосфатазная активность у четырех видов ЭМ грибов была выше при отсутствии растворимого Р в культуральной среде (Calleja et al., 1980). К настоящему времени влияние таких факторов, как pH, температура и концентрация субстрата, на активность кислых фосфатаз выявлено для многих видов ЭМ грибов (Antibus et al., 1986), и показано, что ферментативная активность и утилизация фитата наиболее велики при низкой концентрации неорганического Р (Antibus et al., 1992). Дж. Колперт с соавт. (Colpaert et al., 1997) не обнаружили фитазной активности в мицелии *Thelephora terrestris* и *Suillus bovinus* в симбиозе с *Pinus sylvestris* при выращивании в присутствии фитата. Кроме того, грибы не были способны получать Р из фитата на ЖХВР смоле. Таким образом, не удалось экспериментально подтвердить гипотезу о том, что фитат представляет собой хороший источник Р для ЭМ растений.

Б. Динкелакер и Х. Маршнер показали более высокую фосфомоноэстеразную активность у ЭМ корневых окончаний ели и ризоморф *Thelephora terrestris*, чем у немикоризных корней (Dinkelaker, Marschner, 1992). Локализация ферментативной активности на поверхности грибных гиф требует близкого соседства с подходящим источником Р. Избирательная пролиферация свободного мицелия в богатых Р субстратах, будь то гифальные маты (Griffiths, Caldwell, 1992) или сетчатые мешочки (Hagerberg et al., 2003) в полевых условиях, или скопления в подстилке в микрокосмах (Bending, Read, 1995a; Perez-Moreno, Read, 2000) (см. рис. 6.27А, Б), обеспечивает необходимую близость.

На данный момент фосфодиэстеразная активность, возможно более значимая, изучена очень слабо. Р.П. Гриффитс и Б.А. Калдуэлл обнаружили, что образующие маты эктомикоризные грибы *Gautieria monticola* и *Hysterangium gardneri*, а также неидентифицированный вид рода *Chondrogaster* обладают способностью к гидролизу основного фосфодиэфира РНК (Griffiths, Caldwell, 1992), а Дж.Р. Лик (неопубликованные данные) установил, что *Suillus bovinus*, один из видов, образующих плотные мицелиальные скопления (см. рис. 6.27А, Б), может усваивать ДНК как единственный источник Р. Конечно, есть вероятность, что и фосфомоно- и диэфиры, содержащиеся в органических остатках, могут, также как и азотные соединения, входить в состав более сложных ароматических и алифатических макромолекул. Существуют данные о том, что некоторые ЭМ грибы способны образовывать ферменты, гидролизующие эти «защищенные» субстраты (см. гл. 15 и 16).

Интерес к способности ЭМ грибов получать доступ к минеральным источникам Р усилился после выявления того, что в некоторых типах почв, особенно подзолистых, микобионт может пролиферировать в горизонтах, залегающих ниже поверхностных органических слоев (см. гл. 6). В ранних исследованиях было показано, что некоторые ЭМ грибы способны переводить Р в раствор из каменного фосфата (Stone, 1950; Bowen, Theodorou, 1967). По поводу механизмов, обусловливающих этот процесс, ведутся дебаты, может быть важным локальное подкисление. По результатам экспериментов *in vitro* был сделан вывод, что одним только подкислением невозможно объяснить высвобождение Р из фосфатов кальция и железа (Lapeyrie et al., 1991). При выращивании грибов с аммонием или нитратом в качестве источников N, существенное растворение Р происходит только в кислой среде, возникающей при ассимиляции аммония. Более современные исследования того же рода подтвердили важность подкисления в высвобождении Р из минеральных источников (Mahmood et al., 2002), и А. Рослинг с соавт. разработали методы количественного учета закисления субстрата в таких системах (Rosling et al., 2004b).

Исследования почв, в которых развиваются ЭМ грибные маты, предполагают сочетание участия подкисления и образования органических анионов в процессах высвобождения Р из сложных соединений (Cromack et al., 1979; Griffiths et al.,

1994). Хотя в почве в области мата значения pH достоверно ниже, там также выше содержание растворенного органического углерода и оксалата кальция. С помощью сканирующей электронной микроскопии минералов в почве матов показано интенсивное химическое выветривание, которое отнесли на счет выделения оксалата в непосредственной близости от ЭМ гиф (Cromack et al., 1979). Хотя прямого доказательства участия ЭМ грибов в этих процессах получено не было, возникло понятие «эктомикоризного выветривания» («rock eating») и недавно появилось значительное количество литературы по данному вопросу (van Breemen et al., 2000a, b; Landeweert et al., 2001; Hoffland et al., 2004; Wallander, 2006). Существует до сих пор недоказанное предположение (см. гл. 15), что ЭМ грибы образуют туннели сквозь минеральные частицы в подзолистых почвах (Smits, 2006). Несмотря на трудность разграничения мобилизации P в результате деятельности ЭМ грибов и прочей микрофлоры в условиях природных почв, сделаны успехи в оценке их роли при работе с определенными P минералами в *in vitro*, горшечных и полевых опытах.

Некоторые ЭМ грибы способны высвобождать P из потенциально важного неорганического почвенного источника P, апатита. Х. Валлландер выращивал сеянцы сосны с ЭМ грибами и, в их отсутствие, в экспериментальных системах в торфе, к которому в свободный от корней отсек добавляли апатит как единственный дополнительный источник P (Wallander, 2000). Два вида грибов, *Suillus variegatus* и неидентифицированный вид, оказывали значимое положительное влияние на растворение апатита, и сеянцы, колонизированные этими грибами, образовывали достоверно большую биомассу, чем немикоризные или слабо колонизированные другим изолятом *S. variegatus* (рис. 10.8). С помощью «бюджетного метода» было показано, что после 210 дней экспозиции с грибом около 1% апатита было разрушено. Существовала положительная зависимость между количеством оксалата, присутствующим в свободном от корней отсеке, и концентрацией P в почвенном растворе, что указывает на возможность мобилизации P грибами посредством выделения органической кислоты.

Отмечены существенные различия между ЭМ грибами по способности выделять оксалат (Ahonen-Jonnarth et al., 2000; Casarin et al., 2004). Такие виды как *Rhizopogon roseolus* и представители рода *Suillus*, обладавшие самой высокой скоростью выделения этого вещества, были наиболее эффективны в отношении высвобождения P из нерастворимых неорганических источников (Wallander, 2000; Casarin et al., 2004). Показано, что образование оксалата и другого низкомолекулярного органического аниона, малоната, и у ЭМ и у немикоризных сеянцев сосны достоверно повышалось в условиях дефицита P (Van Schöll et al., 2006a). Сеянцы, колонизированные *Paxillus involutus*, образовывали больше оксалата, чем немикоризные, хотя последние продуцировали большее общее количество органических анионов.

С использованием метода сетчатых мешочков (см. гл. 6) было подтверждено, что рост ЭМ грибов в полевых условиях может быть простимулирован добавлением апатита, но только в случае, если почва имеет исходно низкое содержание P (Hagerberg et al., 2003). При малой концентрации P количество ЭМ мицелия в содержащих апатит мешочках было на 50% выше, чем в контроле, и наблюдалось трехкратное увеличение количества ЭМ окончаний непосредственно за пределами мешочка. Такие эффекты могут быть обусловлены или повышением доли органического C, направляемого к каждому из видов грибов, изначально присутствующих в почве, или изменением грибной биоты, вызванным большей доступностью P, в направлении видов, образующих более обширный свободный мицелий. Пролиферация корневых окончаний вблизи мешочков предполагает, что дополнительный приток P оказывает сильное влияние на распределение C автотрофом. Можно предполагать, что значительная доля дополнительного C, выделяемого в эти обогащенные источниками питательных веществ области, будет использована для образования оксалата.

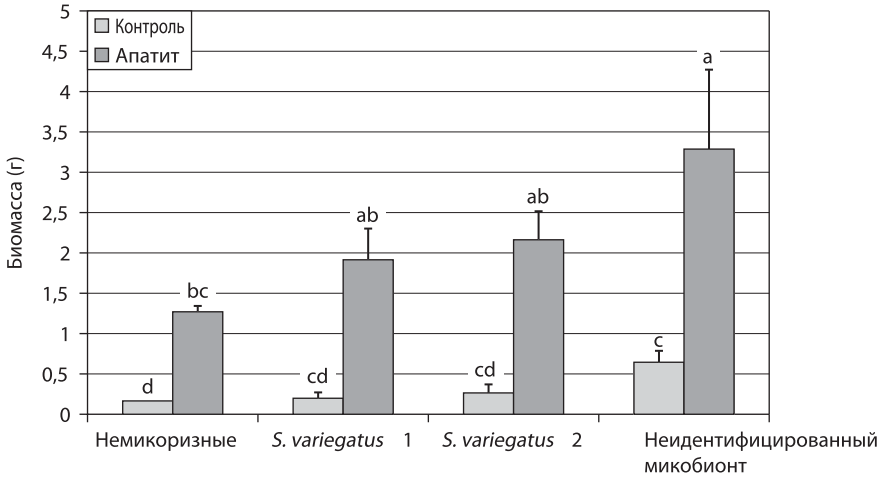


Рисунок 10.8. Биомасса немикоризных сеянцев и сеянцев, колонизированных одним из трех различных видов ЭМ грибов, выращенных с добавлением апатита в качестве источника P или без него. Разброс — стандартная ошибка. Разные буквы обозначают статистически достоверные различия значений при двухфакторном дисперсионном анализе (ANOVA) и тесте наименьшего значимого различия для средних (P>0,5). Значения были логарифмированы для соответствия переменной среднего веса сеянцев, выращенных с добавлением апатита и без. Уровень значимости для влияния ЭМ колонизации P = 0,001, а для эффекта внесения минерала P = 0,000. Зависимость между ЭМ колонизацией и внесением минерала была недостоверна. Из Wallander, 2000.

Индуцируемое ЭМ растворение апатита на 40% выше в почвах с дефицитом P, чем в тех, где его количество находится в пределах нормы.

Мобилизация, поглощение и транспорт калия

Высокие внутриклеточные концентрации K необходимы для поддержания активности ферментов, участвующих во вторичном метаболизме, процессах биосинтеза и мембранного транспорта. K^+ также вносит вклад в создание осмотического потенциала клетки. Было показано, что ЭМ колонизация может повышать поглощение K растениями (Hatch, 1937) (см. табл. 10.1). Впоследствии Дж. Харли (Harley, 1978) подчеркнул, что чехол в эктомикоризах служит важным запасающим органом для многих питательных веществ, поступающих из почвы, в том числе, K. Около 67% K^+, абсорбированного отделенными ЭМ окончаниями *Fagus sylvatica* оставалось в грибном чехле (Edmonds, Harley, неопубликованные данные; см. Harley, Smith, 1983). Несмотря на имеющиеся данные, интерес к этому элементу до недавних пор был весьма слабым. Высокий коэффициент диффузии K^+ в почве должен делать этот ион более доступным для поглощения, чем P, и маловероятно, что рост ЭМ растений может быть лимитирован этим элементом (Tamm, 1985). Однако сочетание изъятия из круговорота большого количества биомассы и отток, происходящий в результате антропогенного подкисления почвы, может привести к тому, что K, возможно, станет в некоторых условиях лимитирующим фактором (Barkman, Sverdrup, 1996; Uebel, Heinsdorf, 1997; Jonsson et al., 2003). При планомерно снижа-

ющемся содержании K в листве можно ожидать сокращение количества этого элемента в органическом веществе почвы. По этой причине возродился интерес к процессам, в ходе которых K высвобождается из минералов почвы, и к определению степени участия ЭМ грибов в его мобилизации и транспорте к растению.

Среди наиболее значимых K-содержащих минералов в почве можно отметить слюды флогопит, биотит и вермикулит и силикатный минерал мусковит. Было показано, что в чистой культуре вид *Paxillus involutus* может высвобождать K из флогопита и таким образом превращать его в вермикулит (Paris et al., 1996). Этот процесс, по крайней мере, частично, обеспечивается выделением оксалата. В горшечных экспериментах по сравнению способности бука в немикоризном состоянии или колонизированного *Laccaria laccata* получать K из флогопита, было установлено, что высвобождение K увеличивается в ЭМ состоянии (Leyval, Berthelin, 1989), и показано, что совместная инокуляция с *Agrobacterium* еще более усиливала этот эффект, вероятно, путем подкисления субстрата (Leyval, Berthelin, 1991). Сеянцы *Pinus sylvestris* выращивали в горшечном эксперименте в безмикоризном состоянии или с одним из трех грибных симбионтов (*P. involutus*, *Piloderma croceum* и *Suillus bovinus*) при внесении мусковита в качестве единственного источника K (van Schöll et al., 2006b). И минеральные и неминеральные пулы K учитывали через 27 недель. Сеянцы, колонизированные *P. involutus*, изымали из мусковита почти вдвое больше K, чем безмикоризные растения или особи с другими ЭМ симбионтами (рис. 10.9). Мобилизация K приводила к повышению содержания этого элемента в корнях растений и ассоциированном с ними мицелии. Наиболее высокая способность к высвобождению K из мусковита у *P. involutus* может быть отнесена на счет обильного выделения оксалата. В последующем эксперименте было показано, что в условиях дефицита K только сеянцы, образующие ЭМ с этим видом гриба, дают ответную реакцию в виде повышенного образования оксалата (van Schöll et al., 2006b), что согласуется с данными других исследователей (Paris et al., 1996).

В результате работ в полевых условиях в почвах, активно колонизированных ЭМ грибами, выявлено, что K-содержащие минералы в большей степени подвергаются выветриванию в присутствии мицелия (Arocena et al., 1999; Arocena, Glowa, 2000). Эти процессы ведут к повышению концентрации K в почвенном растворе. Один из обнаруженных видов грибов, *Piloderma croceum*, для которого показано образование больших количеств оксалата (Arocena et al., 2001), в лабораторных условиях был способен высвобождать K из целого ряда минералов (Glowa et al., 2003).

Мнения относительно ответных реакций ЭМ мицелия на локальное добавление K-содержащих минералов достаточно противоречивы. В полевых исследованиях внесение сетчатых мешочков с биотитом не стимулировало пролиферацию мицелия вблизи минерала (Hagerberg et al., 2003). Эти результаты разительно отличаются от полученных в ситуации, когда был добавлен K-содержащий минерал апатит. Напротив, в микрокосмах с торфом, в которые вносили чистый полевой шпат или кварц в виде локальных пятен, наблюдалась избирательная пролиферация мицелия *Hebeloma crustuliniforme* и *Piloderma fallax* на полевом шпате (Rosling et al., 2004b). Различия между результатами двух исследований могут быть связаны с содержанием K в окружающем субстрате, весьма вероятно, что K был более доступен в лесной почве, чем в торфе микрокосма. Второе возможное объяснение может заключаться в различиях ответов растений на дефицит в почве P и K. У немикоризных сеянцев березы дефицит P приводит к увеличению доли продуктов фотосинтеза, направляемых на образование корней, в то время как недостаток K (и Mg) оказывал противоположное действие (Ericsson, 1995), возможно, потому, что, в последнем случае существует более тесная связь между дефицитностью элемента и способностью к фиксации C. Подобные различные эффекты дефицита двух элементов наблюдались в лабораторных исследованиях ЭМ сеянцев сосны (Wallander,

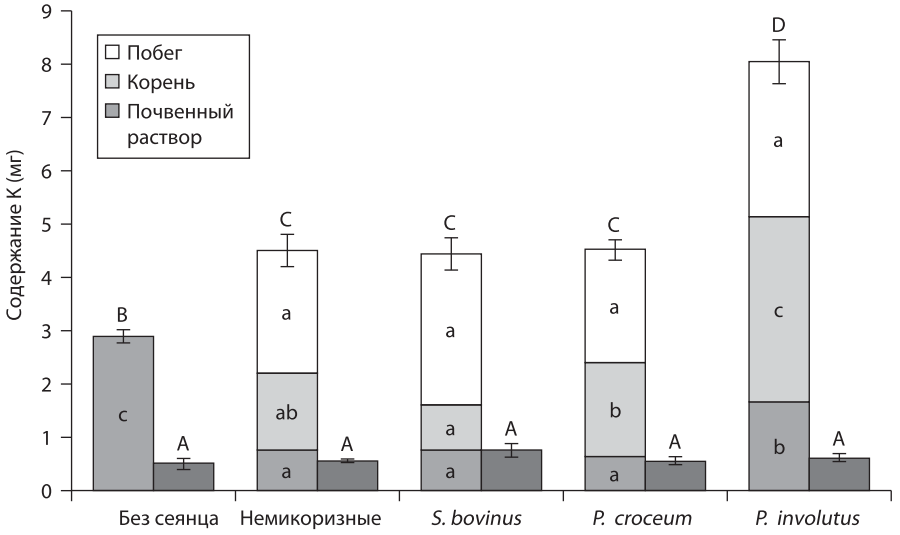


Рисунок 10.9. Неминеральный связанный K в почвенном растворе в немикоризных сеянцах *Pinus sylvestris* и в сеянцах, микоризованных *Suillus bovinus*, *Piloderma croceum* и *Paxillus involutus*, после роста в горшках с мусковитом в качестве единственного источника K. Темно-серые столбцы обозначают неминеральный связанный K в горшках без добавления мусковита. Среднее приведено для шести повторностей. Разброс — стандартная ошибка для значений содержания K. Столбцы с одинаковыми буквами обозначают недостоверные различия (P<0,05); заглавные буквы над столбцами относятся к общему количеству неминерального связанного K в горшке. Из van Schöll et al., 2006b.

Nylund, 1992; Ekblad et al., 1995). Дефицит K, в противоположность недостатку P (см. выше), приводит к сокращению поступления ассимилятов в ЭМ мицелий. Такие результаты предполагают, что способность ЭМ систем к ответным реакциям на недостаточное количество K в форме более эффективного поиска доступных ионов или усиления выветривания минералов более слабая, чем в случае ограниченной доступности P.

Поглощение и транспорт K по ЭМ гифам показаны с применением Rb^{86}, изотопного аналога K (Finlay, 1992), и методом баланса масс (Jentschke et al., 2001a). В результате обоих исследований показан ток K по гифам со скоростью, сходной со скоростью перемещения P. В последней работе показано, что транспорт K по гифам *Paxillus involutus* к ЭМ ели происходил только в случае дополнительного внесения P в свободный от корней отсек, где этот элемент был дефицитным. Эти наблюдения, вместе со сходством скоростей перемещения K и P, согласуются с гипотезой котранспорта обоих элементов в виде K^+ полиP (см. выше). Поступление K через гифы оценивается как 6% от общего количества, поглощенного растением (Jentschke et al., 2001a). Итоговое содержание K у ЭМ растений, подкармливаемых P, было достоверно выше, чем у немикоризных (табл. 10.6), что подтверждает значительный вклад гифального транспорта K в бюджет растения. Способность к поглощению K различается у разных видов грибов (Plassard et al., 2002). Колонизация *Pinus pinaster* видом *Rhizopogon roseolus* способствовала явному усилению поглощения K^+, но в случае *Hebeloma cylindrosporum* подобного эффекта не наблюдалось.

Таблица 10.6. Исходное содержание K, поглощение из питательных растворов и конечное содержание K у микоризных (в симбиозе с *Paxillus involutus*) или немикоризных сеянцев ели (*Picea abies*), выращенных в системе с двумя отсеками с добавлением P в гифальный отсек или без него.

Вариант опыта		Исходное содержание K (мг на сосуд) неделя 0	Поглощение K недели 0 - 11		Конечное содержание K (мг на сосуд) неделя 11	
			Растительный отсек	Гифальный отсек	Расчетное	Измеренное
Немикоризные	-P	4,4 a	22,7 b	-4,3 b	22,8 b	24,4 b
	+P	3.3 a	26,2 ab	-5,4 b	24,1 b	25,6 b
Paxillus involutus	-P	3,2 a	27,4 ab	-5,6 b	25,0 b	28,9 b
	+P	4,0 a	32,6 a	1,9 a	38,5 a	37,3 a

Данные взяты из Jentschke et al., 2001a.

Несколько исследований было направлено на изучение того, насколько ЭМ чехол является апопластным барьером для проникновения растворимых веществ, в том числе K, в ткани корня. Апопластная часть грибного чехла у некоторых ЭМ непроницаема и, следовательно, должна служить преградой для транспорта питательных веществ из почвы в корень (Ashford et al., 1988, 1989; Bücking et al., 2002). Было показано, что проникновение апопластного маркера целлуфлуора в корни *Eucalyptus pilularis* предотвращается грибным чехлом *Pisolithus tinctorius* до тех пор, пока у корневых окончаний не будет специально снят наружный несмачиваемый слой чехла (Ashford et al., 1989). Было изучено, в какой степени ЭМ чехол образует апопластный барьер для прохода K^+ в ткани корня (Bücking et al., 2002). Используя стабильный изотоп ^{41}K в качестве метки, авторы показали, что транспорт K^+ в кору корня сосны достоверно снижался в присутствии чехлов, образованных *P. tinctorius* и *Suillus bovinus*, по сравнению с немикоризными корнями. Задержка потока была отнесена на счет образования гидрофобинов на поверхности чехлов. Временные различия переноса изотопа между видами грибов могут быть обусловлены различным характером продукции гидрофобинов на поверхности чехла.

Наличие непроницаемого слоя означает, что все растворимые вещества достигают клеток корня по грибному симпласту чехла, вначале путем движения по свободному мицелию, а затем посредством оттока в межфазный апопласт в области сети Гартига. Напротив, растворимые вещества из клеток корня, оттекающие в апопласт, должны проходить по грибному симпласту и не могут «просачиваться» в почву через апопласт чехла. Непроницаемые слои таким образом создают возможность для регуляции условий и концентрации растворенных веществ в коровом апопласте и области сети Гартига, где происходит транспорт между симбионтами ЭМ. Как отмечали А.Э. Эшфорд с соавт., для максимальной эффективности необходимо не допускать выход веществ из «зоны обмена» (Ashford et al., 1989). Первая работа по изучению непроницаемости апопласта была проведена на микоризах *Pisonia grandis*, у которых нет сети Гартига. Сходная, но несколько иначе организованная зона обмена может образовываться, когда сеть Гартига проникает в наружный слой коровых клеток; в этом случае внутренней границей становится эндодерма, обеспечивающая остановку апопластного транспорта.

Непроницаемость чехла была показана не во всех исследованиях, и противоречивость данных может быть связана с различными сочетаниями симбионтов, а также с разными методами постановки эксперимента. Свободный мицелий некоторых

видов грибов также покрыт несмачиваемыми веществами (Unestam, 1991). До сих пор не ясно, насколько это связано с транспортом на длинные дистанции по ризоморфам, или, как предполагалось для воздушного мицелия некоторых сапротрофов, имеет значение для предотвращения пересыхания, или, возможно, важны обе функции.

Высвобождение, поглощение и транспорт магния

Магний (Mg) является в почве подвижным элементом и, как и K, обычно не считается лимитирующим фактором роста в ЭМ лесных почвах. Однако антропогенная нагрузка, приводящая к сокращению стока K, также может способствовать истощению Mg в таких местообитаниях. Неспособность ЭМ древесных пород пополнять утраты Mg, уходящего в опад, может быть непосредственной причиной угасания европейских лесов, страдающих от повышения кислотности почвы (Schulze, 1989).

Была изучена способность ЭМ грибов к высвобождению Mg из минерала роговая обманка (van Schöll et al., 2006a). В противоположность наблюдениям способности *Paxillus involutus* к высвобождению K из мусковита (см. выше), авторы не отметили выветривания роговой обманки ни у одного из изучаемых видов грибов. Возможно, это связано с ингибированием образования грибом оксалата, стимулируемого дефицитом Mg (van Schöll et al., 2006b), при повышении pH до 7,00 при добавлении роговой обманки. Несмотря на то, что способность *P. involutus* к высвобождению K из роговой обманки оказалась слабой, гриб способствует доступу своего ЭМ партнера, *Pinus sylvestris*, к Mg, вносимому в свободный от корней отсек (van Schöll, 2006). Гифы *P. involutus* пролиферируют в этих отсеках в ответ на добавление Mg в форме $MgSO_4$ или $Mg_3(PO_4)_2$ (рис. 10.10). Содержание Mg в сеянцах также увеличивалось (рис. 10.11), независимо от внесения P в качестве дополнительного питательного вещества в соседний отсек. Эти результаты противоречат данным других исследователей (Jentschke et al., 2001a), обнаруживших, что гифальный транспорт Mg в том же самом симбиозе происходит только при дополнительном поступлении P в свободный от корней отсек. Противоречие может быть снято тем, что в одном из исследований (van Schöll et al., 2006b) доступность Mg была единственным фактором, ограничивающим рост, в то время как в другом (Jentschke et al., 2001a) лимитирующим фактором был P, и в отсутствии его притока рост гиф и поиск ими питания были сильно ограничены. Для количественного определения тока через гифы *P. involutus* был использован стабильный изотоп ^{25}Mg (Jentschke et al., 2000, 2001a). Хотя значения для этого элемента были наиболее низкими среди всех измеренных (табл. 10.7), транспорт через грибной симбионт составлял около 4% от общего количества Mg, поглощенного растением. Через 6 недель после внесения метки в микоризных сеянцах концентрация ^{25}Mg была достоверно более высокой, чем в немикоризных (рис. 10.12).

Было показано, что, как и в случае K, ЭМ колонизация сеянцев сосны значительно снижала апопластный транспорт Mg к коре корня (Bücking et al., 2002). В корневых окончаниях с грибным чехлом, даже после 72 ч пребывания в растворе, меченном ^{25}Mg, как минимум треть апопластного Mg, содержащегося в коре корня, все еще не обменялась с вносимой извне меткой. В немикоризных корнях, напротив, отчетливое мечение апопластного Mg и полная замена внутреннего и наружного пулов происходили в течение нескольких минут. Существуют и противоположные результаты (Kuhn et al., 2000) — что апопластный ^{25}Mg быстро уравновешивался этим элементом из внешней среды, в которую были погружены ЭМ корни ели. Однако на срезах корневых окончаний ели, использованных в последнем эксперимен-

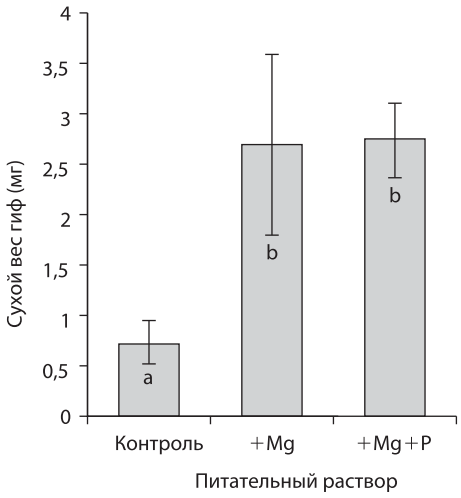


Рисунок 10.10. Пролиферация гиф *Paxillus involutus* (выраженная в виде сухого веса мицелия) в свободных от корней отсеках, в которые были добавлены магний (Mg) или Mg с фосфором (P). Столбцы с одинаковыми буквами обозначают недостоверные различия (P<0,05). Приведены средние значения для 4 повторностей и стандартная ошибка. Из van Schöll, 2006.

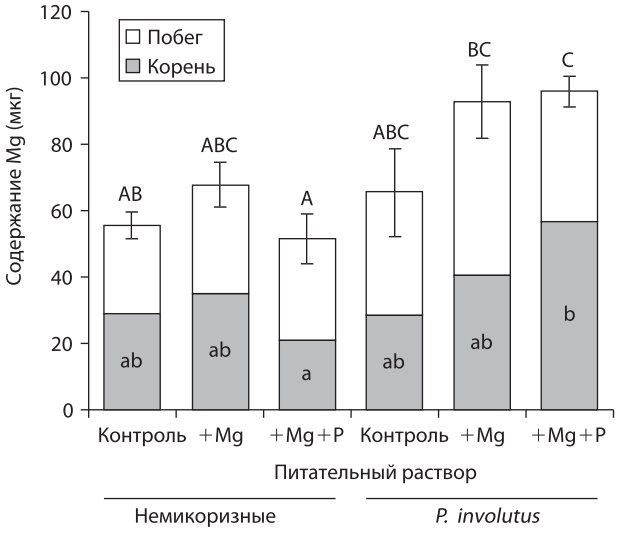


Рисунок 10.11. Содержание Mg (мкг) в побегах и корнях *Pinus sylvestris* в немикоризном состоянии или при колонизации эктомикоризным грибом *Paxillus involutus*. Столбцы с одинаковыми буквами обозначают недостоверные различия (P<0,05); заглавные буквы относятся к общему содержанию Mg в сеянцах. Приведены средние значения для 4–5 повторностей, стандартная ошибка для общего содержания Mg. Из van Schöll, 2006.

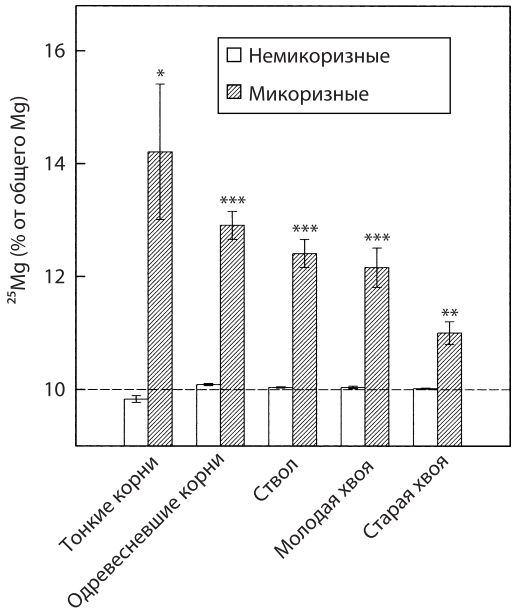


Рисунок 10.12. Концентрация метки ^{25}Mg (выраженной как процентная доля ^{25}Mg от общего содержания Mg) в тканях немикоризных и микоризных сеянцев ели обыкновенной после мечения гифального отсека в системе для культивирования ^{25}Mg в течение 6 недель. Пунктирная линия обозначает естественное количество ^{25}Mg (10,0%). Приведены средние значения для 4 повторностей. Разброс — стандартная ошибка. Уровни значимости для различий микоризных и немикоризных сеянцев: * — $P \geq 0{,}01$; ** — $P \geq 0{,}001$; *** — $P \geq 0{,}0001$. Из Jentschke et al., 2000.

те, видно, что, несмотря на наличие хорошо развитой сети Гартига, грибной чехол практически отсутствовал. Отсутствием этой структуры, как отмечено в некоторых исследованиях (Ashford et al., 1989; Bücking et al., 2002), служащей барьером, и может объясняться явная противоречивость имеющихся данных.

Таблица 10.7. Гифальный транспорт N, P, K и Mg у сеянцев *Picea abies* в микоризном симбиозе с *Paxillus involutus* в течение 11 недель эксперимента.

Вариант опыта	Гифальный транспорт (мкг на сосуд)			
	Азот	Фосфор	Калий	Магний
-P	70	но	но	но
+P	660	120	50	7

Данные взяты из Jentschke et al., 2001a. Количества переносимого P и K рассчитаны по балансу масс. Транспорт N и Mg определяли путем мечения стабильными изотопами. Транспорт Mg был скорректирован с учетом более короткого периода мечения ^{25}Mg (6 недель), с допущением, что скорости транспорта были одинаковы в течение всего периода эксперимента, но — не определяли.

Мобилизация, поглощение и транспорт кальция

В противоположность K и Mg, кальций (Ca) исходно присутствует в клеточных стенках. Для выполнения его роли сигнальной молекулы в клетке требуется очень низкая концентрация в цитозоле. До настоящего времени считалось, что, как и в случае K и Mg, поступление Ca в почву в большинстве ЭМ экосистем достаточно, чтобы не возникало его дефицита. Однако, как и для остальных перечисленных элементов, сочетание подкисления почвы и многократного сбора урожая может приводить к угрозе недостатка Ca в некоторых регионах (Yanai et al., 2005). К сожалению, очень мало известно о роли ЭМ грибов в мобилизации и поглощении Ca. Э. Мелин и Х. Нильсон, используя изотоп ^{45}Ca, показали, что ЭМ мицелий способен абсорбировать и транспортировать кальций к сеянцам сосны (Melin, Nilsson, 1955), и впоследствии передвижение Ca по гифам было подтверждено (Jentschke et al., 2000). Тем не менее, есть данные о снижении содержания Ca в корнях *Pinus pinaster* в ЭМ симбиозе с *Pisolithus tinctorius* сравнительно с немикоризным контролем (Lamhamedi et al., 1992), и об отсутствии различий в концентрации Ca в хвое *Pinus sylvestris* при выращивании в полугидропонной системе в ЭМ и немикоризном состоянии (Schöll et al., 2005). Путем рентгена тканей было показано, что колонизация *P. sylvestris* видами *Suillus bovinus* и *P. tinctorius* сокращает количество Ca в корнях, особенно, в апопласте коровых клеток (Bücking, Heyser, 2000). Тем не менее, с *Paxillus involutus* в качестве микобионта этот эффект не наблюдался. При анализе поступления Ca при разном содержании N было выявлено динамическое равновесие между поглощением анионов и катионов (Jentschke et al., 2001b). Когда N вносили в форме аммония в ЭМ, это оказывало меньшее отрицательное влияние на поглощение Ca (и Mg), чем в случае немикоризных растений. Было сделано заключение, что подкисление всего корневого отсека неколонизированных растений приводит к снижению поглощения Ca (и Mg). В случае микоризных растений подкисление было локализовано в гифосфере и было менее выраженным, что привело авторов к выводу о буферном эффекте мицелия, который снижает отрицательное влияние поступления аммония на поглощение катионов.

Влияние эктомикоризной колонизации на устойчивость к токсичным ионам металлов

ЭМ растения являются доминантами во многих природных сообществах, где кислотность почвы и выщелачивание основных катионов приводят к повышению содержания металлов. Успешное развитие ЭМ растений во многих районах мира на отвалах шахт, богатых смесью ионов металлов, демонстрирует то, что это воздействие влечет появление у ЭМ корневых систем некоторой конститутивной устойчивости к загрязнению металлами (Meharg, Cairney, 1999). Имеются данные о повышении устойчивости ЭМ растений к алюминию (Al) (Cumming, Weinstein, 1990; Hentschel et al., 1993; Schier, McQuattie, 1996; Lux, Cumming, 2001; Ahonen-Jonnarth et al., 2003), кадмию (Cd) (Jentschke et al., 1999), меди (Cu) (van Tichelen et al., 1999), свинцу (Pb) (Marschner et al., 1996), никелю (Ni) (Jones, Hutchinson, 1986, 1988a, b) и цинку (Zn) (Brown, Wilkins, 1985). Однако, как уже отмечено (Meharg, Cairney, 1999; Meharg, 2003), во многих исследованиях устойчивость оценивалась по улучшению роста колонизированных растений, и не было рассмотрено, насколько эти эффекты связаны с улучшением поступления питательных веществ.

Существуют доказательства того, что долгое воздействие металлов в природных условиях может приводить к отбору конститутивно устойчивых штаммов микобионтов (Colpaert, van Assche, 1987). В то время как штаммы *Suillus bovinus* из почв, загрязненных Zn, могли расти при концентрации Zn 1000 мкг/г, изоляты из чистых почв давали слабый рост или вообще не росли при содержании Zn свыше 100 мкг/г. Устойчивые к Zn штаммы этого вида обеспечивали достоверно более высокую выносливость *Pinus sylvestris*, чем нерезистентные. Напротив, у штаммов *Paxillus involutus*, выделенных из загрязненных Zn почв, не было отмечено большего эффекта на рост березы, чем у штаммов из чистых местообитаний (Denney, Wilkins, 1987).

Была изучена роль чувствительности грибного симбионта к загрязнителю в определении эффекта мелиорации (Jones, Hutchinson, 1986). Колонизация сеянцев *Betula papyrifera* видом *Laccaria proxima* или *Lactarius hibbardae* снижало токсичность Ni в концентрации 32 мкМ, но при 64 мкМ этот эффект пропадал, так как при этой концентрации рост гриба отсутствовал. Сходным образом, у сеянцев *Picea* возрастала устойчивость к Cd при низкой концентрации, но утрачивалась при содержании металла в таких количествах, которые ингибировали рост гриба (Jentschke et al., 1999).

Если устойчивость к металлам присутствует, она может действовать на ряде пространственно разделенных участков пути мицелий-корень-побег. Этот процесс может проходить одним способом или представлять собой сочетание нескольких из них (Bellion et al., 2006) (рис. 10.13). Среди таких механизмов внеклеточное связывание на свободном мицелии или грибном чехле с помощью экскретируемых лигандов, изоляция на поверхности посредством связывания с клеточной стенкой мицелия или гиф чехла, усиление оттока из грибной клетки, действие металлотионеина (МТ), внутриклеточное хелатирование глутатионом, внутриклеточная компартментализация в цитозоле или вакуоли или изоляция в вакуоли в комплексе с глутатионом.

Предотвращение проникновения металлов путем изоляции в грибных симбиотических структурах помогает растению избежать интоксикации. Первый контакт ЭМ гриба с металлом, вероятно, происходит, в свободном мицелии, когда он исследует почву. Данные о том, что грибы, образующие наибольшее количество свободного мицелия, обеспечивают максимальную устойчивость растения-хозяина, свидетельствуют в пользу точки зрения, что мицелий служит важной преградой. Это было показано для Zn (Colpaert, van Assche, 1992) и Cd (Colpaert, van Assche, 1993). Было продемонстрировано связывание Pb (Jentschke et al., 1991) и Cu (Meharg, 2003) с гифальной поверхностью, и есть мнение, что внеклеточная слизь на стенках гиф обеспечивает участки связывания металлов (Denny, Wilkins, 1987; Tam, 1995). На поверхности гиф может присутствовать множество потенциальных участков связывания в виде свободных карбоксильных, гидроксильных, фосфатных и аминогрупп. Связывающий Cu белок, выделяемый в среду изолятами *Laccaria laccata* и *Paxillus involutus*, до сих пор однозначно не определен, но есть предположение, что он относится к «металлотионеин-подобным» (Howe et al., 1997). Впоследствии металлотионеин-подобное соединение было обнаружено у *P. involutus* (Courbot et al., 2004). Эти данные согласуются с выявлением при помощи метода анализа цДНК маркеров последовательности металлотионеина у *P. involutus* при воздействии Cd, гомологичной известной у вида *Agaricus bisporus* (Jacob et al., 2004). Экспрессия гена металлотионеина была изучена у того же вида гриба, и наблюдалась корреляция между действием металлов и накоплением транскриптов (Bellion et al., 2006). Металлотионеины могут задерживаться в цитозоле или высвобождаться, обеспечивая внеклеточное хелатирование. В противоположность металлотионеинам, фитохелатины у *P. involutus* полностью отсутствовали (Courbot et al., 2004).

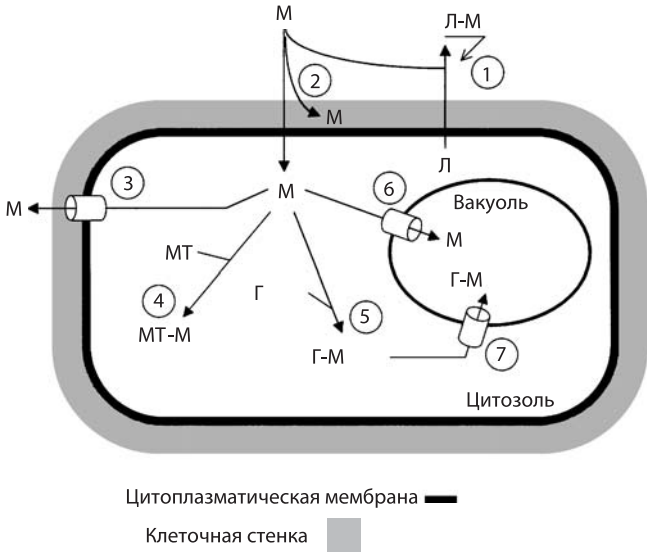


Рисунок 10.13. Схематическое изображение клеточных механизмов, потенциально принимающих участие в формировании устойчивости к металлам ЭМ грибами: 1 — внеклеточное хелатирование экскретируемыми лигандами (Л); 2 — связывание на клеточной стенке; 3 — усиленный отток; 4 — внутриклеточное хелатирование металлотионеином (МТ); 5 — внутриклеточное хелатирование глутатионом (Г); 6 — внутриклеточная компартментализация (в вакуолях или других внутренних компартментах); 7 — вакуолярная компартментализация комплекса Г-М. М — ион металла. Из Bellion et al., 2006.

Широко изучалась возможность того, что выделение органических анионов приводит к хелатированию потенциально токсичных ионов. М. Беллион с соавт. приводят данные о том, что под действием щавелевой кислоты у *Paxillus involutus* поглощение Cd сокращалось на 85% (Bellion et al., 2006). Из семи протестированных органических анионов оксалат характеризовался наиболее высокой активностью связывания металлов. Было показано, что сеянцы сосны в симбиозе с *Suillus variegatus* и *Rhizopogon roseolus* в ответ на появление Al сильно увеличивают выделение эффективного агента хелатирования этого металла – оксалата (Ahonen-Jonnarth et al., 2000). В дальнейшем появилась информация (van Schöll et al., 2006a), что продукция оксалата была максимальной у сеянцев, испытывающих дефицит Mg и P, и никакого выделения не происходило при отсутствии ионов Al. Грибные симбионты сильно различаются по способности к образованию оксалата. Следовательно, различия в индуцированном Al выделении органических анионов между сеянцами, колонизированными разными ЭМ грибами, были столь же велики, или даже больше, чем между немикоризными и ЭМ сеянцами. Предстоит выяснить еще очень многое относительно участия разных путей в устранении токсичных металлов, и мы до сих пор мало знаем о временной продолжительности иммобилизации металлов в гифосфере.

В зависимости от степени гидрофобности ЭМ чехла некоторые внеклеточные металлы могут находиться внутри него или на его поверхности. С применением микроанализа посредством рентгена замороженных срезов было показано два различных механизма, принимающих участие в связывании ионов Zn и Cd в ЭМ кор-

нях (Frey et al., 2000). В случае Cd внеклеточное образование комплексов происходило преимущественно в сети Гартига и в клеточных стенках коровых клеток корня, что указывает на активность транспорта от гриба к растению по, главным образом, апопластному пути. Напротив, Zn накапливался в основном в клеточных стенках и цитоплазме гиф чехла, где транспорт в сторону растения слабее. В корнях *Pinus* в загрязненных почвах показано накопление широкого круга потенциально токсичных элементов (Turnau et al., 2002).

Относительно мало работ посвящено ответным реакциям микобионта на накопление металлов. Металлы, абсорбируемые свободными гифами, чехлом или сетью Гартига, представляют собой угрозу для клеточного метаболизма. Окислительный стресс — одно из проявлений возникновения и активности ряда ферментов, высвобождаемых в ответ на эту угрозу — был изучен у мицелия *Paxillus involutus* при воздействии ионов Cd (Ott et al., 2002). В работе была подтверждена активность в мицелии таких ферментов, как супероксиддисмутаза (СОД), каталаза, глутатионредуктаза и глутатионпероксидаза. Авторы сделали вывод, что вид *P. involutus* способен элиминировать токсичность Cd в высоких концентрациях путем мощной индукции синтеза глутатиона, сопровождающегося быстрым серозависимым транспортом Cd в вакуоли. Глутатионредуктазная активность усиливалась при действии низких концентраций Cd. Для гена СОД показаны повышающая регуляция и пост-трансляционный контроль после воздействия ионов Cd на *P. involutus* (Jacob et al., 2001). Методом десорбции с ^{109}Cd было обнаружено, что 20% Cd, добавленного в культуру *P. involutus*, появляется в цитозоле гиф, в то время как 30% транспортируется в вакуоль (Blaudez et al., 2000). Накопление Cd в вакуолях, как предполагается, является важным механизмом детоксификации у этого вида гриба. Усиление оттока или понижающая регуляция генов, участвующих в поглощении металлов, в некоторых случаях могут эффективно способствовать избеганию отравления (Adriaensen et al., 2005).

Поиск последовательностей для ряда ЭМ грибов в базе GenBank выявил наличие многочисленных маркерных экспрессирующихся последовательностей (EST) или открытых рамок считывания, кодирующих белки, известные у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* как участвующие в устойчивости к металлам (табл. 10.8) (Bellion et al., 2006). Почти во всех случаях демонстрация участия продуктов определенных генов в повышении устойчивости к металлам еще только предстоит, и крайне необходимы системы трансформации, позволяющие сверхэкспрессию или разрушение генов-мишеней в ЭМ для определения их роли в загрязненных почвах.

Влияние эктомикоризной колонизации на водный баланс растений

Долгое время исследователей интересовал вопрос о возможности улучшения водного баланса деревьев при ЭМ колонизации, и есть данные, что симбиоз может обеспечивать засухоустойчивость при водном стрессе средней силы (Cromer, 1935; Zerova, 1955; Goss, 1960). Но так как многие ранние работы сопровождались измерением водного баланса тканей, сохраняется возможность, что такие преимущества обеспечиваются скорее влиянием поступления питательных веществ, чем гидрологическими эффектами.

Важные данные был получены в исследованиях, в которых водные потенциалы тканей сравнивали у ЭМ и немикоризных растений в одинаковых условиях засухи. Было показано, что изначально водные потенциалы выращенных в контейнерах растений *Quercus velutina* в условиях умеренной засухи были выше в ЭМ симбио-

Таблица 10.8. Предполагаемые белки эктомикоризных грибов, сходные с белками, участвующими в формировании устойчивости к металлам у дрожжей.

Механизм	Путь	Функция	Организм	№ последовательности в ГенБанке (GenBank)
Факторы транскрипции	YAP1-подобный	Регуляция генов, участвующих в устойчивости к окислительному стрессу и металлам	*Tuber borchii*	CN488390
	ZAP1-подобный	Регуляция транспортеров цинка	*Paxillus involutus*	CN072154
Транспортные системы, участвующие в устойчивости к металлам и поддержании гомеостаза	Отток металлов в органеллы	Облегчение диффузии катионов	*Hebeloma cylindrosporum*	CK993155
		Cd-связанный ABC транспортер	*Hebeloma cylindrosporum*	CK995083, CK992826
			Pisolithus microcarpus	CB10722
		Металлотранспортирующая АТФаза	*Hebeloma cylindrosporum*	CK992318, CK994170
			Tuber borchii	AF487323
	Приток металлов	Транспортер магния	*Hebeloma cylindrosporum*	CK995213, CK992324, CK995203
		Транспортер меди Транспортер железа	*Tuber borchii*	CN487781
Внутриклеточное связывание металлов	Доставка металлов к другим белкам	Шаперон металлов	*Paxillus involutus*	AAT91247, AAT31333, AAT91334, AAT91335, AAT91336, CD273262, CD273746, CD273829, CD275306, CD274894
			Hebeloma cylindrosporum	BU964154
	Связывание Cu и Cd	Металлотионеин γ-глутамилцистеинсинтетаза	*Paxillus involutus*	AAS19463
			Hebeloma cylindrosporum	CK995328
	Синтез глутатиона	Глутатионсинтетаза	*Paxillus involutus*	CD273087
			Paxillus involutus	BG141319

Таблица 10.8. (*Окончание*)

Защита от индуцируемого металлами окислительного стресса	Регуляция клеточного редокс гомеостаза	Тиоредоксин	*Paxillus involutus*	AAS19462, CD275083, CD275423, CD276018
			Hebeloma cylindrosporum	CK995145, CK995656
			Tuber borchii	BM26656, CN487764, CN48812
			Pisolithus microcarpus	CB011224, BF942541
			Laccaria bicolor	CB012066
		Глутаредоксин	*Tuber borchii*	BM266155
			Pisolithus microcarpus	BF942586
			Laccaria bicolor	CB10230, CB010243
	Ликвидация активных форм кислорода	Каталаза	*Laccaria bicolor*	CB10617
		Супероксиддисмутаза	*Tuber borchii*	BM266201, BM266232
			Paxillus involutus	AD25353, AQ064502, AW064510
			Laccaria bicolor	CB010250, CB010696
			Hebeloma cylindrosporum	CK994166, CK991636, CK993733, CK992059, CK992841, CK994504, CK995143, CK991818, CK994684, CK994504, CK994795, CK991819

Данные взяты из Bellion et al., 2006. Отдельные идентифицированные у *Saccharomyces cerevisiae* последовательности белков, участвующих в устойчивости к металлам, были использованы для поиска у эктомикоризных грибов маркерных экспрессирующихся последовательностей или открытых рамок считывания, кодирующих предполагаемо сходные белки. Поиск проводили в программах TBLASTn или BLASTp в базе данных NCBI (P =<0,05).

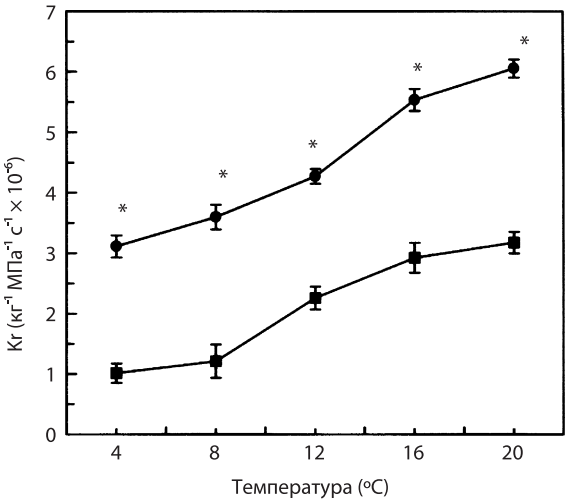


Рисунок 10.14. Гидравлическая проводимость корня (K_r) у микоризных (●) и немикоризных (■) сеянцев *Ulmus americana* при воздействии пониженной температуры. Приведены средние значения ($n = 8$) ± стандартная ошибка. * обозначено статистически достоверное различие ($P = 0{,}05$) между микоризованными и немикоризными корнями. Из Muhsin, Zwiasek, 2002.

зе с *Pisolithus tinctorius*, чем в отсутствие колонизации (Dixon et al., 1983). Сходные эффекты ЭМ колонизации этим грибным симбионтом наблюдались у *Pinus virginiana* (Walker et al., 1982), *P. taeda* (Walker et al., 1989) и *P. halapensis* (Morte et al., 2001). Даже в таких случаях, при проведении мониторинга водного баланса тканей, невозможно различить прямое влияние образования ЭМ на поглощение и транспорт воды и косвенные эффекты, возникающие из-за различий колонизированных и неколонизированных растений по поступлению питательных веществ.

Сравнительный анализ путей водного транспорта у ЭМ и немикоризных растений обеспечил более отчетливые представления об относительной гидравлической проводимости. В случае *Ulmus americana* ЭМ колонизация приводит к значительному усилению апопластного транспорта воды и гидравлической проницаемости корня, и эти эффекты сохраняются при различных температурных режимах (рис. 10.14) (Muhsin, Zwiazek, 2002). На основании того, что транспорт воды через мембрану регулируется белками-аквапоринами (Maurel, Chrispeels, 2001), было сделано предположение, что применение ртутного ингибитора белков поможет установить относительную значимость трансмембранного и апопластного типов транспорта. Так как применение ингибитора оказало более слабое влияние на проводимость ЭМ, чем немикоризных корней, был сделан вывод, что уменьшение проводимости при низких температурах в условиях симбиоза определяется в большей степени вязкостью воды, чем влиянием мембранных каналов как таковых. Однако комбинация апопластных и мембранных процессов, как считают, вносит вклад в повышение гидравлической проводимости, наблюдаемое у ЭМ растений.

Значение аквапоринов в регуляции водного тока у ЭМ растений было продемонстрировано в детальных исследованиях, представляющих собой сочетание молекулярных и физиологических методов, с использованием гибридов *Populus* и ЭМ гриба *Amanita muscaria* (Marjanovic et al., 2005a, b). Вначале было показано, что у *Ulmus* (см. выше) ЭМ корни имеют значительно более высокую гидравлическую

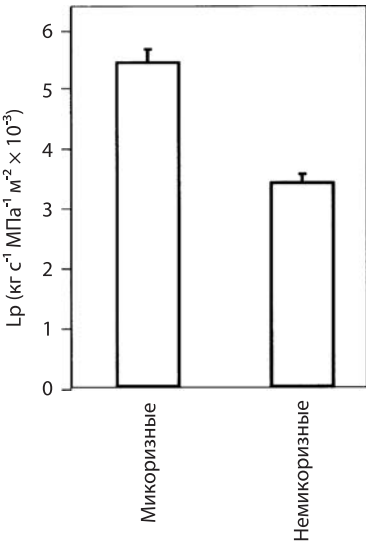


Рисунок 10.15. Измерение удельной гидравлической проводимости корня в микоризных и немикоризных корневых системах тополя. Гидравлическая проводимость корня измерена с помощью измерительного прибора высокого давления в отделенных ненарушенных корневых системах микоризных и немикоризных растений тополя (вместе с размерами корневой системы) и использована для вычисления удельной гидравлической проводимости (*L*p). Из Marjanovic et al., 2005a.

проводимость, в данном случае, на 40% (рис. 10.15), чем корни немикоризных растений. Так как у корневых систем ЭМ растений площадь поверхности ниже на 17%, чем у немикоризных, на самом деле разница в гидравлической проводимости между двумя системами была выше, соответствуя увеличению объема водного транспорта на 57% (Marjanovic et al., 2005a). Семь генов, кодирующих аквапорины, были выделены из библиотеки цДНК эктомикоризного тополя, и показано, что четыре из них избирательно экспрессировались перед образованием ЭМ. После колонизации *A. muscaria* у трех генов увеличивалось накопление транскриптов, в том числе, у двух (*PttPIP1.1* и *PttPIP2.5*), кодирующих самые распространенные аквапорины в корнях (рис. 10.16). При экспрессии в икре *Xenopus* у этих генов подтверждалась связь с транспортом воды. Высокий уровень экспрессии, особенно у *PttPIP2.5*, ассоциированный с ЭМ колонизацией, предполагает, что эти аквапорины играют ключевую роль в увеличении объема транспорта воды, наблюдаемом у ЭМ растений. Впоследствии было показано, что экспрессия двух генов аквапоринов была более выраженной у ЭМ тополя в условиях засухи (Marjanovic et al., 2005b), что указывает на возможность улучшения транспорта воды в симбиозе в период ее ограниченной доступности.

Косвенное свидетельство в пользу того, что свободный мицелий может служить каналом для поступления воды, было получено при обрезании ризоморф *Suillus bovinus*, отрастающих от колонизированного растения во влажной почве (Boyd et al., 1986). Нарушение соединений приводило к почти немедленному сокращению транспирации у растения. Важность свободного мицелия для поглощения воды была подчеркнута в работе, где исследовали способность ряда генетически различных дикарионов *Pisolithus tinctorius* оказывать влияние на водный потенциал ксилемы у *Pinus pinaster* при росте в условиях умеренной засухи (Lamhamedi et al., 1992). Были выявлены достоверные корреляции между водным потенциалом растения, общей резистентностью корневой системы и ростом в длину и диаметром ризоморф у различных грибных штаммов (рис. 10.17). Генотипы, образующие наиболее обширные системы толстых ризоморф, поддерживают у своих растительных партнеров наиболее высокий водный потенциал ксилемы, в то время как водный потенциал почвы имеет низкие значения.

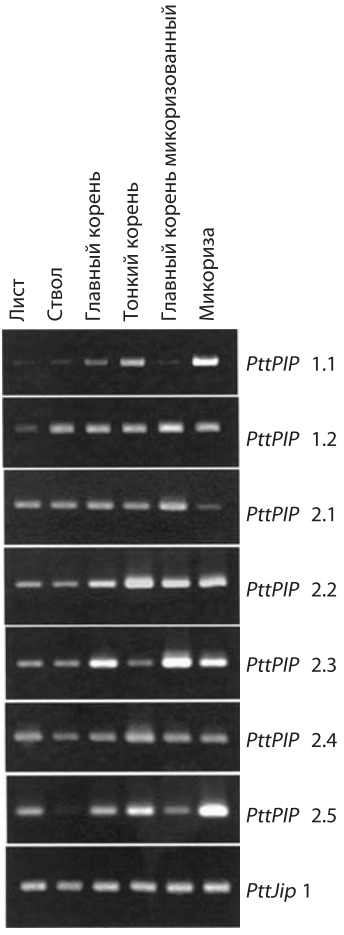


Рисунок 10.16. Профили экспрессии белков цитоплазматической мембраны (*PttPIP*) (аквапоринов) в тканях *Populus tremula* × *tremuloides* и эктомикоризах. Тотальная РНК была выделена из листьев, стволов и корней (подразделенных на тонкие и главные) немикоризных и микоризованных растений. В микоризных корнях наблюдалась повышающая регуляция *PttPIP1.1* и *PttPIP2.5*. Из Marjanovic et al., 2005a.

Хорошо известно, что водный потенциал почвы может снижаться, особенно в поверхностных горизонтах, содержащих большую долю ЭМ окончаний и мицелия, по мере того, как вода в течение дня экстрагируется в результате транспирации. Неудивительно, что высыхание может оказывать неблагоприятное воздействие на ЭМ симбиоз (Nilsen et al., 1998; Swaty et al., 1998), а также на доступность питательных веществ. Однако после смыкания устьиц в сумерках, дефицит воды в тканях при некоторых обстоятельствах оказывается достаточным для того, чтобы способствовать абсорбции у корней и подъему воды из глубинных слоев почвы в ходе процесса, называемого «гидравлический лифт» (Caldwell, Richards, 1989). Была высказана гипотеза, что такая «подзарядка» водных ресурсов в поверхностных слоях может способствовать сохранению микоризной активности в почве, которая в противном случае могла бы пересохнуть (Caldwell et al., 1998; Horton, Hart, 1998). Для тестирования гипотезы были сконструированы микрокосмы с отсеками, в которых воду с красителем в качестве метки возможно было добавлять на рассвете или на закате к стержневым корням ЭМ дуба (*Quercus agrifolia*), находящегося в засушливых условиях (Querejeta et al., 2003). Микроскопирование тонких корней и ассоциированного с ними мицелия АМ и ЭМ симбионтов в самом верхнем отсеке на рассвете и прослеживание метки до нижних ярусов на закате выявило присутствие метки и в тканях корня и в свободном мицелии у поверхности почвы. После внесения мет-

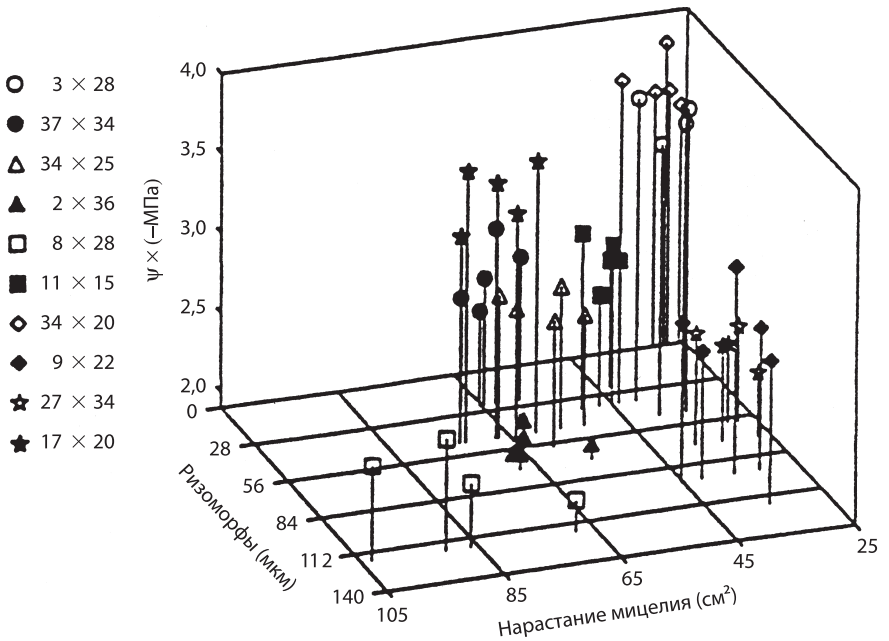


Рисунок 10.17. Влияние диаметра ризоморф (мкм) и скорости нарастания системы свободного мицелия ($см^2$) ряда дикариотических изолятов (обозначенных номерами в левой части рисунка) *Pisolithus tinctorius* на водный потенциал ксилемы (ψ ксилемы) сеянцев *Pinus pinaster*. Из Lamhamedi et al., 1992, с разрешения.

ки на рассвете движения воды вверх не наблюдалось. Так как используемые метки не проникали сквозь мембрану, было сделано заключение, что транспорт воды скорее апопластный, чем осуществляемый путем утечки из растительных тканей, что требовало бы реабсорбции на грибных мембранах. Появление краски в ризоморфах ЭМ грибов наблюдалось на расстоянии нескольких сантиметров от корня.

Очевидно, что вклад этих процессов в функционирование как непосредственно микоризных симбиозов, так и экосистемы в целом очень велик. Можно предполагать, что гидравлический лифт будет служить особенно важным преимуществом в системах, подверженных поверхностному высыханию в течение вегетационного сезона. В дальнейшем необходимо изучить, насколько часто этот феномен имеет место в природе и количественно оценить его влияние на поступление воды к симбионтам и мобилизацию питательных веществ.

Нехватка воды в почве может влиять на грибное сообщество так же, как и на растительное. Существует множество свидетельств того, что засуха вызывает серьезные изменения как в степени ЭМ колонизации (Nilsen et al., 1998; Bell, Adams, 2004), так и в структуре грибных сообществ (Swaty et al., 1998, 2004; Shi et al., 2002) и их физиологической активности (Jany et al., 2003; Bell, Adams, 2004). Это влияние может носить продолжительный характер, особенно, если результатом является выпадение видов, наиболее эффективно функционировавших при нормальной влажности. При условии наличия гидравлического лифта, этот процесс может обеспечивать защиту грибного сообщества от влияния умеренной засухи, но вряд ли сможет предотвратить летальный эффект длительного или сильного пересыхания.

Кроме того, если гидравлический лифт повышает содержание влаги в почве, влияние одновременно на активность почвенных сапротрофов и доступность питательных веществ также может вносить вклад в благоприятное воздействие.

Четко установлено, что ЭМ грибы обладают различной способностью к перенесению снижения водного потенциала при росте в чистой культуре (Mexal, Reid, 1973; Theodorou, 1978). М.Д. Коулман с соавт. наблюдали ослабление роста у всех анализируемых видов ЭМ грибов при снижении водного потенциала (Coleman et al., 1989). Некоторые, как например, *Laccaria laccata*, не давали рост при значениях ниже –1 МПа, а другие, *Suillus granulatus* и *Cenococcum geophilum*, были способны к росту при –3 МПа. Различия по чувствительности к засухе в некоторой степени отражены и в природных условиях, когда пересыхание способствует повышению колонизации такими симбионтами как *C. geophilum* (Mikola, 1948). Отмечено, что колонизация *Tilia cordata* этим видом помогает корневой системе выживать в почвах, где водный потенциал имеет столь низкие значения как –5,5 МПа (Pigott, 1982). Однако без экспериментального исследования влияния *C. geophilum* на водный обмен растения невозможно установить, насколько увеличение встречаемости этого гриба при засушливых условиях улучшает состояние растительного партнера.

Заключение

В ранних работах подчеркивалась роль грибного чехла в процессах поглощения, запасания и транспорта P и были заложены основы представлений о физиологии транспорта питательных веществ между грибом и растением в ЭМ симбиозах. Большинство из этих исследований было выполнено на отдельных корневых окончаниях, но недавно акценты сместились на изучение интактных систем, в которых эффективность различных грибных симбионтов в отношении поглощения, транспорта и переноса P к растению были рассмотрены в условиях почвы. Зависимость между получением P и ростом сейчас известна гораздо лучше, и в ряде работ представлены оценки притока этого элемента в интактные ЭМ системы. Эти цифры имеют тот же порядок, что и значения, полученные для АМ симбиозов. Была отмечена роль свободного мицелия в поиске веществ в почве и обеспечении мобилизации P из сложных субстратов, как неорганических, так и органических. Явно заметен успех сочетания лабораторных и полевых исследований для выяснения механизмов и значения увеличения поглощения P. Образование фосфатаз, высвобождающих P из органических источников, а также протонов и органических анионов, которые способны ускорять химическое выветривание, играют важную роль в почвах, представленных главным образом минеральными компонентами. Необходимо более точно охарактеризовать химическую природу основных источников P, используемых ЭМ растениями в природе и изучить сравнительную эффективность в обеспечении доступа к ним разных видов и штаммов грибных симбионтов. Обсуждать процессы поглощения P невозможно в отрыве от рассмотрения других элементов. Во многих естественных местообитаниях P и N встречаются совместно в органических субстратах, и их высвобождение требует наличия комплексной ферментативной активности, в том числе, действия ферментов, осуществляющих предварительное разложение полимерных источников углерода. Мало известно о сравнительной способности ЭМ и немикоризных микробных сообществ осуществлять такое разложение, а также о возможной конкуренции между ними.

Начали развиваться представления о том, что, помимо P и N, лимитирующим фактором в лесных экосистемах может являться доступность других ключевых эле-

ментов, а именно, K, Mg и Ca, которая ранее воспринималась чаще всего как данность. В настоящее время выясняется, что эти элементы вскоре могут оказаться дефицитными. Совершенно очевидно, что мы очень мало знаем о роли ЭМ грибов в их высвобождении, поглощении и транспорте, и еще предстоит обширная исследовательская работа. Можно предполагать, что посредством секреции низкомолекулярных органических анионов или, чаще, высвобождения протонов, эти организмы могут играть ключевые роли в важнейших биогеохимических процессах выветривания, а также в переносе высвобожденных катионов к растению. Тем не менее, пока еще очень мало известно об относительном вкладе ЭМ и сапротрофных сообществ в общий объем минерального выветривания для того, чтобы делать четкие выводы о значении симбиотического сообщества для биогеохимии местообитаний, где доминируют ЭМ растения. Также, ввиду малого количества поставленных экспериментов, сложно определить, насколько и при каких обстоятельствах ЭМ колонизация может улучшать доступ растения к основным катионам. Выясняется, что не только процесс колонизации как таковой значительно изменяет объем транспорта и равновесие катионов в тканях растения, но также и микобионты сами по себе очень различны по способности оказывать влияние на поступление веществ в корень.

Недавно проведенные исследования расширили представления об ЭМ симбиозах за пределами взаимоотношений, связанных с питанием растения, осветив аспекты ответных реакций на стрессы. ЭМ грибы обладают способностью обеспечивать устойчивость к тяжелым металлам и к засухе. В обоих случаях частично положительный эффект может быть обусловлен улучшением питания, но также ясно, что прямое влияние деятельности грибного партнера вносит вклад в эти процессы, и ответные реакции очень разнообразны в зависимости от видовой принадлежности партнеров по симбиозу. Значимость повышения устойчивости и зависимых от симбионта эффектов в природных условиях требует дальнейшего изучения.

Раздел 3

Эрикоидные, орхидные и микогетеротрофные микоризы

11
Эрикоидные микоризы

Введение

До 1990-х гг. связи между растениями из порядка Ericales (вересковые) рассматривались с применением традиционных эволюционно-таксономических подходов, широко использующих морфологические признаки (Cronquist, 1981). На этом основании Ericaceae, Epacridaceae и Empetraceae трактовались как отдельные семейства в пределах порядка. Значительно позже синтез морфологических и филогенетических методов (основанных на использовании последовательностей ядерной и хлоропластной ДНК) позволил переосмыслить взаимосвязи внутри эрикоидной клады (Kron et al., 2002). В результате подобного анализа (рис. 11.1) группы, традиционно рассматриваемые как семейства Epacridaceae и Empetraceae, утратили статус семейства и стали подсемействами[1] Styphelioideae и Ericoideae соответственно в пределах расширенного семейства Ericaceae. Чтобы избежать путаницы, представители Styphelioideae названы в тексте «эпакрисовые».

Тогда как представители подсемейства Эрикоидные являются доминантами сообществ на значительных территориях Северного полушария и южной Африки, эпакрисовые играют важную роль в Австралазии. На всей протяженности своего ареала представители этих подсемейств, в случае эрикоидных часто вместе с видами подсемейства Vaccinioideae, являются основными компонентами особых экосистем верещатников (см. гл. 15). Еще одной особенностью строения растений из основных подсемейств Ericaceae, не использованной в филогении, предложенной Крон (Kron et al., 2002), но укладывающейся в полученную схему, является наличие у представителей уникальных специализированных дистальных корней, ризодермальные клетки которых заселяют аскомицетные грибы, образуя эрикоидную микоризу (ЭрМ) (рис. 11.2 и 11.3А, Б). Только наименее поддержанные ветви кладограммы (см. рис. 11.1), представленные Arbutoideae, Monotropoideae и Enkianthoideae, состоят из видов, не образующих эрикоидную микоризу и участвующих в симбиозах арбутоидного (см. гл. 7), монотропоидного (см. гл. 13) и арбускулярного (АМ) типов соответственно (Abe, 2005). Имеются данные о том, что виды рода *Clethra*, принадлежащего к порядку Ericales, но не входящего в семейство Ericaceae (см. рис. 11.1), также образуют АМ (Kubota et al., 2001). Показано, что микоризы, образуемые, как минимум, некоторыми эпифитными представителями Ericaceae, могут по строению отличаться от типичной ЭрМ. У *Cavendishia melastomoides* и *Disterigma humboldtii* обнаружено наличие рудиментарного чехла и сети Гартига (Rains et al., 2003). В результате активного изучения другого эпифитного вида рода *Cavendishia*, *C. nobilis*, показано наличие четко выраженного чехла и сети Гартига наряду с внутриклеточными структурами, подобными по строению эктэндомикоризе (Se-

[1] В оригинальном тексте для указанных таксонов приведен ранг «tribe» — «триба», но согласно Кодексу ботанической номенклатуры окончание -oideae закреплено за другим таксоном внутри семейства, подсемейством, как и было указано в переводе (прим. перев.).

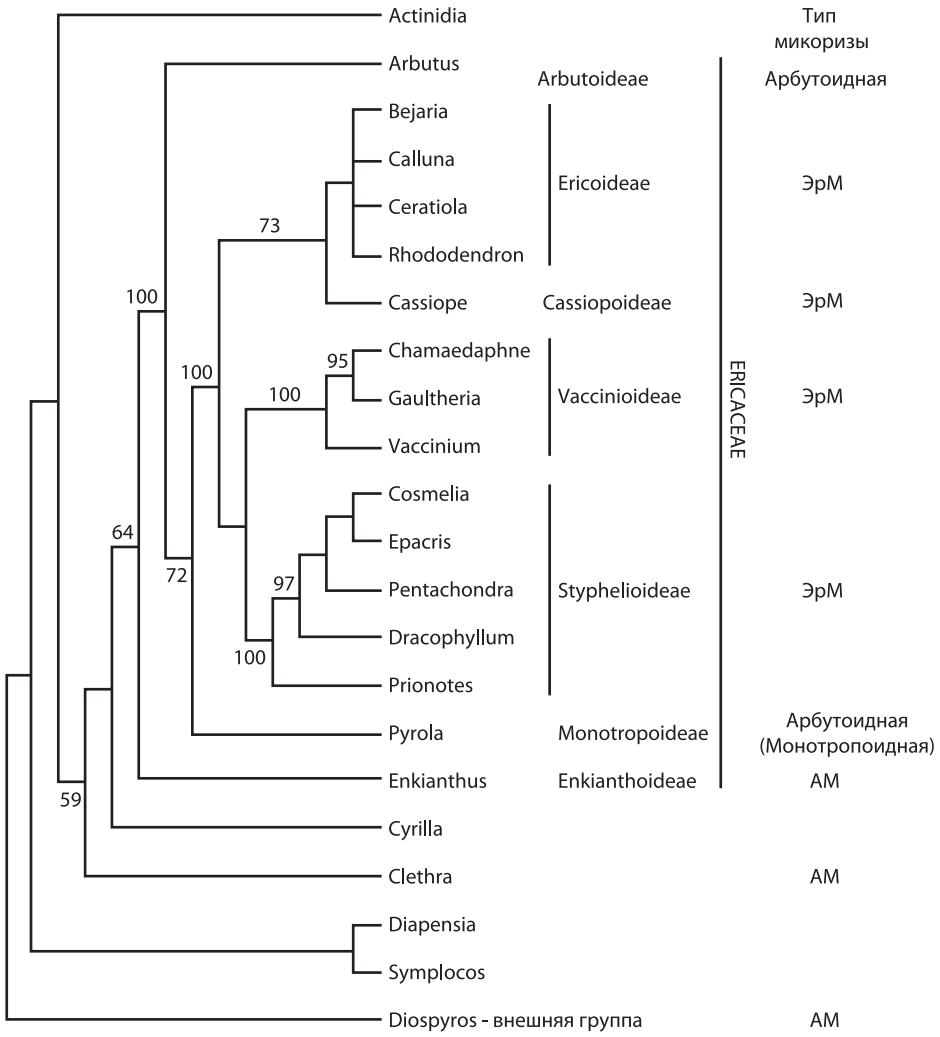


Рисунок 11.1. Взаимосвязи между филогенией и типами микориз в пределах порядка Ericales. Кладограмма представляет собой строгое согласование трех деревьев, полученных путем сочетания анализов 18s, rbcL и matK последовательностей 22 таксонов (по Kron et al, 2002). Эрикоидный тип микоризы (ЭрМ) (справа) приурочен к тем подсемействам сем. Ericaceae, которые наиболее хорошо поддержаны консенсусным деревом.

taro et al., 2006; см. гл. 7). Эти наблюдения позволяют предположить, что эктэндомикориза, возможно, широко распространена в пределах андской клады Vaccinioideae.

Путем объединения палеонтологических данных и оценки времени происхождения отдела Ascomycota по «молекулярным часам» было установлено, что эрикоидные микоризные симбиозы (ЭрМ) могли появиться в раннем меловом периоде, около 140 млн. лет назад (Cullings, 1996). Эта точка зрения согласуется с предположением о том, что предковые формы Ericales произошли из южной Гондваны и распространились во время среднего и позднего мелового периода (Specht, 1979; Dettmann, 1992).

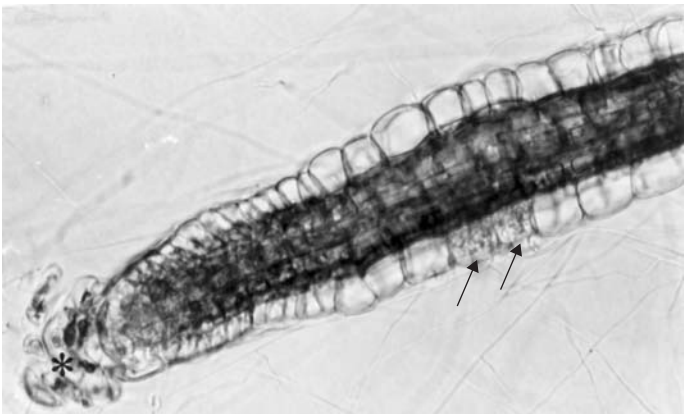
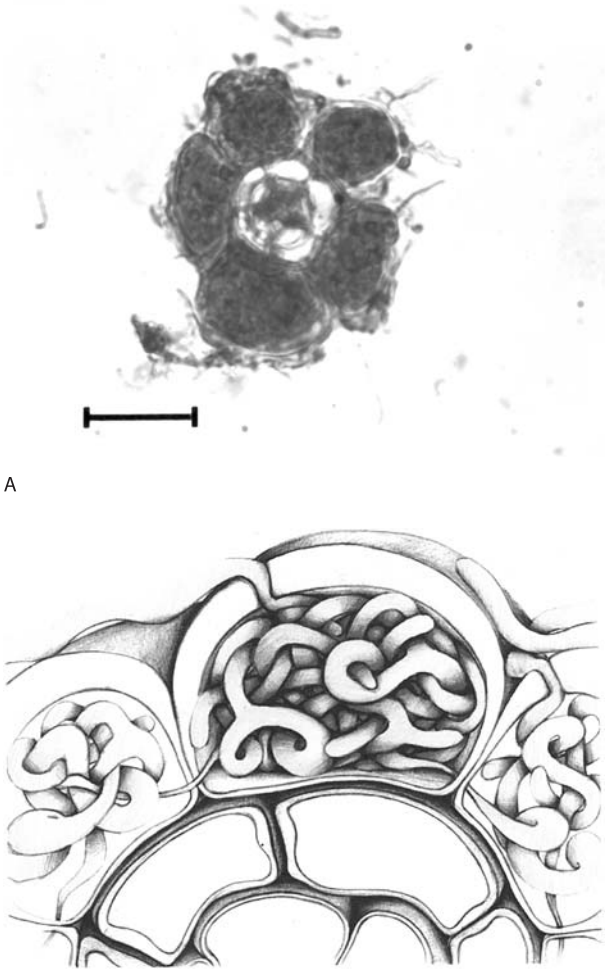


Рисунок 11.2. Апикальная зона волосовидного корня *Calluna vulgaris*: * — корневой чехлик, стрелкой отмечена начальная стадия формирования микоризы в дистальных клетках кончика корня. Световая микроскопия. Фото Д.Дж. Рида.

Множество дискуссий связано с ранними исследованиями эрикоидной микоризы, касающимися идентификации грибного партнера и, в особенности, его распространения в тканях растения. Эти дебаты увели в сторону от таких существенных вопросов как роль микориз в процессах роста, питании и экологии растений. Указанные противоречия обсуждены в ряде работ (Harley, 1969; Read, 1983) и в дальнейшем в данной главе упоминаются кратко. Первые систематические исследования ЭрМ корня были в основном посвящены выделению грибов из гифальных комплексов в ризодермальных клетках (Friesleben, 1935; Bain, 1937; Burgeff, 1961; Nieuwdorp, 1969; Pearson, Read, 1973a). Упомянутые авторы прилагали усилия к выяснению, всегда ли грибы, выделенные из гифальных клубков, представляют собой медленно растущие темноокрашенные стерильные мицелиальные формы, в морфологии колоний изолятов в культуре наблюдалась значительная изменчивость. Развитие молекулярных методов исследования недавно позволило уточнить таксономическое положение некоторых из этих изолятов, что, в свою очередь, повлекло за собой пересмотр наиболее важных в данном аспекте таксонов. Наиболее ярким примером является анализ последовательностей ITS1 и 5,8S ITS2 рДНК у представителей порядка Helotiales, приведший к значительному изменению номенклатуры (Zhang, Zhuang, 2004). Штаммы, применявшиеся практически во всех исследованиях функций ЭрМ, ранее относимые к *Hymenoscyphus ericae* (Read) Korf et Kernan, были перенесены в новый род *Rhizoscyphus* W.Y. Zhuang et Korf. В данной главе новая комбинация *Rhizoscyphus ericae* (Read) W.Y. Zhuang et Korf приводится для обозначения изолятов, образующих микоризы с вересковыми. Тем не менее, в соответствии с существующей точкой зрения (например, Hambleton, Sigler, 2005), название «комплекс *Hymenoscyphus*» сохранено в отношении более обширной группы, включающей грибы, не отмеченные в качестве симбионтов эрикоидной микоризы.

К сожалению, скорость накопления знаний в области понимания функциональных ролей грибных симбионтов не соответствует таковой в области филогении. Тем не менее, растет количество сведений о том, что генетические различия, выявленные молекулярными исследованиями, отражены в разнообразии функций. В данной главе особое внимание уделено структурным, таксономическим и функциональным аспектам эрикоидных микориз, обзор их возможной экологической роли приведен в гл. 15.

Корни вересковых представляют собой тонкие образования, анатомия которых однотипна для всех подсемейств семейства Ericaceae, характеризующихся наличием эрико-



А

Б

Рисунок 11.3. А — поперечный срез микоризованного корня *Calluna vulgaris*. Ризодерма, состоящая из одного слоя клеток, полностью колонизирована грибными гифами. Масштаб 100 мкм. Фото Д.Дж. Рида. Б — схематическое изображение ризодермальных клеток, показывающее проникновение грибных гиф сквозь утолщенные клеточные стенки и расположенные внутри клеток клубки гиф. Из Peterson et al., 2004.

идной микоризы (Peterson et al., 1980; Berta, Bonfante-Fasolo, 1983; Ashford et al., 1996; Allaway, Ashford, 1996; Bell et al., 1996; Read, 1996; Cairney, Ashford, 2002). Наиболее яркой чертой их строения является отсутствие корневых волосков. Из-за малого диаметра (от 100 до менее 50 мкм в дистальной области) эти структуры называют «волосовидными корнями». Волосовидные корни имеют монархную стелу, состоящую из единственного пучка очень мелких сосудов и ситовидных клеток, окруженных перициклом. Периферическое положение относительно проводящей системы занимает двухслойный кортекс, состоящий из эндодермы и опробковевшей экзодермы. Наружный слой клеток, ризодерма, обеспечивает контакт с почвой, и только входящие в ее состав клетки коло-

низируются ЭрМ грибами. Эти клетки обычно вздутые, при колонизации грибными эндофитами их объем полностью заполняется гифальными клубками (см. рис. 11.3А, Б). Апикальная меристема корня, небольшая группа недифференцированных клеток, обычно защищена корневым чехликом, покрытым слизью (см. рис. 11.2). Слизь растягивается от апекса назад тонким прерывающимся слоем на поверхности корня.

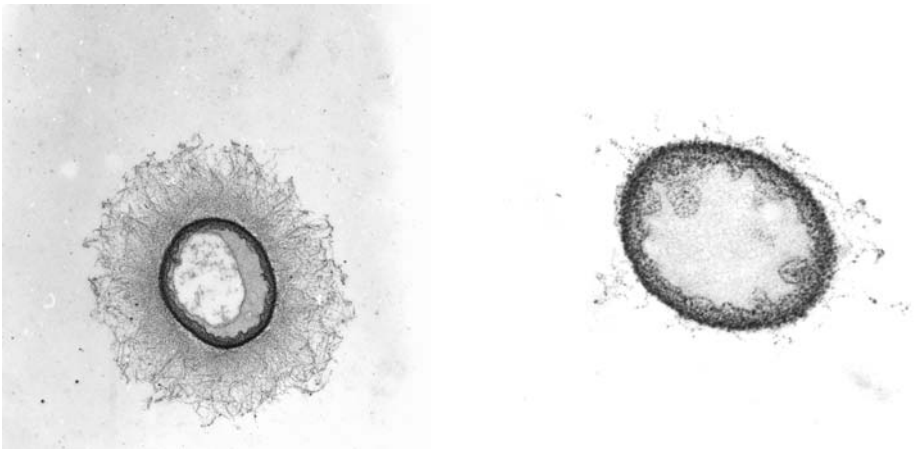
Ризодермальный слой волосовидных корней представляет собой эфемерную структуру, исчезающую при старении. Затем клетки из двух кортикальных слоев с опробковевшей утолщенной стенкой формируют наружную поверхность корня (Peterson et al., 1980; Allaway, Ashford, 1996). Так как микоризная колонизация ограничена только увеличенными ризодермальными клетками, созревание является удобным временным и пространственным моментом для образования симбиоза. Вторичное утолщение обеспечивает долговечность наиболее зрелых участков корня, в то время как неутолщенные волосовидные корни ограниченного роста периодически обновляются. Точные данные о смене волосовидных корней в природных условиях отсутствуют, но Керли и Рид установили, что во влажных верещатниках Северного полушария колонизированные волосовидные корни присутствуют на протяжении всего года (Kerley, Read, 1995). В вересковых ценозах Австралии, в особенности, характеризующихся Средиземноморским типом климата с жарким и сухим летним сезоном, длина волосовидных корней быстро снижается при высыхании почвы, но и длина корней и степень колонизации грибным симбионтом возрастают при осеннем увлажнении почвы (Hutton et al., 1994; Bell, Pate, 1996). Интересная ситуация описана для представителя эпакрисовых *Lysinema ciliatum*, у которого явно специализированные толстостенные клетки ризодермы, легко отделяющиеся от поверхности корня, избирательно колонизируются ЭрМ грибами (Ashford et al., 1996). Предполагают, что эти клетки могут играть роль пропагул, способных переживать засушливые условия, и вновь колонизировать волосовидные корни, когда они появятся после дождя.

Процесс колонизации

Гифы ЭрМ грибов образуют рыхлую сеть в той зоне волосовидного корня, в которой находится зрелая ризодерма (рис. 11.4). По мере роста апекса корня, дифференцируются новые ризодермальные клетки, и их колонизируют гифы растущего края мицелиальной сети. По той или иной причине, замедление роста корня может дать возможность мицелиальной сети достичь апекса, но в норме зона дифференцированных клеток сразу после меристемы остается свободной от гиф гриба.

Молекулярные основы узнавания микобионтов, формирующих мицелиальную сеть на поверхности корней вересковых, до сих пор неизвестны, но ультраструктурные и цитохимические исследования, в большинстве своем касающиеся штаммов *R. ericae*, дали новую информацию об этих процессах. Некоторые штаммы *Rhizoscyphus ericae* в норме образуют наружный фибриллярный чехол, богатый полисахаридами (Bonfante-Fasolo, Gianinazzi Pearson, 1982). Этот чехол в большей степени развит у инфекционных (рис. 11.5А), чем у неинфекционных (рис. 11.5Б) штаммов (Gianinazzi-Pearson, Bonfante-Fasolo, 1986), и было сделано предположение, что он прикрепляет гриб к растению в начале формирования микоризы (Gianinazzi-Pearson et al., 1986) (рис. 11.6). При использовании меченого золотом лектина конканавалина А (Con A) в качестве цитохимического маркера на остатки маннозы или глюкозы было показано наличие большого количества этих соединений в ассоциации инфекционного штамма и растительного корня (Bonfante-Fasolo et al., 1987b). Хотя фибриллярный чехол может принимать участие в прикреплении, которое, очевидно, необходимо для дальнейших этапов колонизации, остаются сомнения относительно степени его вовлеченности в узнавание хозяина и от-

Рисунок 11.4. Волосовидный корень *Rhododendron*, колонизированный переплетающимися гифами, проникающими сквозь наружную стенку ризодермальных клеток. Сканирующая электронная микроскопия. Масштаб 10 мкм. Из Duddridge, Read, 1982b, с разрешения.



А Б

Рисунок 11.5. Развитие поверхностных фибрилл на гифах *Rhizoscyphus ericae* в присутствии корня *Calluna vulgaris*. А — совместимый изолят, образующий множество фибрилл. Б — скудное образование фибрилл слабо совместимым изолятом. Диаметр гифы — около 3 мкм. Фото любезно предоставлено В. Джанинацци-Пирсон.

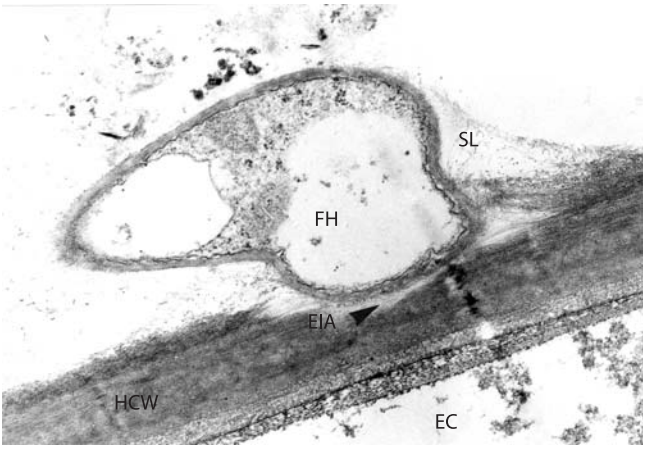


Рисунок 11.6. Гифа *Rhizoscyphus ericae* (FH), прикрепленная к поверхности ризодермальной клетки (EC) *Rhododendron ponticum*. Обратите внимание на наличие фибрилл (SL) и электронопрозрачной зоны (EIA) в месте проникновения сквозь клеточную стенку (HCW). Трансмиссионная электронная микроскопия. Фото любезно предоставлено В. Джанинацци-Пирсон.

личие совместимого от несовместимого растения, так как гифы штаммов с типичным фибриллярным чехлом прикрепляются к корням несовместимого растения *Trifolium pratense* (Bonfante-Fasolo et al., 1984). Различия в ответах корней совместимых и несовместимых растений на проникновение гриба проявляются только на внутриклеточном уровне. В случае вересковых фибриллы исчезают, когда гифу окружает цитоплазматическая мембрана растительной клетки, в то время как при контакте с несовместимыми растениями они остаются в течение периода перестройки колонизированной клетки.

Проникновение через клеточную стенку

Гифы поверхностной мицелиальной сети ветвятся под прямым углом, пронизывая ризодермальные клетки (см. рис. 11.4, 11.6, 11.7). В норме на клетку приходится одна точка входа гифы, хотя иногда встречаются и множественные проникновения (Read, Stribley, 1975). Каждому проникновению предшествует образование аппрессория, но, так как эта структура обнаруживается не всегда, это не обязательное условие успешной колонизации растения.

Механизм проникновения изучен не до конца. Данные, полученные с использованием PATAG-теста для локализации полисахаридов, показывают, что богатые углеводами фибриллы, окружающие гифы, хотя и присутствуют в точке прикрепления к поверхности ризодермальных клеток, исчезают, когда кончик гифы пронизывает внешнюю клеточную стенку. В месте, где гриб проникает во внутренний слой растительной клеточной стенки, появляется электронопрозрачная зона (см. рис. 11.6; Duddridge, Read, 1982a; Bonfante-Fasolo, Gianinazzi-Pearson, 1982). Это может обозначать растворение клеточной стенки ферментами гриба. В чистой культуре вид *Rhizoscyphus ericae* способен использовать ряд связанных с растительной клеточной стенкой моно-, ди и полисахаридов, включая карбоксиметилцеллюлозу (КМЦ), в качестве единственного источни-

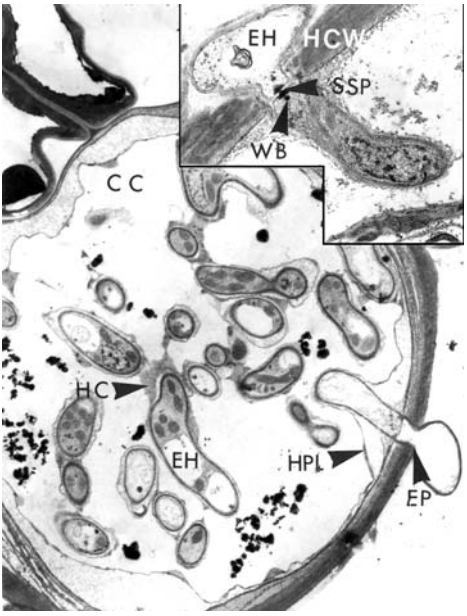


Рисунок 11.7. Недавно колонизированная клетка сеянца *Rhododendron* с точкой входа (EP) гифы *Rhizoscyphus ericae*. Показаны впячивание цитоплазматической мембраны растительной клетки (HPL), растительная цитоплазма (HC) и гифа гриба внутри клетки (EH). Выноска: при большем увеличении показано проникновение грибной гифы сквозь растительную клеточную стенку. Видна простая септа гифы (SSP) и тельца Воронина (WB). Из Duddridge, Read, 1982b, с разрешения.

ка углерода (Pearson, Read, 1975; Varma, Bonfante, 1994). При культивировании гриба с пектином в качестве единственного источника углерода выявлены две полигалактуроназы (Perotto et al., 1993). В культуре на КМЦ или фрагментах корней отмечена активность как β 1–4, так и β 1–3 глюканазы (Varma, Bonfante, 1994). Так как эти ферменты принимают участие в проникновении через клеточную стенку у ряда фитопатогенных грибов (Hahn et al., 1989), их выделение видом *R. ericae* вместе с ультраструктурными доказательствами размягчения клеточной стенки перед внедрением грибной гифы позволяет предполагать участие гидролитических ферментов в процессе проникновения. Также существует вероятность использования этих ферментов для разложения органических соединений почвы и высвобождения содержащихся в них питательных веществ, что будет обсуждено ниже.

Особенности внутриклеточной колонизации

С помощью электронной микроскопии зрелых инфекционных структур было показано, что колонизирующие гифы сохраняют целостность строения внутри растительной клетки (Nieuwdorp, 1969; Bonfante-Fasolo, Gianinazzi-Pearson, 1979; Peterson et al., 1980). Более того, при отсутствии нарушений в грибных гифах, заметно некоторое ухудшение состояния растительной цитоплазмы. При детальном анализе последовательности событий от колонизации растительной клетки до разрушения ассоциации было подтверждено, что распад начинается скорее с растительных тканей, чем с грибных структур (Duddridge, Read, 1982b). Сеянцы *Rhododendron ponticum* были выращены в почве, частично простерилизованной γ-излучением, или в свежесобранной почве из-под кустов *Rhododendron* и затем инокулированы симбионтом ЭрМ. Поверхностная колонизация корней происходила в облученной почве через три недели, а в естественной — через четыре, проникновение в клетки кортекса следовало незамедлительно (см. рис. 11.6, 11.7). Оказавшись внутри клетки, грибные гифы интенсивно распространялись. Цитоплазматическая мембрана растительной клетки впячивалась, охватывая каждую проникаю-

щую внутрь гифу гриба, но была отделена от грибной клеточной стенки тонким электронопрозрачным слоем, так называемым граничным матриксом (см. рис. 11.7). Он содержит хлопьевидный электроноплотный пектиновый материал (Duddridge, 1980). Изучение посредством сканирующей (СЭМ) и трансмиссионной (ТЭМ) электронной микроскопии подтвердило, что колонизация происходит через внешнюю стенку кортикальной клетки, так что каждая клетка представляет собой отдельную единицу колонизации. Следовательно, даже соседние клетки могут содержать разновозрастные гифальные комплексы (рис. 11.8). В состоянии зрелого симбиоза грибные гифы заполняют почти весь объем растительной клетки, и вакуоль имеет малые размеры или отсутствует. За пределами электронопрозрачной зоны гифы окружены цитоплазмой растительной клетки, содержащей шероховатую эндоплазматическую сеть и митохондрии, что позволяет предполагать наличие высокой физиологической активности в области контакта симбионтов (рис. 11.9).

Первый признак разрушения ассоциации, как указывают Дж. Даддридж и Д. Рид — утрата структурной целостности органелл клетки растения, в особенности, митохондрий (Duddridge, Read, 1982b). Затем разрушается цитоплазма растительной клетки, и электронопрозрачная зона между цитоплазматической мембраной клетки растения и

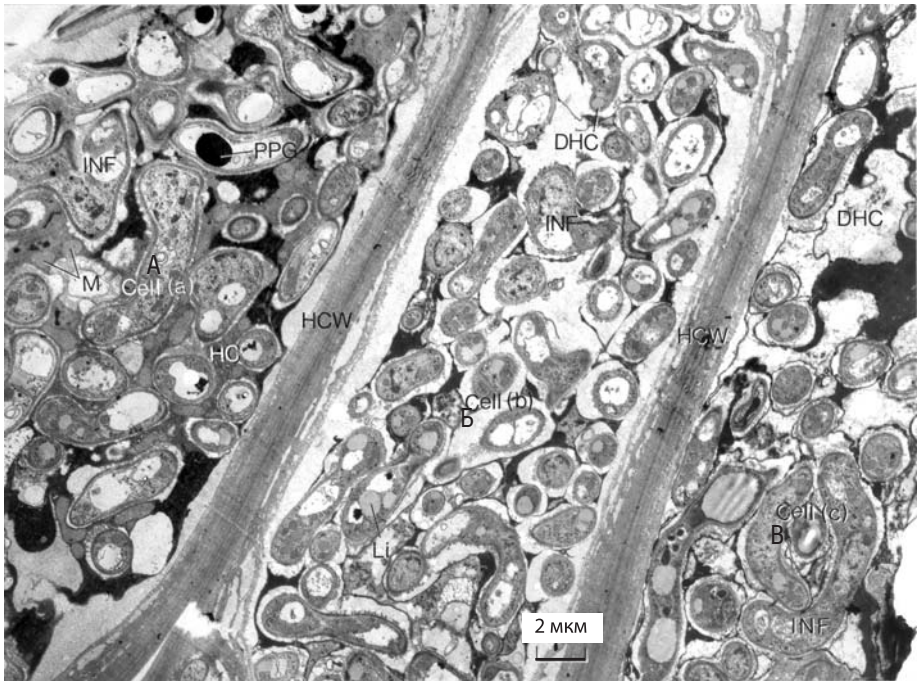


Рисунок 11.8. Корень *Rhododendron ponticum*: три соседние клетки в продольном разрезе с внутриклеточной колонизацией на разных возрастных стадиях. А — жизнеспособная растительная клетка, заполненная гифами; Б — цитоплазма растения разрушается, но внутриклеточные гифы выглядят жизнеспособными; В — разрушение цитоплазмы и растительной и грибной клеток. DHC — разрушающаяся цитоплазма растения; PPG — полифосфатная гранула; LI — липидная капля; HCW — растительная клеточная стенка; INF — внутриклеточная грибная гифа. Трансмиссионная электронная микроскопия. Масштаб 2 мкм. Из Duddridge, Read, 1982b, с разрешения

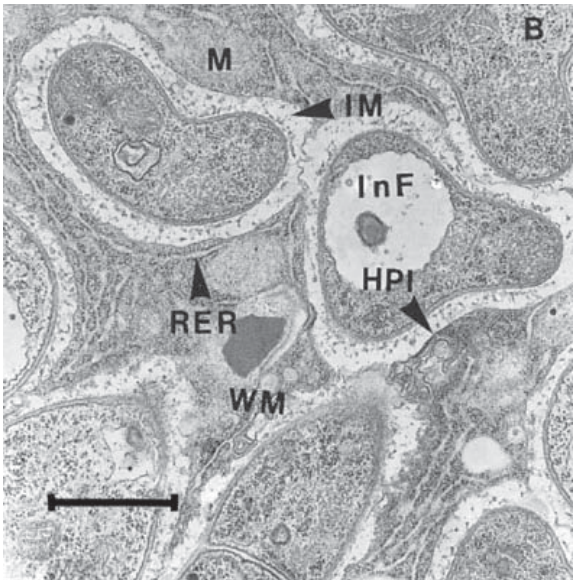


Рисунок 11.9. Ранняя стадия разрушения микоризы в корнях *Rhododendron ponticum*. В растительных клетках в изобилии находится шероховатая эндоплазматическая сеть (RER). M — митохондрия; IM — граничный матрикс; HPI — цитоплазматическая мембрана растительной клетки; InF — внутриклеточная гифа; WM — материал клеточной стенки. Масштаб 1 мкм. Из Duddridge, Read, 1982b, с разрешения.

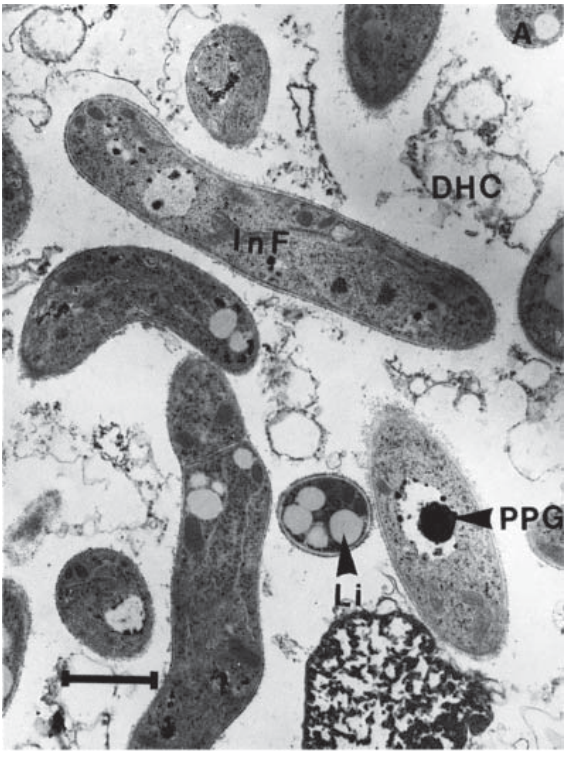


Рисунок 11.10. Поздняя стадия разрушения микоризы в корнях *Rhododendron ponticum*. Цитоплазма растительной клетки (DHC) почти полностью разрушена, в то время как гифы гриба (InF) очевидно жизнеспособны. Заметны липидные капли (Li) и полифосфатные гранулы (PPG). Масштаб 1 мкм. Из Duddridge, Read, 1982b, с разрешения.

клеточной стенкой грибной гифы расширяется. Целостность растительной цитоплазматической мембраны в конечном счете нарушается, и большинство органелл клетки растения дегенерирует до начала разрушения грибных структур (рис. 11.10). Свидетельством разрушения грибных гиф может служить только увеличение размеров вакуолей на поздних стадиях разрушения клетки растения. Окончательного разрушения грибных структур не происходит, даже когда растительная клетка утрачивает свою целостность. По этой причине в конце процесса распада клетка не содержит следов предыдущей колонизации грибом. Первые признаки разрушения наблюдались через восемь недель после инокуляции, соответственно, около четырех недель после проникновения в клетки в инокулированной почве и спустя около 11 недель после посадки в природную почву (Duddridge, Read, 1982a, b). Разница в сроках, возможно, связана с различиями в состоянии партнеров по симбиозу в двух экспериментальных системах, и гриб и растение оказывались более активными в облученной почве.

События, выявленные при исследованиях с помощью ТЭМ, отличаются от того, что было известно по данным световой микроскопии. Так как разрушение ассоциации начинается с цитоплазмы растительной клетки, транспорт веществ как от гриба к растению, так и в обратном направлении должен происходить в течение нескольких недель после колонизации, пока оба партнера сохраняют структурную, и, тем самым, физиологическую целостность. Это обозначает, что период активной жизнедеятельности индивидуальной колонизированной клетки составляет не более 5 или 6 недель. Кроме того, представления о переваривании или лизисе грибных гиф растением являются нелогичными.

Ультраструктурный анализ также предоставил информацию относительно таксономического положения грибов, ассоциированных с корнями вересковых (см. ниже).

Грибы, образующие эрикоидные микоризы

Самые ранние попытки идентифицировать грибы, принимающие участие в образовании эрикоидных микориз, дали противоречивые результаты. Были сделаны утверждения, что корни колонизирует представитель рода *Phoma*, мицелий которого распространяется из корней в побеги и соцветия, где достигает оболочек семян (Rayner, 1915, 1927). Эта так называемая «системная инфекция», как предполагалось, колонизирует зародышевый корешок. Было высказано мнение, что дальнейшее развитие сеянца зависит от распространения гриба (Rayner, 1915; Addoms, Mounce, 1931). Со временем некоторые исследователи, особенно Л. Кнудсон (Knudson, 1929; 1933) в Америке и Г. Кристоф (Christoph, 1921) в Европе, выступили против этого утверждения, доказав, что системная инфекция не является ни нормой, ни обязательной предпосылкой для развития сеянца, который может быть без труда получен в стерильных условиях. По крайней мере, эти дебаты продемонстрировали необходимость выделения ЭрМ грибов из корней и последующей инокуляции для подтверждения формирования типичной микоризы. Эти простые условия для проверки статуса колонизирующих корни микроорганизмов ранее были изложены в форме постулатов Коха (Koch, 1912), но при широком применении в фитопатологии, их использование в исследовании микоризной колонизации, в особенности вересковых, не попало в поле зрения М. Рэйнер и ее коллег.

Проблемы с интерпретацией результатов, полученных при выделении грибов в культуру, сохранялись. Хотя большинство ранних исследователей делало акцент на внутриклеточных гифальных комплексах как диагностической черте ЭрМ симбиоза, стало общей практикой просто использовать фрагменты волосовидных корней, обычно несколько мм длиной, для выделения грибов из любых растительных тканей (напр., Berch et al., 2002; Allen et al., 2003; Midgley et al., 2004a). Подобный подход приводит к по-

лучению смеси ЭрМ и немикоризных грибов, но их происхождение именно из фрагмента корня остается сомнительным. Несмотря на кажущуюся возможность переоценить количество «микоризных» грибов при работе подобными методами, действие на хрупкие фрагменты волосовидных корней агентов поверхностной стерилизации, обычно растворов гипохлорита или перекиси водорода, приводит к селективному сокращению числа возможных симбионтов. Давно известно, что химические стерилизующие вещества, даже применяемые в низких концентрациях и в течение недолгого времени, могут уничтожить наряду с поверхностными и внутритканевые грибные гифы в волосовидных корнях (McNabb, 1961; Singh, 1965). Применение химической поверхностной стерилизации корней может служить причиной низкой частоты выделения грибов, указанной в некоторых работах (Berch et al., 2002). На основе своих опытов по выделению в культуру мицелиальных грибов из эктомикориз Дж. Харли и Дж. Уэйд рекомендовали менее радикальный подход к поверхностной стерилизации, состоящий в последовательном промывании корней в стерильной воде (Harley, Waid, 1955). В применении к волосовидным корням эрикоидных этот метод позволил успешно выделить грибные эндофиты (Pearson, Read, 1973a; Singh, 1974), рост которых возможно наблюдать непосредственно из колонизированных клеток (рис. 11.11).

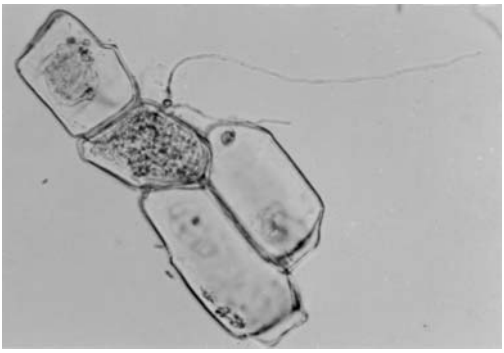
Первое сообщение о выделении эндофита из корней вересковых (*Vaccinium*) и подтверждении его микоризного статуса повторной инокуляцией датируется 1928 г. (Doak, 1928). Подобные эксперименты были повторены на примере ряда растений из Северной Америки (Bain, 1937), а также видов из Европы (Freisleben, 1933, 1934, 1936; Burgeff, 1961; Pearson, Read, 1973a) и Австралазии (McNabb, 1961; Reed, 1987). Регулярно повторяющиеся наблюдения такого рода показали, что грибы, выделяющиеся из гифальных клубков в корнях вересковых, следовательно, микоризообразующие, представляют собой преимущественно медленно растущие, бесполые темноокрашенные формы. Иногда встречались также медленно растущие бесцветные или светло-серые изоляты (Melin, 1925; Bain, 1937).

Один типичный темноокрашенный изолят, полученный В. Пирсоном и Д. Ридом (Pearson, Read, 1973a), в культуре образовывал апотеции, что дало возможность определить его вначале как представителя рода *Pezizella — P. ericae* (Read, 1974), а позднее — рода *Hymenoscyphus — H. ericae* (Read) Korf et Kernan (Kernan, Finocchio, 1983), ныне помещенного в род *Rhizoscyphus* как *R. ericae* (Read) Zhang et Zhuang (Zhang, Zhuang, 2004). Этот вид помещали в порядок Leotiales, но, строго говоря, и род *Rhizoscyphus* и более широкий комплексный таксон *Hymenoscyphus,* относимые к классу Leotiomycetes, должны рассматриваться в порядке Helotiales[2]. Телеоморфы, идентичные полученным Д. Ридом (Read, 1974), были выявлены среди изолятов из вересковых во Франции (Vegh et al., 1979) и Канаде (Hambleton et al., 1999), но в природе апотеции до сих пор не обнаружены. Большая часть темноокрашенных медленнорастущих изолятов, описанных В. Пирсоном и Д. Ридом (Pearson, Read, 1973a), включая образующие телеоморфы, в культуре образовывали артроконидии. Анаморфа подобного типа была впоследствии определена как *Scytalidium vaccinii* (Dalpé et al., 1989). На основании морфологического и генетического сходства позднее было подтверждено, что *S. vaccinii* является анаморфой *R. ericae* (Egger, Sigler, 1993).

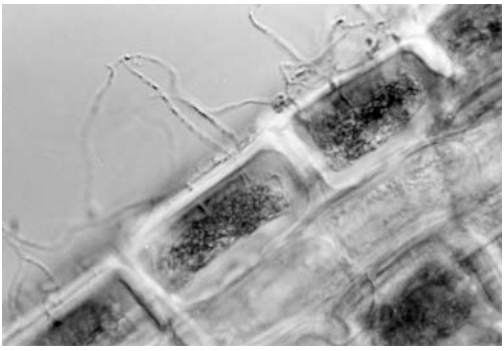
Относительно недавно внимание исследователей обратилось к вопросам, касающимся более широкого спектра филогенетических взаимосвязей медленнорастущих грибов, выделяемых из корней вересковых, для которых показано образование ЭрМ, но также широко представленных в почве. Особенный интерес вызывают родственные отношения внутри обширной группы *Hymenoscyphus*, включающей *Rhizoscyphus ericae*. С накоплением данных о последовательностях ДНК, все более укрепляется мнение о

[2] По данным базы «Index Fungorum» *R. ericae* (Read) Zhang et Zhuang в настоящее время трактуется как *Pezoloma ericae* (D.J. Read) Baral и помещается в семейство Leotiaceae порядка Leotiales (прим. перев).

А



Б



В

Рисунок 11.11. Выход гиф *Rhizoscyphus ericae* из колонизированных ризодермальных клеток *Calluna vulgaris* после серийного промывания, мацерации и культивирования на голодном агаре. А — изолированная одиночная ризодермальная клетка с гифой, показавшейся через 7 дней инкубации; Б — гифы, выходящие из колонизированной клетки, расположенной среди незаселенных грибами; В — гифы, выходящие из ризодермальных клеток интактного фрагмента корня. Фото Д.Дж. Рида.

том, что род *Hymenoscyphus* содержит комплекс генетически сходных представителей. Было показано, что гриб, образующий эктомикоризу морфотипа *Piceirhiza bicolorata* (по Agerer et al., 1987–2002; см. гл. 6 и приложение 6.1B), в дополнение к сходным культуральным характеристикам, демонстрирует 95% идентичность последовательностей области ITS1 с *R. ericae* (Vrålstad et al., 2000). Филогения на основании ITS1 предполагает наличие единой основной эволюционной линии, к которой относятся грибной симбионт *P. bicolorata* и *R. ericae*, образующие кладу, поддерживаемую бутстрэп-индексом на 100%. Этот факт не только подтверждает точку зрения, что *R. ericae* хорошо обособлен генетически, но и демонстрирует возможность наличия генотипов, способных к

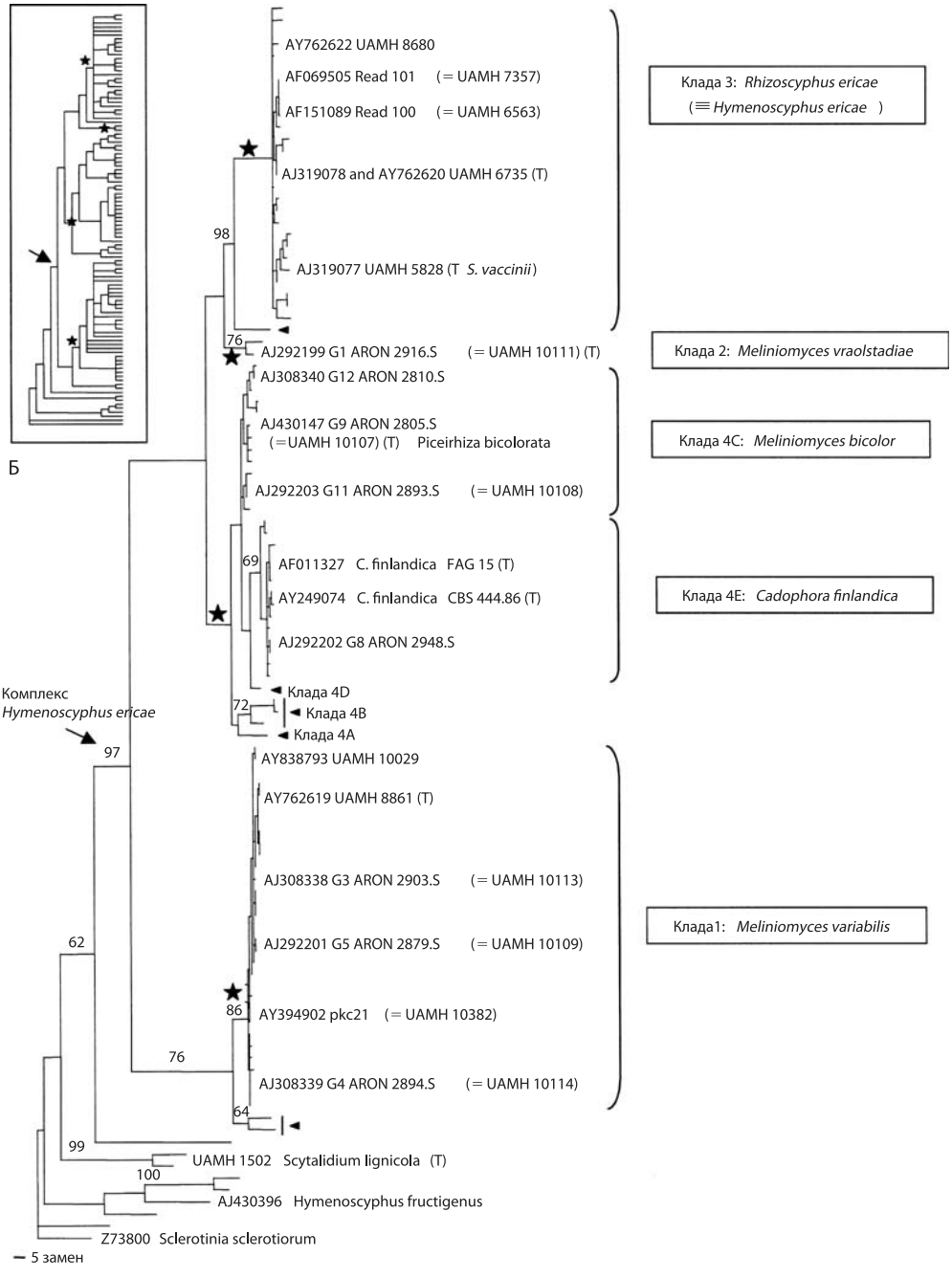
образованию эктомикоризы наряду с участием в ЭрМ симбиозах. Дальнейшие исследования, включающие сравнительный филогенетический анализ изолятов, выделенных из корней ЭрМ и эктомикоризных растений, с представленными в коллекциях культур (Vrålstad et al., 2002a), укрепили мнение о том, что *R. ericae* представляет собой часть более обширной близкородственной группы гелоциевых аскомицетов. Было получено большое количество ITS последовательностей, родственных представителям порядка Helotiales, из них 75% группировались в пределах комплекса *Hymenoscyphus*. Построение на основе полученных данных дендрограммы максимальной парсимонии (МРТ) выявило четыре крупных клады, устойчивых при разных способах построения. Типовые культуры *R. ericae* и *Scytalidium vaccinii* объединялись в кладе 3. Клада 1 также содержала некоторые изоляты из ЭрМ, в то время как клады 2 и 4 в основном состояли из симбионтов эктомикоризных корней. Последний генетический анализ комплекса *Hymenoscyphus ericae*, также основанный преимущественно на данных об ITS последовательностях (Hambleton, Sigler, 2005), в основном подтвердил, но и дополнил существовавшую филогению (Vrålstad et al., 2002a). Детальный анализ МРТ (рис. 11.12) вновь выявил четыре основные клады, сходные по составу с обнаруженными прежде (Vrålstad et al., 2002a).

В функциональном отношении основные вопросы связаны с микоризным статусом членов комплекса *Hymenoscyphus ericae*. При постановке экспериментов по перекрестной инокуляции для выявления способностей штаммов *H. ericae* из эктомикоризных или ЭрМ корней формировать указанные типы микориз у стерильных сеянцев растений-хозяев, было показано, что изоляты из эктомикоризных корней не способны образовывать ЭрМ симбиозы и наоборот (Vrålstad et al., 2002b). Другими исследователями также было выявлено, что изоляты из эрикоидной микоризы формируют только этот тип симбиоза (Hambleton, Sigler, 2005). Подобные данные предоставили дополнительные свидетельства того, что клада 3 (Vrålstad et al., 2002b; Hambleton, Sigler, 2005) (см. рис. 11.12) отличается функционально так же, как и генетически и составляет вид *Rhizoscyphus ericae* в пределах комплекса *H. ericae*.

В исследованиях С. Хэмблтон и Л. Зиглер (Hambleton, Sigler, 2005) помимо ряда представителей медленнорастущих темноокрашенных стерильных мицелиальных грибов (ТС) из эктомикориз и ЭрМ также были использованы более светлые изоляты, имеющие в культуре окраску от бесцветной до серой, аналогичные упоминавшимся в старой литературе (см. выше). Они были описаны как «изменчивый белый таксон» (Hambleton, Currah, 1997). На основании морфологии и ITS, С. Хэмблтон и Л. Зиглер предложили новый анаморфный род *Meliniomyces* (Hambleton et Sigler, anam. gen. nov) для двух выявленных таксонов (Hambleton, Sigler, 2005). Два вида, *M. vraolstadiae* и *M. bicolor,* входили в кладу 2 и 4 соответственно в рамках комплекса *Hymenoscyphus ericae*, в то время как *M. variabilis*, большинство штаммов которого оказались немикоризными, вошел в состав клады 1 (рис. 11.12).

Также внутри клады 4 оказались представители рода *Cadophora* (= *Phialophora*), известные как микобионты экто- и эктэндомикориз (см. гл. 5 и 7). Описан только один случай образования видом этого рода, *C. finlandica* (=*P. finlandia*), изначально выделенным из эктомикоризного окончания *Piloderma bicolor*, как эрикоидной микоризы с *Vaccinium*, так и эктомикоризы с сосной при выращивании обоих растений в двойной культуре (Villareal-Ruiz et al., 2004). Возможная экологическая роль этого явления обсуждается в гл. 15.

Филогенетические исследования статуса изолятов из корней австралийских эпакрисовых вновь показали, что в пределах группы преимущественно стерильных медленнорастущих темноокрашенных аскомицетных грибов существует значительное генетическое разнообразие (Hutton et al., 1994; McLean et al., 1999; Chambers et al., 2000; Midgley et al., 2002, 2004b; Bougoure, Cairney, 2005a). Несмотря на то, что кажется ясным, что большая часть этих представителей принадлежит к порядку Helotiales, есть свидетель-


AY762622 UAMH 8680
AF069505 Read 101 (= UAMH 7357)
AF151089 Read 100 (= UAMH 6563)
AJ319078 and AY762620 UAMH 6735 (T)
AJ319077 UAMH 5828 (T S. vaccinii)
AJ292199 G1 ARON 2916.S (= UAMH 10111) (T)
AJ308340 G12 ARON 2810.S
AJ430147 G9 ARON 2805.S
(=UAMH 10107) (T) Piceirhiza bicolorata
AJ292203 G11 ARON 2893.S (= UAMH 10108)
AF011327 C. finlandica FAG 15 (T)
AY249074 C. finlandica CBS 444.86 (T)
AJ292202 G8 ARON 2948.S
Клада 4D
Клада 4B
Клада 4A
AY838793 UAMH 10029
AY762619 UAMH 8861 (T)
AJ308338 G3 ARON 2903.S (= UAMH 10113)
AJ292201 G5 ARON 2879.S (= UAMH 10109)
AY394902 pkc21 (= UAMH 10382)
AJ308339 G4 ARON 2894.S (= UAMH 10114)
UAMH 1502 Scytalidium lignicola (T)
AJ430396 Hymenoscyphus fructigenus
Z73800 Sclerotinia sclerotiorum
5 замен
98
76
69
72
97
62
86
76
64
99
100
Клада 3: Rhizoscyphus ericae (≡ Hymenoscyphus ericae)
Клада 2: Meliniomyces vraolstadiae
Клада 4C: Meliniomyces bicolor
Клада 4E: Cadophora finlandica
Клада1: Meliniomyces variabilis
Комплекс Hymenoscyphus ericae
Б
А

ства, что некоторые из них, относимые к комплексу *Hymenoscyphus ericae,* были получены в результате исследований *Woolsia pungens* (Midgley et al., 2002) и австралийского эндемика *Rhododendron lochiae* (Bougoure, Cairney, 2005b). В дендрограмме, построенной методом ближайшего соседа на основании последовательностей ITS по данным для изолятов из эрикоидных Северного полушария и австралийских эпакрисовых (Sharples et al., 2000a), микобионты ЭрМ разделились на две хорошо выраженные клады. Одна клада включала как эндофиты *W. pungens* и *Epacris impressa*, так и изоляты *Hymenoscyphus* из не-эпакрисовых вересковых Северного полушария, в то время как другая охватывала большинство описанных к тому времени эндофитов эпакрисовых, для которых было показано родство с порядком Helotiales, но не входящих в комплекс *Hymenoscyphus*. Очевидно, что необходимо более точное определение таксономического положения изолятов из австралийских эпакрисовых. Стоит отметить, что, к настоящему времени, не было проведено молекулярного анализа ни эндофитов эпакрисовых из верещатников западноавстралийской пустыни, ни изолятов из эпакрисовых за пределами Австралийского континента.

Еще один часто выделяемый из гифальных клубков в ЭрМ корнях как в Северном, так и в Южном полушариях представитель аскомицетов — *Oidiodendron* (Ascomycota, Onygenales) (Burgeff, 1961; Dalpé, 1986; Douglas et al., 1989; Hambleton et al., 1998; Monreal et al., 1999; Berch et al., 2002; Allen et al., 2003; Addy et al., 2005; Bougoure, Cairney, 2005a, b). Несмотря на наличие целого ряда выявленных видов, большинство штаммов, как выяснилось, принадлежит к *O. maius* (Hambleton et al., 1998). Микоризный статус этого гриба был подтвержден экспериментами по повторной инокуляции *Gaultheria shallon* в Канаде (Monreal et al., 1999) и *Calluna vulgaris* (Leake, Read, 1991), *Rhododendron* spp. (Douglas et al., 1989) и *Erica arborea* (Bergero et al., 2000) в Европе. Изоляты *Oidiodendron*, полученные из корней *Rhododendron lochiae*, формировали типичные эрикоидные гифальные клубки в корнях *Vaccinium macrocarpon* (Bougoure, Cairney, 2005b).

Среди прочих представителей родов культивируемых аскомицетов, выявленных в корнях вересковых молекулярными методами и формирующих гифальные клубки в клетках растений-хозяев, можно отметить *Capronia* spp. (Chaetothyriales) (Bergero et al., 2000; Berch et al., 2002; Allen et al., 2003) и *Acremonium strictum* (Xiao, Berch, 1995). Функциональный статус последнего неясен, но виды *Capronia* известны как микопаразиты (Untereiner, Malloch, 1999). Присутствие в корнях вересковых *A. strictum,* вида, широко известного как эндофит в побегах покрытосеменных, было показано молекулярными методами, но позднейшими исследованиями эти данные подтверждены не были.

Целый ряд грибов, встречающихся в ЭрМ корнях, представляет собой, насколько известно, некультивируемые организмы, что также затрудняет определение их статуса. Наиболее значимыми из них являются базидиомицетные представители из рода *Sebacina,* в особенности, *S. vermifera*. Вероятно, большинство видов *Sebacina*, присут-

Рисунок 11.12. Филогенетические связи в пределах комплекса *Hymenoscyphus ericae* по данным анализа генных ITS последовательностей. Дендрограмма представляет собой одно из 5000 деревьев максимальной парсимонии (МРТ) по анализу ITS/1 и 5,8S/ITS2 последовательностей культур, размещенных в «GenBank». Все последовательности внутри групп получены из культур, выделенных из корней, кроме четырех, полученных из ДНК, выделенной из корней напрямую. А — большинство таксонов в пределах комплекса *H. ericae* распределилось внутри четырех клад, отмеченных звездочками около соответствующих узлов, названия клад приведены справа. *Rhizoscyphus ericae* (клада 3) состоит почти полностью из подтвержденных симбионтов ЭрМ. Б — строгое соответствие всех 5000 МРТ без приведения названий таксонов. Звездочками обозначены те же клады, что и на рисунке (А). Из Hambleton, Sigler, 2005, с модификациями.

ствующих в корнях вересковых, могут быть отнесены к подгруппе B филогенетического древа рода (см. рис. 6.5, гл. 6). *Sebacina*-подобная ДНК была обнаружена в 11 из 15 микоризованных корней *Gaultheria shallon* и, так как 92 из 156 клонированных молекул ДНК из этих корней оказались принадлежащими к *Sebacina* типу, был сделан вывод, что эти грибы представляют собой обычные симбионты растений в природных местообитаниях (Allen et al., 2003). В ходе исследований ультраструктуры выяснилось, что гифы с септальным аппаратом базидиомицетного типа периодически встречаются в ризодермальных клетках вересковых. Долипоровые септы встречались преимущественно в мертвых клетках (Duddridge, Read, 1982b), но обнаружены также и в живых у *Calluna vulgaris* (Bonfante Fasolo, 1980), *Pieris* (Peterson et al., 1980) и *Dracophyllum* (Allen et al., 1989). Было отмечено строение порового аппарата, типичное для порядка Auriculariales, включающего род *Sebacina* (Bonfante-Fasolo, Gianinanzzi-Pearson, 1979). Так как себациноидные грибы известны как симбионты некоторых орхидных (Warcup, 1988; McKendrick et al., 2002a; Selosse et al., 2002a; см. гл. 12) и эктомикоризных растений (Weiss, Oberwinkler, 2001; Glen et al., 2002; Selosse et al., 2002b; см. гл. 6), их статус в ЭрМ корнях требует дальнейшего исследования. Существует мнение, что ряд себациноидных представителей подгруппы B образуют ЭрМ (Selosse et al., 2007), но приводимое в указанной работе определение симбиоза — «морфогенетический процесс, объединяющий корневую систему и почвенные грибы» не соответствует используемому здесь (см. Введение). Необходимы анатомические и культуральные исследования гифальных комплексов в корнях вересковых, в которых посредством молекулярного анализа выявлены *Sebacina*-подобные генотипы. Сообщение о том, что выделенный из орхидных штамм *Sebacina vermifera* поддается культивированию (Warcup, 1988), предполагает, что непосредственные культуральные методы также могут оказаться полезными.

В то время как молекулярные методы позволили выявить в волосовидных корнях вересковых неизвестные ранее микобионты, такие как *Sebacina*, отсутствие подтверждения нахождения там других видов, считавшихся микоризными, может помочь в решении ряда вопросов. Частое обнаружение плодовых тел базидиомицета *Clavaria argillacea* на почве вблизи эрикоидных в природных условиях (Gimingham, 1960; Seviour et al., 1973; Moore-Parkhurst, Englander, 1982) привело к появлению мнения о том, что этот вид может быть микобионтом ЭрМ. Серологические (Seviour et al., 1973) и иммуноцитохимические (Mueller et al., 1986) методы, а также исследования транспортных процессов (Moore-Parkhurst, Englander, 1982) показали, что этот гриб может быть ассоциирован с корневой системой вересковых, но отсутствие клавариоидных генотипов в корнях делает сомнительной возможность считать эти взаимоотношения микоризными.

Функциональные аспекты эрикоидных микориз

Почвы, на которых развиваются вересковые, обычно очень бедны доступными питательными веществами, и логично предполагать улучшение питания растений посредством колонизации ЭрМ грибами. Тем не менее, экспериментальное исследование эффектов ЭрМ затруднено тем, что стерилизация почв, на которых обычно обитают вересковые Северного полушария, может повлечь за собой высвобождение токсинов или удаление питательных веществ. Используя торф, простерилизованный путем автоклавирования, для создания безмикоризного контроля, Р. Фрислибен заключил, что основное значение ЭрМ грибов заключается в детоксикации почвы (Freisleben, 1936). В ходе последующих экспериментов с использованием проавтоклавированной почвы были получены некоторые свидетельства того, что колонизация ЭрМ грибами может улучшать питание растения, но проблемы, связанные с токсичностью и неясной природой инокулюма, делали интерпретацию полученных данных затруднительной (Brook, 1952; Mor-

rison, 1957b). Серьезный прорыв был сделан при применении двух различных подходов к оценке функций ЭрМ: исследования физиологических особенностей ЭрМ грибов в чистой культуре и сравнительного анализа ответов ЭрМ и немикоризных растений, выращенных при определенных условиях. Оба указанных подхода рассмотрены далее отдельно.

Физиологические особенности грибов эрикоидных микориз в чистой культуре

Некоторые особенности, такие как возможность культивирования, широкое распространение по всему миру и давно установленная видовая принадлежность, обусловили выбор *Rhizoscyphus ericae* и близкородственных видов в качестве модельных объектов для большинства исследований, проводимых в чистых культурах. Подобные работы, включают, в частности, установление способности *R. ericae* усваивать, как и большинство грибов, простые сахара (Pearson, Read, 1975), ионные формы неорганического N и P (Pearson, Read, 1975; Bajwa, Read, 1986) и аминокислоты (рис. 11.13).

В настоящее время обнаружены внутривидовые различия *Rhizoscyphus ericae* в утилизации азота (Cairney et al., 2000; Grellet et al., 2005). Способность штаммов *R. ericae* усваивать нитрат, аммоний и глутамин, что неудивительно, зависят от доступности органического углерода в среде (Grellet et al., 2005). Когда углерод присутствует в высокой концентрации, разница в скорости роста между штаммами может объясняться общим количеством поглощаемого азота, в то время как при условиях ограниченной доступности углерода, разница между штаммами связана с эффективностью использования азота, что может подразумевать внутривидовые особенности азотного метаболизма. При анализе штаммов, использованных Дж. Кэрни с коллегами (Cairney et al., 2000), в тех же условиях культивирования, были обнаружены различия в приросте биомассы (Grellet et al., 2005). Так как единственным отличием в двух экспериментах было время культивирования штаммов, был сделан вывод о необходимости учета временного фактора как влияющего на способность этих грибов использовать азот и, возможно, также другие питательные вещества (Grellet et al., 2005).

Более информативными для изучения экофизиологии оказались эксперименты, связанные с исследованием способности ЭрМ грибов разлагать субстраты, преобладающие в кислых почвах с типом гумуса мор, которые микобионты обычно заселяют вместе со своими автотрофными партнерами. Подобные процессы разложения были разделены на два типа: те, при которых может происходить разрушение органических соединений, способствующее как высвобождению питательных веществ, так и химическому разложению, и процессы, участвующие в обеспечении прямого доступа к элементам питания как таковым (Leake, Read, 1997; Cairney, Burke, 1998; Read, Perez-Moreno, 2003). Полимерные органические соединения в почве включают продуцируемые автотрофами, которые в случае многих эрикоидных сообществ представлены преимущественно именно ЭрМ растениями, и образующиеся при жизнедеятельности микроорганизмов и мезофауны почвы. В кислом мор-гумусе доминируют грибы и членистоногие. Помимо того, в дополнение к обычным компонентам клеточной стенки, вересковые растения продуцируют большое количество мономерных и полимерных фенольных соединений (Jalal et al., 1982, 1983). Разложение фенолов влечет за собой одновременно детоксикацию и освобождение связанного азота.

Способность *Rhizoscyphus ericae* разлагать пектин, целлюлозу, целлобиозу и гемицеллюлозу — основные структурные компоненты растительной клеточной стенки — и окислять фенольные кислоты, в том числе таннины, продемонстрирована в целом ряде исследований (табл. 11.1). Тем не менее, существует неопределенность относительно

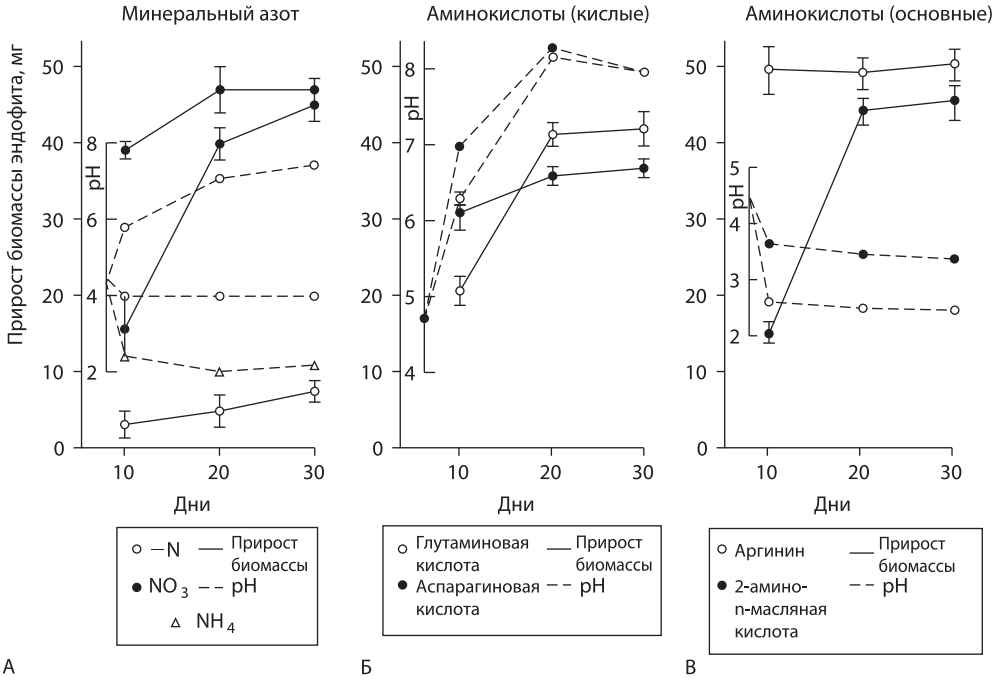


Рисунок 11.13. Прирост биомассы, сухой вес (сплошная линия) и изменения pH среды (пунктир) при выращивании *Rhizoscyphus ericae* на нитрате (NO_3), аммонии (NH_4) или наборе кислых и основных аминокислот в качестве единственного источника азота. Из Bajwa, Read, 1986.

степени развития и вообще наличия у *R. ericae* лигнолитической активности. Респирометрическими методами было получено доказательство высвобождения $^{14}CO_2$ из ароматических дегидрированных полимеров, составляющих структурный компонент лигнина (Haselwandter et al., 1990). Позднее Р. Бурк и Дж. Кэрни сделали предположение, что гриб может способствовать разложению лигнина путем воздействия гидроксильным радикалом, образующимся из перекиси водорода (H_2O_2) в присутствии железа (Fe II). Гидроксильные радикалы, как известно, являются промежуточным продуктом жизнедеятельности грибов-возбудителей бурой гнили в ходе разрушения лигнина. Образование связанной с клеточной стенкой пероксидазы — установленное необходимое условие для возможного окисления пиррогаллола у *R. ericae* (Bending, Read, 1997). Дж. Кэрни и Р. Бурк оспаривали это мнение, утверждая, что, так как гидроксильные радикалы недостаточно химически активны для катализа разрыва β-1 или β-O-4 связей, подобный механизм может участвовать только в частичном разложении лигнина (Cairney, Burke, 1998). Это согласуется с отмеченными низкими значениями скорости разложения субстрата (Haselwandter et al., 1990) и сходно более с процессом, происходящим при бурой, чем при белой гнили древесины, так как последний включает полное разложение полимерного соединения. Так как природа и степень выраженности лигнолитической активности *R. ericae* влияет и на конкурентоспособность этого вида в почве, и на углеродный баланс его ЭрМ симбиоза, представляется важным прояснить эти вопросы как можно скорее.

Известно, что структурные компоненты грибного мицелия различными способами участвуют в накоплении пула органических соединений в мор-гумусных почвы (Bååth,

Таблица 11.1. Внеклеточные ферменты, известные у грибов эрикоидной микоризы, предположительно обеспечивающие способность разрушать структурные компоненты растительных остатков в верещатниках и других вересковых растительных сообществах, оказывая таким образом влияние на процессы разложения подстилки, и способность разлагать азотсодержащие (белки) и фосфорсодержащие органические полимеры.

Процесс	Субстрат	Фермент	Источник
Разрушение растительной клеточной стенки	Пектин	Полигалактуроназа	Perotto et al., 1990; 1997
	Целлюлоза	Целлюлаза	Varma, Bonfante, 1994; Burke, Cairney, 1997a
	Целлобиоза	Целлобиогидролаза	Bending, Read, 1996a; Burke, Cairney, 1997a; 1998a
	Гемицеллюлоза	Ксиланаза	Burke, Cairney, 1998b; Cairney, Burke, 1998
		β-ксилозидаза	Bending, Read, 1996a; Burke, Cairney, 1997a; 1997b
		β-D-маннозидаза	Burke, Cairney, 1997a
		β-D-галактозидаза	Burke, Cairney, 1997a
		β-D-арабинозидаза	Burke, Cairney, 1997a
		β-1,3-глюканаза	Burke, Cairney, 1997a
Разрушение грибной клеточной стенки	Хитин	Хитиназа	Leake, Read, 1990c; Mitchell et al., 1992; 1997; Kerley, Read, 1995; 1997
Окисление фенольных кислот и таннинов	Полифенолы	Полифенолоксидаза	Varma, Bonfante, 1994
		Лакказа	Bending, Read, 1996b; 1997
		Катехин-оксидаза	Bending, Read, 1996a, 1997; Burke, Cairney, 1998
Гидролиз лигнина	Лигнин	Лигназа	Burke, Cairney, 1998a; Haselwandter et al., 1990*
Разрушение белково-полифенольных комплексов	Полифенолы	Полифенолоксидазы	Leake, Read, 1989b; 1990d; Bending, Read, 1996b
Разложение азотсодержащих полимеров	Белок	Кислая протеиназа	Bajwa et al., 1985; Leake, Read, 1990b; 1991; Ryan, Alexander, 1992; Chen et al., 1999*; Xiao, Berch, 1999*
Разложение органических фосфорсодержащих соединений		Кислая фосфатаза	Lemoine et al., 1992
		Фосфодиэстераза	Leake, Miles, 1996; Myers, Leake, 1996

* Данные получены косвенными методами, например, исходя из наличия соответствующих генов или роста тестового организма на определенном субстрате. Дополнительную информацию и более ранние источники см. в Leake, Read, 1997.

Söderström, 1979). Среди таких соединений особенно важен хитин, составляющий от 10 до 40% клеточной стенки гиф (Michalenko et al., 1976), который, как показано, вносит почти половину органического азота в F горизонт почвы под верещатниками, состоящими из *Calluna vulgaris* (Kerley, Read, 1997). Вид *Rhizoscyphus ericae* способен мобилизовать азот, содержащийся в двух основных конститутивных гексозаминах хитина, N- ацетилглюкозамине и N-ацетилгалактозамине (Kerley, Read, 1995), а также разлагать хитин в чистом виде (Leake, Read, 1990c; Mitchell et al., 1992; Kerley, Read, 1995). Очищенная фракция гифальной клеточной стенки, полученная из культур ЭрМ или эктомикоризных грибов и добавленная в питательную среду в качестве единственного источника азота, поддерживала жизнедеятельность *R. ericae* (Kerley, Read, 1997) (табл. 11.1).

Эти процессы играют важную роль в углеродном питании ЭрМ грибов и минеральном и углеродном питании растений, а также в разложении подстилки в почвах под верещатниками. Тем не менее, по своему физиологическому и экологическому значению они неотделимы от другого комплекса процессов, связанных со способностями эрикоидных эндофитов к прямому разрушению полимерных молекул, содержащих потенциальные элементы минерального питания. Среди них особый интерес представляют органические мономеры и полимеры, содержащие азот и фосфор, которые являются основными лимитирующими факторами для растений в вересковых сообществах.

Неудивительно, что мономерные формы органических азотсодержащих соединений быстро ассимилируются эндофитами ЭрМ (Bajwa, Read, 1985; Cairney et al., 2000; Grellet et al., 2005) (см. рис. 11.13), так как большинство грибов легко усваивают аминокислоты в качестве источников и углерода и азота, и некоторые предпочитают именно этот субстрат (Jennings, 1995). Способность получать доступ к полимерным источникам азота в форме пептидов, чистых белков или белково-полифенольных комплексов (см. табл. 11.1) представляет больший интерес, особенно в экологическом аспекте, так как для автотрофов, вероятно, недоступен азот, заключенный в подобных макромолекулах (см. также гл. 15). При культивировании *Rhizoscyphus ericae* на трипептиде глутатионе или пептидах в форме 2–6 аминокислотных остатков аланина в качестве единственного азотсодержащего вещества, было показано, что указанные соединения легко усваиваются грибом как единственный источник углерода и азота (Bajwa, Read, 1985). Их ассимиляция в целом замедлялась по мере увеличения длины цепи, но конечный прирост был одинаков и эквивалентен результатам, полученным при использовании органических мономеров или аммония. Эксперименты, в которых чистые белки — бычий сывороточный альбумин (БСА, молекулярная масса 67 000 Да) и растительные белки глиадин (27 000 Да) и зеин (40 000 Да), добавлялись в среды в качестве единственного источника азота и углерода, показали, что используемые штаммы способны поддерживать свою биомассу на таких субстратах (Bajwa et al., 1985) (табл. 11.1). Четыре изолята ЭрМ грибов из корней представителя эпакрисовых *Woolsia pungens* давали такой же или даже больший прирост биомассы на БСА как изоляты *R. ericae* из растений Северного полушария (Chen et al., 1999). В ходе последующих исследований было продемонстрировано существенное внутривидовое варьирование биомассы для штаммов *R. ericae*, культивируемых на БСА (Cairney et al., 2000). В настоящее время известно, что протеаза, принимающая участие в разрушении подобных молекул, представляет собой внеклеточную кислую карбоксипротеиназу (ЕС 3.4.23.6), образование и активность которой регулируется кислотностью (Leake, Read, 1989a, 1990a). Максимальная продукция и активность отмечаются в интервале значений pH 2 и 5, но оба показателя практически сходят на нет при pH 6 (рис. 11.14). Экологическое значение этих особенностей обсуждается ниже (см. гл. 15).

Протеолитическая активность может быть индуцирована наличием белка или его гидролизата (Leake, Read, 1990b, 1991) и увеличивается в присутствии аммония. Когда чистый белок использовали в качестве единственного источника азота для гриба, и общая и специфичная активность протеиназы значительно подавлялись при наличии глю-

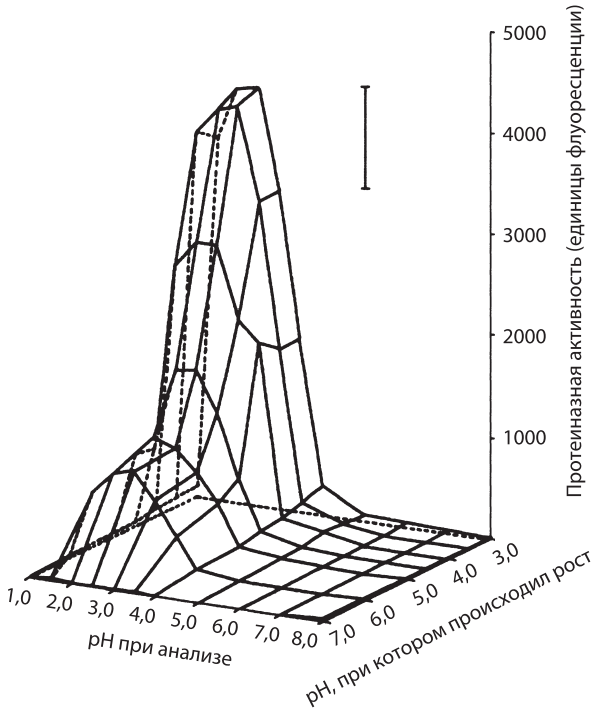


Рисунок 11.14. Активность протеиназы (в единицах флуоресценции за 3 ч, скорректировано с учетом белковых остатков) в фильтрате культуральной жидкости *Rhizoscyphus ericae* в зависимости от значений pH среды и pH, при котором проведен анализ. Значения представляют собой средние из четырех повторностей. Масштаб наименьшее значимое различие при $P<0{,}05$. Из Leake, Read, 1990a.

козы. Это наблюдение повлекло за собой предположение (Leake, Read, 1991) о том, что *Rhizoscyphus ericae* присуща регуляция синтеза ферментов по принципу «Ноева ковчега» (Burns, 1986). Этот принцип регуляции основан на том, что выделяемая внеклеточная протеиназа образуется в результате дерепрессии, которая в присутствии подходящего субстрата приводит к высвобождению продуктов первичного гидролиза белка, играющих роль вестников для индукции полноценного синтеза фермента. Быстрое образование протеиназы у *R. ericae* при наличии белка предполагает, что подобная стратегия может быть весьма эффективной. Так как можно ожидать, что условия, способствующие дерепрессии, будут преобладать в типичных почвах вблизи эрикоидных волосовидных корней, относительно высокое значение pH и содержание сахаров внутри клеток будут обусловливать отсутствие или малую активность синтеза протеиназы в колонизированных клетках ризодермы (Leake, Read, 1991).

Несмотря на то, что возможная роль протеолитической активности в извлечении азота из органических субстратов очевидна, следует признать, что большая часть органического азота, особенно в мор-гумусных почвах, находится в виде более трудноразлагаемых соединений, чем белки (Kuiters, Denneman, 1987; Bending, Read, 1996a; 1996b). Тем не менее, было сделано предположение, что способность *Rhizoscyphus ericae* разлагать ряд фенольных кислот, так же как и более стойкие таннины (Leake, Read, 1989b; 1990d; Bending, Read, 1996a, b, 1997) может обеспечить грибу доступ к белковому азоту,

когда он связан с фенольными соединениями. Было подтверждено, что гриб эффективно использует азот, связанный с танниновой кислотой (Bending, Read, 1996b). Извлечение танниновой кислоты при действии лакказы и катехин-оксидазы (см. табл. 11.1) приводило к образованию и полимеризации хинонов в питательной среде. Метаболизм танниновой кислоты с образованием хинонов не только объясняет облегчение доступа *R. ericae* к таннин-связанным белкам — можно предполагать, что хиноны принимают активное участие в образовании гумуса в почвах под верещатниками.

Физиологические особенности эрикоидного микоризного симбиоза

Несмотря на то, что множество данных, полученных в результате исследований ЭрМ грибов в чистой культуре, указывает на возможные функции симбиоза, первостепенной задачей остается подтверждение этих особенностей в природной системе гриб-растение. Более того, так как данные о физиологии симбиоза могут быть применены в экологическом контексте, необходимо точно определять условия, при которых исследовали физиологические особенности симбионтов. Это особенно важно в применении к эрикоидному симбиозу, для которого в природе характерен узкий диапазон почвенных условий (Specht, 1979; Read, 1991a). Новые данные предоставлены исследованиями с использованием ряда экспериментальных систем, начиная от простых и легко описываемых, таких как гидропонная культура на песке, и до почвы вересковых пустошей, где условия приближены к природным, но их поддержание требует значительно больших усилий. Использование облучения для стерилизации почвы оказалось полезным, потому что при этом не выделяются токсины, но могут возникать проблемы, связанные с высвобождением избытка питательных веществ, в особенности, аммония (Stribley et al., 1975). С применением небольших количеств облученной почвы верещатников и штаммов *Rhizoscyphus ericae,* использованных в предыдущих работах (Pearson, Read, 1973a), было показано, что ЭрМ колонизация стабильно приводит к увеличению биомассы *Calluna* и *Vaccinium*, и эти эффекты сопровождались увеличением концентрации не только фосфора, но и азота в растительных тканях (Read, Stribley, 1973). Выявление подобного действия, аналогичного влиянию эктомикоризных грибов на древесные растения, привело к более детальному анализу роли эрикоидных микобионтов в питании при выращивании совместно с автотрофными партнерами.

Предположение о том, что ЭрМ колонизация может обеспечивать растению доступ к органическим источникам азота, появилось в результате исследования с использованием малых количеств облученной почвы из-под верещатников, на которой выращивали *Vaccinium*. Свободные и колонизированные *Rhizoscyphus ericae* растения были выращены при добавлении меченого ^{15}N-аммония, который, как предполагалось, являлся единственным существенным источником азота в используемой почве (Stribley, Read, 1974b). Колонизированные растения демонстрировали более высокую скорость роста и содержание азота, но имели меньшее содержание ^{15}N, чем безмикоризные (табл. 11.2). Так как только небольшое количество ^{15}N входило в состав органических соединений, разбавление метки в колонизированных растениях было объяснено их доступом к азоту в органических соединениях почвы. Этот эксперимент повлек за собой другие, преследующие цель определения этих возможных органических источников азота. Подходящими кандидатами на эту роль были, очевидно, аминокислоты, но только впоследствии выяснилось, что значительные пулы этих соединений присутствуют в почвах вересковых сообществ (см. гл. 8 и 15).

В дальнейшем ЭрМ и немикоризные растения выращивали в культуре на песке с добавлением отдельных аминокислот, таких как аланин, аспарагиновая кислота, глу-

таминовая кислота, глутамин или глицин, в качестве единственного источника азота (Stribley, Read, 1980). Прирост биомассы колонизированных растений был сравним с полученным при добавлении аммония, но большинство аминокислот мало усваивалось немикоризными растениями, вне зависимости от того, в стерильных или нестерильных условиях они были выращены (Stribley, Read, 1980). Очевидно, что азот, содержащийся в аминокислотах и их амидах, который, как было показано ранее, ассимилируется *Rhizoscyphus ericae* (см. рис. 11.13) в чистой культуре, быстро транспортируется к ЭрМ растениям. Электрофизиологическими исследованиями было подтверждено, что присутствие *R. ericae* в ризодермальных клетках *Calluna vulgaris* вызывает существенное усиление притока аминокислот (Sokolovski et al., 2002). Объем транспорта аспарагина, гистидина, орнитина и лизина сильно возрастает в колонизированных клетках. Эти данные предполагают, что ЭрМ колонизация запускает дерепрессию высокоаффинной системы поглощения аминокислот в волосовидных корнях *C. vulgaris*, что повышает эффективность усвоения этих молекул из почвенного раствора.

Таблица 11.2. Содержание азота, прирост биомассы и избыток ^{15}N в побегах микоризных (М), немикоризных (НМ) и безмикоризных растений *Vaccinium macrocarpon*, инокулированных немикоризобразующими сапротрофными грибами (С) после 6 месяцев культивирования в почве с меченым аммонием ($^{15}NH_4$).

Растение	Содержание N (% воздушно-сухой массы)	Прирост биомассы (мг воздушно-сухой массы)	Общее содержание N(мг/ растение)	Избыток ^{15}N (% атомов)
Стерильные сеянцы	0,94	4,23	0,04	0
Растения после 6 мес. с момента инокуляции				
Микоризные (М)	1,20	30,32+	0,36+	15,38+
Немикоризные (НМ)	0,98	20,97+	0,21+	20,03+
Инокулированные				
Trichoderma spp.	0,94	18,80	0,18	ДО
Aspergillus spp.	0,82	16,20	0,18	ДО

По Stribley, Read, 1974. Примечания: значения представляют собой среднее выборки из 14 растений, кроме стерильных сеянцев, где объем выборки был равен 30; + — значения достоверно различаются между категориями М и НМ при $P<0{,}001$; ДО — данные отсутствуют.

Влияние ЭрМ колонизации на доступ вересковых к полимерным источникам азота подвергалось интенсивному исследованию. Когда ЭрМ и немикоризные особи *Vaccinium corymbosum* выращивали с использованием белков в качестве единственного источника азота, колонизированные растения демонстрировали во всех случаях более высокое содержание азота и больший прирост биомассы, чем их немикоризные аналоги на всех, за исключением двух, белковых субстратах (Bajwa, Read, 1985). В сходных экспериментах с использованием БСА в качестве единственного источника азота были продемонстрированы существенно большие прирост биомассы (рис. 11.15А) и содержание азота в тканях (рис. 11.15Б) у ЭрМ растений (Bajwa et al., 1985). Показано, что *Gaultheria shallon* образует большую биомассу на БСА при совместном росте с *Rhizoscyphus*

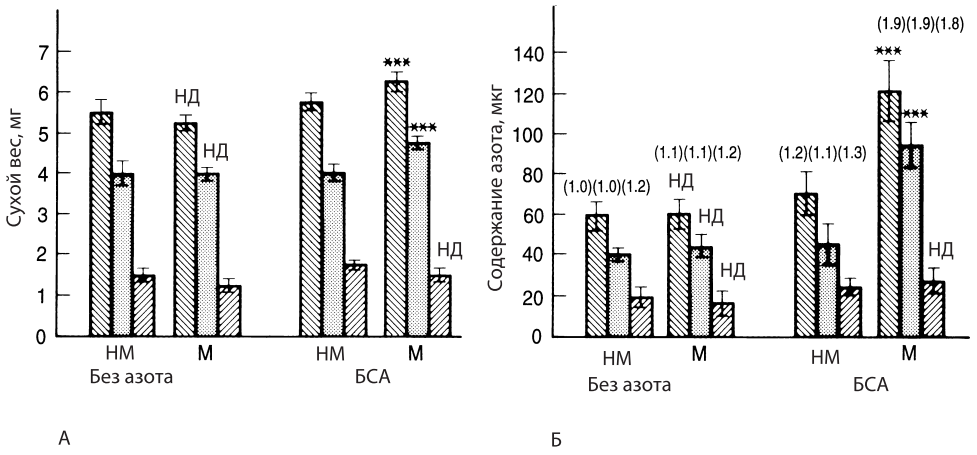


Рисунок 11.15. Распределение (А) сухой массы и (Б) содержания азота в целом растении (левый столбец), и между надземной частью (центральный столбец) и корневой системой (правый столбец) микоризных (М) и немикоризных (НМ) растений *Vaccinium macrocarpon* при росте на БСА или без источника азота в течение 30 дней. Конечная концентрация азота приведена в скобках. *** — статистически значимые различия между М и НМ растениями в режиме питания при уровне значимости $P<0{,}001$; НД — различие недостоверно. Приведены средние значения и стандартная ошибка среднего для выборки из 24 растений. Из Bajwa et al. 1985.

ericae, *Oidiodendron maius* и двумя другими ЭрМ штаммами, отличными от *R. ericae*, но принадлежащими к порядку Helotiales (Xiao, Berch, 1999).

Насколько микоризная колонизация может обеспечить доступ к азоту, содержащемуся в белках, присутствующих в форме белково-таннинового комплекса — вопрос, решить который возможно экспериментальным путем — путем выращивания *Rhizoscyphus ericae* на указанном азотном субстрате (Bending, Read, 1996b). *R. ericae,* наряду с изолятом рода *Oidiodendron*, возможно, *O. maius*, давали рост эквивалентный или даже больший на сложном азотсодержащем субстрате сравнительно с такими источниками азота как чистый белок или аммоний. В работе Д. Рида и С. Керли показано, что отмерший мицелий или очищенная фракция клеточных стенок *Rhizoscyphus ericae* могут быть использованы в качестве источника азота для микоризованных, но не безмикоризных растений *Vaccinium macrocarpon* (Read, Kerley, 1995). Азот высвобождался из обоих типов субстрата в количествах, достаточных для поддержания роста ЭрМ растений, как в случае внесения в виде интактного мицелия (рис. 11.16А), так и в форме очищенных клеточных стенок (рис. 11.16Б). Так как отдельный анализ обоих типов субстрата показал малое количество минеральных форм азота, был сделан вывод, что мобилизация азота из органических источников происходила посредством объединения протеолитической и хитинолитической активности.

Растительные остатки самих вересковых образуют основной компонент почв верещатников, в особенности, в тех местообитаниях, где эти жестколистные кустарники присутствуют практически без примесей других видов. Были проведены исследования прямого участия ЭрМ симбиоза в мобилизации азота из растительных остатков (Kerley, Read, 1998). ЭрМ и немикоризные особи *Vaccinium macrocarpon* были выращены в стерильных условиях, и, после высушивания их тканей стерильная мортмасса была разделена на фракции побегов, ЭрМ и немикоризных корневых систем, и каждая из них была использована как субстрат, содержащий определенное количество азота, для растений,

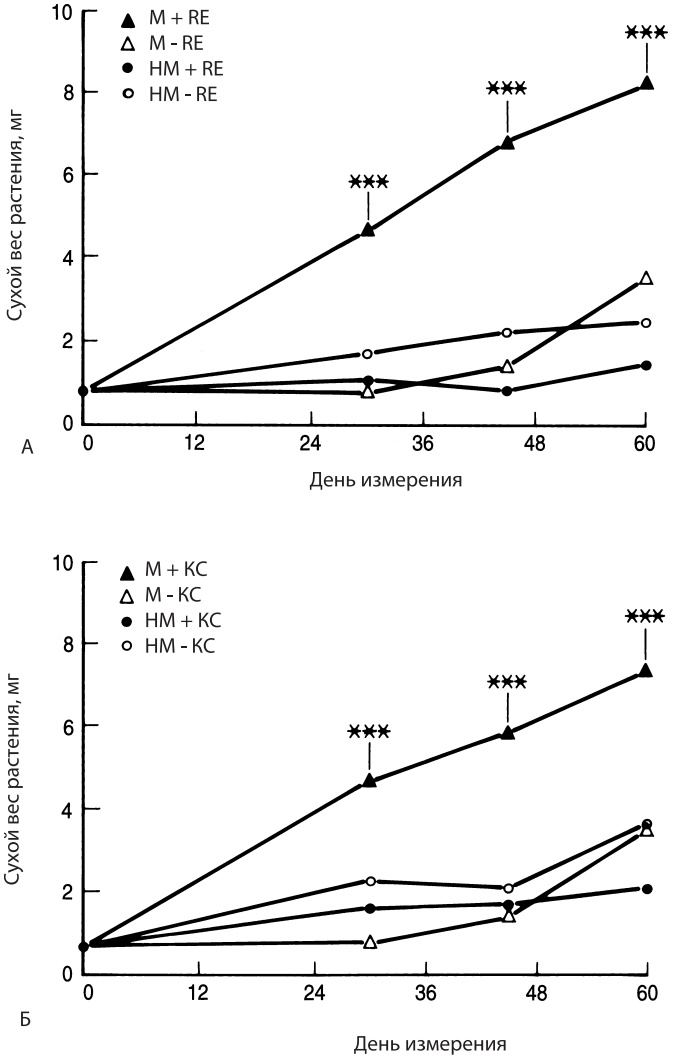


Рисунок 11.16. Применение мицелия в качестве единственного источника азота для *Vaccinium macrocarpon* в симбиозе с *Rhizoscyphus ericae* (М) или немикоризных растений (НМ). А — рост растений с (+RE) или без (-RE) мортмассы *R. ericae* в качестве единственного источника азота. Б — рост растений с (+КС) и без (-КС) очищенной фракции клеточных стенок *R. ericae* в качестве единственного источника азота. Обозначения соответствуют указанным в заголовке. Вертикальная линия — наименьшее значимое различие при уровне значимости $P<0{,}05$, *** — результат однофакторного дисперсионного анализа для сравнения М+ субстрата с НМ+ субстратом при $P<0{,}001$. Из Read, Kerley, 1995.

выращенных вместе с *Rhizoscyphus ericae* или отдельно. Только для растений, культивируемых в условиях ЭрМ симбиоза, был доступен азот, содержащийся в предложенных субстратах. У этих растений на всех типах субстратов биомасса была значительно выше, чем у немикоризных, но в особенности способствовала росту мортмасса ЭрМ

корней. После 60 дней культивирования, 76% азота, содержащегося в этой фракции, было обнаружено в тестовых растениях (табл. 11.3). Очевидно, что субстраты, приготовленные в стерильных условиях, не являются точным отображением природных, но подобные эксперименты демонстрируют способность эрикоидных симбиотических систем выполнять как функции мобилизации элементов питания, так и разложения субстратов, продуцируемых ими самими. Экологические следствия этих наблюдений обсуждены далее (см. гл. 15).

Таблица 11.3. Доля азота из субстрата разных типов (мортмасса побегов, немикоризных и микоризных корней *Vaccinium macrocarpon*) в М и НМ растениях *Vaccinium macrocarpon*, выращенных в стерильных условиях, через 60 дней роста (доли в процентах скорректированы с учетом содержания азота в семенах).

Субстрат	Доступный азот в субстрате, мг	Азот из субстрата, присутствующий в М растении, %	Азот из субстрата, присутствующий в НМ растении, %
Побеги	0,26	40	4,6
НМ корни	0,26	43	1,9
М корни	0,26	76	4,2

По Kerley, Read, 1998.

Сравнение концентраций фосфора в тканях вересковых растений, выращенных при ЭрМ колонизации или без нее, показало, что грибы способны увеличивать доступ к этому элементу так же, как и к азоту (Read, Stribley, 1973; Mitchell, Read, 1981). Во многих почвах под верещатниками основными источниками фосфора являются органические остатки, в которых развиваются корни. Фитаты, как было показано, являются наиболее значительным в количественном отношении ресурсом органического фосфора в почве (Cosgrove, 1967), хотя в последнее время выясняется, что фосфодиэфиры, например, нуклеиновые кислоты, могут присутствовать в почвах в значительных количествах и быть более лабильными, чем моноэфиры (Griffiths, Caldwell, 1992; см. гл. 9).

При повышенной кислотности, наблюдающейся в почвах верещатников, фосфомоноэфиры обычно образуют комплексы с железом и алюминием, образуя Fe- или Al-фитаты. Было показано, что эти соединения доступны для эрикоидных эндофитов из *Vaccinium* и *Rhododendron* (Mitchell, Read, 1981), и установлены фосфомоноэстеразные ферменты, участвующие в высвобождении фосфора из подобных субстратов. Некоторое время назад было установлено, что ферментативная активность наиболее высока при низких концентрациях фосфора в окружающей среде (Pearson, Read, 1975). Впоследствии было продемонстрировано образование изоферментов (Straker, Mitchell, 1986; Straker et al., 1989), активность которых повышалась в присутствии Fe^{3+} в низкой концентрации. Низкомолекулярная форма фермента, вероятно, селективно образующаяся при низкой концентрации фосфора (Lemoine et al., 1992), способна к гидролизу таких соединений как АТФ, АДФ и АМФ (Straker, Mitchell, 1986).

В ходе сравнительного анализа образования внеклеточной кислой фосфатазы у ЭрМ эндофитов, выделенных из растений нескольких видов, наиболее высокая активность была выявлена у изолята из южноафриканского вида *Erica hispidula* (Straker, Mitchell, 1986). Растворимые ортофосфаты, становящиеся доступными в ходе минерализации, могут впоследствии усваиваться посредством систем поглощения низкого или высокого сродства, в зависимости от концентрации (Straker, Mitchell, 1987). Как показано иммунологическим методом мечения золотом, высокомолекулярная фосфатаза ассоции-

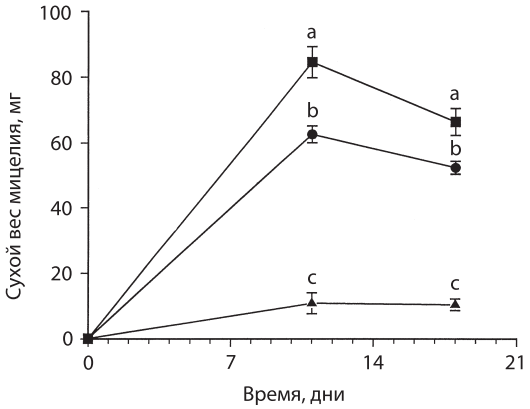


Рисунок 11.17. Рост мицелия *Rhizoscyphus ericae* на среде с ДНК (■) или ортофосфатом (5 мМ Р) (●) по сравнению с ростом без источника фосфора (▲). Разброс — стандартная ошибка среднего, буквами (a–c) обозначены статистически достоверные по тесту Тьюки различия средних значений в каждой точке измерения. Из Miles, Leake, 1996.

рована исключительно с клеточной стенкой и септами живых гиф (Straker et al., 1989). Имеются свидетельства того, что активность этого связанного с клеточной стенкой фермента наиболее высока в гифах, расположенных рядом с корнем, и сильно снижается по мере удаления от растения (Gianinazzi-Pearson et al., 1986). Это может быть связано со снижением концентрации фосфора вблизи поверхности корня или с контролем ферментативной активности со стороны растения. В любом случае, максимальный уровень активности именно в зоне ризосферы, особенно, ввиду низкой специфичности кислых фосфатаз в отношении фосфомоноэфиров, обеспечивает доступ растения к целому ряду органических ресурсов.

Увеличивается число данных о количественном значении фосфодиэфиров в кислых органических почвах. Было изучено образование фосфодиэстеразы у *Rhizoscyphus ericae* вместе со способностью гриба усваивать ДНК как единственный источник фосфора (Leake, Miles, 1996). Был показан рост гриба на этом субстрате, сухой вес мицелия был выше, чем при добавлении ортофосфата (рис. 11.17). Выявленная ферментативная активность, как минимум, частично обусловлена действием экзонуклеазы 5’ нуклеотидиэстеразы. Оптимум pH для этой активности находился в интервале от 4,0 до 5,5. Показано, что как изоляты из представителя эпакрисовых *Woolsia pungens,* так и штаммы *R. ericae* из Северного полушария способны усваивать и ДНК и инозит-гексафосфат в качестве источников фосфора (Chen et al., 1999).

Кроме участия в поглощении и транспорте основных элементов минерального питания, азота и фосфора, ЭрМ грибы играют важную роль в обеспечении растения другими элементами. Наиболее хорошо изучено их влияние на поглощение железа. Форма и, следовательно, доступность этого элемента может значительно меняться в почвах вересковых ценозов, где в связи с водным балансом имеются сезонные флуктуации реакций окисления и восстановления. Было показано, что в таких условиях регуляция поступления элементов оказывается более важной, чем процессы поглощения или исключения веществ сами по себе (Shaw et al., 1990). Штаммы *Rhizoscyphus ericae* сохраняют жизнеспособность при экстремальных концентрациях железа, подобных предположительно существующим в почвах под верещатниками. При наиболее высокой наружной концентрации железа (144 мкг/мл), содержание Fe в мицелии возрастает соответственно. Это подразумевает наличие у гриба способности к регуляции усвоения железа растением даже в условиях почвенного раствора, обогащенного этим элементом. Регуляция, вероятно, основана на контроле сродства грибных структур к железу. И в чистой культуре и в колонизированных корнях *Vaccinium macrocarpon* или *Calluna vulgaris* гриб *R. ericae* демонстрировал необычайно высокое сродство к железу при низких концентрациях (2,0 мкг/мл), которое закономерно снижалось при повышении внешней

концентрации Fe. Высокое сродство объясняется образованием специфичных к железу сидерофоров (Schuler, Haselwandter, 1988; Federspiel et al., 1991), структура многих из этих соединений в настоящее время определена. Наиболее часто встречающийся сидерофор *R. ericae* и *Oidiodendron idiodendron griseum* — феррикроцин, но у родственного эндофита; выделенного из обитающего на известковых почвах кустарника *Rhodothamnus chamaecistus,* был обнаружен сидерофор фузиген (Haselwandter et al., 1992; Haselwandter, 1996). Подобные сидерофоры могут участвовать в активизации специфической абсорбции железа, отмеченной у ЭрМ растений *Calluna*, выращенных при добавлении солей кальция (Leake et al., 1990a). Эти соединения особенно важны для растений, подобно *R. chamaecistus* встречающихся в местообитаниях, богатых кальцием.

Rhizoscyphus ericae, как показано, также участвует в определении ответа колонизированного растения на не столь важные (и потенциально токсичные) элементы. Этот вид демонстрирует высокую устойчивость к растворимым формам алюминия, ингибирования мицелиального роста в культуре не происходит даже при концентрации Al^{3+} 800 мг/л (Burt et al., 1986). В исследовании Дж. Кэрни с соавт. (Cairney et al., 2001) было показано влияние Cd, Cu и Zn на прирост биомассы 13 аскомицетных ЭрМ изолятов *Woolsia pungens* и проведено сравнение с реакцией штаммов *R. ericae*, культивируемых при тех же условиях. Концентрации, эффективно снижавшие скорость роста ЭрМ грибов на 50% (EC 50) были примерно одинаковыми, что указывает на то, что устойчивость растений к металлам, обусловленная ЭрМ эндофитами Северного и Южного полушария, также окажется сходной.

Существует тесная связь между устойчивостью к мышьяку у обитающих на каолинитовых отвалах растений и их эрикоидными эндофитами. В данном случае грибы участвуют не только в защите автотрофного партнера от действия мышьяка, но и в снабжении растения фосфором. Являясь аналогом фосфата, арсенат способен транспортироваться через цитоплазматическую мембрану многих видов растений и грибов с помощью фосфатного переносчика (Meharg, Macnair, 1992). Было показано, что изоляты *Rhizoscyphus ericae* из районов заброшенных шахт быстро накапливают мышьяк, но обладают повышенной способностью к восстановлению арсената до арсенита (Sharples et al., 2000b, c). Затем арсенит выходит из гифы. Это позволяет грибу активно накапливать фосфор, не допуская дефицита этого элемента, и одновременно избегать отравления мышьяком. Устойчивость к мышьяку не была выявлена у изолятов *R. ericae* из незагрязненных почв, что свидетельствует об отборе, благоприятствующем устойчивости, в присутствии токсина (Sharples et al., 2000c).

Устойчивость *Rhizoscyphus ericae* и другого ЭрМ микобионта, *Oidiodendron maius*, к цинку также является адаптивной (Martino et al., 2000). Штаммы *O. maius*, выделенные при наличии цинкового загрязнения, отличались от выделенных из незагрязненных местообитаний более низкой способностью мобилизовать металл из нерастворимых оксида и фосфата цинка (Martino et al., 2003). В противоположность ЭрМ микобионту из загрязненных местообитаний, его аналог, выделенный с участка, не подвергавшегося загрязнению цинком, быстро мобилизовал металл из обеих солей путем выделения лимонной и яблочной кислоты. Так как подобное повышение доступности цинка было бы нежелательным в условиях загрязнения, был сделан вывод о том, что сравнительно низкий уровень мобилизации металлов отражает адаптивную стратегию штаммов из загрязненных местообитаний.

Была исследована способность четырех микобионтов ЭрМ переводить фосфор в растворимое состояние при культивировании с добавлением фосфата цинка в среды, содержащие разные источники азота и различные концентрации фосфора и углерода (Gibson, Mitchell, 2004). Все грибы усваивали фосфор независимо от типа добавленного источника азота, повышение концентрации ортофосфата в среде не было отмечено. При отсутствии глюкозы растворение субстрата не происходило. При условиях, оптимальных для растворения фосфата цинка, все грибы, за исключением одного, проявили

способность к растворению фосфата кальция при отсутствии активности в отношении фосфатов алюминия, железа и меди.

При изучении влияния загрязнения медью на рост, фосфомоноэстеразную и фосфодиэстеразную активность изолятов *Rhizoscyphus ericae*, выделенных из местообитаний при наличии и отсутствии загрязнения, было отмечено, что добавление меди в среду не оказывало влияния на биомассу штаммов, выделенных из загрязненных почв, в то время как рост грибов, выделенных из незагрязненных участков, существенно снижался (Gibson, Mitchell, 2005). Для грибов из загрязненных почв активность фосфодиэстеразы стимулировалась добавлением 0,25 мМ Cu в среду, но эти эффекты не наблюдались для изолятов из незагрязненных участков. У грибов из почвы с загрязнением медью активность связанной с клеточной стенкой фосфатазы не ингибировалась при концентрациях меди до 5,0 мМ. Эти результаты подтверждают ранние наблюдения (Bradley et al., 1981, 1982), свидетельствующие о том, что изоляты *R. ericae* из почв, загрязненных медью, могут проявлять конститутивную устойчивость к загрязнению.

Заключение

Применение молекулярных методов позволило прояснить представления о взаимодействии образующих эрикоидную микоризу растений и их микобионтов. Особенности симбиоза, выявленные в культуре, показали как наличие общих черт у изолятов микобионтов ЭрМ, так и существенные различия между ними. Филогенетические построения на основе ITS последовательностей некоторых наиболее часто выделяемых изолятов подтвердили высокую степень генетического разнообразия между штаммами, ранее относимыми к единому виду *Rhizoscyphus ericae*.

Rhizoscyphus ericae рассматривается как часть более крупного комплекса *Hymenoscyphus ericae*, члены которого могут образовывать также эктомикоризу. Есть свидетельства встречаемости членов этой группы, в особенности, *R. ericae*, в корнях эпакрисовых из Австралии. Несмотря на то, что известно, что изоляты из большинства эпакрисовых — аскомицеты из порядка Helotiales, многие представители не попадают в комплекс *H. ericae*. Последовательности ДНК базидиальных грибов, в особенности, видов рода *Sebacina*, были идентифицированы в волосовидных корнях вересковых, но их распространение, статус и функции в микоризных структурах пока остаются неизвестными. Виды *Sebacina* из подгруппы B были идентифицированы в структурах, напоминающих эктэндомикоризу в эпифитных представителях Vaccinioideae из Анд.

Подробное изучение методами световой и трансмиссионной и сканирующей электронной микроскопии позволило выявить основные события, связанные с прикреплением, проникновением и внутриклеточным развитием грибов в ризодермальных клетках корня. В настоящее время для локализации процессов транспорта питательных веществ применяют цитогистохимические и молекулярные методы, что обещает дальнейший прогресс в понимании фундаментальных симбиотических событий.

Экспериментальное исследование питания эндофитов вересковых и эпакрисовых в чистой культуре и изучение ферментов, принимающих участие в мобилизации структурных и содержащих питательные вещества полимеров, позволило выявить у этих грибов наличие широкого спектра сапротрофной активности. Ими усваивается целый ряд простых и сложных субстратов, что обеспечивает доступ к азоту и фосфору и мобилизацию этих элементов. При развитии в симбиозе с вересковыми грибы способствуют транспорту питательных веществ, изначально содержавшихся в полимерах, в растение. Пополнились сведения как о экзоферментах грибов, участвующих в мобилизации элементов питания, так и о роли факторов окружающей среды в индукции и репрессии ферментативной активности.

Помимо прямого влияния колонизации на улучшение питания растения, имеются и другие экологически значимые преимущества. Способность грибного партнера изолировать и, в ряде случаев, метаболизировать токсичные для растения ионы металлов имеет большое значение. Эти особенности ЭрМ симбиоза вересковых, связанные как с питанием, так и с другими физиологическими функциями, существенно влияют на способность растений этой группы обитать в естественных сообществах вересковых пустошей и в нарушенных местообитаниях, таких как отвалы шахт.

12
Микоризы зеленых орхидных

Введение

Семейство орхидные (Orchidaceae), насчитывающее 20–35 тысяч видов, является одним из крупнейших и наиболее разнообразных в царстве растений (Cribb et al., 2003). Это семейство принадлежит к однодольным, порядку Asparagales (Chase et al., 2003), но занимает в его пределах обособленное положение (Chase, 2004). Несмотря на то, что орхидные представляют собой древнюю группу, возможно, появившуюся до распада Пангеи около 100 млн. лет назад, это семейство одно из наиболее высокоорганизованных и уникальных среди покрытосеменных растений, и в нем до сих пор с высокой скоростью происходит дивергенция и видообразование (Chase, 2001). Семейство Orchidaceae можно разделить на пять монофилетичных подсемейств: Apostasioideae, Cypripedioideae, Vanillioideae, Orchidioideae и Epidendrioideae (рис. 12.1). Среди них представители Apostasioideae считаются базальной линией, а подсемейство Epidendrioideae, включающее наибольшее количество видов — наиболее продвинутой группой.

Подавляющее большинство видов орхидных — зеленые растения, и в силу этого хотя бы предположительно автотрофны в течение надземных стадий цикла развития. Именно эти формы обсуждены в данной главе. Описание микоризных взаимодействий тех орхидных, которые лишены хлорофилла во взрослом состоянии и полностью зависят от грибного партнера на протяжении всей жизни (полностью микогетеротрофных видов в понимании Leake, 2004), приведено в гл. 13. Тем не менее, как уже было отмечено относительно семейства Pyrolaceae (см. гл. 7), присутствия хлорофилла может быть недостаточно для подтверждения полной автотрофии, и имеются достоверные свидетельства того, что некоторые зеленые растения из целого ряда семейств, включая Orchidaceae, частично микогетеротрофны (Gebauer, Meyer, 2003; Bidartondo et al., 2004; Selosse et al., 2004). Эти так называемые «миксотрофные» виды орхидных, включающие представителей родов *Cephalanthera* и *Epipactis*, описаны наряду с полностью микогетеротрофными в гл. 13. Однако мы подчеркиваем, что смена полной автотрофии на полную микогетеротрофию у семейства Orchidaceae происходила с возникновением целого спектра промежуточных состояний, и принятое нами разделение на две группы преследует только цели удобства изложения. Тем не менее, следует отметить, что в то время как упомянутые здесь полностью автотрофные орхидные преимущественно ассоциированы с грибами из сапротрофного формального рода *Rhizoctonia*, миксотрофные и полностью гетеротрофные формы в основном образуют симбиозы с эктомикоризными (ЭМ) грибами (см. гл. 13).

Зеленые орхидные распространены по всему Земному шару, их можно встретить в большинстве типов наземных местообитаний от болот в высоких широтах, верещатников и лесов до пустынь и тропических дождевых лесов. Помимо наземных форм большое количество видов, особенно в тропиках, представлено эпифитами, а некоторые являются лианами. Несмотря на удивительное разнообразие, в

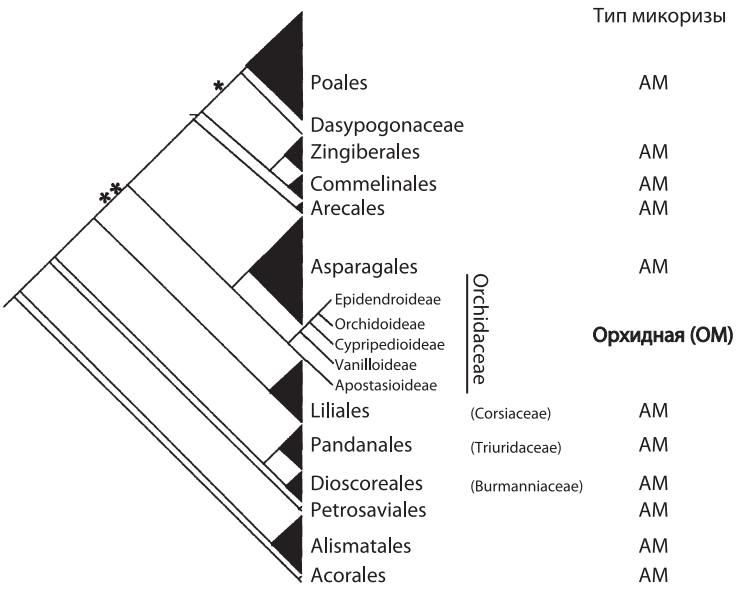


Рисунок 12.1. Кладограмма, основанная на комбинированном анализе 18s, *rbcL* и *matK* геномов, показывающая родственные связи между порядками однодольных растений и положение семейства Orchidaceae относительно микогетеротрофных семейств Corsiaceae, Triuridaceae и Burmanniaceae. Также приведены подсемейства в пределах Orchidaceae. Отмечено, что микоризы орхидного типа (ОМ) приурочены исключительно к сем. Orchidaceae. * обозначает узел с 50–74% бутстрэп-поддержкой, ** — 75–89% поддержка, без звездочки — 90–100% поддержка. С изменениями из Chase et al., 2006.

особенности в строении цветков, эти растения имеют общие черты, которые могут обуславливать их изолированное систематическое положение. Две из них, а именно строение семени и микоризный образ жизни, взаимосвязаны наиболее тесно. Семена практически всех видов орхидных обычно называют «пылевидными», они очень мелкие (0,3–14 мкг), состоят из крошечных недифференцированных зародышей, которые ввиду отсутствия эндосперма имеют очень ограниченный запас питательных веществ (Burgeff, 1936; Arditti, Ghani, 2000). Отсутствие собственных резервов для поддержания жизнеспособности на ранних стадиях развития проростка делает все орхидные в природных условиях зависимыми от питательных веществ, поставляемых грибом-микоризообразователем. Грибы, запускающие процесс так называемого «симбиотического прорастания», образуют внутриклеточные клубки (пелотоны) в зародышах и корневищах взрослых растений. Эти структуры имеют достаточно отчетливую морфологию и характер распространения в тканях орхидных и потому являются основной характерной чертой орхидной микоризы. Они обнаружены у орхидных начиная от представителей базальной линии, подсемейства Apostasioideae (Kristiansen et al., 2004), и до наиболее продвинутых форм из подсемейства Epidendroideae. Не считая неопубликованных данных о морфологически сходном типе колонизации грибами растений из наиболее близкородственного, но все равно удаленного семейства Boryaceae из порядка Asparagales (см. Chase et al., 2003), свидетельства наличия микориз подобного типа у каких-либо растений

помимо орхидных отсутствуют. Однако следует быть очень внимательным, чтобы избежать ошибочного смешивания крупных пелотонов, формирующихся в клетках орхидных, с на первый взгляд сходными структурами арбускулярной микоризы (АМ) *Paris*-типа, образующимися в корнях большого количества видов растений (см гл. 2).

Симбиотическое прорастание и дальнейшее развитие зародышей орхидных приводит к образованию протокормов только в том случае, когда колонизирующий гриб имеет доступ к источникам углеводов, которые он доставляет растению. У орхидных, описанных в данной главе, этот способ питания за счет грибного партнера продолжается до появления надземных зеленых листьев, т.е., стадии, на которой, как предполагается, они становятся полностью автотрофными.

Первые крупномасштабные исследования орхидных из тропиков и умеренных широт (Wahrlich, 1886; Janse, 1897) показали постоянное наличие грибных структур в корнях взрослых растений. Однако впервые пелотоны описали как основную структурную черту орхидной микоризы и провели неоднократное выделение из них микобионтов орхидных корней еще Н. Бернар (например, Bernard, 1899; более подробный список цитирований см. в Smith, Read, 1997) и Г. Бургеф (Burgeff, 1909). Они также сделали первые попытки классификации выделенных грибов и при изучении симбиотического и асимбиотического прорастания определили возможную роль симбиоза в развитии сеянцев орхидных. Эти исследователи-первопроходцы установили, что грибы, регулярно выделяющиеся из пелотонов орхидных, являются базидиомицетами, связанными с анаморфным родом *Rhizoctonia*. Представители этого рода часто впоследствии трактовались как принадлежащие к некой общей таксономической группе. Тем не менее, утверждение, изначально сделанное Дж. Уоркапом и П. Талботом (см. ниже), о том, что с культурами «*Rhizoctonia*», может быть связан целый ряд телеоморфных стадий, привело к признанию того, что род полифилетичен, что впоследствии было подтверждено данными анализа рибосомальной ДНК. Применение методов молекулярной филогении также подтвердило участие в орхидной микоризе грибов, не связанных с *Rhizoctonia* (Taylor et al., 2002), но можно сделать заключение, что большинство полностью автотрофных видов орхидных колонизируют грибы *Rhizoctonia*-типа. Ханной Расмуссен (Rasmussen, 1995) был написан великолепный обзор исследований, направленных на изучение условий прорастания семян орхидных, сопровождаемый аутэкологическими характеристиками видов умеренных широт.

Как и в случае ранней истории изучения эрикоидных микориз (см. гл. 11), первая половина двадцатого века ознаменовалась дискуссиями на тему является ли симбиоз обязательным условием для прорастания и полноценного развития зеленых орхидных (см. Arditti, 1992). Было установлено, что семена орхидных могут быть без труда пророщены в отсутствии симбионта при условии наличия сахаров в питательной среде (Burgeff, 1936). Используя эту методику, удалось вырастить до взрослого состояния и добиться цветения целого ряда видов в безмикоризных условиях (Bultel, 1926; Knudson, 1930). Сочетание асимбиотического проращивания и вегетативного размножения в настоящее время составляет основу массового промышленного получения орхидных для цветоводства и озеленения во многих странах.

С биологической точки зрения и для охраны дикорастущих видов орхидных, важным представляется то, что, ввиду отсутствия в почвах источников углерода (С), легко доступных для автотрофов, симбиотическое прорастание в природных условиях является нормой. Так как популяции дикорастущих орхидных находятся под угрозой исчезновения из-за уничтожения местообитаний и эвтрофикации, необходимость учета роли микоризных грибов в процессах прорастания и жизнедеятельности этих растений на всех стадиях развития становится еще более острой (Dixon et al., 2003).

Грибы, образующие микоризы с зелеными орхидными

Выделение и идентификация

Н. Бернар (Bernard, 1904a) впервые отметил регулярное выделение *Rhizoctonia*-подобных грибов из тканей корня орхидных (рис. 12.2). Методы выделения состояли в проращивании фрагментов корня после поверхностной стерилизации на твердой питательной среде. Это неминуемо приводило к проблемам, связанным с контаминацией и сложностью выявления истинных микоризообразователей, аналогично тому, что имело место в исследованиях эрикоидной микоризы (см. гл. 11). Однако, несмотря на то, что большинство *Rhizoctonia*-подобных грибов, образующих пелотоны в корнях орхидных, растут активнее, чем эндофиты вересковых, вскоре появилось большое количество сообщений о выделении и проращивании отдельных пелотонов. Во многих случаях выделяемые грибы образовывали пелотоны при реинокуляции, таким образом удовлетворяя постулатам Коха и подтверждая свой статус микобионтов. Опять же, как и в случае эрикоидной микоризы, имеется множество работ с данными только о выделении грибов без уточнения их происхождения или локализации.

Некоторые из них (например, Bayman et al., 1997) сделаны с целью широкого исследования флоры грибных эндофитов корней орхидных, которая, разумеется, весьма разнообразна, и авторы признают, что многие полученные изоляты, скорее всего, не являются микоризообразователями. Из-за невозможности получить достаточное количество пелотонов для выделения из корней тропических орхидных Дж. Отеро с соавт. выделяли *Rhizoctonia*-подобные грибы из фрагментов поверхностно стерилизованных корней девяти видов орхидных из Пуэрто-Рико и проводили молекулярный систематический анализ (Otero et al., 2002). Большинство выделенных эндофитов были близко родственны друг другу и образовывали хорошо поддержанную группу среди представителей *Ceratobasidium* с анаморфой *Rhizoctonia*-типа (см. ниже). Среди них был штамм, очень близкий к широко распространенному симбионту орхидных умеренных широт *C. cornigerum*, который ранее выделяли и из пелотонов тропических орхидей (Richardson et al., 1993). Весьма вероятно, что некоторые, если не все, подобные изоляты *Ceratobasidium* — микоризообразователи, но необходимы исследования, связанные с ресинтезом симбиоза и анализом роста симбионтов, в особенности, потому что роль микоризной колонизации у тропических орхидных долгое время не рассматривалась.

Помимо данных о культивируемых эндофитах, имеются сведения о наличии в орхидных корнях грибов, которые невозможно выделить. Так, например, несмотря на подтвержденное микроскопией присутствие формирующих пелотоны грибов в корнях *Cypripedium acaule* и *Malaxis monophyllos*, выделить эти симбионты не удалось (Zelmer et al., 1996). Среди подобных трудных для изоляции грибов присутствуют также отнесенные к базидиомицетам на основании наличия пряжек на мицелии формы, неродственные *Rhizoctonia*. Эти грибы могут быть единственными обитателями корней, могут образовывать пелотоны вместе с представителями *Rhizoctonia*-типа, или даже сосуществовать с ними, формируя пелотоны в одних и тех же клетках (Zelmer et al., 1996). Растущие возможности молекулярных методов в отношении идентификации грибов на уровне единственного пелотона (см. ниже), возможно, прольют свет на многие подобные загадки. Грибы, неродственные *Rhizoctonia*-типу и часто некультивируемые, часто встречаются у полностью микогетеротрофных орхидных, их предполагаемые функциональные особенности рассмотрены в гл. 13.

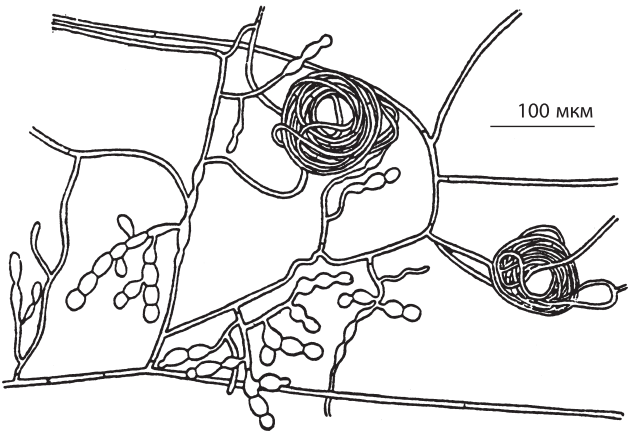


Рисунок 12.2. Изображение типичного грибного симбионта орхидной микоризы, *Rhizoctonia repens* (*Tulasnella calospora*), выделенного в чистую культуру. Из Bernard, 1909.

Систематическое положение ризоктониевых вызывает большой интерес ввиду их широкого распространения в качестве формирующих пелотоны симбионтов орхидных. Ранние исследования были в основном сосредоточены на морфологических и ультраструктурных особенностях их склероциев и мицелия (Bernard, 1909). Было установлено, что гифы обычно лишены пряжек, и многие штаммы характеризуются наличием вздутых монилиоидных клеток (см. рис. 12.2). Позже было показано наличие одноядерных, двуядерных и многоядерных типов гиф. Одноядерные ризоктонии были выявлены среди фитопатогенов в лесных питомниках (Hietala, 1997) и только очень немногие представители оказались микоризообразователями орхидных. Было показано, что 66% из 108 *Rhizoctonia*-подобных грибов, выделенных из тропических эпифитных орхидей, были одноядерными, но выделены они были не из пелотонов (Otero et al., 2002). Большинство многоядерных форм являются паразитами растений или почвенными сапротрофами (Sneh et al., 1991). Напротив, подавляющее большинство *Rhizoctonia*-подобных изолятов, полученных из орхидных микориз, принадлежало к «двуядерным ризоктониям» (Currah et al., 1997). Они также приурочены не только к орхидным. Некоторые представители могут присутствовать в корнях других растений и стимулировать (Hietela, Sen, 1996; Sen et al., 1999) или подавлять рост хозяев (Mazzola et al., 1996).

Индуцируя в культуре развитие телеоморфы у анаморфных штаммов *Rhizoctonia*-типа, выделенных из орхидных, Дж. Уоркап и П. Талбот установили не только полифилетичность рода, но и тот факт, что его представители принадлежат к весьма отдаленно родственным таксонам в пределах базидиомицетов (Warcup, Talbot, 1967; 1970; 1980). Были описаны телеоморфные роды *Ceratobasidium* и *Thanatephorus* (семейство Ceratobasidiaceae), *Tulasnella* (семейство Tulasnellaceae) и *Sebacina* (семейство Sebacinaceae). Это подразделение полностью подтвердилось более поздними исследованиями с применением ультраструктурного анализа пор септального аппарата (Moore, 1987; Andersen, 1996; Muller et al., 1998) и молекулярной филогении, основанной на последовательностях ДНК (Andersen, 1996; Taylor et al., 2002; Ma et al., 2003; McKormick et al., 2004; Shefferson et al., 2005). Анализ как ядерной (рис. 12.3), так и митохондриальной последовательностей большой субъединицы у целого ряда базидиомицетов, включая изоляты из орхидных, наглядно демонстрирует значительное расстояние между порядками Ceratobasidiales, Tulasnellales и Sebacinales, составляющих три основные клады ассоциированных с орхидными ризоктониевых грибов (Taylor et al., 2002). К этим порядкам принадлежит большинство грибов, или даже все представители, ассоциированные с зелеными орхидными (табл. 12.1).

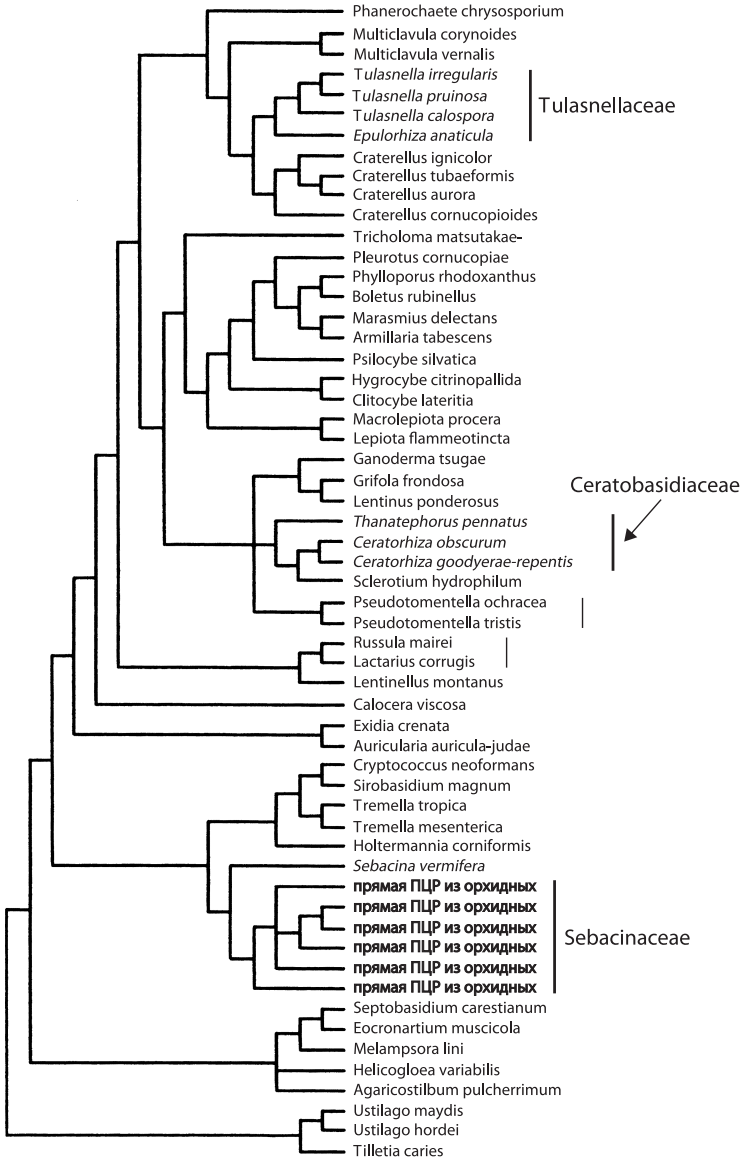


Рисунок 12.3. Строго консенсусное дерево, построенное методом максимального сходства, отражающее филогенетические связи грибов-симбионтов орхидной микоризы из рода *Rhizoctonia sensu lato* (отмечено жирным курсивом) внутри отдела Basidiomycota. Размещение по семействам Tulasnellaceae, Ceratobasidiaceae или Sebacinaceae основано на признаках телеоморф. Данные включают 96 таксонов и 451 основание с 5` конца ядерного 28S рибосомального гена. Для упрощения представления информации многие таксоны (в основном, из пор. Agaricales) были удалены из дерева после завершения поиска. Класс Ustilaginiomycetes был выбран в качестве монофилетичной внешней группы. Дерево построено Д.Л. Тейлором и приведено с изменениями из Taylor et al., 2002.

Таблица 12.1. Связи анаморф и телеоморф у грибов *Rhizoctonia*-типа.

Порядок	Телеоморфа		Распространенный симбионт орхидных	Анаморфа	Распространенный симбионт орхидных
	Семейство	Род			
Ceratobasidiales	Ceratobasidaceae	*Ceratobasidium*	*C. cornigerum*	*Ceratorhiza* (Moore, 1987)	*C. goodyerae-repentis*
		Thanatephorus		*Moniliopsis* (Moore, 1987)	*T. cucumeris*
Tulasnellales	Tulasnellaceae	Tulasnella	*T. calospora*	*Epulorhiza* (Moore, 1987)	*E. repens*
Exidiales	Sebacinaceae	Sebacina (Oberwinker) = *Serendipita* (Roberts, 1993, 1999)	*S. vermifera*	*Rhizoctonia* (Warcup, Talbot, 1967)	

Филогенетическое расстояние между грибами, помещенными даже в один порядок *Rhizoctonia*-типа, также может быть значительным. Это было показано в исследованиях порядка Sebacinales с применением молекулярных методов анализа ДНК (Weiss et al., 2004; см. гл. 6). Вслед за наблюдением микоризообразования представителя данного порядка *Sebacina vermifera* с несколькими видами зеленых орхидных в Австралии Дж. Уоркапом (Warcup, 1981; 1988), появилось множество данных о наличии *Sebacina*-подобных грибов в качестве симбионтов у самых различных растений. Эти симбиозы встречаются в мире растений как в виде эндофитной колонизации у печеночных мхов (Kottke et al., 2003; см. гл. 14), у вересковых (Allen et al., 2003; см. гл. 11) и полностью микогетеротрофных орхидных (McKendrick et al., 2002; Selosse et al., 2002a; Taylor et al., 2003; см. гл. 13), так и в форме ЭМ у древесных пород (Glen et al., 2002; Selosse et al., 2002a, b; см. гл. 6). Современные представления о филогении порядка Sebacinales (см. рис. 6.5) предполагают, что те представители, которые ассоциированы с зелеными орхидными, включая *S. vermifera*, должны быть помещены в группу B, отдаленно родственную ЭМ видам (Weiss et al., 2004). Также выяснено, что члены группы B принадлежат к роду с анаморфой типа *Rhizoctonia* (см. рис 6.5 и 12.3).

Также были достигнуты успехи в изучении родственных связей между изолятами *Rhizoctonia*, не образующими телеоморфы, и установлении их предполагаемого систематического положения. Помимо исследования порового аппарата септ, для этих целей был использован тест на вегетативную совместимость. Так как только гифы близких генотипов сливаются и анастомозируют, совместимые штаммы можно объединять и помещать в анастомозирующие группы (АГ) (Sneh et al., 1991; Carling, 1996). Большинство изолятов широко распространенного эндофитного рода *Ceratorhiza* попадают в группу АГ-C, изоляты *Moniliopsis* — в АГ-6, а изоляты *Epulorhiza* — в Rr1 и 2. Путем выявления родства между анаморфными изолятами и выделения групп по этому признаку возможно исследовать специфичность орхидных микоризных симбиозов (Ramsay et al., 1987)

Специфичность грибных симбионтов

Если семена орхидных поместить на влажный субстрат, недифференцированные зародыши впитают воду, слегка увеличатся в размерах, могут разорвать семенную кожуру и даже образовать эпидермальные волоски (рис. 12.4 и 12.5). Дальнейшее развитие зародыша может проходить нормально в условиях *in vitro* только в случае поступления сахаров извне. Для некоторых видов могут быть необходимы другие источники органического углерода, факторы роста и витамины. Такой способ развития при отсутствии грибного партнера носит название асимбиотического прорастания и может у ряда видов приводить к формированию взрослых растений (см. ниже). Тем не менее, в природе продолжительный приток растворимых сахаров и других необходимых для роста веществ из почвы невозможен, и сделанное Н. Бернаром (Bernard, 1904c) заключение, что для нормального прорастания необходим гриб, остается в силе. Колонизация грибом приводит к симбиотическому прорастанию, это процесс, необходимый как для стимуляции глюконеогенеза, так и для обеспечения питательными веществами до начала фотосинтеза.

В результате досконального исследования прорастания семян орхидных и Н. Бернар (Bernard, 1909a) и Г. Бургеф (Burgeff, 1911) пришли к выводу, что, так как число *Rhizoctonia*-подобных грибов, эффективно стимулирующих симбиотическое прорастание и рост сеянца *in vitro*, было невелико, взаимоотношения гриб-растение должны быть высокоспецифичными. Многочисленные дальнейшие исследования (обзор данных см. в табл. 12.2) подтвердили, что подавляющее большинство микоризных симбионтов сеянцев наземных зеленых орхидных — представители семейств Ceratobasidiaceae, Tulasnellaceae и Sebacinaceae.

Виды орхидных существенно различаются по степени специфичности при прорастании в условиях *in vitro* и, весьма вероятно, что существуют различия между уровнем специфичности *in vitro* и в природных условиях. Эти различия хорошо проиллюстрированы исследованиями двух видов орхидных из восточной Австралии. У одного из них, *Microtis parviflora*, наблюдалась низкая специфичность *in vitro*, но в полевых условиях в протокормах и взрослых растениях было обнаружено присутствие только двух видов грибов, принадлежащих к роду *Epulorhiza* (Perkins et al., 1995). Еще более высокая специфичность была показана как в *in vitro*, так и в природных условиях для другого вида, *Pterostylis acuminata.* У него только один изолят *Rhizoctonia* мог стимулировать прорастание семян и рост протокормов *in vitro*, и только этот гриб был обнаружен в пелотонах взрослых растений, выросших в природных условиях (Perkins, McGee, 1995). Было выявлено различие между потенциальной специфичностью, наблюдаемой в *in vitro* экспериментах, и экологической специфичностью, выявляемой в природных условиях (Masuhara, Katsuya, 1994).

Само по себе прорастание семян — важный, но не единственный показатель совместимости с грибным симбионтом. У некоторых видов орхидных целый ряд грибных изолятов, выделяемых из взрослого растения, может стимулировать прорастание *in vitro*, но влияние на дальнейший рост особей того же вида может сильно различаться у разных штаммов даже на протяжении такого короткого периода как четыре недели (Rasmussen, Whigham, 1998). Необходимость учета влияния грибных партнеров на растение в течение более длительного времени была показана исследованиями К. Целмер и Р. Курра (Zelmer, Currah, 1995). Они выделили три вида, *Ceratorhiza goodyerae-repentis* (≡ *Ceratobasidium cornigerum*) и два вида рода *Epulorhiza* из микориз обитавших в природных условиях взрослых особей *Spiranthes lacera*, но только вид *C. goodyerae-repentis* был обнаружен в протокормах, найденных на том же участке. На искусственной среде семена *S. lacera* прорастали асимбиотически, но их развитие практически не продолжалось после стадии вскрывания семенной кожуры (см. рис. 12.4). Несмотря на то, что штаммы *C.*

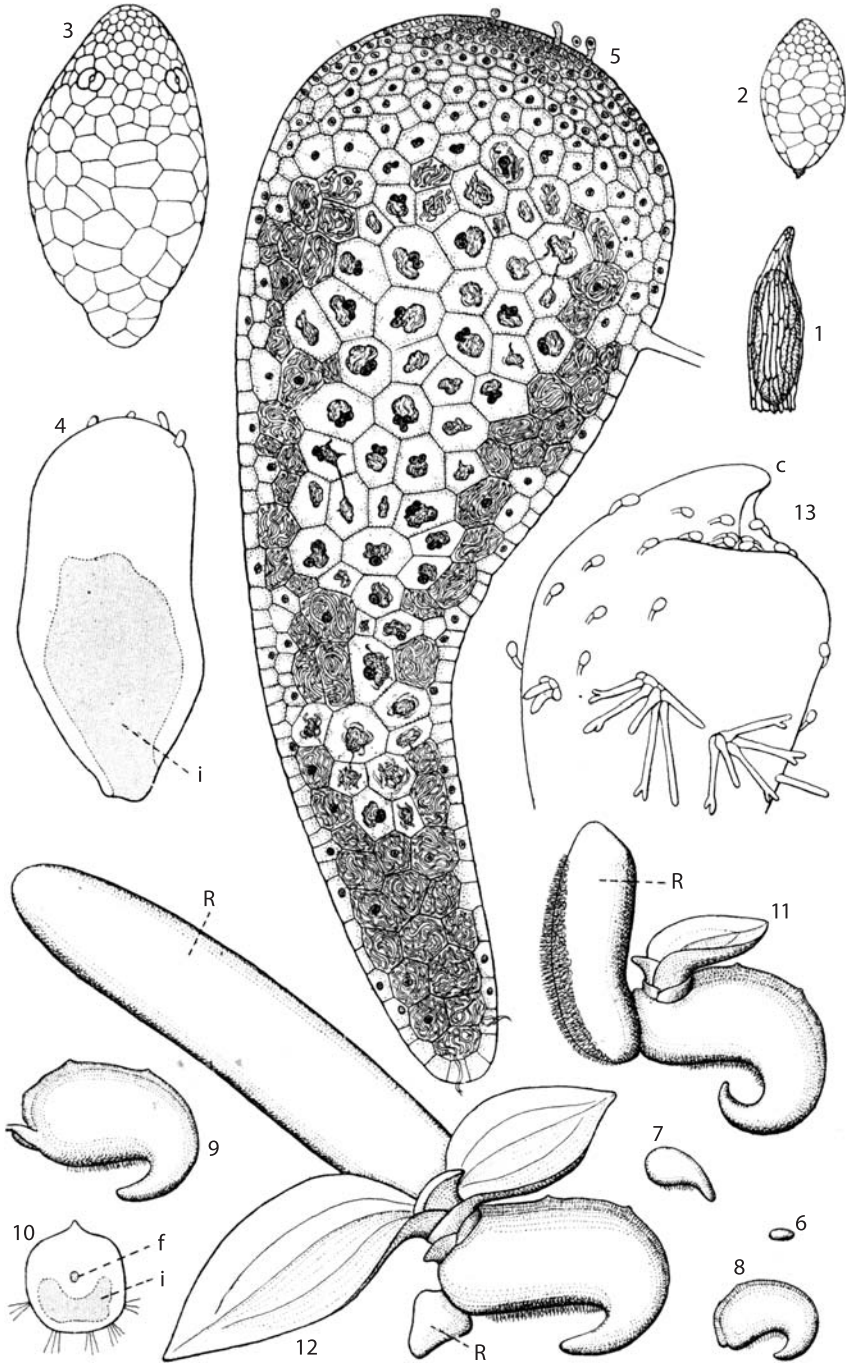


Рисунок 12.4. Стадии развития *Phalaenopsis*: мелкие семена (1), недифференцированные зародыши (2 и 3) и микоризный протокорм (5). Показаны ризоиды, образуемые прорастающими протокормами (10 и 13). Из Bernard, 1909.

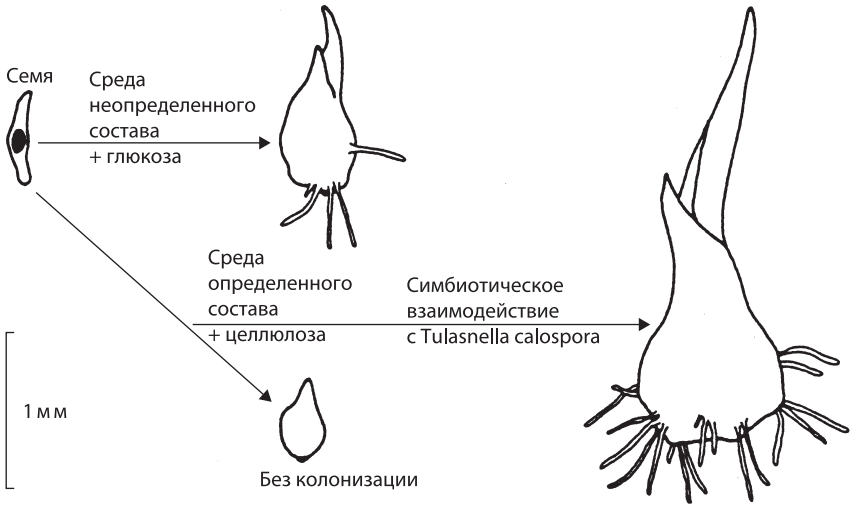


Рисунок 12.5. Развитие *Spathiglottis plicata* после 5 недель роста на двух источниках углерода, в зависимости от колонизации *Tulasnella calospora*. Из Hadley, 1969, с разрешения.

goodyerae-repentis, выделенные как из взрослых растений, так и из протокормов, способствовали дальнейшему развитию сеянцев *S. lacera in vitro,* только штамм, полученный из природных протокормов, мог поддерживать рост и развитие сеянцев после образования апикальной меристемы.

М. МакКормик с соавт. проанализировали ITS и mtLSU последовательности для установления идентичности грибов, колонизирующих протокормы и взрослые особи трех видов североамериканских зеленых орхидных (McCormick et al., 2004). Грибы, выделенные из обеих возрастных стадий *Goodyera pubescens*, были генетически неотличимы, то же показано и для *Liparis lilifolia*. Однако у *Tipularia discolor* в протокормах и взрослых особях отмечены различные грибные симбионты. Как показано на основании ITS последовательностей, изоляты из взрослых растений состоят из, по меньшей мере, четырех отчетливо различающихся групп туласнеллоидных грибов. Некоторые из них близки к грибным партнерам *G. pubescens*, другие — *L. lilifolia*, в то время как две другие группы отдаленно родственных между собой туласнеллоидных грибов специфичны для *T. discolor*. Также были выявлены другие различия между грибами, ассоциированными с протокормами и взрослыми особями *T. discolor*. Два представителя доминировали среди грибов, колонизирующих протокормы, но гораздо большее разнообразие симбионтов было выявлено во взрослых растениях. В лабораторных условиях все грибы, выделенные из взрослых особей *G. pubescens*, стимулировали прорастание семян этого вида, однако, только те изоляты из *T. discolor*, которые были генетически сходными со штаммами из *G. pubescens*, индуцировали прорастание последнего. Все изоляты из взрослых особей *L. lilifolia* способствовали прорастанию семян этого вида.

Таким образом, возник целый ряд вопросов. У многих видов орхидных начальное увеличение эмбриона и растрескивание семенной кожуры может происходить *in vitro* без участия грибного симбионта. Тем не менее, в отсутствие внешнего притока сахаров колонизация грибом необходима для дальнейшего развития протокорма в сеянец и затем во взрослое растение. Уровень специфичности во взаимоотношениях гриб-

растение на этой стадии сильно варьирует у разных видов орхидных и, похоже, имеется континуум между теми, которые способны формировать стабильные симбиозы с целым рядом грибных партнеров, и видами, совместимыми с узким кругом грибов.

Гаку Масухара с коллегами поставили опыты по прорастанию семян в природных условиях. В классическом эксперименте, включающем сравнительный анализ прорастания семян зеленой орхидеи *Spiranthes sinensis in vitro* и в полевых условиях, они отчетливо продемонстрировали существенные различия между уровнем специфичности в лабораторных условиях и в природе. Семена орхидеи *in vitro* подвергали влиянию 23 тестерных штаммов *Rhizoctonia*, относящихся к многоядерным и двуядерным анастомозирующим группам (АГ). Большинство штаммов относилось к кладе *Ceratobasidium*/*Thanatephorus*, но также имелся представитель клады *Tulasnella*, *Epulorhiza* (=*Rhizoctonia*) *repens*. Симбиотическое прорастание наблюдалось для всех штаммов, за исключением одного (Masuhara et al., 1993). Напротив, стимуляция прорастания семян, высаженных в сетчатых пакетах в природных условиях, отмечена в 26 из 27 случаев только для штамма *E. repens* (Masuhara, Katsuya, 1994). Также преобладание *E. repens* было выявлено на том же участке у взрослых растений. Методом приманок для грибов (стеблей травянистых растений, внесенных в почву на пробных площадях) было показано, что представители семи АГ *Rhizoctonia* часто встречаются в почве. Среди них одна АГ являлась преобладающей, но ее представители никогда не выделялись из тканей *Spiranthes*. Эти изоляты индуцировали прорастание семян *S. sinensis in vitro*, несмотря на то, что они не были ассоциированы с растениями в природе. Вид *E. repens* обнаруживали в приманках очень редко. Эти результаты подчеркивают различие между «потенциальной» и «экологической» специфичностью.

Неизвестно, насколько грибы, не принадлежащие к *Rhizoctonia*-типу, способны инициировать или поддерживать симбиотическое прорастание семян зеленых орхидных в природе. Показано, что базидиомицеты с пряжками на мицелии образуют пелотоны в протокормах трех видов *Cypripedium*, двух видов *Platanthera* и *Spiranthes romanzoffiana* (Zelmer et al., 1996). У некоторых из указанных орхидных гифы с пряжками выявлены в растениях из одних точек сбора и отсутствовали в других. Эти грибы не поддаются культивированию. Так как гифы с пряжками никогда не наблюдались во взрослых особях, было сделано предположение, что, по крайней мере, у некоторых видов грибные симбионты, присутствующие в протокормах, и, возможно, стимулирующие прорастание семян, могут отличаться от ассоциированных со взрослыми растениями.

Недавно проведенный молекулярный анализ грибных партнеров видов рода *Cypripedium* демонстрирует возможности новых методов в решении вопросов идентификации симбионтов, до того не имевших ответа. Методом прямой ПЦР-амплификации грибных генов из микоризных тканей были выявлены основные симбионты 58 особей *Cypripedium*, принадлежащих к семи видам (табл. 12.3) (Shefferson et al., 2005). Филогенетическим анализом установлено, что подавляющее большинство грибов, образующих микоризу с этими растениями - представители небольших клад в пределах семейства Tulasnellaceae. Члены семейств Sebacinaceae и Ceratobasidiaceae встречались редко, а аскомицет *Phialophora* (= *Cadophora*) в некоторых случаях отмечен как эндофит.

Информация о видовой принадлежности грибных партнеров, способных инициировать и поддерживать симбиотическое развитие орхидных, очень важна для охраны редких видов. Дальнейшее применение молекулярных методов будет способствовать решению некоторых таксономических вопросов. Более того, возможность анализировать последовательности грибной рДНК на уровне отдельного пелотона (Kristiansen et al., 2001) обещает более точную идентификацию грибных партнеров в течение подземной стадии развития орхидных.

Таблица 12.2. Некоторые исследования, описывающие грибные симбионты и специфичность зеленых орхидных.

Таксон	Образцы	Происхождение	Метод идентификации гриба[1]	Источник	Идентифицированные грибы[2]	Трофическая группа[3]
Amerorchis rotundifolia	19 взрослых растений	Природное	*In planta* + выделение: морфология вегетативной стадии	Zelmer et al., 1996	*Epulorhiza* (7), *Moniliopsis* (3).	Неизвестно
Acianthus reniformis	26 взрослых растений	Природное	Выделение: морфология вегетативной и репродуктивной стадий	Warcup, 1981	25 из 26 изолятов – *Sebacina vermifera*	Неизвестно
Acianthus caudatus	12 взрослых растений	Природное	Выделение: морфология вегетативной и репродуктивной стадий	Warcup, 1981	*Sebacina vermifera* (2), *Tulasnella cruciata* (10)	Неизвестно
Acianthus exsertus	12 взрослых растений	Природное	Выделение: морфология вегетативной и репродуктивной стадий	Warcup, 1981	*Tulasnella calospora*	Неизвестно
Acianthus pusillus	8 взрослых растений	Природное	Выделение nucLSU	Bougure et al., 2005c	*Epulorhiza repens*	Неизвестно
20 видов *Caladenia*	98 взрослых растений	Природное	Выделение: морфология вегетативной и репродуктивной стадий	Warcup, 1971	108 из 110 изолятов - *Sebacina vermifera*	Неизвестно
Caladenia carnea	7 взрослых растений	Природное	Выделение nucLSU	Bougure et al., 2005c	*Sebacina vermifera*	Неизвестно
Calypso bulbosa	? взрослых растений	Природное	*In planta* + выделение: морфология вегетативной и репродуктивной стадий	Currah et al., 1988	*Rhizoctonia* spp., *Rhizoctonia anaticula, Thanatephorus pennatus*, неидентифицированные мицелии с пряжками	Неизвестно
Cypripedium calceolus	2 взрослых растения	Природное	*In planta* nucLSU mtLSU	Shefferson et al., 2005	*Tulasnellaceae* (2), *Thelephoraceae* (1)	Неизвестно (эктомикоризные?)
Cypripedium californicum	10 взрослых растений	Природное	*In planta* nucLSU mtLSU	Shefferson et al., 2005	*Tulasnellaceae* (3), *Sebacinaceae* (2), *Ceratobasidaceae* (3)	Неизвестно
Cypripedium candidum	6 взрослых растений	Природное	nucLSU mtLSU	Shefferson et al., 2005	*Tulasnellaceae* (2), *Thelephoraceae* (1)	Неизвестно (эктомикоризные?)

Таблица 12.2. (*Продолжение*)

Cypripedium fasciculatum	16 взрослых растений	Природное	*In planta* nucLSU mtLSU	Shefferson et al., 2005	*Tulasnellaceae* (14), *Sebacinaceae* (1)	Неизвестно
Cypripedium montanum	10 взрослых растений	Природное	*In planta* nucLSU mtLSU	Shefferson et al., 2005	*Tulasnellaceae* (10), *Thelephoraceae* (1)	Неизвестно (эктомикоризные?)
Cypripedium parviflorum	10 взрослых растений	Природное	nucLSU mtLSU	Shefferson et al., 2005	*Tulasnellaceae* (6), *Sebacinaceae* (1)	Неизвестно (эктомикоризные?)
Dactylorhiza purpurella	21 взрослое растение	Природное	Выделение: морфология вегетативной стадии	Harvais, Hadley, 1967b	Ряд неидентифицированных видов *Rhizoctonia, R. repens, R. solani* и др. грибы	Неизвестно
Dactylorhiza purpurella	Сеянцы	Лабораторное	*In vitro* тесты на прорастание	Harvais, Hadley, 1967b	Неидентифицированные виды *Rhizoctonia, R. repens* и *R. solani* (включая патогенные штаммы)	Неизвестно
Dactylorhiza majalis	4 взрослых растения	Природное	mtLSU отдельных пелотонов	Kristiansen et al., 2001	*Tulasnella*	Неизвестно
5 видов *Diuris*	28 взрослых растений	Природное	Выделение: морфология вегетативной и репродуктивной стадий	Warcup, 1971	*Tulasnella calospora*	Неизвестно
Goodyera repens	Сеянцы	Лабораторное	*In vitro* тесты на прорастание	Hadley, 1970	*Ceratobasidium cornigerum* (1/3), *Ceratobasidium* spp. (1/2), *Thanatephorus cucumeris* (3/9), *Rhizoctonia* spp. (2/4)	Неизвестно
Goodyera oblongifolia	8 взрослых растений	Природное	*In planta* + выделение: морфология вегетативной стадии	Zelmer et al., 1996	*Epulorhiza* (1), *Ceratorhiza* (34), *Moniliopsis* (3)	Неизвестно
Goodyera pubescens	? взрослых растений	Природное	*In planta* mtLSU	McCormick et al., 2004	*Tulasnellaceae*	Неизвестно

Таблица 12.2. (*Продолжение*)

Liparis lilifolia	? взрослых растений	Природное	*In planta* mtLSU	McCormick et al., 2004	*Tulasnellaceae* (отличающиеся от симбионтов *Tipula* и *Goodyera pubescens)*	Неизвестно
Microtis parviflora	18 взрослых растений + 72 сеянца	Природное	Выделение: морфология вегетативной стадии	Perkins et al., 1995	2 вида *Epulorhiza* выделено из сеянцев и взрослых растений	Неизвестно
Microtis parviflora	Сеянцы	Лабораторное	*In vitro* тесты на прорастание	Perkins et al., 1995	*Epulorhiza repens, Epulorhiza* spp., 3 *Ceratorhiza* spp.	НД
Neuwiedia veratrifolia	Взрослые растения	Природное	*In planta* + отдельная mtLSU	Kristiansen et al., 2004	*Tulasnella, Thanatephorus*	Неизвестно
Platanthera hyperborea	13 взрослых растений	Природное	*In planta* + выделение: морфология вегетативной стадии	Zelmer et al., 1996	*Epulorhiza* (7), *Ceratorhiza* (7), *Moniliopsis* (5)	Неизвестно
Platanthera hyperborea	15 пакетов сеянцев	Природное	*In planta* + выделение: морфология вегетативной стадии	Zelmer et al., 1996	*Epulorhiza* (3), *Ceratorhiza* (1), неидентифицированный гриб с пряжками (4), неидентифицированный (1)	Неизвестно
Platanthera leucophaea	? взрослых растений	Природное	Выделение: морфология вегетативной стадии	Curtis, 1939	*Rhizoctonia robusta, R. sclerotica, R. stahlii, R. subtilis*[4]	Сапротрофы
Platanthera obtusata	14 взрослых растений	Природное	Выделение: морфология вегетативной стадии	Currah et al., 1990	*Epulorhiza anaticula, Ceratorhiza goodyerae-repentis, Sistotrema* spp.	Неизвестно, сапротрофы
Pterostylis barbata	6 взрослых растений	Природное	Выделение: морфология вегетативной стадии, анастомозирующие группы	Ramsay et al., 1987	Двуядерные виды *Rhizoctonia,* преимущественно анастомозирующая группа Р3	Неизвестно
Pterostylis obtusata	9 взрослых растений	Природное	Выделение nucLSU	Bougure et al., 2005c	*Ceratobasidium* spp.	Неизвестно

Таблица 12.2. (*Окончание*)

Pterostylis longifolia	9 взрослых растений	Природное	Выделение nucLSU	Bougure et al., 2005c	*Ceratobasidium* spp.	Неизвестно
Spiranthes sinensis	37 взрослых растений	Природное	Выделение: морфология вегетативной стадии	Terashita, 1982	*Rhizoctonia repens* (32), *Rhizoctonia solani* (16)	Неизвестно
Spiranthes sinensis	Сеянцы	Лабораторное	*In vitro* тесты на прорастание	Masuhara et al., 1993	22 из 23 тестерных штаммов *Rhizoctonia,* в том числе двуядерные и многоядерные изоляты	НД
Spiranthes sinensis	18 взрослых растений + 27 сеянцев	Природное	Выделение: морфология вегетативной стадии, анастомозирующие группы	Masuhara Katsuya, 1994	Все растения содержали *Epulorhiza repens*, 2 также *R. solani*	Неизвестно
Thelymitra pauciflora	1 взрослое растение	Природное	Выделение nucLSU	Bougure et al., 2005c	*Epulorhiza* spp.	Неизвестно
Tipula discolor	? взрослых растений	Природное	*In planta* mtLSU	McCormick et al., 2004	*Tulasnellaceae*	Неизвестно
Tolumnia variegata	Взрослый эпифит	Природное	*In planta* nucLSU	Otero et al., 2002	*Ceratobasidium*, одноядерные и многоядерные *Rhizoctonia*	Неизвестно

С дополнениями из Taylor et al., 2002.

[1] «Выделение» обозначает культивирование грибов из пелотонов или фрагментов ткани. «*In planta*» относится к идентификации грибов прямыми методами, не требующими выделения в чистую культуру. «*Ex planta*» относится к прямому изучению морфологии грибных структур или гифальных соединений между растениями и характерными структурами микобионта (плодовыми телами или эктомикоризными окончаниями). В случае молекулярных методов mtLSU обозначена грибная митохондриальная генная последовательность большой субъединицы рибосомы в области, описанной в Bruns et al., 1998.

[2] Таксоны грибов приведены так, как они даны в цитируемом источнике, обратите внимание на то, что разные авторы используют различную номенклатуру. У видов *Rhizoctonia* разные названия могут соответствовать одному и тому же таксону (напр., *Rhizoctonia repens*, *Epulorhiza repens* и *Tulasnella calospora*). Для лабораторных тестов на прорастание упомянуты только те микобионты, которые дают совместимые взаимодействия. Цифры в скобках показывают число совместимых штаммов из общего количества протестированных для определенного вида грибов.

[3] В некоторых случаях трофическая принадлежность грибного партнера приведена из других источников. Однако если авторы дают четкое утверждение о трофических характеристиках, их мнению отдается предпочтение. НД — нет данных.

[4] Не вполне ясно, насколько видовые эпитеты *Rhizoctonia*, употребляемые в работе Curtis, 1939 соответствуют современной таксономии рода.

Таблица 12.3. Грибные корневые эндофиты *Cypripedium*. Группы грибов представляют наиболее близкородственные таксоны по филогении Basidiomycota и Ascomycota, основанной на nucLSU и mtLSU, и по результатам из базы NCBI BLAST. В каждой строке перечислены соответствующие количества растений, ассоциированных с каждой из групп грибов. Число растений, содержащих множество микобионтов, и, следовательно, требующих клонирования ПЦР продуктов, приведено в скобках. Общее число растений каждого вида, из которых получены ПЦР продукты, приведено в последней строке, а общее число растений *Cypripedium*, содержащих каждую группу грибов — в последнем столбце. Сумма в столбце может превышать общее число, указанное в последней строке, так как некоторые растения содержат множество грибов и упоминаются в столбце неоднократно.

Группа грибов	*calceolus*	*californicum*	*candidum*	*fasciculatum*	*guttatum*	*montanum*	*parviflorum*	Растений, итого
Tulasnellaceae	2(0)	3(1)	2(1)	14(7)	0(2)	10(7)	6(4)	39
Sebacinaceae	-	2(2)	-	1(1)	-	-	1(1)	4
Ceratobasidiaceae	-	3(0)	-	-	-	-	-	3
Thelephoraceae	-	-	1(1)	-	-	1(1)	-	2
Russula	-	-	-	-	-	-	1(1)	1
Agaricales	-	-	-	-	-	-	1(1)	1
Phialophora	-	3(3)	4(4)	3(3)	-	4(4)	4(4)	18
Glomus	-	1(1)	-	-	-	-	1(1)	2
Растений, итого	2	10	6	16	2	12	10	

Из Shefferson et al., 2005.

Трофические характеристики грибных симбионтов

Источники углерода, используемые *Rhizoctonia*-подобными грибными партнерами орхидных, достаточно разнообразны. Большинство грибов — сравнительно быстрорастущие сапротрофы, в культуре способные к усвоению как сложных полимеров, таких как крахмал, пектин и целлюлоза, а иногда и лигнин, так и растворимых сахаров (см. Burgeff, 1936; Perombelon, Hadley, 1965; Smith, 1966; Harley, 1969; Hadley, Ong, 1978). Эти грибы также неспецифичны в отношении других элементов питания. Большинство способно усваивать широкий круг соединений азота, как минимум в чистой культуре (см Burgeff, 1936; Arditti, 1979, 1992), и, похоже, что органические источники азота и, возможно, также фосфора весьма важны для них при росте в почве, однако, специально этот вопрос не исследовали. Выяснение в природных условиях влияния витаминов группы В, дрожжевого экстракта и экссудатов корней, наблюдаемого в культуре, не было доведено до конца, но, возможно, эти вещества могут применяться при симбиотическом промышленном культивировании орхидей (Vermeulen, 1946; de Silva, Wood, 1964; Perombelon, Hadley, 1965; Hadley, Ong, 1978).

Развитие семени и протокорма

Асимбиотическое

В ходе развития всех орхидных присутствует стадия, когда растения не фотосинтезируют и зависят от внешнего источника питательных веществ, в том числе, органического углерода. Мельчайшие семена (см. рис. 12.4) содержат очень небольшое количество высококалорийных белков и липидов и очень мало сахаров (Harrison, 1977; Arditti, 1979; Manning, van Standen, 1987; Richardson et al., 1992; Arditti, Ghani, 2000). Некоторые виды содержат также малое количество зерен крахмала (Hadley, Williamson, 1971; Purves, Hadley, 1975). Если поместить семена на влажный субстрат, недифференцированные зародыши (см. рис. 12.4 и 12.5) впитают воду, несколько увеличатся в размерах и могут разорвать семенную кожуру и образовать эпидермальные волоски. Дальше зародыш не развивается, если не получает притока углеводов извне или не колонизируется совместимым микоризным грибом (рис. 12.4, 12.5 и 12.6). Некоторым видам для успешного асимбиотического развития зародышей также необходимы витамины или ростовые факторы. Запасы липидов не расходуются, возможно, из-за отсутствия глиоксисом и очень низкой внутренней концентрации сахаров (Harrison, 1977; Manning, van Standen, 1987). У видов, содержащих крахмал, он не гидролизуется, и как в случае липидов и белка, не поддерживает дальнейшее развитие протокорма. Если сахара (такие, как глюкоза, фруктоза, сахароза, мальтоза и трегалоза; см. Smith, 1973; Ernst, 1967; Ernst et al., 1971) поступают извне, вместе с витаминами, развитие у многих видов продолжается, и хотя скорость роста низкая, могут быть получены взрослые растения. Семена видов *Disa*, *Disperis*, *Cymbidium* и *Huttonia* при внесении сахарозы синтезируют небольшие количества крахмала, появляются глиоксисомы и начинается использование внутренних запасов липидов (Manning, van Standen, 1987). В природе продолжительное поступление растворимых сахаров, витаминов, аминокислот и факторов роста из почвы невозможно, и сделанное Н. Бернаром предположение (Bernard, 1904c),что для успешного прорастания семян необходим гриб, остается в

силе. Грибная колонизация нужна как для стимуляции глюконеогенеза и мобилизации запасных веществ, так и для обеспечения растения элементами питания до начала фотосинтеза.

Микоризная колонизация протокормов

Большая часть экспериментальных работ, связанных с колонизацией грибами тканей орхидных, выполнена на протокормах в моноксеничной культуре. Существуют три основных типа взаимоотношений между зародышем растения и грибом: образование микоризы с формированием пелотонов (см. рис. 12.7А), которые в дальнейшем лизируются; паразитические взаимодействия, при которых в клетки орхидных внедряются беспорядочно растущие гифы, и протокормы погибают; и отторжение, когда гриб исключается из орхидных тканей (рис. 12.8) (Hadley, 1970; Beyrle et al., 1995). Эти взаимодействия могут наблюдаться в популяции протокормов одновременно, указывая на динамичную и относительно нестабильную природу грибо-растительной ассоциации. Пропорциональное отношение этих типов взаимоотношений определяется доступностью питательных веществ и факторами окружающей среды, по крайней мере, при условиях развития в культуре.

Насыщенные влагой и вздувшиеся зародыши быстро колонизируются гифами совместимых грибных партнеров. Наиболее распространенный путь проникновения – через суспензор, но у некоторых видов наблюдается внедрение гриба через эпидермальные волоски (Williamson, Hadley, 1970; Hadley, 1982; Clements, 1988; Peterson, Currah, 1990). Специальные механизмы взаимного привлечения симбионтов неизвестны, также отсутствуют свидетельства направленного роста гиф перед внедрением (Clements, 1988). Проникая в клетку зародыша, гифа инвагинирует цитоплазматическую мембрану растительной клетки и окружается тонким слоем цитоплазмы (см. рис. 12.7Бб), который остается неповрежденным, и в нем продолжается ток протоплазмы (Williamson, Hadley, 1970). На электронных микрофотографиях орхидная клетка выглядит физиологически активной на всех стадиях колонизации и содержит многочисленные митохондрии, хорошо развитую эндоплазматическую сеть, аппарат Гольджи и вакуоли разного размера (Hadley et al., 1971; Strullu, Gourret, 1974; Dexheimer, Serrigny, 1983). Ядра как свободных от грибных

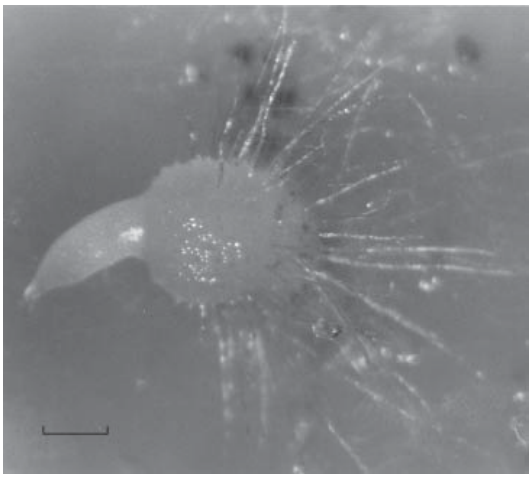


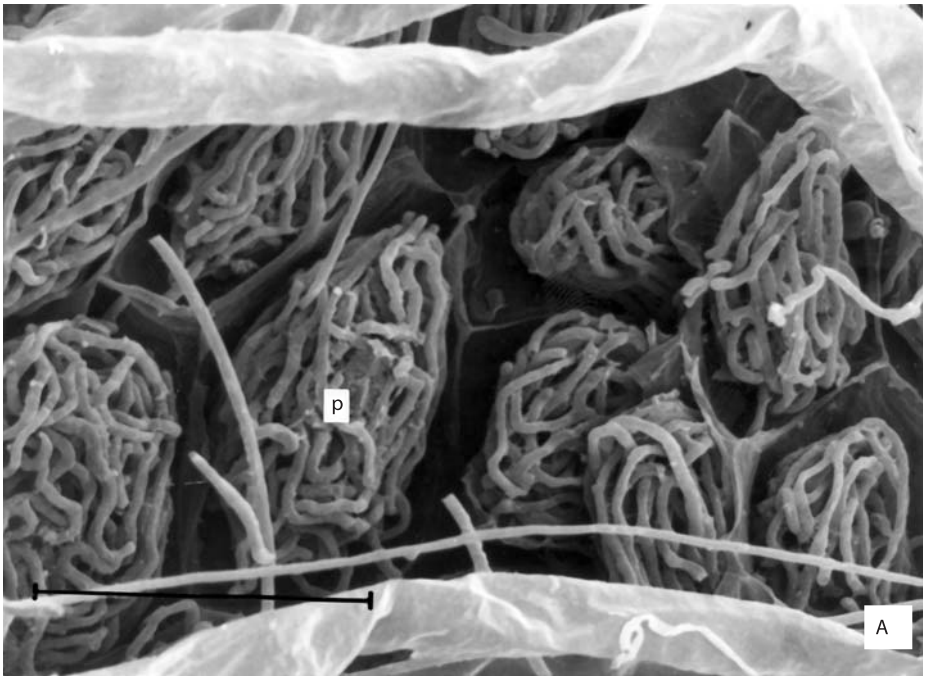
Рисунок 12.6. Протокорм *Dactylorhiza sambucina*, инокулированный *Ceratobasidium cereale*. Световая микроскопия. Масштаб 1 мм. Из Smreciu, Currah, 1989, с разрешения.

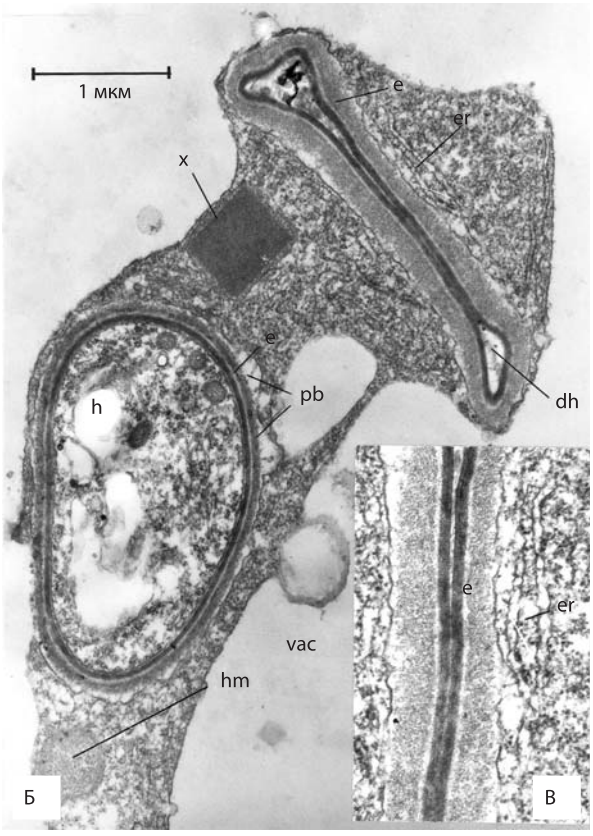
структур, так и колонизированных клеток микоризных протокормов заметно увеличены (см., напр., Burgeff, 1932), и есть сведения о том, что содержание ДНК в них более высокое, чем в неинфицированных протокормах (Alvarez, 1968; Williamson, Hadley, 1969; Williamson, 1970). Еще одно важное физиологическое изменение — исчезновение крахмальных зерен из колонизированных и часто также прочих клеток микоризованного протокорма. Это четко коррелирует с присутствием гриба, так как не встречается у протокормов, выращенных в чистой культуре (см., напр., Burgeff, 1959; Peterson, Currah, 1990; Beyrle et al., 1995).

Внутри протокорма гриб распространяется от клетки к клетке так, что базальная часть оказывается заселена (рис. 12.4 и 12.9). Гифы, проникающие сквозь клеточную стенку растения, имеют маленький диаметр, и не повреждают ее, а также не индуцируют утолщение (Peterson, Currah, 1990; Beyrle et al., 1995; см. рис. 12.7Г), что позволяет предполагать, что механизм внедрения связан скорее с гидролизом, чем с давлением. Рост и анастомозирование внутриклеточных гиф ведет к формированию сложных клубков — пелотонов, которые существенно увеличивают площадь зоны контакта между симбионтами (см. рис. 12.7А). В недавно колонизированных клетках в гифах присутствует небольшое количество вакуолей, но в зрелых клубках грибная цитоплазма становится вакуолизированной и содержит ядра, митохондрии, рибосомы, липидные глобулы и гликогеновые розетки, но малое количество эндоплазматической сети (Hadley et al., 1971; Strullu, Gourret, 1974; Hadley, 1975; Peterson, Currah, 1990).

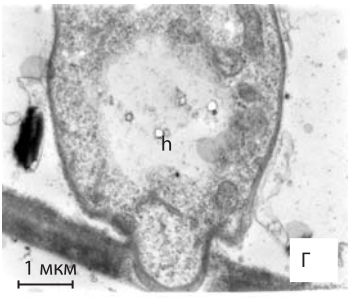
Грибная клеточная стенка, вероятно, не претерпевает изменений во время первичной колонизации и формирования пелотонов (см. рис. 12.7Б, В). Согласно описаниям, стенка гиф состоит из двух слоев: внутреннего электроноплотного и более рыхлого, «хлопьеватого» наружного слоя, который имеется всегда и бывает различным по толщине (Hadley et al., 1971; Strullu, Gourret, 1974). Вначале считалось, что наружный слой имеет грибное происхождение, но Дж. Хэдли (Hadley, 1975) сделал заключение, что эта структура аналогична матриксу контактной зоны в других типах грибо-растительных симбиозов. Состав клеточной стенки не был проанализирован так тщательно, как в случае АМ симбиозов. Тем не менее, Р. Петерсон и Р. Курра (Peterson, Currah, 1990) предполагают, что изменения в реакции на целлюфлуор (см. ниже) указывают на то, что окрашивание хитина в норме заблокировано, но в процессе лизиса пелотонов блокирующий материал удаляется, что дает сильную реакцию. Отмечая, что многие полисахариды, включая хитин, хорошо реагируют с целлюфлуором, авторы оспаривают мнение, что материалом матрикса является целлюлоза (Barroso, Pais, 1985). Контактная зона была подробно изучена Р. Петерсоном с коллегами (Peterson et al., 1996). Они применяли высокоаффинные методы, используемые ранее для характеристики матрикса зоны контакта между арбускулами и цитоплазмой клеток корня в арбускулярных микоризах и гифальных комплексах в эрикоидных микоризах. Стенки гиф пелотонов давали положительную реакцию на β-1,3 глюканы. Эти соединения присутствуют в матриксе зоны контакта арбускулярных микориз, но отсутствуют в эрикоидных (ЭрМ) (Perotto et al., 1995). Мечение матрикса зоны контакта вокруг гиф пелотонов также выявило наличие β-1,3 глюканов наряду с целлюлозой и пектинами, что показывает либо возможность усвоения гифами этих веществ, либо их синтез на этом участке.

Имеются противоречивые данные о влиянии проникновения гиф внутрь клетки на образование микротрубочек (МТ). На примере протокормов *Microtis parviflora* было показано, что внутриклеточная колонизации приводит к утрате МТ (Dearnaley, McGee, 1996). Однако, при изучении *S. sinensis* наблюдалось изменение, но не исчезновение МТ цитоскелета после колонизации грибным симбионтом (Uetake et al., 1997). Они всегда оставались в клетках и были связаны со здоровыми гифами пелотонов, ядрами в клетках и разрушающимися пелотонами. Предположили, что


p
A


1 мкм
e
er
x
e
pb
dh
h
vac
hm
Б

e
er
В


h
1 мкм
Г

w
h
p
w
5 мкм
Д

МТ, связанные с функционирующими гифами, могут участвовать в формировании периферической мембраны грибного симбионта. Весьма вероятно, что цитоскелет растения играет важную роль в реорганизации клетки в период внутриклеточной колонизации. Гораздо более детально роль цитоскелета в этом процессе изучена в арбускулярных микоризах (см. гл. 3).

Дж. Хэдли с коллегами наблюдали, что грибная цитоплазматическая мембрана инвагинирует в отдельных участках, образуя везикулы и трубочки, в то время как клеточная стенка дает выросты, сближающиеся с растительной плазмалеммой (*Dactylorhiza purpurella*) (Hadley et al., 1971; Hadley, 1975). Обе эти структуры увеличивают площадь, на которой может происходить обмен веществами. Тем не менее, подобные структуры не были обнаружены в протокормах *Goodyera repens*, колонизированных *Ceratobasidium cereale* (Peterson, Currah, 1990). Другие изменения контактной зоны заключаются в присутствии АТФаз как на растительной, так и на грибной мембране, ферменты растения сохраняют активность на поверхности коллапсирующих пелотонов. Действие нейтральной фосфатазы в зоне контакта и на растительной мембране, окружающей функционирующие пелотоны, может быть связано с синтезом растением матрикса зоны контакта (Serrigny, Dexheimer, 1985).

Внутриклеточные пелотоны имеют ограниченный срок жизни. Некоторые из ранних исследователей (Wahrlich, 1886; Janse, 1897) отмечали характерное слипание гифальных клубков, которое Н. Бернар считал результатом защитного фагоцитоза (Bernard, 1905; 1909b). Посредством электронной микроскопии было выявлено, что во время лизиса (иногда называемого «перевариванием»), расположение содержимого гиф становится беспорядочным, а стенки уплощаются или приобретают угловатые очертания. На поздних стадиях материал стенки слипается, образуя хаотическую массу (см. рис. 12.4 и 12.7Б). Цитоплазматическая мембрана растения остается интактной и отделенной от сливающегося грибного материала электронопрозрачным слоем, который, как показано, содержит каллозу, пектины и небольшое количество целлюлозы (Peterson, Currah, 1990; Peterson, Bonfante, 1994). В течение этого процесса клетки растения остаются живыми и могут быть повторно колонизированы гифами, или уцелевшими во время лизиса, или проникающими из соседних клеток (Burgeff, 1936; Burges, 1939; Strullu, Gourret, 1974). В этом взаимоотно-

Рисунок 12.7. Ультраструктура орхидной микоризы. А — пелотоны (p) *Rhizoctonia* в протокорме *Orchis morio*. Сканирующая электронная микроскопия. Масштаб 100 мкм. Из Beyrle et al., 1995, с разрешения. Б — гифы *Rhizoctonia* в цитоплазме клетки *Dactylorhiza purpurella*. И живые (h) и отмершие коллапсировавшие гифы (dh) окружены оболочкой (e), вероятно, растительного происхождения. Парамуральные тельца (pb) встречаются в межфазном матриксе между цитоплазматической мембраной хозяина и оболочкой. Цитоплазма клетки хозяина содержит эндоплазматическую сеть (er) и кристалл (x). Также отмечена вакуоль клетки хозяина. Из Hadley, 1975, с разрешения. В — вставка: деталь строения эндоплазматической сети и оболочки. Из Hadley, 1975, с разрешения. Г — проникновение грибной гифы (h) через клеточную стенку хозяина (w) при нормальном микоризном взаимодействии между *Goodyera repens* и *Ceratobasidium cereale*. Обратите внимание на растворение клеточной стенки хозяина (отмечено стрелкой). Масштаб 1,0 мкм. Из Peterson, Currah, 1990, с разрешения. Д — резистентный ответ *Orchis morio* на внедрение *Rhizoctonia* в условиях культуры, при котором гриб отторгается и оказывается неспособным к образованию микоризы. Обратите внимание на утолщение растительной клеточной стенки (отмечено стрелкой) под проникающей гифой (отмечено стрелкой). Грибная гифа (h); клеточная стенка хозяина (w). Масштаб 5,0 мкм. Из Beyrle et al., 1995, с разрешения.

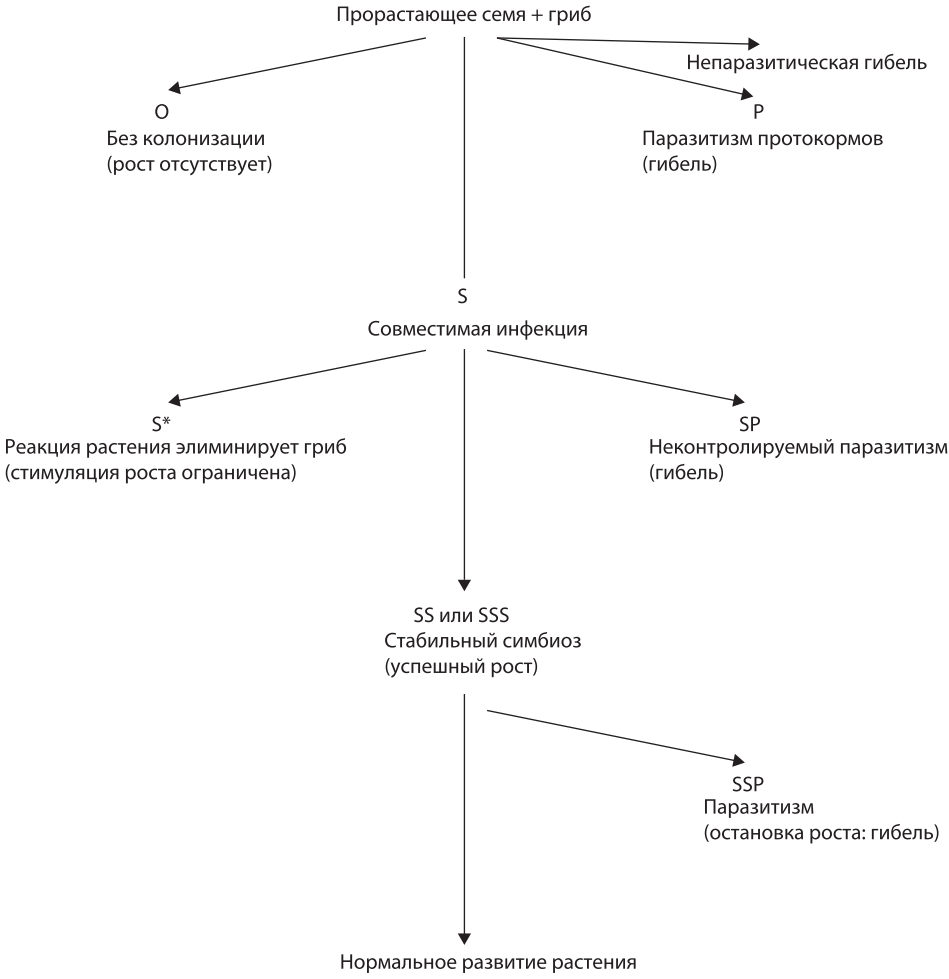


Рисунок 12.8. Схема симбиотического развития орхидных. O — без колонизации, рост отсутствует; S, SS, SSS — большее количество развивающихся протокормов; S* — вслед за изначальной колонизацией происходит реакция сверхчувствительности или полное разрушение грибных структур; P — гриб становится агрессивным паразитом, убивая клетки. SP, SSP — без колонизации, но гибель протокормов происходит по другим причинам. С изменениями из Hadley, 1970.

шения между симбионтами близки к таковым в арбускулярной микоризе (см. гл. 2) и отличаются от ситуации в микоризах вересковых (см. гл. 11).

Процесс колонизации, развитие пелотонов и последующий их лизис наблюдали у целого ряда пар орхидея-гриб. В культуре внедрение гриба происходит в течение нескольких дней после контакта симбионтов. Для *Goodyera repens* было отмечено, что суспензоры заселяются *Rhizoctonia goodyerae-repentis* (*Ceratobasidium cornigerum*) в течение 5 дней, пелотоны формируются за 7 дней и лизируются за 11 дней (Mollison, 1943). Симбиотическая стимуляция роста протокорма происходит перед лизисом пелотонов. Также было показано, что, если протокормы уже были

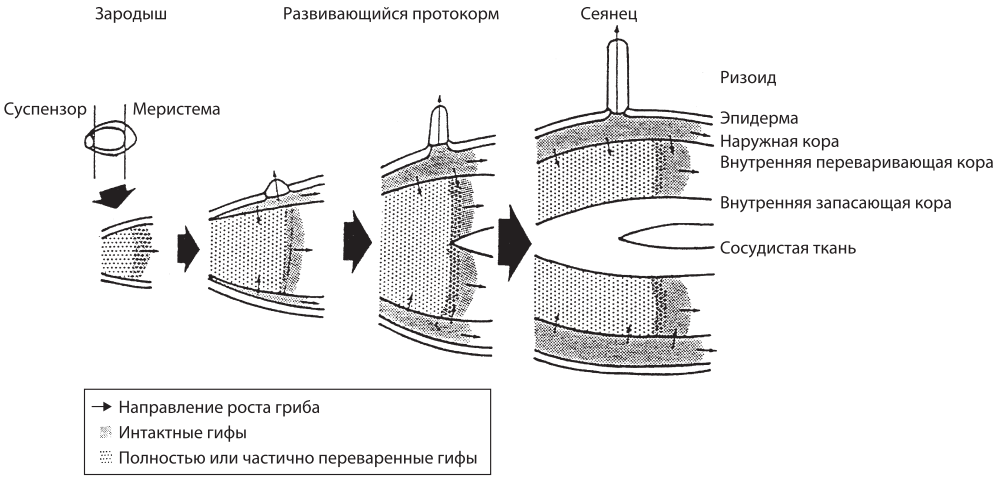


Рисунок 12.9. Схематическое изображение клеточных слоев протокормов и участков грибной колонизации. Из Clements, 1988, с разрешения.

насыщены влагой, то процесс происходит быстрее. У *Dactylorhiza purpurella* колонизацию наблюдали постоянно в течение нескольких дней, используя метод перевернутых стекол (Hadley, Williamson, 1971) (рис. 12.10). В пределах популяции имелось существенное варьирование, но, в среднем, колонизация через эпидермальные волоски происходила через 14,5 ч после первого контакта, а пелотоны формировались за 29 ч. Количество пелотонов, в том числе, лизированных, линейно возрастало со временем. Лизис пелотонов отмечали через 30–40 часов, а постоянное наблюдение содержащей пелотон клетки выявило, что процесс разрушения гифального клубка занимает менее 24 ч. Рост протокормов (измеряемый как объем) начинался сразу же после колонизации и, хотя между числом пелотонов и скоростью роста не было линейной зависимости (рис. 12.10А–Г), есть свидетельства того, что микоризная стимуляция роста предшествует лизису пелотонов, что подтверждает данные ранних исследований (Mollison, 1943).

Причины коллапса и лизиса гиф до сих пор не выяснены. Многие исследователи полагают, что это результат деятельности орхидных клеток и проявление защитных реакций на вторжение гриба (см., напр., Burges, 1939) или способ получения растительной клеткой питательных веществ от грибного партнера. Прямые доказательства одной или другой гипотезы пока еще не получены, но первая кажется более вероятной, особенно ввиду приводимых выше результатов, показывающих, что стимуляция роста предшествует событиям лизиса (см. рис. 12.10). Было выявлено, что активность кислой фосфатазы, часто считающаяся маркером для функционирования лизосом, возрастает в клетках, где происходит коллапс гиф (Williamson, 1973). Впоследствии было выяснено, что подобная активность никогда не обнаруживается в контактной зоне растения с молодыми физиологически активными гифами, но может наблюдаться в той же самой клетке около старых, сильно вакуолизированных гиф. Такие старые гифы сами по себе содержат кислые фосфатазы, которые исчезают, когда гифа окончательно коллапсирует (Dexheimer, Serrigny, 1983; Serrigny, Dexheimer, 1986). Повышенная активность оксидазных систем (напр., полифенолоксидазы, каталазы, оксидазы аскорбиновой кислоты) наблюдалась во время лизиса, но их роль в процессе была неясна (Blakeman et al., 1976; Pais, Barroso,

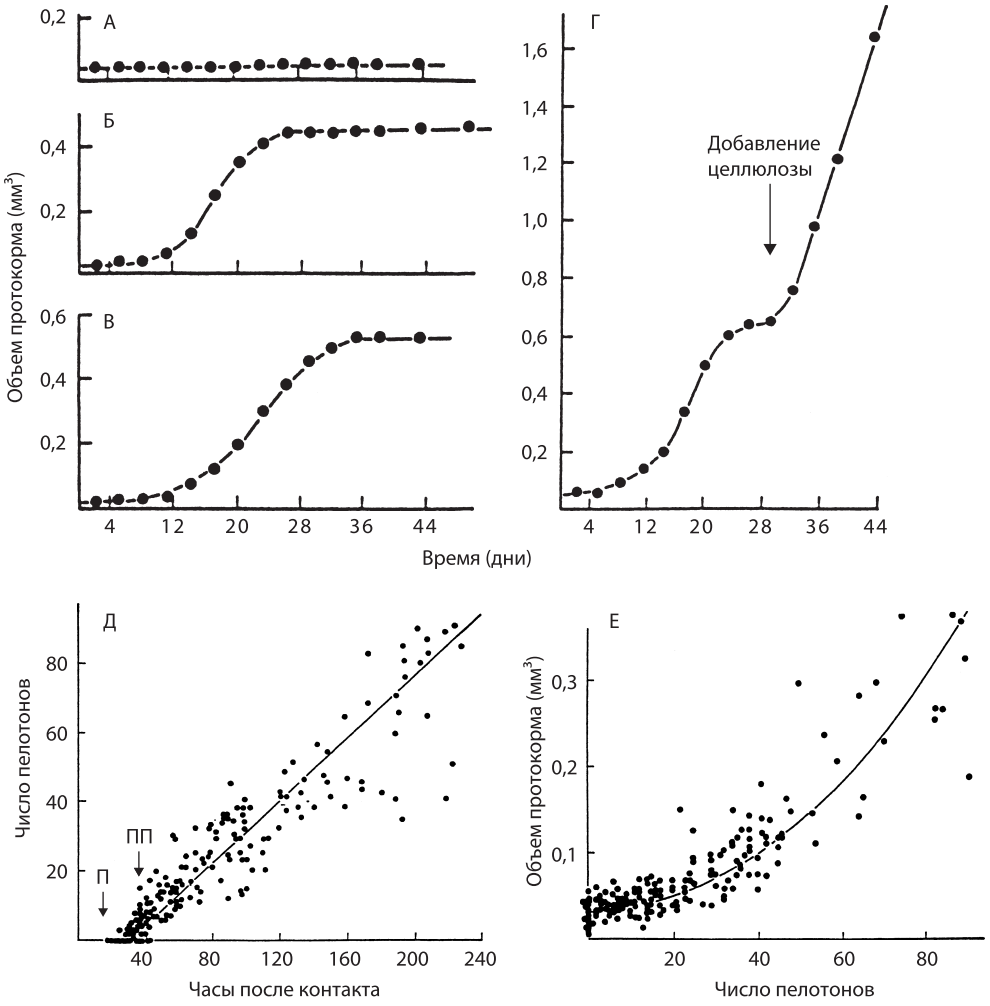


Рисунок 12.10. Развитие взаимоотношений между *Dactylorhiza purpurella* и *Rhizoctonia* spp. в культуре по методу перевернутых стекол. А — рост протокормов на водном агаре без грибных симбионтов. Б — рост на водном агаре после инокуляции. В — рост на среде Пфеффера с добавлением 0,1% глюкозы, после инокуляции. Г — рост на среде Пфеффера с добавлением целлюлозы, после инокуляции. Д — зависимость между временем контакта и числом образуемых пелотонов. Среднее время первого проникновения (П) =14,5 ч; первого наблюдения переваренных пелотонов (ПП) = 30–40 ч. Е — зависимость между числом образуемых пелотонов и объемом получаемых протокормов. Из Hadley, Williamson, 1971, с разрешения.

1983). Орхидные также образуют токсичные для грибов фитоалексины, такие как орхинол, лорроглоссол и хирцинол (см. ниже и у Stoessl, Arditti, 1984). Эти соединения содержатся преимущественно в клубнях, где, как полагают, участвуют в контроле или предотвращении грибной колонизации. Наличие орхинола было отмечено в протокормах *Orchis morio*, так что возможно его участие в наиболее динамичных стадиях грибо-растительных взаимодействий (Beyrle et al., 1995).

Если колонизация носит микоризный (а не паразитический) характер, следует быстрый рост протокормов, при котором колонизация ограничивается четко определяемыми участками. Протокормы дифференцируются на ткани, включая неколонизируемую запасающую кору, сосудистую ткань, меристему побега и (у потенциально фотосинтезирующих орхидных) молодые листья, а также базальную колонизируемую часть, содержащую как живые, так и разрушенные пелотоны (см. рис.12.4 и 12.10).

Грибные гифы соединяют протокорм с субстратом, имея при этом только одну точку входа/выхода – суспензор или эпидермальные волоски (см. Clements, 1988). Рост микоризных протокормов в целом гораздо интенсивнее, чем асимбиотических, выращиваемых в таких же условиях. К примеру, молодые растения *Goodyera repens*, колонизированные *Ceratobasidium cornigerum*, достигали высоты 5–10 см за 12 месяцев на агаре с целлюлозой, в то время как асимбиотические протокормы были только 2–3 см в высоту (Alexander, Hadley, 1984; см. рис. 12.5).

Протяженность и последовательность различных стадий развития в природных условиях изучалась редко. Однако, предварительные данные, полученные в опытах с семенами нескольких наземных видов, высеянных в сетчатых пакетах, позволяют предполагать, что колонизация происходит весной–летом и может быть значительно более медленной, чем при культивировании в лаборатории (Rasmussen, Wigham, 1994).

Микоризы у взрослых орхидных

Структурные аспекты

У взрослых орхидных обычно имеются микоризованные корни или клубни, хотя степень колонизации может различаться. Наземные виды орхидных из умеренных широт и тропиков, как правило, обильно колонизированы (см. Hadley, 1982; Goh et al., 1992; рис. 12.11). Корни часто образуются заново каждый сезон и быстро микоризуются, микобионт вселяется из почвы. У *Ophrys* этот процесс совпадает с образованием осенью новых клубней (Bernard, 1901). Корни *Goodyera repens* также колонизируются сразу после образования (при длине 4 мм), и различий в степени колонизации в разные сезоны не наблюдалось (Mollison, 1943; Alexander, Alexander, 1984). У *Bletilla striata* рост корней начинается в мае, и колонизация живыми непереваренными грибными пелотонами наиболее высока именно в молодых корнях. По мере увеличения скорости роста корней снижается как общая, так и активная колонизация микобионтом. Путем выделения гриба показано, что *Rhizoctonia repens* — наиболее обычный эндофит *B. striata* в районе исследования (Masuhara et al., 1988).

В нескольких работах было проведено сравнение степени колонизации в различных тканях орхидных. У вечнозеленого вида *Goodyera repens* колонизация корневищ (до 90%) не зависела от степени колонизации корней и достигала максимума в период с ноября по апрель, когда скорость элонгации была наиболее низкой (Alexander, Alexander, 1984). *Spiranthes sinensis* var. *amoena* образует настоящие корни осенью, которые, как и у вышеописанных видов, быстро заселяются микобионтом, и степень колонизации достигает максимума следующим летом. В период цветения количество живого грибного симбионта снижается, и корни отмирают. Напротив, клубнекорни образуются весной и, хотя они анатомически сходны с истинными корнями, заселяются грибом только локально. Гриб не распространяется широко, и степень колонизации всегда ниже, чем в настоящих корнях (Masuhara,

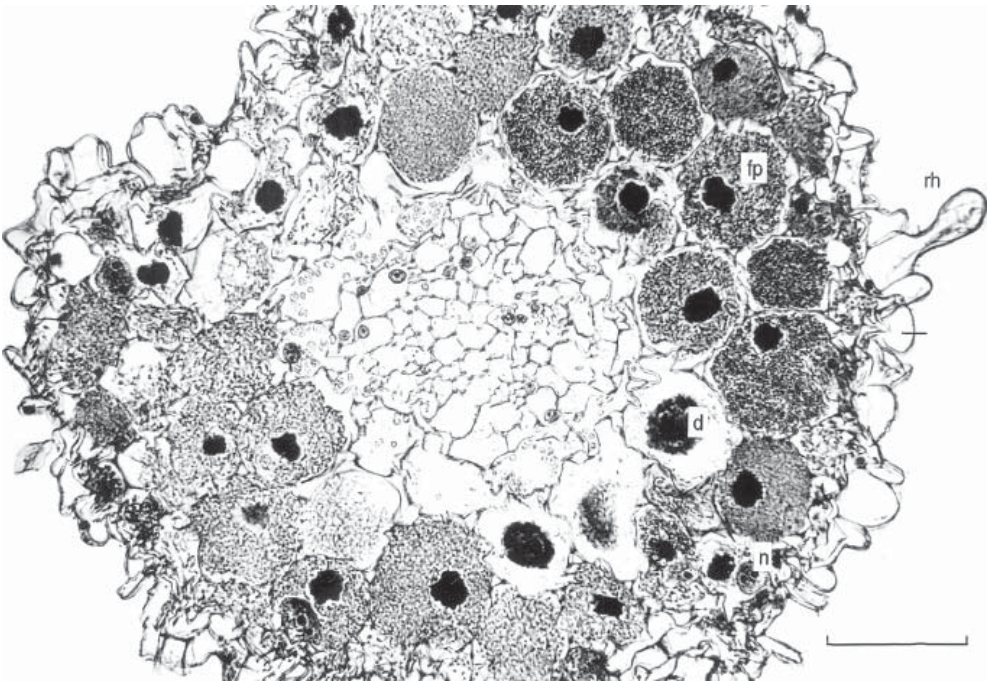


Рисунок 12.11. Поперечный срез микоризного корня *Cypripedium arietinum* с интактными (fp) и разрушенными (d) пелотонами в одной и той же области коровой ткани. Фото любезно предоставлено Р.Л. Петерсоном.

Katsuya, 1992). У видов орхидных из аридных местообитаний в западной Австралии выявлено пять типов колонизации (Ramsay et al., 1986). У видов со стеблевыми и корневыми клубнями микобионт обнаруживался в этих структурах на протяжении всего года, хотя степень колонизации была наименьшей летом в период закладки цветочных почек. У других видов, ежесезонно образующих корни и побеги, колонизация происходила каждый сезон заново (как у орхидных умеренных широт), и ее пик совпадал с периодом максимального развития вегетативных органов (рис. 12.12).

У эпифитных орхидных колонизация, за редкими исключениями, вероятно, довольно скудная и спорадическая по сравнению с наземными видами. Не все проанализированные растения содержали типичные микоризные структуры и колонизация, в тех случаях, когда она происходит, часто ограничена отдельными участками корней (Ruinen, 1953; Hadley, Williamson, 1972; Bermudes, Benzing, 1989; Lesica, Antibus, 1990; Richardson et al., 1993).

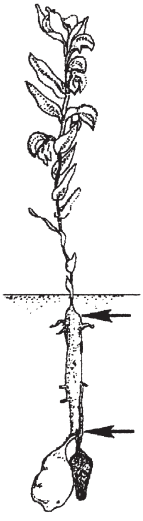
На клеточном уровне грибная колонизация тканей взрослых орхидных весьма сходна с таковой у протокормов. Гифа гриба проникает сквозь ризодерму и входит в клетки коровой паренхимы, образуя характерные сложные клубки. Проникнове-

Рисунок 12.12. Пять типов микоризной колонизации, выявленных у западноавстралийских орхидных. Характерные области колонизации в корнях, корневищах или стеблях отмечены стрелками. Из Ramsay et al., 1986.

Тип 1
Gastrodia
Rhizanthella

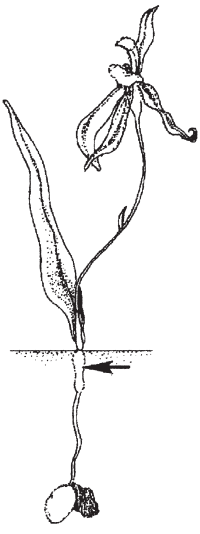
Rhizanthella gardneri

Тип 2
Eriochilus
Pterostylis



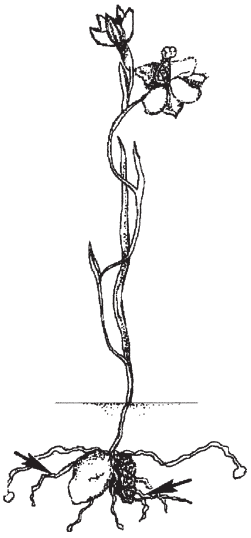
Pterostylis vittata

Тип 3
Caladenia
Elythranthera
Paracaleana



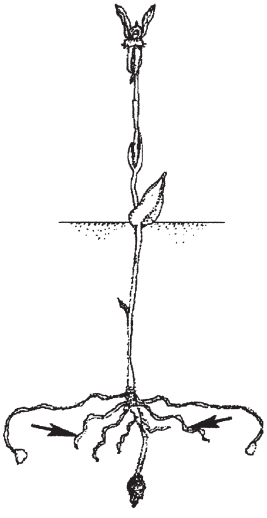
Caladenia roei

Тип 4a
Prasophyllum
Microtis
Thelymitra
Diuris
Calochilus
Monadenia
Spiculaea



Thelymitra antennifera

Тип 4b
Diuris
Lyperanthus
Leporella

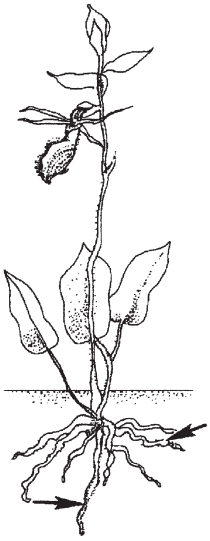


Leporella fimbriata

Тип 4c
Prasophyllum
Thelymitra

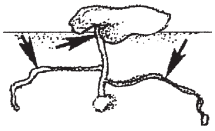
Prasophyllum parvifolium

Тип 4d
Cryptostylis



Cryptostylis ovata

Тип 5
Acianthus
Drakaea
Corybas



Drakaea elastica

ние через суберинизированную экзодерму, часто сильно развитую у орхидных, осуществляется через короткие клетки-каналы (Janse, 1897; Mejstrik, 1970; Esnault et al., 1994). Распространение гриба происходит или в результате повторной колонизации из почвы, или путем перехода гиф от одной клетки к другой в коре корня. Более чем один вид гриба может формировать пелотоны в корне и даже в одной и той же клетке (Warcup, 1971), и среди клеток коры могут встречаться как неколонизированные, так и содержащие активные пелотоны или комки разлагающихся гиф в разных соотношениях (см. рис.12.7А, Б и 12.11).

Транспорт питательных элементов между симбионтами

Общие представления

Как было показано в предыдущей части, нефотосинтезирующая стадия развития орхидных, протокорм, зависима от внешнего притока сахаров и других питательных веществ, в природе предоставляемых грибным симбионтом. Смена направления потока органического углерода потенциально возможна у сеянцев зеленых орхидных при развитии способности к фотосинтезу. Было сделано предположение, что этот физиологический сдвиг широко распространен, но до сих пор известно всего несколько примеров экспериментального изучения этих процессов. Так как некоторые зеленые наземные орхидные нормально развиваются в условиях сильного затенения, сохраняется возможность передачи органического углерода, равно как азота и фосфора, через грибной симбионт (см. гл. 13).

В следующих разделах мы приводим информацию отдельно о протокормах, сеянцах и взрослых зеленых растениях орхидных, которые могут быть, хотя бы отчасти, автотрофными. Тем не менее, следует принимать во внимание, что этот переход был постепенным и четкое разграничение будет искусственным.

Питание протокорма

Углерод

Увеличение интенсивности роста вслед за микоризной колонизацией протокормов основано на транспорте органического углерода в направлении растения. В большинстве исследований симбиотического развития протокормов в состав среды входили растворимые сахара, которые могут быть использованы как грибом, так и протокормом. Однако ростовые ответные реакции на формирование микоризы регулярно отмечают на средах, содержащих целлюлозу, крахмал, овсяный агар, где осуществляемый грибом гидролиз будет являться предпосылкой использования этих веществ симбионтом, и на которых не происходит рост асимбиотических протокормов. Конечно, установление микоризного симбиоза и продолжение роста протокорма более вероятно, если гриб развивается на целлюлозе, чем при наличии среды, богатой растворимыми углеводами (см. рис. 12.5). В последнем случае более вероятны паразитные взаимоотношения (Smith, 1966; Harvais, Hadley, 1967b; Hadley, 1969).

Как и в других микоризных системах, транспорт питательных веществ является предпосылкой к их эффективной передаче партнеру по симбиозу. Первое свидетельство транспортной активности было получено при использовании системы от-

секов, в которой органические субстраты для грибного симбионта отделены от колонизированных протокормов (Beau, 1920). Рост происходил только в том случае, когда имелся интактный мицелий. Если гифы, соединяющие протокормы с вносимыми питательными веществами, были перерезаны, рост прекращался. Позднее с применением экспериментальной системы, изображенной на рис. 12.13, было показано, что вид *Rhizoctonia solani (Thanatephorus cucumeris)* не только был способен к гидролизу целлюлозы и абсорбции получающихся продуктов, но также и к транспорту этих веществ к орхидным сеянцам в количествах, достаточных для их роста (Smith, 1966). Результаты приведены в табл. 12.4. Дж. Харли и С.Э. Смит использовали данные о росте протокормов *Dactylorhiza purpurella* и предположения о числе гифальных соединений с целлюлозным субстратом для вычисления приблизительного объема тока гексозы — 2,5 ´ 10^{-3}/моль/м^2/с (Harley, Smith, 1983). Это значение существенно выше, чем для потоков неорганических питательных веществ в АМ микоризных гифах (см. гл. 5).

Таблица 12.4. Рост сеянцев *Dactylorhiza purpurella* в течение 14 недель на субстратах с добавлением целлюлозы или без, в присутствии или отсутствии *Thanatephorus cucumeris* при температуре 22,5 ºС, в темноте.

	Без инокуляции	С инокуляцией	
		+ целлюлоза	– целлюлоза
Число сеянцев[a]	14	226	324
Длина (мкм)[b]	248 ± 9	1170 ± 119	800 ± 72
Ширина (мкм)[b]	206 ± 10	692 ± 44	519 ± 39

Данные взяты из Smith, 1966. [a] сеянцы, остающиеся здоровыми или практически здоровыми из выборки около 800 особей; [b] ± стандартная ошибка.

Транспортная способность грибов орхидной микоризы и поступление сахаров к симбиотическим протокормам *Dactylorhiza purpurella* и *Goodyera repens* были подтверждены в экспериментах с ^{14}C глюкозой (Smith, 1967; Purves, Hadley, 1975; Alexander, Hadley, 1985; см. рис. 12.8). И в спирторастворимой, и в нерастворимой фракциях сеянцев у *D. purpurella* была обнаружена метка. Хроматографический анализ растворимых фракций показал, что неколонизированные ткани орхидных содержали сахарозу, глюкозу и фруктозу, в то время как гриб содержал трегалозу вместе с глюкозой и иногда с маннитом, но не содержал сахарозу. У сеянцев, в которые вно-

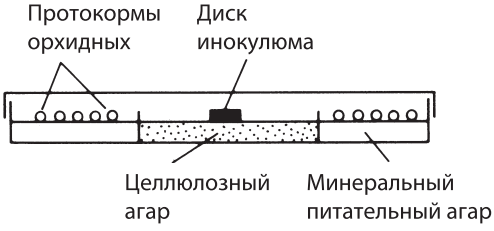


Рисунок 12.13. Модифицированная чашка Петри для изучения перемещения веществ к сеянцам орхидных. Семена были посеяны на минеральный питательный агар в наружную чашку. Гриб помещали на целлюлозосодержащую среду во внутренней чашке; он рос через барьер во внешний отсек и образовывал микоризу с сеянцами. Из Smith, 1966.

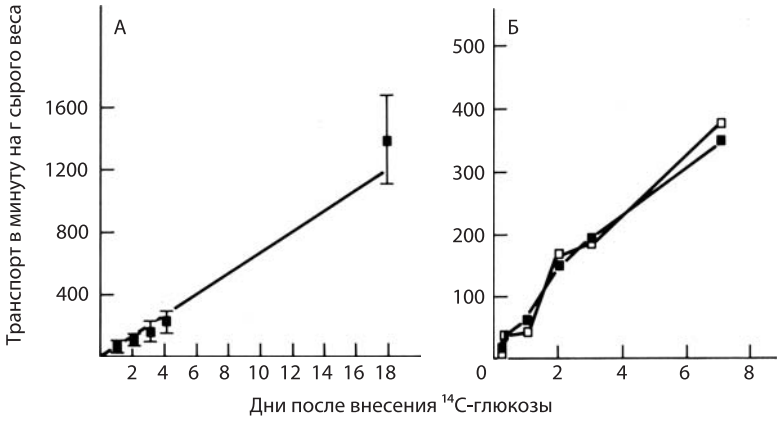


Рисунок 12.14. Транспорт меченых ^{14}C соединений микоризными грибами к орхидным протокормам после внесения к грибному симбионту ^{14}C-глюкозы в чашках, разделенных на отсеки. А — *Goodyera repens* при колонизации *Rhizoctonia goodyerae–repentis*. Перерисовано из Purves, Hadley, 1975. Б — *Dactylorhiza purpurella* при колонизации *R. solani*. Спирторастворимая фракция — ■; спиртонерастворимая фракция — □. Перерисовано из Smith, 1967.

сили ^{14}C глюкозу через грибной симбионт в чашках с отсеками, метка проявлялась в грибных сахарах, а также в сахаре орхидных — сахарозе (рис. 12.14). Изменения в характере распределения метки у *D. purpurella* с течением времени показаны на рисунке 12.15, установлено, что грибной сахар, трегалоза, наиболее сильно помечен в ранних образцах, но по прошествии времени доля метки в сахарозе увеличивается, синхронно со снижением ее количества в трегалозе (Smith, 1967).

Есть четкое доказательство того, что углеводы, транспортируемые по грибным гифам и далее к клеткам орхидных, переводятся в форму сахарозы. Так как на трегалозе поддерживается асимбиотический рост сеянцев некоторых видов орхидных, возможно, что она передается напрямую от гриба, но нельзя исключать гидролиз до глюкозы перед поглощением под действием грибной или растительной трегалозы, который может осуществляться в протокормах в контактной зоне симбионтов. Трегалоза является подходящим субстратом для прорастания *Dactylorhiza purpurella* (Smith, 1973), *Goodyera repens* (Purves, Hadley, 1975), *Bletilla hyacintha*, *Dendrobium* spp. и *Phalaenopsis* spp. (Ernst, 1967; Ernst et al., 1971; Smith, 1973). Она может также абсорбироваться и метаболизироваться листьями *B. hyacintha*. Характер распределения метки после поглощения ^{14}C-трегалозы был идентичен таковому после абсорбции ^{14}C-глюкозы (Smith, Smith, 1973). Низкие концентрации глюкозы наблюдались в среде после инкубации асимбиотических сеянцев *Phalaenopsis* с трегалозой (Ernst et al., 1971), что, возможно, указывает на гидролиз, предшествующий поглощению сахара протокормами. Маннит, вероятно, менее важен в качестве транспортируемого между симбионтами углевода. Подобный транспорт происходит только у некоторых изученных видов грибов и подходит для асимбиотического проращивания немногих орхидных. Листья *B. hyacintha* поглощают и накапливают маннит, но его метаболизм не происходит, кроме того, это вещество не подходит для проращивания семян данного вида (Smith, 1973; Smith, Smith, 1973).

Витамины и факторы роста, синтезируемые грибами, также могут быть важны или необходимы для роста сеянцев некоторых видов орхидных, и имеются подтверждения того, что многие потребности сеянцев в асимбиотической культуре в

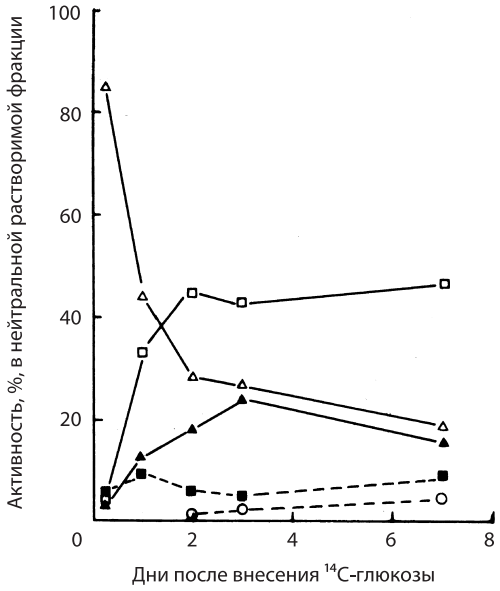


Рисунок 12.15. Распределение ^{14}C в компонентах нейтральной этанол-растворимой фракции микоризных протокормов *Dactylorhiza purpurella* после того, как в микоризный симбионт, *Rhizoctonia solani*, была внесена ^{14}C-глюкоза в чашках, разделенных на отсеки. Δ — трегалоза; □ — сахароза; ■ — глюкоза; ▲ — маннит; ○ — фруктоза. Перерисовано из Smith, 1967.

условиях симбиоза обеспечиваются грибным партнером. Тем не менее, прямые доказательства транспорта подобных веществ от гриба к растению пока отсутствуют.

Минеральное питание

Экспериментально показано существенное влияние микоризы на N питание (см Burgeff, 1936). Увеличение массы сеянцев *Cymbidium* на субстрате из волокон папоротника в течение трех месяцев было почти 10-кратным, при том, что содержание N увеличилось в 25 раз. Более четкие свидетельства поглощения и транспорта N отсутствуют, несмотря на то, что постановка экспериментов в системе с отсеками с использованием источников ^{15}N (как органических, так и неорганических) относительно проста. Показан транспорт ^{32}P грибными симбионтами и его накопление в протокормах *Dactylorhiza purpurella* в культуре на чашках, разделенных на отсеки (Smith, 1967), однако количественные данные пока не получены.

Транспорт веществ от гриба к растению у взрослых орхидных

Углерод, азот и фосфор

В ранних работах обсуждался вопрос о том, происходит ли изменение направления транспорта C от грибного симбионта к протокорму, наблюдаемое в течение гетеротрофных стадий цикла развития орхидных, на противоположное когда растения начинают фотосинтезировать (Burgeff, 1936; Scott, 1969). Эти постулаты не были подтверждены экспериментально, но после дальнейших исследований движения вносимого в виде нерастворимого источника целлюлозы ^{14}C из микоризного мицелия

в ассоциированные с ним молодые зеленые растения *Goodyera repens* (Alexander, Hadley, 1985), ситуация несколько прояснилась. Наоборот, небольшое количество экспериментальных исследований транспорта С от автотрофных орхидных к грибам показало, что гетеротрофный партнер получает очень мало С от растения или не получает его вовсе. При поступлении $^{14}CO_2$ в зеленые побеги *G. repens* не было отмечено никакого движения С к грибному партнеру (Hadley, Purves, 1974). Аналогично, было выявлено, что через неделю менее чем 0,5% общего количества $^{14}CO_2$ из побегов *G. repens* высвобождалось в субстрат или в микоризный мицелий или выделялось в качестве экссудата (Alexander, Hadley, 1985). Автотрофные растения, в противоположность протокормам, не могут получать С от своих грибных партнеров, даже после длительного периода затемнения, увеличивающего углеродные потребности растения. На основании таких результатов К. Александр и Дж. Хэдли также заключили, что орхидная микориза подвергается физиологическим изменениям, в ходе которых происходит остановка движения С от гриба к растению, когда оно начинает фотосинтезировать (Alexander, Hadley, 1985). Эти исследования, наряду с прочими, давшими сходные результаты, которые не были опубликованы (см. Purves, Hadley, 1975), ограничены чувствительностью метода, но эти проблемы впоследствии были решены.

В новом исследовании был продемонстрирован значительный ток С из *Goodyera repens* в обширную сеть свободного мицелия (Cameron et al., 2006) (рис. 12.16). Около 3% метки ^{14}C, вносимой в форме импульса $^{14}CO_2$ в побеги, передавалось грибному симбионту за 72 ч после внесения (рис. 12.17). Так как в этом значении не учитывается ^{14}C в дыхании гриба, оно, вероятно, отражает существенно заниженную оценку общего потока С от гриба к растению. Несмотря на это, цифра 3% для доли С сходна с оценками для грибов в АМ симбиозах (Leake et al., 2006; см. гл. 4).

Представления о транспорте С и других элементов питания в обратном направлении, то есть от гриба к растению, также были подвергнуты пересмотру. Д. Кэмерон с соавт. показали, что при внесении в микоризный мицелий глицина с двойной меткой (^{13}C-^{15}N) (рис. 12.18А) или ^{14}C-глицина (рис. 12.18Б) значительные количества меченого С транспортируются к фотосинтезирующим молодым растениям *Goodyera repens*, минуя диффузионный барьер (Cameron et al., 2006). Этот эксперимент явственно продемонстрировал, что у данного вида орхидных путь транспорта С от грибного симбионта к растению сохраняется во взрослом состоянии. Таким образом, существует возможность того, что вид *G. repens*, как и некоторые другие зеленые орхидные, обычно населяющие сильно затененные местообитания, может быть в природных условиях частичным микогетеротрофом (см. гл. 13). Остается выяснить, связаны ли противоречия в результатах этого и предыдущего (Alexander, Hadley 1985) исследований с типом субстрата и условиями окружающей среды или с различной чувствительностью метода.

Эксперимент Д. Кэмерона с соавт. (Cameron et al., 2006) также представил первые прямые доказательства транспорта N от гриба к автотрофному орхидному растению (рис. 12.18А), отмеченного в некоторых ранних работах (см. Burgeff, 1936). Общее количество ^{15}N, заключенного в растительной и грибной биомассе со стороны акцептора (растения), было более чем в два раза выше сравнительно с количеством ^{13}C, несмотря на то, что глицин с двойной меткой содержал втрое больше С, чем N. Это различие было отнесено на счет дыхания в мицелиальном отсеке ростовой камеры. Полученные данные предполагают, что глицин ассимилируется грибом, и транспорт N и С через контактную зону, вероятно, регулируется независимо. Общее количество ^{15}N в биомассе через 72 ч воздействия изотопа снижалось от грибного симбионта (78%) к корню (20%) и побегу (3%). Путь поглощения N посредством грибного партнера у орхидных очень важен не только ввиду слабого развития корневой системы у многих из них, но и потому, что ряд видов, как автотроф-

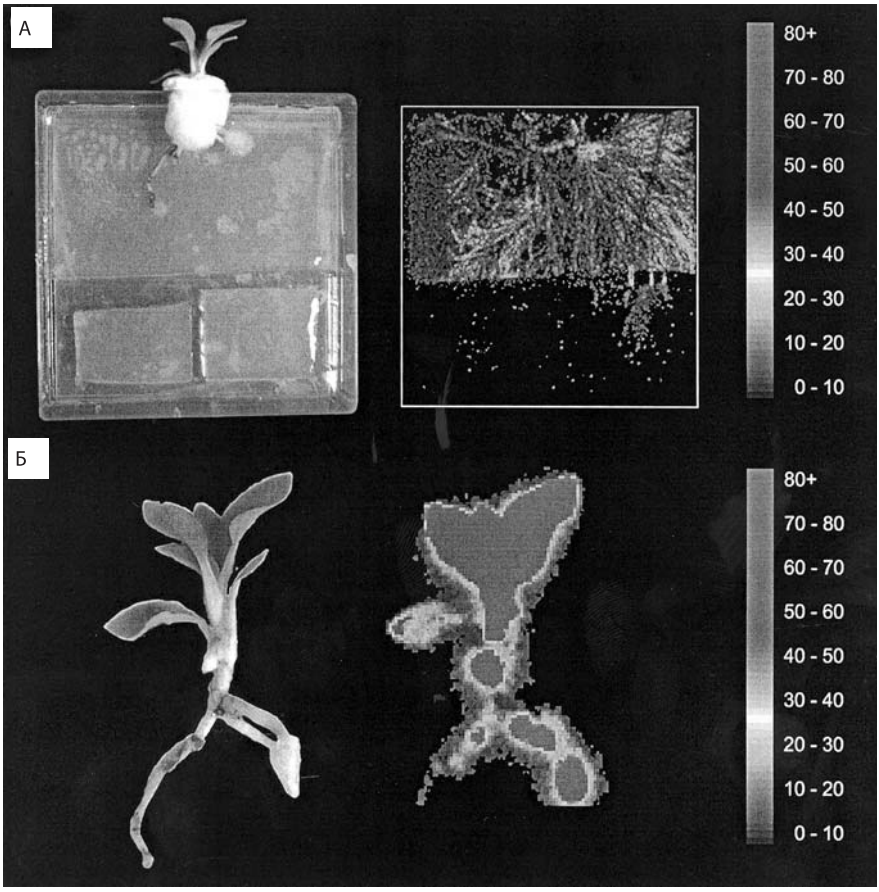


Рисунок 12.16. Транспорт ^{14}C от *Goodyera repens* к грибному симбионту. Микрокосм, использованный для воздействия $^{14}CO_2$ на растения (левая часть) и цифровая авторадиография (серая шкала), полученная через 72 ч после воздействия на побеги. А — перераспределение ^{14}C в свободном микоризном мицелии в правом нижнем блоке агара посредством гифальных мостиков и отсутствие транспорта ^{14}C к мицелию в левом блоке агара, где гифальные соединения с растением были повреждены перед внесением метки (правый рисунок). Б — ассимиляция $^{14}CO_2$ и его распределение в корни и корневища *G. repens*. Шкала указывает число единиц, отмеченных в области 0,25 мм^2 за период 60 мин. Из Cameron et al., 2006.

ных, так и микогетеротрофных, имеют высокое содержание N в листьях и, следовательно, большие потребности в этом элементе (Gebauer, Meyer, 2003).

Также было проведено несколько исследований, посвященных роли орхидной микоризы в P питании взрослых растений. С использованием ^{32}P-ортофосфата были получены косвенные свидетельства того, что присутствие орхидных микориз усиливает поглощение P у *Goodyera repens* (Alexander et al., 1984). При применении фунгицида тиобензидола у колонизированных растений статистически достоверно снижалось поступление P. Несмотря на то, что перенос ^{32}P от грибного симбионта к протокормам орхидных был показан много лет назад (Smith, 1967), прямые доказательства транспорта P к взрослому растению по микоризному мицелию до не-

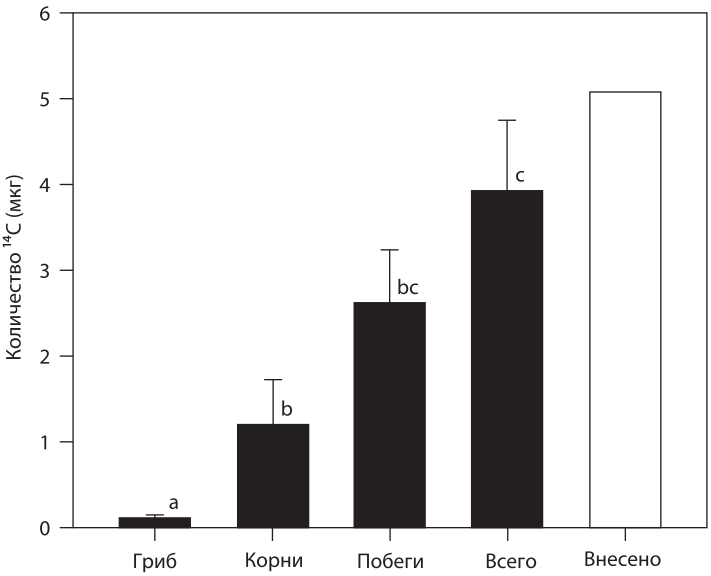


Рисунок 12.17. Доля ^{14}C в компонентах биомассы: отсек свободного мицелия (гриб), корни, побеги и их сумма (общая биомасса) после внесения $^{14}CO_2$ в побеги. Изначальное количество внесенного ^{14}C показано справа. Разброс обозначает стандартную ошибку. Столбцы с одинаковыми буквами обозначают статистически недостоверные различия ($P > 0{,}05$, однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) (Log10 трансформированные данные): d.f. = 3,23; F = 29,82; $P<0{,}001$). Из Cameron et al., 2006.

давнего времени отсутствовали. В исследовании, в котором ^{33}P вносили в микоризную мицелиальную сеть *G. repens,* также с использованием диффузионного барьера между источником и микоризными растениями, было подтверждено, что значительные количества P могут транспортироваться по мицелию (рис. 12.19). Через 7 дней 6,3% общего количества ^{33}P, транспортируемого через барьер, было обнаружено в грибо-растительной системе (Cameron et al., 2007).

Механизмы транспорта

Лизис грибных структур в орхидной микоризе обычно считается проявлением защитных реакций растения-хозяина на вторжение, но часто предполагают, что он также важен для транспорта питательных веществ. Эта гипотеза не имеет явных экспериментальных опровержений, за исключением того, что ростовые ответные реакции на колонизацию начинаются до момента лизиса пелотонов (см. рис. 12.10). В настоящее время более вероятным считается транспорт питательных веществ через интактные мембраны гриба и растения. Существует возможность независимого контроля движения разных элементов, которая, как показано при изучении *Goodyera repens,* явственно необходима на различных стадиях развития (Alexander, Hadley, 1984, 1985; Cameron et al., 2006). Однако было выявлено, что чувствительные к диэтилстилбэстролу АТФазы активны на цитоплазматических мембранах и гриба и растения в контактной зоне пелотона и на растительных мембранах, окру-

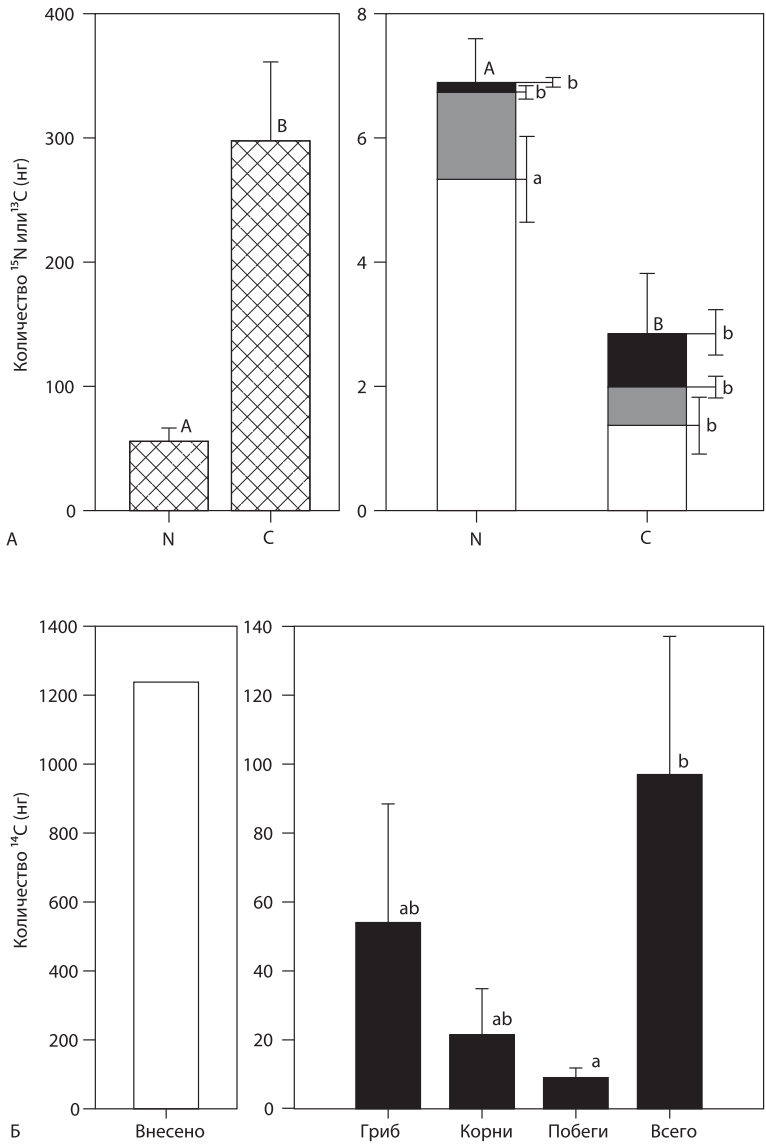


Рисунок 12.18. А — количество ^{15}N и ^{13}C (А), вносимых в форме глицина с двойной меткой (заштрихованные столбцы), и Б — общее количество ^{15}N и ^{13}C, включающееся в растительную и грибную биомассу и их отдельные компоненты: (А) отсек свободного мицелия (□), корни (■) и побеги (■). Разброс обозначает стандартную ошибку. Столбцы с одинаковыми буквами обозначают статистически недостоверные различия ($P >$ 0,05, двуфакторный дисперсионный анализ (ANOVA), N = 3–4. Буквенные обозначения вверху относятся к столбцу в целом, внизу — к отдельным частям каждого столбца. Из Cameron et al., 2006. Б — количество ^{14}C, вносимого в виде ^{14}C глицина (А) и включающегося в биомассу (Б): отсек свободного мицелия, корни, побеги и общая биомасса. Разброс обозначает стандартную ошибку. Столбцы с одинаковыми буквами обозначают статистически недостоверные различия ($P >$ 0,05). N = 4–5. Из Cameron et al., 2006.

жающих разрушенные гифы гриба, в отличие от цитоплазматических мембран без инвагинации (Serrigny, Dexheimer, 1985). Такой характер распределения ферментов может служить свидетельством того, что растение поглощает питательные вещества, как из интактных, так и из переваренных пелотонов, и для выяснения этих вопросов необходимы дальнейшие исследования.

Взаимоотношения гриб–растение в протокорме – микориза или нет?

До последнего времени считалось, что взаимоотношения между зелеными орхидными и ассоциированными с ними грибами на самом деле нельзя рассматривать как мутуалистические. До работы Д. Кэмерона с соавт. не было никаких экспериментальных подтверждений того, что грибы получают какое бы то ни было преимущество в питании от ассоциации с растением (Cameron et al., 2006). Даже сейчас неясно, при каких условиях происходит результирующий транспорт продуктов фотосинтеза к грибам орхидной микоризы, и как широко распространено это явление среди тысяч видов зеленых орхидных, растущих в различных местообитаниях. Однако есть примеры, указывающие на возможность мутуализма и получения в разное время каждым из партнеров преимуществ в симбиозе.

Микоризные симбиозы у зеленых орхидных также, вероятно, не имеют долговременной совместимости, характерной для других типов микориз. Известно, что конечный результат взаимодействий между потенциально микоризными грибами и протокормами орхидных может быть очень различным. В любой популяции, развивающейся при заданных условиях с единственным эндофитом, могут находиться активно растущие протокормы, а также особи, на которых гриб перешел к паразитизму, и такие, у которых произошло отторжение грибного партнера. В двух последних случаях рост протокормов ослаблен или отсутствует. На рисунке 12.8 приведена схема возможных путей взаимодействия гриба с протокормом орхидных в культуре, полученная в результате экспериментов с 32 штаммами 10 видов грибов (выделенных из 3 тропических видов и 5 видов орхидных умеренной зоны) с 10 видами протокормов (Hadley, 1970). Сходные варианты ответных реакций были показаны для австралийских орхидных (напр., Warcup,. 1975; Clements, 1981, 1982b). Путем варьирования условий культивирования, особенно источников N и C и их концентрации в среде, можно изменить долю протокормов различных категорий (Hadley, 1970; Beyrle et al., 1991, 1995). Подобные манипуляции можно использовать для анализа взаимоотношений, хотя эти весьма искусственные условия вряд ли отражают таковые в почве. Отторжение грибного партнера сопровождается утолщением клеточных стенок (см. рис. 12.7Д) и отложением фенольных соединений, в то время как неконтролируемый паразитизм характеризуется развитием мягкой гнили, ветвлением гиф в тканях и отсутствием структурных признаков активации защитных реакций (Masuhara, Katsuya, 1991; Beyrle et al., 1995). В довершение ко всему, микоризные протокормы могут нормально развиваться в течение нескольких недель, а затем подвергаться паразитизму, при котором гриб изменяет свое поведение и начинает активно разрастаться в тканях (Hadley, 1970).

Доля протокормов каждой категории зависит от штамма грибного партнера и вида растения, а также от условий окружающей среды. О том, как контролируется баланс между двумя организмами, известно мало, но симбиоз явно значительно менее стабилен, чем в других типах микоризных взаимоотношений и похож на ситуацию, когда атака потенциального патогена сдерживается защитными реакциями растения. Виды рода *Rhizoctonia*, сходные с симбионтами орхидных, образуют цел-

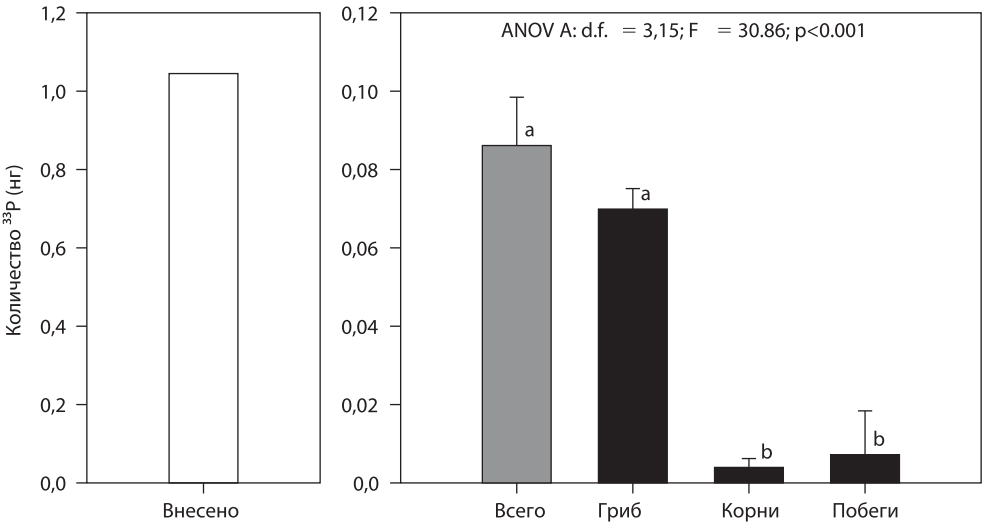


Рисунок 12.19. Количество вносимого ^{33}P (слева), среднее значение транспортируемого через диффузионный барьер микоризной мицелиальной сетью ^{33}P (серый столбец) и его распределение между грибным симбионтом, корнями и побегами (черные столбцы). Разброс обозначает стандартную ошибку, N = 5 микрокосмов. Столбцы с одинаковыми буквами обозначают статистически недостоверные различия ($P > 0,05$, 1 однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA): d.f. = 3,15; F = 30,86; $P<0,001$). Из Cameron et al., 2007.

люлазы и пектиназы, которые могут принимать участие в колонизации растительных тканей. Количества пектиназ, образуемые в условиях культуры у разных видов *Rhizoctonia*, не связаны с их патогенностью в отношении сеянцев *Dactylorhiza purpurella* (Perombelon, Hadley, 1965). Были обнаружены значительные различия в целлюлозолитической активности (Smith, 1966; Hadley, 1969; и см. Burgeff, 1936), следовательно, возможен контроль интенсивности микоризных взаимодействий, например, посредством ингибирования конечным продуктом в тканях с высоким содержанием гексозы сравнительно с немикоризными тканями орхидных растений (Purves, Hadley, 1975). При паразитизме разрушаются клеточные стенки (Beyrle et al., 1995), что предполагает отсутствие контроля гидролитической активности. В микоризных взаимодействиях ограниченная гидролитическая активность в тканях может быть существенна для проникновения через клеточные стенки (см. рис. 12.7Г) и высвобождения небольших количеств олигосахаридов, которые вызывают защитные реакции растения и могут приводить к контролю над вторжением гриба.

Данные о защитных реакциях орхидных достаточно обширны. Первые указания появились в работах Н. Бернара, предположившего, что отсутствие грибной инфекции в клубнях некоторых орхидных и устойчивость семян к вторжению микобионта обусловлены наличием в них некоего антигрибного вещества (Bernard, 1909b). Н. Бернар показал, что клубни *Loroglossum* содержат вещества, токсичные для многих эндофитов орхидных, в том числе, *Rhizoctonia repens* (*Tulasnella calospora)*, но не действующие на штаммы *R. solani*. Впоследствии подтвердилось, что орхидные образуют дигидроксифенантреновые фитоалексины, такие как хирцинол, лороглоссол и орхинол, ингибирующие рост микоризных и многих других грибов, а также бактерий (см. Arditti, 1979; Stoessl, Arditti, 1984). Не вполне ясно, присутству-

ют ли эти вещества до контакта с грибами, но Э. Гойман с коллегами показали, что орхинол образуется в клубнях *Orchis militaris* при инкубации с *Rhizoctonia repens* в клетках, не только непосредственно контактирующих с грибом, но и находящихся на расстоянии до 12 мм (см. Nuesch, 1963).

Очевидно, что эти вещества участвуют в контроле или ограничении распространения гриба, особенно в клубнях, где они образуются в высоких концентрациях. Однако их роль в «тонкой настройке» взаимодействий с протокормами и корнями не вполне ясна, и в течение многих лет ни орхинол, ни близкие к нему фитоалексины не были отмечены в протокормах. Было показано, что в низких концентрациях орхинол присутствовал в асимбиотических протокормах *Orchis morio*, и его содержание повышалось при контакте с микоризными представителями *Rhizoctonia* (Beyrle et al., 1995). Ни количество синтезированного орхинола, ни активность фенилаланинаммонийлиазы (ФАЛ, ключевой фермент пути синтеза фитоалексинов) не были связаны с типом симбиотических ответных реакций. Напротив, при исследовании *Phalaenopsis* у молодых стерильных растений не были отмечены 9,10-дигидрофенантрены, но при контакте с *Botrytis cinerea* и видом *Rhizoctonia* происходил синтез фитоалексинов, в том числе, хирцинола, и сопутствующее повышение активности ФАЛ и бибензилсинтазы (Reinecke, Kindle, 1994). К сожалению, симбиотические взаимоотношения с *Rhizoctonia* не были отмечены, так что картина остается неполной.

Образование гидролитических ферментов растением может играть важную роль в лизисе гриба. Возможное участие кислых фосфатаз и 1,-3 β глюканаз и хитиназ уже было упомянуто, но их активность в разнообразных ответных реакциях в симбиозе не была тщательно проанализирована. Две последние группы соединений известны как белки, связанные с патогенезом (PR), образующиеся при многих взаимодействиях растение-патоген, и, в условиях стресса они могут представлять значительный интерес в орхидных симбиозах. Очевидно, что динамичность и разнообразие отношений между протокормами орхидных и эндофитными грибами отличает их от других микоризных ассоциаций. По сравнению с АМ, в которых защитные реакции хозяина краткосрочны (см. гл. 3), ситуация у орхидных напоминает поединок с активизацией механизмов атаки и защиты у обоих партнеров. Необходимы дальнейшие исследования, которые помогут воссоздать более ясную картину генной экспрессии и накопления белков в асимбиотических протокормах и при различных взаимоотношениях в симбиозах.

Заключение

Несмотря на то, что широкое распространение микориз у взрослых орхидных известно уже более столетия, большинство работ по орхидным микоризам посвящено изучению симбиотических отношений на ранних этапах роста сеянцев в лабораторных условиях. Все орхидные имеют относительно длительную гетеротрофную стадию развития с момента прорастания. Хотя индуцировать прорастание семян многих видов можно и в отсутствие микоризного гриба путем внесения сахаров и факторов роста, в природе этого не происходит. В течение гетеротрофной фазы развития зеленые орхидные (а также полные микогетеротрофы, см. гл. 13) зависимы от поступления углеводов через мицелий грибного партнера. У зеленых орхидных источником углеводов чаще всего является отмершее органическое вещество, поставляемое сапротрофами. Грибные симбионты, вероятно, также предоставляют N и P и другие элементы питания как сеянцам, так и взрослым растениям, но этот аспект физиологии ассоциации следует изучить на более широком круге растений и

в подходящих экологических условиях. Недавние работы показали, что транспорт некоторого объема C от гриба к растению продолжается и во взрослом состоянии, как минимум, у одного вида зеленых орхидных, что свидетельствует о сохранении зависимости от грибного партнера в поступлении C наряду с N и P.

Что интересно, также была продемонстрирована возможность перехода продуктов фотосинтеза к грибному симбионту. Эти данные предоставляют некоторую информацию на дискутируемую тему (Burgeff, 1936; Curtis, 1939) смены направления транспорта C у взрослых орхидных. Это может служить доказательством возможной мутуалистичности таких симбиозов, хотя выгода для каждого из партнеров меняется в течение всего срока развития зеленых орхидных. Тем не менее, ситуация очень сложна и, вероятно, на нее оказывают влияние факторы окружающей среды, особенно, уровень освещенности. Для того, чтобы оценить результирующий транспорт в различных условиях и для разных сочетаний симбионтов, необходимо изучить относительные объемы C, переносимого в обоих направлениях. Только тогда станет более понятным место взаимоотношений отдельных пар орхидея-гриб в мутуалистически-паразитическом континууме и, в случае последней краевой точки, какой из партнеров является паразитом.

В течение последних лет микоризные симбиозы орхидных изучались недостаточно по сравнению с невероятным количеством работ, посвященных арбускулярным и эктомикоризам. Мы надеемся, что эта глава продемонстрировала, какие возможности представляет сочетание традиционных и молекулярных методов для выявления сложных моментов взаимоотношений партнеров по симбиозу как на физиологическом, так и на таксономическом уровне и для получения данных, соответствующих реальным ситуациям в природе. Подобная информация очень важна для охраны орхидных, так как популяции сокращаются в результате исчезновения местообитаний и изменений свойств почвы в результате антропогенной нагрузки.

13
Микоризы бесхлорофилльных (микогетеротрофных) растений

Введение

Утрата хлорофилла, и как следствие, способности к автотрофной фиксации углерода в ходе цикла развития наблюдается у двух различных категорий растений (Cummings, Welschmeyer, 1998). В одной гетеротрофный образ жизни поддерживается с помощью непосредственного прикрепления гаусториеподобными структурами к автотрофу, обеспечивающему поступление органических веществ. Это группа паразитических растений, включающая только представителей Двудольных. В другой категории, являющейся предметом обсуждения в настоящей главе, гетеротрофия поддерживается за счет формировании ассоциаций с грибами, большинство которых, но не все, в то же время связаны с корневой системой находящихся рядом автотрофных растений. В этом случае гетеротрофные растения являются эпипаразитами скорее грибных партнеров, ассоциированных с автотрофами, чем растений как таковых. Растения, поддерживающие свое существование за счет подобного паразитизма на грибах, получили название «микогетеротрофы» (Leake, 1994). Они принадлежат к неродственным между собой семействам всего царства растений от печеночных мхов и папоротников до покрытосеменных (рис. 13.1). Несмотря на значительные морфологические различия в пределах 400 видов микогетеротрофов, известных среди покрытосеменных (рис. 13.2), эти растения, помимо зависимости от грибного партнера, обладают рядом сходных особенностей строения и развития. Для микогетеротрофов характерно отсутствие листьев, редукция сосудов и иногда крайне слабое развитие корневой системы. Семена большинства видов имеют очень маленькие размеры и их называют «пылевидными». Семя представлено крошечным зародышем, состоящим из нескольких клеток, и содержит минимальный объем запасных веществ. Великолепным примером такой редукции может служить микогетеротрофный представитель Горечавковых *Voyria tenella*, зародыш которого состоит из трех клеток, а диаметр семени менее 50 мкм — один из самых малых среди всех известных растений (Maas, Ruyters, 1986) (см. приложение 13.1А). Таким образом, очень ранняя колонизация подходящим грибным партнером является необходимой предпосылкой для развития зародыша в семенах подобного типа. В исследованиях с применением метода семенных пакетов (см. ниже) было показано, что в дождевых тропических лесах, где обитает *V. tenella*, протяженность периода от прорастания семян до цветения составляет менее года (см. приложение 13.1Б–Д).

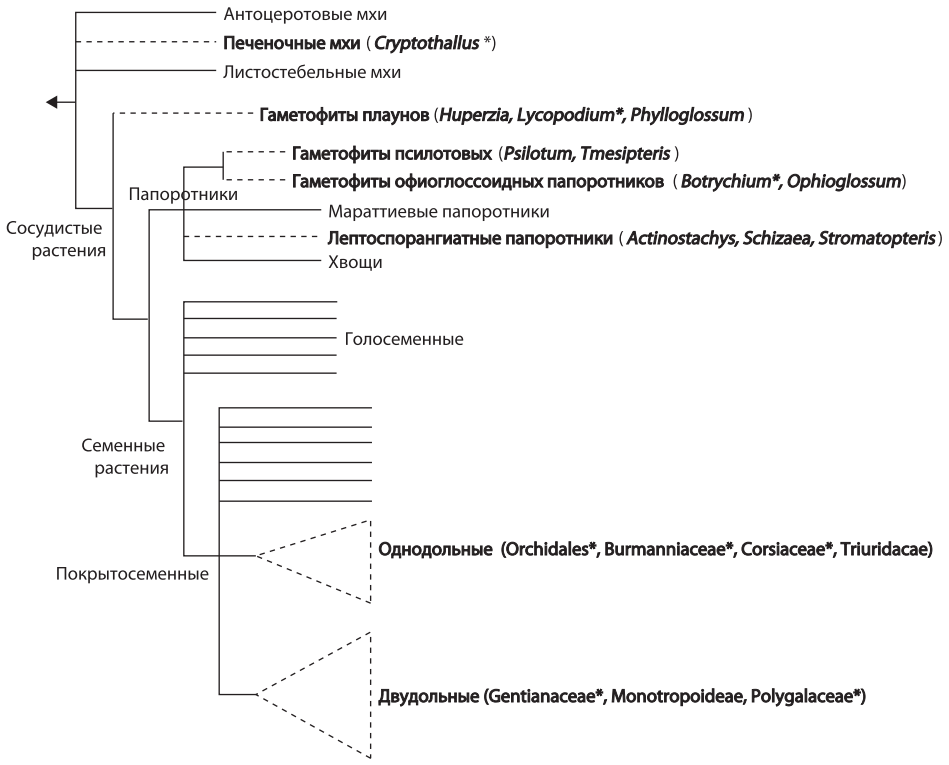


Рисунок 13.1. Линии растений, в которых развивалась микогетеротрофия (пунктир). Ветви, содержащие полностью микогетеротрофные растения, выделены жирными линиями (около 500 видов). Прочие содержат виды, микогетеротрофные только на начальных стадиях развития (около 20 000). Исключением являются роды *Buxbaumia* и *Schizaea*, представители которых могут быть полными микогетеротрофами, и *Parasitaxus* (корневой паразит). Все непосредственные корневые паразиты (не приведено) относятся к двудольным. Звездочками отмечены линии, для которых были проведены молекулярные исследования по идентификации микоризных грибов. Адаптировано из Bidartando, 2005.

Возможно, из-за частого обнаружения различных бесхлорофилльных растений на богатых органическими соединениями лесных почвах, их долгое время считали сапрофитами. Во многих вполне современных ботанических справочниках микогетеротрофные растения продолжают помещать в эту категорию (напр., Preston et al., 2002; Smith N et al., 2004b). Подобное происходит несмотря на то, что первая работа о растениях с подобной жизненной стратегией, особенно ярко выраженной у представителей Monotropoideae, написанная Ф.М. Каменским (Kamienski, 1882) и демонстрирующая наличие связи между эктомикоризными (ЭМ) корнями древесных пород и корневой системой *Monotropa hypopitys*, была недавно опубликована в переводе на английский язык (Berch et al., 2005). Последующие работы (Romell, 1939a; Bjorkman, 1960; Martin, 1985) внесли некоторый вклад в подтверждение данных Ф.М. Каменского, а в настоящее время молекулярными методами исследования (см. ниже) безоговорочно установлено, что корни подъельниковых ассоциированы с грибами-симбионтами ЭМ. В результате «миф о сапрофитизме» (Leake,

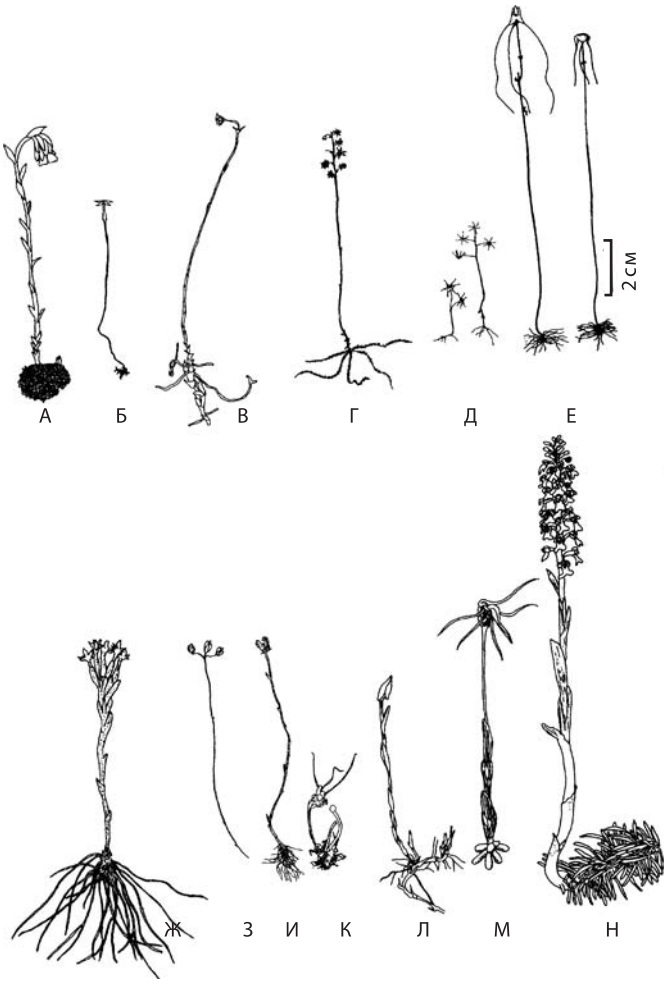


Рисунок 13.2. Примеры растений из основных микогетеротрофных групп: А — Monotropoideae: *Monotropa uniflora*; Б — Gentianaceae: *Voyria chiona*; В — Petrosaviaceae: *Petrosavia*; Г — Triuridaceae: *Sciaphila albescens*; Д — *Peltophyllum lutea*, мужское и женское растение; Е — *Triuris alata*, мужское и женское растение; Ж — Burmanniaceae: *Campylosiphon purpurascens*; З — *Burmannia tenella*; И — *Gymnosiphon brachycephalus*; К — *Thismia saulensis*; Л — Corsiaceae: *Corsia ornata*; М — *Arachnites uniflora*; Н — Orchidaceae: *Neottia nidus-avis*. Из Leake, 1994.

2005) был полностью развенчан. Длительную историю дебатов, зачастую весьма острых, об особенностях строения и развития той группы растений, которую сейчас относят к микогетеротрофам, можно найти в целом ряде работ (Furmann, Trappe, 1971; Trappe, Berch, 1985; Leake, 1994; Bidartondo, 2005).

Порядок Orchidales содержит наибольшее количество микогетеротрофных видов. Помимо полностью лишенных хлорофилла и, следовательно, полностью микогетеротрофных, сюда относится ряд хлорофиллсодержащих видов, представители, которых, тем не менее, получают некоторое количество углерода от своих гриб-

ных партнеров и трактуются как частично микогетеротрофные или миксотрофные. И полностью и частично микогетеротрофные виды орхидных описаны в данной главе. Все представители подсемейства Monotropoideae из вересковых, так же как и семейства Triuridaceae, Petrosaviaceae и Corsiaceae — микогетеротрофы. Крупное семейство Burmanniaceae состоит из автотрофных и микогетеротрофных видов наряду с почти наверняка миксотрофными. Семейство Gentianaceae представлено в основном автотрофными видами. Из около 1200 видов (из 74 родов) семейства, только примерно 30 являются микогетеротрофами и также имеются роды (напр., *Obolaria* и *Bartonia*), представители которых содержат хлорофилл, но, вероятно, частично микогетеротрофны.

Впервые точные сведения о способе питания таких растений были получены в 1939 г. (Rommell, 1939a), когда было установлено, что представители Monotropoideae (в дальнейшем «подъельниковые») — эпипаразиты древесных растений, ассоциированных с теми же самыми грибными партнерами, а затем благодаря работе Э. Бйоркмана (Bjorkman,1960) концепция эпипаразитизма получила развитие. Им было показано, что количество углерода и фосфора, помеченных радиоактивной меткой, транспортирующееся от ели к *Monotropa hypopitys*, было больше, чем к находящимся рядом автотрофным растениям. Последующие работы, описанные ниже, не только подтвердили точку зрения, что большинство микогетеротрофов являются эпипаразитами, но и подчеркнули факт их прямого паразитизма на грибном компоненте тройственной ассоциации автотроф-гриб-микогетеротроф (Bidartondo, 2005).

Вплоть до недавнего времени существовала большая неопределенность в отношении грибных партнеров совершенно разнородных таксонов растений, к которым принадлежат микогетеротрофы. В ранних описаниях микориз микогетеротрофных растений из семейств Burmanniaceae (Groom, 1895; Janse, 1897), Polygalaceae (Pijl, 1934) и Gentianaceae (Knöbel, Weber, 1988) отмечены разнообразные внутриклеточные структуры: несептированные гифы, гифальные клубки, арбускулы и везикулы, которые напоминают возникающие при колонизации АМ грибами. Так как автотрофные виды семейств Gentianaceae и Polygalaceae в норме образуют АМ, данные о встречаемости симбионтов этого типа микориз у их гетеротрофных родственников не являются неожиданными. Однако, присутствие АМ грибов в растениях из семейств Burmanniaceae, Corsiaceae и Triuridaceae было менее предсказуемым ввиду того, что исходно они были отнесены к порядку Orchidales (см., напр. Cronquist, 1981; Leake, 1994). Недавно проведенные ревизии филогении Однодольных растений, основанные на нуклеотидных последовательностях пластид, показали, что эти семейства относятся, соответственно, к порядкам Liliales, Dioscoreales и Pandanales, а каждая из этих групп представлена преимущественно АМ растениями (см. рис. 12.1, гл. 12). Посредством структурного и молекулярного анализа (приведено ниже) в настоящее время подтверждено мнение, что микогетеротрофные представители семейств Burmanniaceae, Corsiaceae и Triuridaceae ассоциированы с АМ грибами, так же как и подземные бесхлорофилльные гаметофиты Lycopodiales (плаунов) (Winther, Friedman, 2007b), *Tmesipteris* и *Psilotum* (псилотовых) и папоротников *Botrychium* (Winther, Friedman, 2007a) и *Ophioglossum* (см. рис. 13.1) (см. также гл. 14).

Множество базидиомицетов, большинство из которых известно как микоризообразователи ЭМ, были указаны, обычно на основании наблюдений, как симбионты микориз Monotropoideae, и по этой причине распространилось мнение о низкой специфичности растений этого подсемейства (Castellano, Trappe, 1985). И вновь молекулярные методы изменили наше представление о микотрофии в этой группе растений. Подтвердив принадлежность участвующих в симбиозах грибов к базидиомицетам и эктомикоризообразователям, анализ ядерной и рибосомальной ДНК показал высокую степень специфичности грибо-растительных взаимоотношений (Bidartondo, Bruns, 2005).

Относительно полностью микогетеротрофных орхидных в ранних исследованиях, как и в случае Monotropoideae, были сделаны предположения о низком уровне специфичности. Это мнение возникло отчасти и потому, что микоризный статус присваивался грибам, которые либо не были выделены из микориз, либо не образовывали симбиоз при повторной инокуляции. Например, Г. Бургефом (Burgeff, 1932) приведены данные о выделенных из корней бесхлорофилльных орхидных *Neottia nidus-avis*, *Corallorhiza trifida* и *Epipogium nutans* видах грибов, которые, по современным представлениям, являются сапротрофами. Напротив, ранние сообщения (Kusano, 1911a, b) о микоризных ассоциациях микогетеротрофной орхидеи *Gastrodia elata* со штаммами древоразрушающего патогенного гриба *Armillaria mellea* были подтверждены, и экспериментальная работа с этим симбиозом легла в основу системы культивирования данного растения, представляющего собой перспективный источник лекарственного сырья, в Корее (Kim, Ko, 1995) и Китае (Xu, Guo, 2000).

Как и в случае Monotropoideae, применение молекулярных методов позволило, во-первых, достоверно установить таксономическую принадлежность грибов, ассоциированных с микогетеротрофными орхидными, а во-вторых, выявить неожиданно высокий уровень специфичности этих ассоциаций. Параллелизм с подсемейством Monotropoideae здесь прослеживается также и в том, что симбионт связан одновременно с микогетеротрофными орхидными и с ЭМ деревьями или кустарниками.

Грибные ассоциации и специфичность в монотропоидных микоризах

Дж. Уоллес выделял 10 родов в пределах группы Monotropoideae, которую он трактовал как подсемейство внутри семейства Ericaceae (Wallace, 1975). Первые точные описания грибных партнеров подъельниковых были сделаны Жаном-Франсуа Мартином, который в результате тщательного микроскопирования впервые установил, что *Monotropa hypopitys* образует микоризу с видами рода *Tricholoma* (Martin, 1985). В дальнейшем он показал, что особи отдаленно родственного вида *Monotropa uniflora* (изученные по гербарным образцам!) были ассоциированы с *Russula* spp. (Martin, 1986). Предположения о специфичности этих растений в отношении грибного партнера, высказанные Ж-Ф. Мартином, были подтверждены и значительно расширены позднейшими исследователями, использовавшими методы анализа ДНК (рис. 13.3) (Cullings et al., 1996; Bidartondo, Bruns, 2001; Bidartondo et al., 2002, 2003). В результате, представления о родстве внутри подсемейства Monotropoideae и с сестринскими группами, а также о взаимоотношениях с грибами, существенно изменились.

Анализ последовательностей ядерной ДНК методом максимальной парсимонии (рис. 13.3) демонстрирует, что предки членов подсемейства Montropoideae и автотрофных представителей вересковых из подсемейств Arbutoideae и Pyroloideae были общими, и разделение произошло недавно (Bidartondo, Bruns, 2001, 2002; Bidartondo, 2005) (см. также гл. 7). В пределах подсемейства Monotropoideae выделены три линии, предполагаемо базальная клада *Pterospora–Sarcodes–Pleuricospora*, клада, включающая *Monotropa uniflora* и *Monotropastrum*, и более поздняя клада, объединяющая *Pityopus* и производные *Allotropa* и *Monotropa hypopitys*. Последний вид представлен двумя четко разделяющимися расами, Евразийской и Североамериканской.

Параллельно проводимые исследования последовательностей грибной ДНК позволили точно идентифицировать виды грибов, оказывающих стимулирующий эффект на прорастание подъельниковых в лабораторных (Bruns, Read, 2000) и в природных условиях (Leake et al., 2004b; Bidartondo, Bruns, 2005) и образующих монотропоидную микоризу с взрослыми растениями (Cullings et al., 1996; Kretzer et

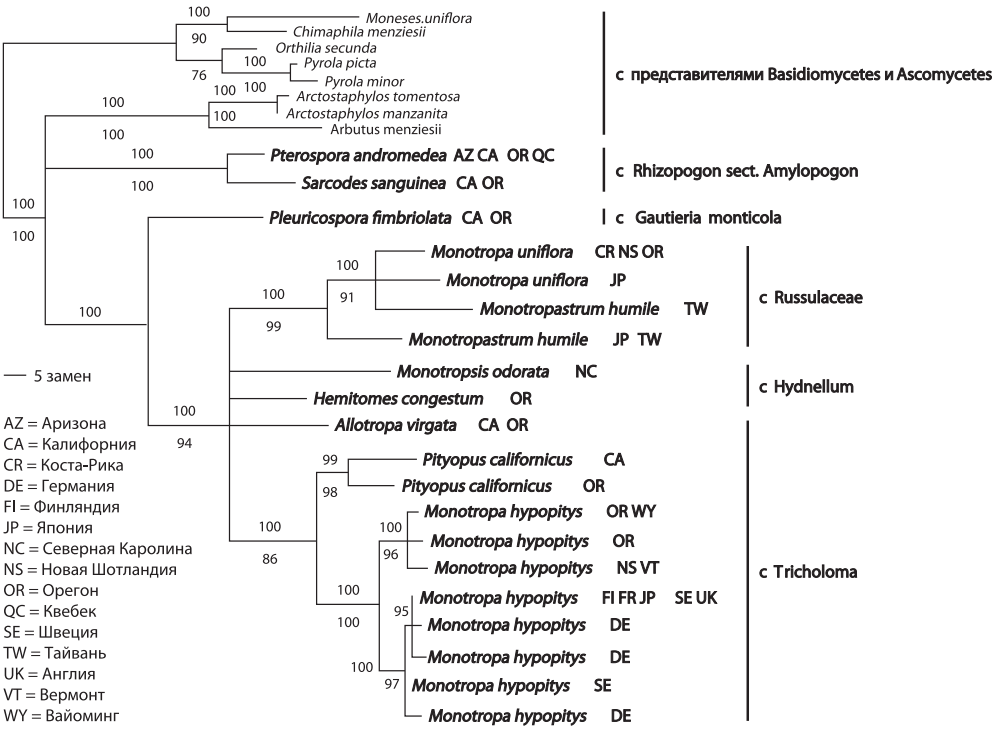


Рисунок 13.3. Консенсусная филограмма родственных связей подсемейства Monotropoideae и их близких предков из Arbutoideae и Pyrolae, построенная на основе анализа ядерной ДНК и показывающая (правая часть) ассоциации между различными линиями Подъельниковых и определенными семействами, родами или видами грибов. Растения были выбраны, исходя из максимального охвата ареалов и разнообразия местообитаний. С упрощениями из Bidartando, 2005.

al., 2000; McKendrick et al., 2000a; Bidartondo, Bruns, 2001, 2002, 2005; Young et al., 2002; Leake et al., 2004; Yokoyama et al., 2005). Этими работами не только были подтверждены выводы, сделанные Ж-Ф. Мартином на основании микроскопии (Martin, 1985, 1986), но и выявлен беспрецедентный уровень специфичности группы подъельниковых. Примеры изученных таксонов, объем выборки и использованные в указанных исследованиях методы приведены в таблице 13.1.

Специализация хозяин-симбионт прослеживается у одних подъельниковых на уровне рода грибов, а у других — на уровне вида. Эксперименты *in vitro* с использованием семян *Sarcodes sanguinea* (Bruns, Read, 2000) (см. вставку в приложении 13.2А) и *Pterospora andromedea* показали, что только виды рода *Rhizopogon* были способны инициировать прорастание этих растений. Все штаммы *Rhizopogon*, выделенные из *Sarcodes* или *Pterospora*, стимулировали прорастание семян обоих видов. При этом в присутствии представителей шести других родов базидиомицетов семена не прорастали. Так как прорастание стимулировалось и при наличии целлофановой пленки без прямого контакта гриба и семени, был сделан вывод, что в этом процессе принимает участие легко диффундирующее или летучее вещество, выделяемое *Rhizopogon*. Путем экспериментов *in vitro* было выяснено, что круг грибов, нахо-

Таблица 13.1. Некоторые исследования, описывающие грибные симбионты растений из микогетеротрофного подсемейства Monotropoideae.

Вид растения	Тип образцов	Происхождение	Метод идентификации гриба[1]	Источник	Идентифицированные грибы[2]	Трофическая группа[3]
Allotropa virgata	18 взрослых растений	Природное	*In planta*: молекулярные методы mtLSU, ITS	Bidartondo, Bruns, 2001	*Tricholoma magnivelare*	Эктомикоризные
Allotropa virgata	37 почвенных образцов вблизи взрослых растений	Природное	*In planta*: *ex planta*: морфология микориз + молекулярные методы (ITS RFLP)	Lefevre et al., 1998	*Tricholoma magnivelare*	Эктомикоризные
Hemitomes congestum	7 взрослых растений	Природное	*In planta*: молекулярные методы mtLSU, ITS	Bidartondo, Bruns, 2001	*Hydnellum* spp.	Эктомикоризные
Monotropa uniflora	23 взрослых растения	Природное[4]	*In planta*: морфология	Martin, 1986	виды *Russula* и неидентифицированные представители *Russulaceae*	Эктомикоризные
Monotropa uniflora	6 взрослых растений	Природное	*In planta*: молекулярные методы последовательности ML5–6	Cullings et al., 1996	Russulaceae	Эктомикоризные
Monotropa uniflora	35 взрослых растений	Природное	*In planta*: молекулярные методы mtLSU, ITS	Bidartondo, Bruns, 2001	Russulaceae	Эктомикоризные

Таблица 13.1. (*Продолжение*)

Monotropa uniflora	15 взрослых растений	Природное	*In planta*: морфология + молекулярные методы ITS	Young et al., 2002	Russulaceae	Эктомикоризные
Monotropa uniflora	Сеянцы	Природное	*In planta*: молекулярные методы последовательности ITS	Bidartondo, Bruns, 2005	Russulaceae	Эктомикоризные
Monotropa hypopitys	11 взрослых растений	Природное	*In planta* + культура	Martin, 1985	Несколько видов *Tricholoma*	Эктомикоризные
Monotropa hypopitys	9 взрослых растений	Природное	*In planta*: молекулярные методы последовательности ML5–6	Cullings et al., 1996	Сюиллоидная группа (включая *Rhizopogon)*	Эктомикоризные
Monotropa hypopitys	43 взрослых растения	Природное	*In planta*: молекулярные методы mtLSU, ITS	Bidartondo, Bruns, 2001	*Tricholoma* spp.	Эктомикоризные
Monotropa hypopitys	3 взрослых растения, сеянцы	Природное	*In planta*: молекулярные методы mtLSU, ITS	Leake et al., 2004b	*Tricholoma terreum, T. cingulatum*	Эктомикоризные
Monotropastrum sp.	? взрослых растений	Природное	*In planta* + *ex planta*: морфология вегетативной стадии и гифальные соединения	Kasuya et al., 1995	Неизвестный желтый мицелий с пряжками	Эктомикоризные
Monotropastrum humile	2 взрослых растения	Природное	*In planta*: молекулярные методы mtLSU, ITS	Bidartondo, Bruns, 2001	*Russula* spp.	Эктомикоризные

Вид растения	Тип образцов	Происхождение	Метод идентификации гриба[1]	Источник	Идентифицированные грибы[2]	Трофическая группа[3]
Monotropastrum humile	1 взрослое растение	Природное	*In planta*: молекулярные методы mtLSU	Yokoyama et al., 2005	Russulaceae	Эктомикоризные
Monotropastrum humile var. glaberrimum	2 взрослых растения	Природное	*In planta*: молекулярные методы mtLSU	Yokoyama et al., 2005	Thelephoraceae	Эктомикоризные
Monotropsis odorata	2 взрослых растения	Природное	*In planta*: молекулярные методы mtLSU, ITS	Bidartondo, Bruns, 2001	*Hydnellum* spp.	Эктомикоризные
Pityopus californicus	12 взрослых растений	Природное	*In planta*: молекулярные методы mtLSU, ITS	Bidartondo, Bruns, 2001	*Tricholoma* spp.	Эктомикоризные
Pityopus californicus	Сеянцы	Природное	*In planta*: молекулярные методы ITS	Bidartondo, Bruns, 2005	*Tricholoma myomyces*	Эктомикоризные
Pleuricospora fimbriolata	42 взрослых растения	Природное	*In planta*: молекулярные методы mtLSU, ITS	Bidartondo, Bruns, 2001	*Gautieria monticola*	Эктомикоризные
Pterospora andromedea	31 взрослое растение	Природное	*In planta*: молекулярные методы (ITS RFLP, ML5–6 послеовательности)	Cullings et al., 1996	группа *Rhizopogon subcaerulescens*	Эктомикоризные
Pterospora andromedea	Сеянцы	Лабораторное	*In vitro* тесты на прорастание	Bruns, Read, 2000	2 близкородственных вида *Rhizopogon*	Эктомикоризные
Pterospora andromedea	77 взрослых растений	Природное	*In planta*: молекулярные методы mtLSU	Bidartondo, Bruns, 2001	*Rhizopogon salebrosus, R. arctostaphylli*	Эктомикоризные

Pterospora andromedea	Сеянцы	Природное	*In planta*: молекулярные методы ITS	Bidartondo, Bruns, 2005	*Rhizopogon salebrosus, R. arctostaphylli*	Эктомикоризные
Sarcodes sanguinea	57 взрослых растений	Природное	*In planta* + выделение: молекулярные методы ITS	Kretzer et al., 2000	*Rhizopogon ellenae*	Эктомикоризные
Sarcodes sanguinea	Сеянцы	Лабораторное	*In vitro* тесты на прорастание	Bruns, Read, 2000	2 близкородственных вида *Rhizopogon*	Эктомикоризные
Sarcodes sanguinea	12 взрослых растений	Природное	*In planta*: молекулярные методы ML5–6	Cullings et al., 1996	Cantharellaceae, *Rhizopogon, Suillu*s, неидентифицированный микобионт	Эктомикоризные
Sarcodes sanguinea	93 взрослых растения	Природное	*In planta* + молекулярные методы mtLSU, ITS	Bidartondo, Bruns, 2001	*Rhizopogon ellenae, R. subpurpurascens*	Эктомикоризные
Sarcodes sanguinea	Сеянцы	Природное	*In planta* + молекулярные методы ITS	Bidartondo, Bruns, 2005	*Rhizopogon ellenae, R. subpurpurascens*	Эктомикоризные

С дополнениями из Taylor et al., 2002.

[1] «Выделение» обозначает культивирование грибов из пелотонов или фрагментов ткани. «*In planta*» относится к идентификации грибов прямыми методами, не требующими выделения в чистую культуру. «*Ex planta*» относится к прямому изучению морфологии грибных структур или гифальных соединений между растениями и характерными структурами микобионта (плодовыми телами или эктомикоризными окончаниями). В случае молекулярных методов ML5–6 относится к грибной митохондриальной генной последовательность большой субъединицы рибосомы в области, описанной в Bruns et al., 1998, и ITS-RFLP — к рестрикционным фрагментам грибной ядерной внутренней транскрибируемой области.

[2] Таксоны грибов приведены так, как они даны в цитируемом источнике, обратите внимание на то, что разные авторы используют различную номенклатуру. Для лабораторных тестов на прорастание упомянуты только те микобионты, которые дают совместимые взаимодействия.

[3] В некоторых случаях трофическая принадлежность грибного партнера приведена по другим источникам. Однако если авторы дают четкое утверждение о трофических характеристиках, их мнению отдается предпочтение. [4] На основании изучения гербарных образцов.

дящихся в ассоциации с взрослыми растениями в природных условиях еще уже, чем тех, которые способны стимулировать прорастание семян (см. ниже). Следующим значимым открытием стало то, что семена, собранные много лет назад, в том числе, перезимовавшие в природных условиях, способны прорастать при наличии подходящего грибного партнера, что указывает на возможность долговременного покоя.

В ходе первых экспериментов с использованием закапываемых пакетов с семенами были выявлены случаи ограниченного симбиотического развития *Monotropa hypopitys* и в лабораторных условиях и в природе, но не был установлен участвующий в нем грибной партнер (Francke, 1934). Значительно позже был поставлен методически сходный эксперимент с внесением семенных пакетов в почву вблизи или на некотором расстоянии от предполагаемых автотрофных партнеров *M. hypopitys* (*Salix repens* и *Pinus sylvestris*) (Leake et al., 2004b). Пакеты, последовательно вносимые на протяжении двух лет, содержали сеянцы *M. hypopitys* на значительно более продвинутых стадиях развития, цветковые почки формировались к 20 месяцам (см. приложение 13.2Д). Прорастание семян в пакетах, размещенных вдалеке от эктомикоризного автотрофа *Salix repens*, не наблюдалось, но при посеве рядом с этим кустарником большее количество проросших семян и более быстрое развитие сеянцев отмечено в пакетах, внесенных вблизи взрослых растений *Monotropa*. Прорастание *M. hypopitys* в природных условиях связано исключительно с наличием видов рода *Tricholoma*, и, как предсказывал Мартин (Martin, 1985), взрослые особи также ассоциированы только с представителями этого рода.

Применение усложненной техники внесения семян с использованием пакетов с множеством отсеков, содержащих семена из различных регионов, продемонстрировало значительные географически обусловленные различия в специализации подъельниковых к определенному грибному партнеру, проявляющиеся с самого момента прорастания (табл. 13.2) (Bidartondo, Bruns, 2005). Было показано, что семена *Monotropa uniflora*, собранные в восточной части США, прорастали на территории Калифорнии, где встречался вид *Russula brevipes*, несмотря на то, что в природе в этой местности подъельниковые не встречаются. Семена таких видов как *Monotropa hypopitys*, *M. uniflora* (см. приложение 13.2Е), *Pityopus californicus*, *Pterospora andromedea* (см. приложение 13.2Г), *Sarcodes sanguinea* и *Allotropa virgata* прорастали только в тех регионах, где встречались грибы, ассоциированные с материнскими растениями.

Изучение образцов взрослых растений *Monotropa hypopitys* из Шведской, Евразийской и Североамериканской клад подтверждает, что специализация к роду *Tricholoma* является нормой для этого вида (Bidartondo, Bruns, 2001). Анализ филогении, построенной на рибосомальных белках (rps) и ядерной ДНК (nrDNA) внутри и между кладами во всех случаях выявил высокий уровень специфичности. За одним возможным исключением, примеры грибных партнеров, ассоциированных одновременно с двумя или более кладами, не были обнаружены. Только Шведская клада связана с *Tricholoma columbetta*, *T. saponaceum* или *T. portentosum*, Евразийская — с *T. terreum* и *T. cingulatum*, а Североамериканская — с *T. sejunctum* и *T. flavovirens*. Возможное исключение — *T. portentosum*, вид, идентифицированный в качестве симбионта *M. hypopitys* из некоторых североамериканских местообитаний. Если «*T. portentosum*» действительно один и тот же таксон и в европейских, и в североамериканских точках сбора, этот явно широко распространенный вид мог обусловить циркумбореальное расселение *M. hypopitys*. Географическая мозаичность приуроченности, наблюдаемой у *M. hypopitys* (Bidartondo, Bruns, 2001) — черта, характерная для многих паразитов, произошедшая из потребности в ассоциации с узкой группой хозяев, в данном случае — видами рода *Tricholoma* (Thompson, 1994).

Более простым примером географической мозаичности служит *Monotropa uniflora*. Взрослые особи этого исключительно североамериканского вида ассоцииро-

Таблица 13.2. Семена представителей Monotropoideae были собраны с растений, образующих микоризу с известными видами грибов в пяти точках (по горизонтали) и закопаны около растений с известными микоризными грибами на шести точках (по вертикали) в сочетаниях, обозначенных серой заливкой. Гора Тамальпайс, Калифорния, была единственной точкой, где отсутствовали монотропоидные растения, но там обитает вид *Russula brevipes*, симбионт *Monotropa uniflora*. Прорастание семян наблюдалось в сочетаниях, отмеченных ✓. Для Ил Крик, Орегон, единственное сочетание симбионтов, при котором наблюдалось прорастание, было Pa/RH (данные не приведены).

		Источник семян (растение/гриб-микориззобразователь)														
		1				2			3		4					
Точка внесения семян	Сочетание симбионтов в месте внесения семян	*Pa/ RHa*	*Pa /RHs*	*Ss/ RHe*	*Pf/ Gm*	*Mu/ Rd*	*Mu/ Rn*	*Mh/ Ts*	*Mu/ Rb*	*Mu/ Rv*	*Ave/ Tm*	*Mh/Tf*	*Mh/ Tp*	*Pc /Tmy*	*Mu/ Rb*	
1	*Pa/ RHa*	✓	✓	✓												
	Pa /RHs	✓	✓	✓												
	Ss/ RHe	✓	✓	✓												
	Pf/ Gm															
2	*Mu/ Rn*					✓	✓								✓	
	Mu/ Rd					✓	✓									
	Mh/ Ts															
3	*Mu/ Rb*								✓	✓						
	Mu/ Rv								✓	✓						
4	*Ave/ Tm*															
	Mh/ Tf											✓				
	Mh/ Tp												✓			
	Pc /Tmy													✓		
	Mu/ Rb															
5	*Mh/ Tl*															
	Ave/ Tm															
	Pc/ Tfo															
	Pa /RHs		✓													
6	*Rb*					✓	✓								✓	

Сокращения названий растений: Av — *Allotropa virgata*; Mh — *Monotropa hypopitys*; Mu — *Monotropa uniflora*; Pa — *Pterospora andromedea*; Pc — *Pityopus californicus*; Ss — *Sarcodes sanguinea*. Сокращения названий грибов: Gm — *Gautieria monticola*; Rb — *Russula brevipes*; Rd — *Russula decolorans*; RHa — *Rhizopogon arctostaphyli*; RHe — *Rhizopogon ellenae*; RHs — *Rhizopogon salebrosus*; Rn — *Russula nitida*; Rv — *Russula vesca*; Tf — *Tricholoma flavovirens*; Tfo — *Tricholoma focale*; Tl — *Tricholoma luteo-maculosum*; Tm — *Tricholoma magnivelare*; Tmy — *Tricholoma myomyces*; Tp — *Tricholoma portentosum*; Ts — *Tricholoma sejunctum*. Сокращения названий географических точек 1 — Динки Крик, Калифорния; 2 — Исследовательский центр SERC, Мэриленд; 3 — округ Дель Норте, Калифорния; 4 — Перкинс Крик, Орегон; 5 — Ил Крик, Орегон; 6 — гора Тамальпайс, Калифорния. Из Bidartondo, Bruns, 2005.

ваны только с узким кругом видов в пределах семейства Russulaceae (Bidartondo, Bruns, 2005). В природе, растения *M. uniflora* связаны только с видом *Russula brevipes* или его очень близкими родственниками, даже если поблизости встречаются другие представители семейства (рис. 13.4).

Взрослые особи *Pterospora* и *Sarcodes*, входящих в состав базальной линии Monotropoideae (см. рис. 13.3), специализируются на четко ограниченной узкой подгруппе *Amylopogon* из крупного и разнообразного рода *Rhizopogon* (см. рис. 6.4) (Bidartondo, Bruns, 2001, 2002). Более того, даже в случае перекрывания ареалов *Pterospora andromedea* и *Sarcodes sanguinea* до такой степени, что растения сосуществуют в одном местообитании, они приурочены к разным видам *Rhizopogon*. Вид *P. andromedea* чаще всего ассоциирован с *R. salebrosus* или *R. arctostaphyli*, а *S. sanguinea* — с *R. ellenae* (см. табл. 13.2). М. Бидартондо и Т. Брунс исследовали 93 взрослых особи *S. sanguinea* и 77 особей *P. andromedea*, растущих вперемешку на расстоянии нескольких метров друг от друга в Сьерра-Неваде, и не обнаружили ни одного случая перекрывания их грибных симбионтов (Bidartondo, Bruns, 2001). *Pleuricospora fimbriolata*, вид из той же самой эволюционной линии подъельниковых, ассоциирован исключительно с *Gaultheria*, но опять же, только с *G. monticola*, небольшой группой, входящей в состав крупного рода (Bidartondo, Bruns, 2002).

Совместно методы *in vitro* (Bruns, Read, 2000) и семенных пакетов (Bidartondo, Bruns, 2002, 2005) предоставили информацию о том, как генотипическое разнообразие растений на уровне местообитания или региона коррелирует с разнообрази-

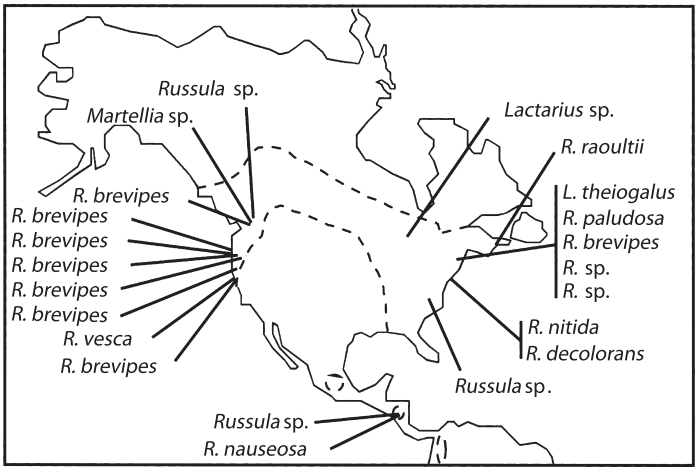


Рисунок 13.4. Пример географической мозаичности микоризной специфичности у Monotropoideae. Линии грибов, ассоциированные с отдельными особями *Monotropa uniflora* в разных местообитаниях (каждая линия на схеме обозначает отдельный участок) в географической области (обозначенной пунктиром). Все отмеченные виды грибов принадлежат к семейству Russulaceae, одной из наиболее разнообразных групп облигатных эктомикоризных грибов. В Северной Америке обитает несколько сотен видов, и обычно в одном местообитании представлено несколько видов. Не было показано, что единичные растения *M. uniflora* образуют микоризу с более, чем одной линией грибов, даже если соседние растения микоризованы другими видами Russulaceae или если поблизости находятся другие грибы или микоризы прочих видов Russulaceae с деревьями. Из Bidartando, 2005.

ем в специфичности к близкородственным видам грибов. Исследованиями *in vitro* показано, что прорастание *Sarcodes* и *Pterospora* индуцируется диффундирующими или летучими химическими соединениями, образуемыми близкородственными видами рода *Rhizopogon*, колонизирующими взрослые растения. Работы с семенными пакетами, проведенные на более широком круге подъельниковых и грибных симбионтов, показывают, что прорастание семян также стимулируется только видами грибов, близким к тем, которые ассоциированы с взрослыми особями. Эти результаты предполагают ограничение переходов к другим линиям грибов на стадии прорастания за счет отсутствия узнаваемых сигналов грибного партнера. Тем не менее, имеется некоторая подвижность в формировании симбиозов во время прорастания, так как в этом процессе могут участвовать близкородственные виды. Помимо несколько более высокого уровня восприимчивости, демонстрируемого *in vitro* сравнительно с природными условиями, были отмечены некоторые ассоциации сеянцев *Monotropa uniflora* с грибами, не наблюдавшиеся у взрослых растений в природе (Bidartondo, Bruns, 2005). При этом часто такие ассоциации часто приводили к ухудшению состояния сеянцев (рис. 13.5). Существует вероятность, что отбор не благоприятствовал подобным менее эффективным связям, и ослабленные сеянцы

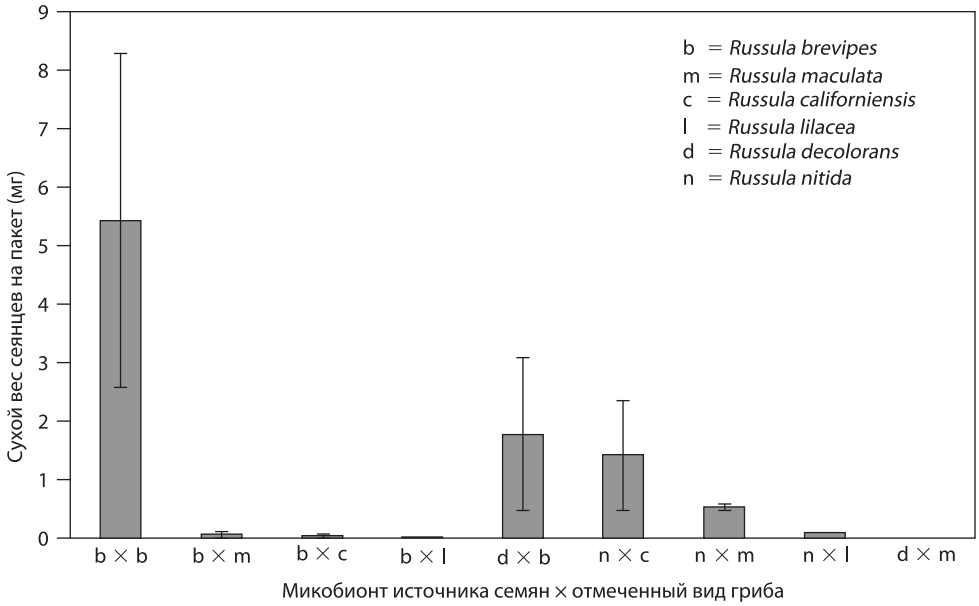


Рисунок 13.5. Прорастание семян и развитие сеянцев *Monotropa uniflora*, высеянных в пакетах на горе Тамальпайс, Калифорния, за пределами природного ареала растения. Развитие представлено как отношение вида гриба, ассоциированного с материнским растением, от которого были получены семена, к грибам, инициирующим прорастание. Так, например, b ´ b = *Russula brevipes* как симбионт материнского растения ´ *R. brevipes* как грибной партнер, инициирующий прорастание семян. Первые четыре столбца соответствуют семенам из Орегона, а пять последних — из Мэриленда. Когда другие виды грибов, помимо связанных с материнским растением, были способны стимулировать прорастание, степень развития растений снижалась, что предполагает наличие некоторой физиологической несовместимости. Из Bidartondo, Bruns, 2005.

не развивались во взрослое растение. Это возможное объяснение ситуации, наблюдающейся у взрослых особей *Monotropa uniflora*, *Pterospora andromedea* и *Sarcodes sanguinea,* когда растения каждого вида колонизированы только одним из множества родственных представителей родов *Russula* или *Rhizopogon*.

Строение монотропоидных микориз

Monotropa hypopitys (см. приложение 13.2В) и родственные подъельниковые *Pterospora andromedea* (см. приложение 13.2Б) и *Sarcodes sanguinea* (см. приложение 13.2А) часто обитают в хвойных лесах, например, сосняках, и корни деревьев и их микоризные окончания объединены с корневой системой подъельниковых в плотные структуры, получившие название «корневые клубки» («root-balls») (рис. 13.Б). Растения зимуют под землей и образуют отходящие от корневой системы цветоносы. Почки развиваются на концах некоторых корней первого и второго порядков, и из них формируются надземные цветоносы, которые достигают зрелого состояния и старения за период в несколько месяцев. Некоторые из этих растений достигают значительных размеров, например, масса *S. sanguinea* составляет несколько килограммов, а высота *P. andromedea* — до 2 м (Bidartondo, 2005). Следовательно, затраты органического углерода, необходимого для развития, должны быть существенными.

Отличительную черту анатомии микориз в подсемейства Monotropoideae впервые отметил Д. МакДугал (MacDougal, 1899), описавший шпильковидные структуры, названные им гаусториями, в наружных клетках корня *Monotropa*. Эти структуры были впоследствии признаны характерной особенностью микориз *Monotropa* (Francke, 1934).

Было сделано предположение, что «гаустории» (сейчас называемые «шпильками»), возникают в результате инкапсулирования внедряющейся грибной гифы клеточной стенкой растения. Этот процесс сам по себе не является уникальным, так как сходные события наблюдаются при образовании птиофагового типа микоризы орхидных (Burgeff, 1932; см. ниже) и в эрикоидных микоризах (Burgeff, 1961). Особенные свойства шпильки у Monotropoideae были выявлены недавно в ходе ультраструктурного анализа (Lutz, Sjolund, 1973; Duddridge, Read, 1982a; Robertson, Robertson, 1982), показавшего, что внедряющаяся структура не есть настоящая гаустория. Шпилька обладает достаточно сложной и специализированной структурой для того, чтобы служить определяющей чертой отдельного типа микориз, для которого предложено название «монотропоидная микориза» (Duddridge, Read, 1982a) и отграничивать его от микоризы арбутоидной (см. гл. 7), при которой наблюдается широкое распространение гриба внутри растения.

Грибной чехол, окружающий корни подъельниковых, многослойный и компактный, границы между слоями (иногда) отмечены отложениями таннина (рис. 13.7). У *Monotropa* (Duddridge, Read, 1982a) и *Pterospora* (Robertson, Robertson, 1982) чехол закрывает апекс корня, в то время как у *Sarcodes sanguinea* (Robertson, Robertson, 1982), апекс остается свободным. У всех трех родов сеть Гартига окружает наружный слой ризодермы, состоящий из сравнительно мелких клеток, но не проникает в лежащую ниже кору. Лабиринтовидное развитие сети Гартига, показанное для ЭМ (см. гл. 6), в данном случае не отмечено.

От сети Гартига отходят одиночные гифы, врастающие в клетки ризодермы, стенки которых часто разрастаются рядом с гифой или, по крайней мере, происходит отложение матрикса в контактной зоне между двумя организмами. Эта сложная структура получила название грибной шпильки. Выросты стенки клеток ри-

Рисунок 13.6. Выкопанное растение *Pterospora*, показан полностью развитый корневой клубок (отмечено стрелкой). Из Robertson, Robertson, 1982, с разрешения.

зодермы, окружающих гифу, направлены внутрь клетки. Было установлено, что у *Pterospora andromedea* и, в особенности, у *Sarcodes sanguinea* проникновение гифы внутрь клетки происходит всегда определенным образом (Robertson, Robertson, 1982). Гриб всегда попадает в клетку через радиальную стенку ризодермальной клетки, которая ориентирована в сторону кончика корня. У *Sarcodes* точка входа расположена около основания ризодермальной клетки (рис. 13.8). После проникновения гриба от инкапсулирующей шпильку клеточной стенки развиваются выросты в цитоплазму растения, и постепенно их структура усложняется, становясь различной на разных участках шпильки. У основания шпильки находятся мешковидные выросты, заполненные зернистым содержимым (рис. 13.9), в то время как ближе к кончику они более тонкие, и у *Pterospora* (рис. 13.10) и *Sarcodes* (рис. 13.11) имеют лентовидную форму. И базальные и апикальные выросты представляют собой разрастания клеточной стенки, окружающей шпильку. Так как клеточные стенки растения и гриба сливаются на протяжении всей длины шпильки, при отсутствии цитохимических данных сложно точно сказать, из веществ какого происхождения она состоит. В любом случае, пролиферация приводит к существенному увеличению площади поверхности ризодермальной клетки, и образуется структу-

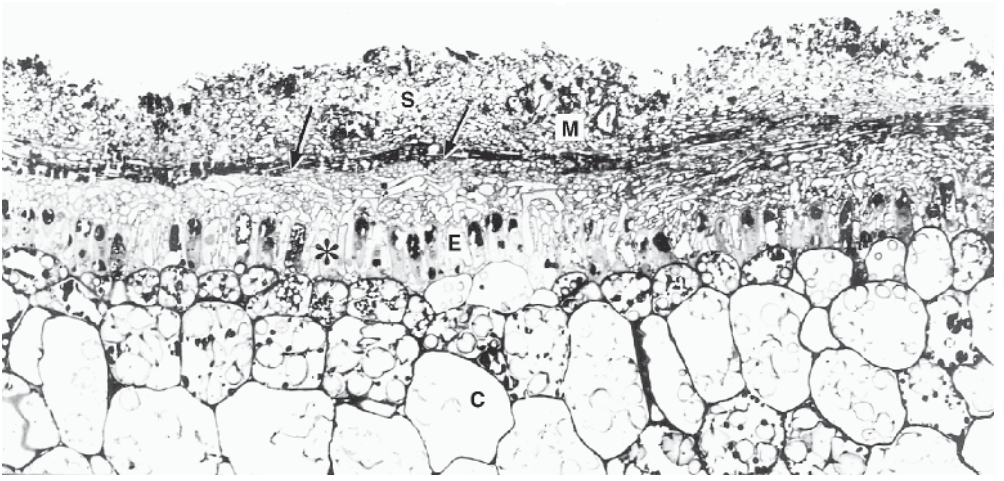


Рисунок 13.7. Развитие чехла (M) у *Sarcodes*, показано отложение таннина (отмечено стрелками), гифы, проникающие между клетками ризодермы (E), и крупные клетки коры (C), содержащие крахмальные зерна. Область, отмеченная звездочкой (*) при большем увеличении приведена на рисунке 13.8. Световая микроскопия. Из Robertson, Robertson, 1982, с разрешения.

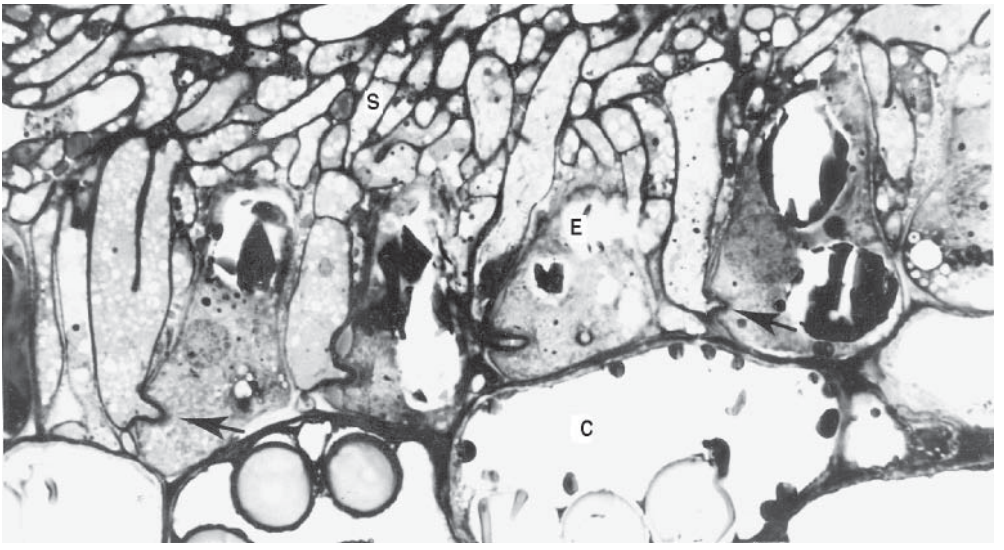


Рисунок 13.8. Грибная колонизация ризодермальных клеток (E) *Sarcodes* (см. рис. 13.7), показано развитие грибных шпилек (отмечено стрелками). Из Robertson, Robertson, 1982, с разрешения.

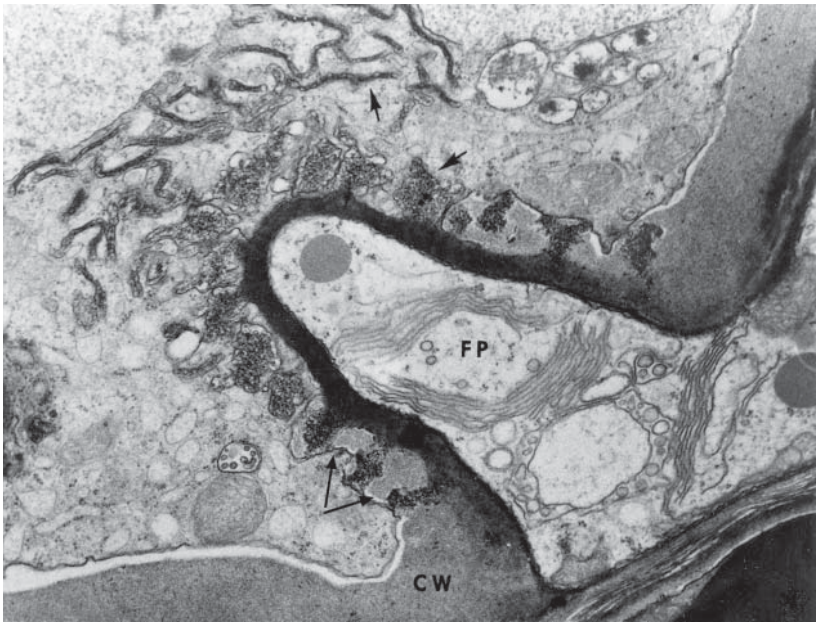


Рисунок 13.9. Развитие грибной шпильки (FP) у *Pterospora,* показаны многочисленные выросты (отмечено стрелками). Из Robertson, Robertson, 1982, с разрешения.

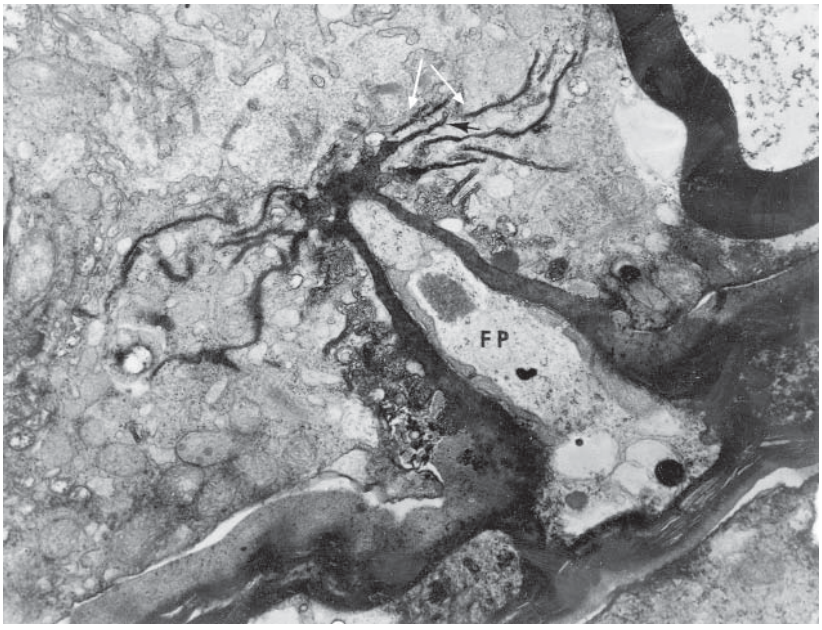


Рисунок 13.10. Развитие грибной шпильки у *Pterospora*, показаны длинные лентовидные выросты (отмечено стрелками). Из Robertson, Robertson, 1982, с разрешения.

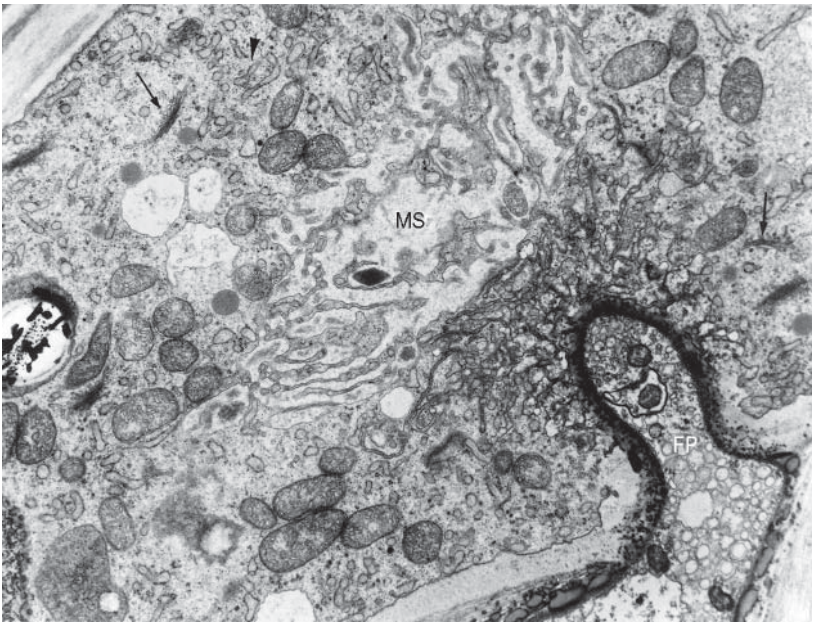


Рисунок 13.11. Ризодермальная клетка *Sarcodes* с грибной шпилькой (FP), проникающей в клеточную стенку. Обратите внимание на мембранный мешочек (MS) и митохондрии, аппарат Гольджи и эндоплазматическую сеть в цитоплазме клетки растения. Из Robertson, Robertson, 1982, с разрешения.

Рисунок 13.12. Ризодермальная клетка *Pterospora*, показан продольный срез грибной шпильки (FP), кончик которой открылся, образовав мембранный мешочек (MS). Обратите внимание на осмиофильное кольцо на вершине шпильки (отмечено стрелкой). Из Robertson, Robertson, 1982, с разрешения.

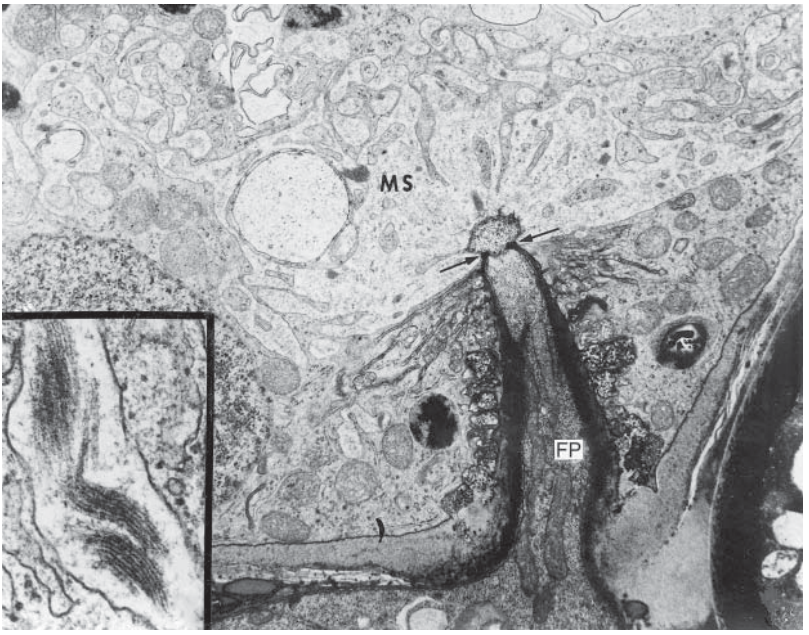


Рисунок 13.13. Ризодермальная клетка *Sarcodes*, показан продольный срез грибной шпильки (FP). Мембранный мешочек (MS) окружен растительной цитоплазматической мембраной, и заметно осмиофильное кольцо на вершине шпильки. Вставка: при более высоком увеличении показаны линейные ряды похожих на микротрубочки включений в мембранном мешочке. Из Robertson, Robertson, 1982, с разрешения.

ра, аналогичная «транспортным клеткам[1]» (Duddridge, Read, 1982a). Клетки подобного типа широко распространены у самых различных растений и особенно часто ассоциированы с тканями, участвующими в активных транспортных процессах (см. Gunning, Robards, 1976). Заключительная стадия развития монотропоидной микоризы включает вскрывание кончика шпильки и, по-видимому, высвобождение из него содержимого грибного происхождения. Оно выходит в клетку, но остается окруженным мешочком из растительной цитоплазматической мембраны, который вдается в цитоплазму ризодермальной клетки и имеет форму пузыря (рис. 13.12). Эти события наблюдались при световой микроскопии, и возникло предположение о переваривании гриба растительной клеткой (Francke, 1934). Однако, хотя процесс происходит достаточно быстро и получил название «взрыва» шпильки, он, по-видимому, является контролируемым, и грибные и растительные структуры сохраняют свою целостность. Вокруг открытого кончика гифы возникает осмиофильное кольцо (рис. 13.13), которое, как предполагают, может препятствовать обратному оттоку питательных веществ через стенку шпильки (Duddridge, Read, 1982a). Подобные кольца встречаются в ножке гаусторий у некоторых биотрофных паразитов, таких как *Erysiphe* (Gil, Gay, 1977) или *Puccinia* (Heath, Heath, 1975), и считается,

[1] в оригинале “transfer cells”, клетки с большим количеством митохондрий и многочисленными выростами клеточной стенки, позволяющими увеличить площадь цитоплазматической мембраны, на которой активно идут транспортные процессы. В русской ботанической литературе клетки сходного строения, расположенные во флоэме, носят название «сопровождающие клетки» или «клетки-спутницы» у покрытосеменных, «клетки Страсбургера» у голосеменных, а у споровых растений не имеют специального названия (прим. перев.).

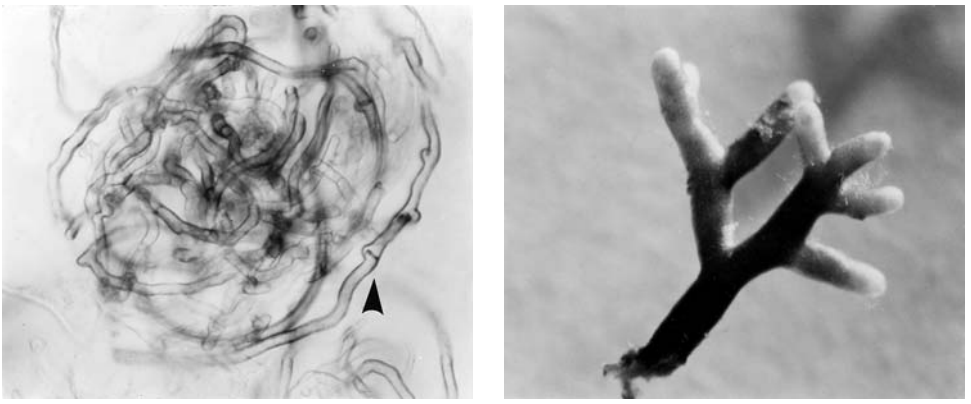
что эти структуры запечатывают апопласт в месте контакта гриба и растения (см. Smith SE, Smith, 1990). Было сделано предположение о том, что при «взрыве» грибной шпильки происходит транспорт веществ от гриба к растению (Duddridge, Read, 1982a), но к настоящему моменту никаких подтверждений не получено. Если мембрана растения сохраняет целостность, то можно ожидать, что происходит обыкновенный мембранный транспорт. У *Pterospora* и *Sarcodes* мембранный мешочек представляет собой стабильную и организованную структуру, четко отграниченную от цитоплазматической мембраны ризодермальной клетки. Он содержит линейные ряды фибрилл, сходных по размеру с микротрубочками (вставка на рис. 13.13), и его мембрана в некоторых местах имеет заметные впячивания, которые выглядят на срезе как окруженные мембраной пузырьки в цитоплазме.

Дж. Даддридж и Д. Рид сделали попытку прояснить функциональные аспекты наблюдаемых структур путем сопоставления процессов дифференциации грибной шпильки и стадий развития побегов *Monotropa* в течение вегетационного сезона (Duddridge, Read, 1982a). Период наиболее активного формирования шпилек совпал по времени с ростом цветоноса в июне, однако «взрывы» происходили позднее, в период созревания семян, т.е., начиная с июля. Исследователи предположили, что в период роста пролиферации функционируют как транспортные клетки, обеспечивая постоянный приток питательных веществ для удлинения цветоноса. Существует вероятность того, что при «взрыве» происходит последний выброс остаточных веществ, которые могут быть использованы для образования семян перед старением побегов растения. Тем не менее, все подобные предположения нуждаются в экспериментальной проверке.

Грибные ассоциации и специфичность микогетеротрофных орхидных

Как и в случае систематики подъельниковых, при помощи молекулярного анализа удалось выяснить филогению полностью микогетеротрофных орхидных и уточнить микоризный статус этих растений. Роды, содержащие бесхлорофилльные или частично бесхлорофилльные виды или особи, присутствуют в подсемействах Epidendroideae, Orchidoideae и Vanilloideae семейства Orchidaceae (см. рис. 12.1). Среди них группа *Cephalanthera*, *Epipactis*, *Limodorum*, *Neottia* из трибы Neottiae подсемейства Epidendroideae в последнее время является объектом интенсивного исследования. Обзор выборочных данных недавних экспериментальных исследований грибных ассоциаций этих растений представлен в таблице 13.3. Выявлен параллелизм с подсемейством Monotropoideae, выражающийся как в высоком уровне специфичности и избирательности в отношении грибных партнеров, так и в том, что гриб одновременно образует ЭМ с расположенными поблизости деревьями или кустарниками. Первые значимые результаты были получены в ходе исследования взрослых особей бесхлорофилльного вида *Cephalanthera austinae*, в тканях которого пелотоны, типичные для орхидных, но с пряжками, характерными для ризоктониевых грибов (рис. 13.14А), как оказалось, образованы грибом из семейства Thelephoraceae (Taylor, Bruns, 1997). Расы этого гриба с идентичными ITS последовательностями формировали типичные эктомикоризы на древесных корнях, располагающихся рядом (рис. 13.14Б).

Выявление эктомикоризных симбиозов у *Cephalanthera austinae* было важным открытием, так как этот вид — единственный полностью бесхлорофилльный в роде *Cephalanthera*, прочие представители которого зеленые и, следовательно, во взрослом состоянии предположительно фотосинтезирующие. Последующие иссле-



А Б

Рисунок 13.14. Первая иллюстрация специфичности ассоциации между микобионтом полностью микогетеротрофной орхидеи и связанным с ним автотрофным древесным симбионтом. А — пелотон, образованный представителем Thelephoraceae в клетке коры корня бесхлорофилльного орхидного *Cephalanthera austinae*, видны пряжки (стрелка). Б — типичные разветвленные микоризные окончания ассоциированной с ним хвойной древесной породы, состоящей в симбиозе с тем же телефороидным микобионтом. Из Taylor, Bruns, *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94, 1997, с разрешения.

дования в норме зеленых представителей рода *Cephalanthera* (*C. damasonium*, *C. rubra*) показали, что они также преимущественно ассоциированы с телефороидными грибами, хотя также могут присутствовать другие эктомикоризные роды, в особенности *Inocybe* и *Hymenogaster* (Bidartondo et al., 2004). При сравнении грибов, выделенных из пелотонов зеленых фотосинтезирующих и нефотосинтезирующих особей-альбиносов *C. damasonium*, в обоих случаях были обнаружены одни и те же телефороидные грибы, а также у бесхлорофилльных особей присутствовали виды рода *Hymenogaster* и *Cortinarius* (Julou et al., 2005). Как и в случае *C. austinae*, было выявлено, что штаммы *Thelephora*, формирующие эктомикоризу с расположенными поблизости автотрофными деревьями и образующие пелотоны в корнях орхидных, идентичны (Julou et al., 2005). Все виды *Cephalanthera*, изученные к настоящему моменту, подобным образом ассоциированы с автотрофными деревьями при обитании в тени под пологом леса. Следовательно, возможно, что именно наличие общего с ЭМ деревьями грибного симбионта обеспечивает им доступ к продуктам фотосинтеза автотрофов и является залогом их успешного существования. Данные о физиологии симбиоза, подтверждающие эту точку зрения, будут приведены ниже. Возможной «ценой» адаптации к полностью микогетеротрофному образу жизни, как следует из наблюдений, является меньшая биомасса растений-альбиносов по сравнению с зелеными особями того же возраста из тех же местообитаний (Julou et al., 2005) (табл. 13.4).

Род *Epipactis*, также относящийся к трибе Neottiae, содержит виды, обитающие на открытых пространствах (напр., *E. palustris*), с грибными симбионтами *Rhizoctonia*-типа (*Ceratobasidium*, себациноидные, туласнеллоидные грибы), и виды более затененных местообитаний (напр., *E. helleborine*, *E. distans* и *E. atrorubens*), ассоциированные с ЭМ грибами (Bidartondo et al., 2004), в том числе аскомицетами *Tuber* и *Wilcoxina*. При изучении зеленых и бесхлорофилльных особей *E. microphylla* было показано, что растения обоих типов колонизированы эктомикори-

Таблица 13.3. Некоторые исследования, описывающие микоризные симбионты бесхлорофилльных орхидных.

Виды орхидных	Тип образцов	Происхождение	Метод идентификации гриба[1]	Источник	Идентифицированные грибы[2]	Трофическая группа[3]
Cephalanthera austinae	26 взрослых растений	Природное	*In planta* + выделение: молекулярные методы (ITS RFLP, последовательности ITS, ML5-6)	Taylor, Bruns, 1997	14 видов из группы *Thelephora-Tomentella*	Эктомикоризные
Corallorhiza maculata	9 взрослых растений	Природное	Выделение: морфология вегетативной стадии	Zelmer et al., 1996	7 изолятов *Moniliopsis*	Паразитические
Corallorhiza maculata	104 взрослых растения	Природное	*In planta*: молекулярные методы (ITS RFLP, последовательности ML5-6)	Taylor, Bruns, 1997, 1999b	20 видов, в основном из Russulaceae	Эктомикоризные
Corallorhiza mertensiana	27 взрослых растений	Природное	*In planta*: молекулярные методы (ITS RFLP, последовательности ML5-6)	Taylor, Bruns,1999b	3 близкородственных вида из Russulaceae	Эктомикоризные
Corallorhiza striata	8 взрослых растений	Природное	*In planta* + выделение: молекулярные методы (ITS RFLP, секвенирование ML5-6)	Taylor, 1997	Небольшая клада в пределах группы *Thelephora-Tomentella*	Эктомикоризные
Corallorhiza trifida	18 взрослых растений	Природное	*In planta* + выделение: морфология вегетативной стадии	Zelmer, Currah, 1995	Неидентифицированный желтый базидиальный мицелий с пряжками	Эктомикоризные
Corallorhiza trifida	4 взрослых растения + 24 сеянца	Природное	*In planta* + выделение: молекулярные методы (ITS RFLP и последовательности ITS)	McKendrick et al., 2000b	7 ITS RFLP типов, принадлежащих к группе *Thelephora-Tomentella*	Эктомикоризные

Таблица 13.3. (*Продолжение*)

Epipogeum roseum	Взрослые растения	Природное	*In planta* + выделение: молекулярные методы (последовательности ITS)	Yamato et al., 2005	Coprinaceae cf *Coprinus disseminatus, Psathyrella* spp.	Сапротрофы
Eulophia zollingeri	12 взрослых растений	Природное	*In planta* (последовательности ITS)	Ogura-Tsujita, Yukawa, 2008	*Psathyrella* cf *candolleana*	Сапротрофы
Galeola altissima ≡ *Erythrorchis ochobiensis*	Сеянец	Лабораторное	*In vitro* тесты на прорастание	Umata, 1995, 1998a,b	*Erythromyces crocicreas, Ganoderma australe, Loweporus tephroporus, Microporus affinus, Phellinus* spp	Древоразрушающие сапротрофы
Galeola septentrionalis	? взрослых растений	Природное	*In planta* + выделение: морфология вегетативной стадии	Hamada, 1939	*Armillaria mellea*	Паразитические + сапротрофы
Galeola septentrionalis	? взрослых растений	Природное	*In planta* + выделение: морфология вегетативной стадии	Terashita, Chuman, 1987	*Armillaria tabescens*	Паразитические + сапротрофы
Gastrodia cunninghamii	? взрослых растений	Природное	*In planta* + *ex planta*: морфология вегетативной стадии и гифальные соединения	Campbell, 1962	*Armillaria mellea*	Паразитические + сапротрофы
Gastrodia elata	? взрослых растений	Природное	*In planta* + *ex planta*: морфология вегетативной стадии и выделение	Lan et al., 1994	*Armillaria mellea*	Паразитические + сапротрофы
Gastrodia elata	Сеянцы + взрослые растения	Природное	*In planta* + *ex planta*: выделение	Xu, Mu, 1990	*Mycena osmundicola* (сеянцы) *Armillaria mellea* (взрослые растения)	Паразитические + сапротрофы

Таблица 13.3. (*Окончание*)

Виды орхидных	Тип образцов	Происхождение	Метод идентификации гриба[1]	Источник	Идентифицированные грибы[2]	Трофическая группа[3]
Hexalectris spicata	Взрослые растения	Природное	*In planta*: молекулярные методы (ITS RFLP, последовательности ML5-6)	Taylor et al., 2003	Sebacinaceae – *Sebacina* spp.	Эктомикоризные
Neottia nidus-avis	8 взрослых растений + 7 сеянцев	Природное	*In planta*: молекулярные методы (ITS RFLP, ITS и 28S последовательности)	McKendrick et al., 2002	*Sebacina* spp.	Эктомикоризные
Neottia nidus-avis		Природное	*In planta*: молекулярные методы (ITS RFLP, ITS последовательности)	Selosse et al., 2002a	*Sebacina* spp.	Эктомикоризные
Rhizanthella gardneri	1 взрослое растение	Природное	Выделение: морфология вегетативной и репродуктивной стадий	Warcup, 1985, 1991	Единственный полученный изолят был назван *Thanatephorus gardneri*	Эктомикоризные
Rhizanthella gardneri	Взрослые растения	Природное	Секвенирование и морфологическое описание	Bougure et al., 2006	*Thanatephorus*	Эктомикоризные

С дополнениями из Taylor et al., 2002.

[1] «Выделение» обозначает культивирование грибов из пелотонов или фрагментов ткани. «*In planta*» относится к идентификации грибов прямыми методами, не требующими выделения в чистую культуру. «*Ex planta*» относится к прямому изучению морфологии грибных структур или гифальных соединений между растениями и характерными структурами микобионта (плодовыми телами или эктомикоризными окончаниями). В случае молекулярных методов ML5–6 относится к грибной митохондриальной генной последовательность большой субъединицы рибосомы в области, описанной в Bruns et al., 1998, и ITS-RFLP — к рестрикционным фрагментам грибной ядерной внутренней транскрибируемой области.

[2] Таксоны грибов приведены так, как они даны в цитируемом источнике, обратите внимание на то, что разные авторы используют различную номенклатуру. Для лабораторных тестов на прорастание упомянуты только те микобионты, которые дают совместимые взаимодействия. [3] В некоторых случаях трофическая принадлежность грибного партнера приведена по другим источникам. Однако если авторы дают четкое утверждение о трофических характеристиках, их мнению отдается предпочтение.

зообразующими грибами, и 78% исследованных фрагментов корней с пелотонами содержали виды рода *Tuber* (Selosse et al., 2004). Ризоктониевые грибы обнаружены не были. Четыре таксона эктомикоризообразователей были выявлены в ЭМ находящихся поблизости деревьев. Требуются дальнейшие исследования, чтобы установить, действительно ли теневыносливые виды *Epipactis* уникальны в своей специфичности к аскомицетам, в том числе *Tuber*, как симбионтам орхидной микоризы.

Два рода из трибы Neottieae, еще дальше продвинувшиеся в направлении бесхлорофилльности, *Limodorum* и *Neottia*, приурочены к узкому кругу ЭМ грибов. У *L. abortivum* в листьях и стеблях остается некоторое количество фотосинтетических пигментов, достаточное для поддержания функционирования фотосистемы II, хотя и с низкой эффективностью (Girlanda et al., 2006). Тем не менее, этот вид и два других (*L. trabutianum* и *L. brulloi*) ассоциированы исключительно с грибами, формирующими ЭМ с растущими рядом деревьями, и большинство грибных симбионтов относится к роду *Russula*. Вид *Neottia nidus-avis* также демонстрирует высокий уровень специфичности, но приурочен к видам *Sebacina* из Группы А (см. рис. 6.5), образующими эктомикоризу с деревьями и кустарниками (McKendrick et al., 2002; Selosse et al., 2002a). Колонизация видами *Sebacina* регулярно наблюдается у растений в природных условиях, начиная с самых ранних стадий развития сеянца и до взрослого состояния. Так как прорастание семян *Neottia* не происходит в отсутствие ЭМ партнеров, весьма вероятно, что растение находится в зависимости от гриба на протяжении всего цикла развития (McKendrick et al., 2002).

Два полностью микогетеротрофных рода орхидных из более поздней по происхождению эпидендроидной клады, *Corallorhiza* и *Hexalectris*, также обладают высокой специфичностью. Все обнаруженные в *C. maculata* 18 типов грибных ITS RFLP последовательностей принадлежали семейству Russulaceae (Taylor, Bruns, 1997). Исследования различных популяций и генотипов *C. maculata* и очень близкого вида *C. mertensiana* из целого ряда отличающихся по высотности и географическому расположению лесных местообитаний в США показали, что симбионтами обоих видов растений являются исключительно представители Russulaceae (Taylor, Bruns, 1999). Сочетание генетических факторов и факторов местообитания играют важную роль в определении уровня специфичности симбиоза. Виды *Russula*, колонизирующие корни данного вида орхидных, в дубовом лесу будут отличаться от симбионтов в хвойных лесах, что указывает на отбор растением совместимых генотипов грибных партнеров среди множества видов в пределах семейства, обитающих вместе. Так как ареалы *C. mertensiana* и *C. maculata* почти полностью совпадают, и два вида часто встречаются совместно, при изучении генотипической специфичности факторы местообитания могут быть исключены. Перекрывания видов *Russula*, состоящих в симбиозе с данными видами орхидных, обнаружено не было, что указывает на то, что, как и в случае описанных выше подъельниковых, генетические различия на уровне близкородственных видов контролируют восприимчивость к близким видам грибов. Более того, два совместно встречающихся, но четко различающихся окрашенных фенотипа *C. maculata* колонизировали разные виды *Russula*. То, что ни виды из одного рода, ни даже разновидности в пределах одного вида не делят между собой один грибной симбионт и в этом разделении большую роль играют генетические различия, указывает как на недавнее происхождение, так и на и динамичность специализации.

Все грибные симбионты сеянцев и взрослых особей *Corallorhiza trifida* (см. приложение 13.3А), полученные из популяций из Британии, Австрии и двух точек из США, посредством анализа полиморфизма длины рестрикционных фрагментов области ITS (ITS RFLP анализа) были идентифицированы как представители комплекса *Thelephora-Tomentella* ЭМ семейства Thelephoraceae (McKendrick et al., 2000a). Путем внесения семян *C. trifida* в различных типах ЭМ сообществ было

Таблица13.4. Сравнение зеленых, бесцветных и подземных особей *Cephalanthera damasonium* по способности к фотосинтезу, раннему росту и разнообразию грибных симбионтов, установленному методом ITS секвенирования отдельных пелотонов или продуктов клонирования.

	Зеленые особи	Бесцветные особи	Подземные особи
Общее содержание хлорофилла (мкг/мг сырого веса)	3,15 ± 0,50 (n = 4) a	0,029 ± 0,0004 (n = 4) b	-
Суммарная ассимиляция (мкмоль CO_2/м^2/с)*	-0,10 ± 0,35 (n = 5) a	-0,065 ± 0,39 (n = 6) a	-
Устьичная проводимость (мольH_2O/м^2/с)*	0,017 ± 0,003 (n = 5) a	0,036 ± 0,019 (n = 6) b	-
Квантовый выход ФС II ($\Delta F/Fm$)*	0,728 ± 0,052 (n = 6) a	0,053 ± 0,041 (n = 6) b	-
Ранний рост (см от 12 мая 2004)	14,5 ± 1,9 (n = 9) a	9,2 ± 0,3 (n = 5) b	-
Грибы, идентифицированные в отдельных пелотонах	*Hymenogaster* spp. 1 Thelephoraceae spp. 2 Thelephoraceae spp. 3 Thelephoraceae spp. 1	Cortinariaceae spp. 1 Thelephoraceae spp. 2 Thelephoraceae spp. 3	*Hymenogaster* spp. 1
Грибы, идентифицированные при клонировании			
Ascomycetes			
ЭМ или микоризные	4	8	4
немикоризные	5	5	4
Basidiomycetes			
ЭМ Thelephoraceae	2	5	2
прочие ЭМ грибы	2	2	2
Ceratobasidium sp.	-	1	-
Грибы со специфичным фенотипом	3 из 13	12 из 21	5 из 12
Базидиомицеты со специфичным фенотипом	1 из 4	6 из 8	2 из 4

Из Julou et al., 2005. Значения среднее ± стандартная ошибка, сопровождающиеся различными буквами, являются статистически достоверно различающимися у зеленых и бесцветных особей по тесту Стьюдента при $P<0,05$. * измерено при значении ФАР = 15мкмоль/м^2/с (при 20 ºС и 40% влажности воздуха), соответствующем условиям местообитания.

установлено, что прорастание происходит во всех случаях в течение 7–8 месяцев, указывая на наличие подходящих штаммов грибных симбионтов из телефороидных. Наиболее активно развивавшиеся сеянцы, ассоциированные с ЭМ кустарником *Salix repens*, образовывали почку цветоноса за период 14 месяцев (см. приложение 13.3Б, В), и в ходе исследований выяснено, что при отсутствии семенного пакета, препятствующего цветению, оно происходит в течение последующих 12 месяцев. Эти сроки развития значительно короче, чем известные по ранним оценкам, предполагавшим, что период достижения зрелого состояния длится от 3 до 4 лет (Fuchs, Ziegenspeck, 1924, 1926).

Свидетельства расхождения по микоризной специфичности у близкородственных орхидных генотипов также известны для рода *Hexalectris* (Taylor et al., 2003). Однако, все представители рода ассоциированы исключительно с грибами из Группы А рода *Sebacina* (см. рис. 6.5). По данным ITS RFLP анализа эти грибы представлены шестью типами последовательностей. Четыре из них обнаружены в образцах *Hexalectris spicata* var. *spicata*, один четко отличающийся тип - исключительно у *H. spicata* var. *arizonica.* и еще один — только у *H. revoluta*. Как и в случае *Corallorhiza maculata* и *C. mertensiana*, два вида рода *Hexalectris* (*H. spicata*-var *arizonica* и *H. revoluta*) встречались совместно, и специфичность, вероятно, зависит скорее от генетических, чем от географических факторов. Так же как и в симбиозе *Corallorhiza–Russula*, имеющиеся различия между *Sebacina*-подобными симбионтами двух совместно произрастающих видов растений предполагает, что микоризная специфичность могла дивергировать синхронно с недавно произошедшим филогенетическим расхождением линий орхидных.

Помимо составляющих большинство микогетеротрофных орхидных, которые ассоциированы с ЭМ грибами, имеется малое количество видов, связанных, как уже давно известно, с фитопатогенными или сапротрофными грибами. Примером может служить *Gastrodia elata*, вид, клубни которого на протяжении более 2000 лет используют в Китае для медицинских целей (Xu, Guo, 2000). Исследование микоризных взаимоотношений *G. elata* позволило ввести этот вид в культуру (см. гл. 17) и выявило особенности его цикла развития, зависящего от наличия грибного партнера (рис. 13.15). Наблюдения С. Кусано (Kusano, 1911b), что *Gastrodia elata* образует микоризный симбиоз с древоразрушающим патогеном *Armillaria mellea*, были подтверждены, но выяснилось, что они неполны. В настоящее время известно, что, хотя *A. mellea* в природе является симбионтом в корнях и клубнях взрослых растений, этот гриб паразитирует на молодых сеянцах того же вида (Xu, Mu, 1990; Xu, Guo, 2000). Путем экспериментов, в которых семена были погружены в разлагающуюся листву, имитирующую лесную подстилку, было установлено, что для стимуляции прорастания и ранних стадий развития растения необходим другой вид гриба, *Mycena osmundicola*. Присутствие *A. mellea* в этот период приводило к гибели сеянцев. Пока еще не ясно, является ли *M. osmundicola* единственным видом, способным стимулировать прорастание семян, но имеются свидетельства того, что он не может поддерживать развитие растения после стадии протокорма. Для продолжения жизненного цикла на поздних стадиях развития протокорма необходима замена *M. osmundicola* на *A. mellea* (рис. 13.15Е). Можно предположить, что в результате смены симбионта орхидея получает доступ к бо́льшим запасам органического углерода, заключенного в крупномерных древесных субстратах, используемых *A. mellea*. Несмотря на наличие данных о структурных особенностях микоризы на клеточном уровне (см. ниже), информация о физиологии этого весьма интересного симбиоза полностью отсутствует.

Протокормы, колонизируемые на поздней стадии развития *Armillaria mellea*, образуют первичный клубень, от которого, в свою очередь, дальше отпочковываются клубни, каждый большего размера, чем предыдущие (рис. 13.15Ж, З). По мере про-

лиферации клубней происходит распространение инокулюма *A. mellea*, первичные клубни отмирают и утилизируются грибом. Приблизительно через 3 года после прорастания семян клубни становятся достаточно крупными для того, чтобы могли сформироваться цветоносы (рис. 13.15И, К). Коммерческое производство этого вида орхидных в Корее осуществляют путем помещения свежесобранных мелких клубней в отверстия, высверленные в погребенном дубовом валеже, предварительно инокулированном *A. mellea* (Kim, Ko, 1995).

Galeola altissima — бесхлорофилльная лиана, микоризным симбионтом которой является другой древоразрушающий гриб, *Erythromyces crocicreas* (Umata, 1995). Кроме него, как показывают недавно полученные данные, в качестве микоризообразователей у молодых растений также могут присутствовать ксилотрофный вид *Ganoderma australe* и съедобный шляпочный гриб сиитакэ, *Lentinus edodes* (Umata, 1998b). Вклад этих грибов в питание и развитие растения пока остается невыясненным.

М. Ямато с коллегами собрали корни *Epipogium roseum* из ряда местообитаний в Японии и выделили грибы из отдельных пелотонов (Yamato et al., 2005). Путем секвенирования ядерной рДНК этих изолятов было показано, что микоризные симбионты относятся к семейству Coprinaceae, все представители которого являются сапротрофами. Одна группа изолятов была отнесена к роду *Psathyrella*, другая — к роду *Coprinus*, и некоторые оказались близки к *C. disseminatus*. В более позднем исследовании семена *E. roseum* высевали в стерильную смесь опилок и вулканической почвы, инокулированной *C. disseminatus*-подобным изолятом, и инкубировали в лабораторных условиях (Yagame et al., 2007). Хотя процент прорастания семян был невелик, некоторые семена развивались в присутствии гриба, и получившиеся растения достигали стадии цветения за 27 недель. Эти данные позволили провести первый хронологический анализ развития микогетеротрофной орхидеи от прорастания семени и до цветения (см. приложение 13.4А–В). Протокормы были получены за 6 недель с момента инокуляции грибом. Они образовывали длинные нитевидные столоны, не колонизировавшиеся микобионтом (см. приложение 13.4А). Достаточно мощные корневища, иногда коралловидной формы, содержащие пелотоны, развивались на столонах и образовывали, в свою очередь, вздутые заполненные крахмалом клубни (см. приложение 13.4А, вставка) за 16 недель. На этой стадии корневища разрушались, а оставшиеся клубни давали цветоносы за период в

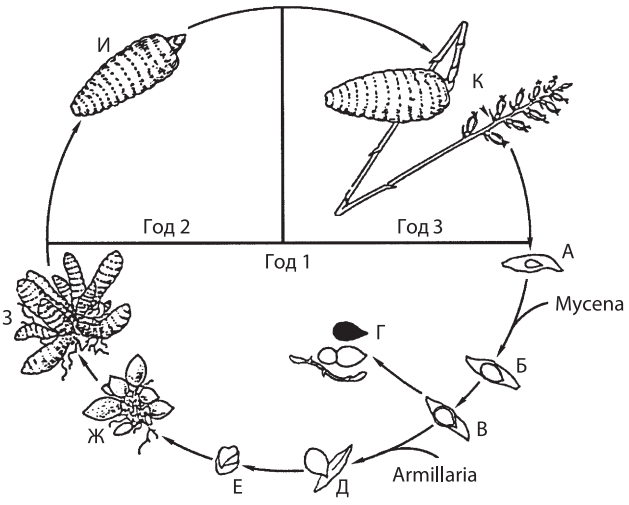


Рисунок 13.15. Цикл развития *Gastrodia elata* от семени (А) через этап первичной колонизации *Mycena* (Б–Г) и последующее развитие протокормов, в которых *Mycena* замещается вторым симбионтом *Armillaria* (Д–К). У растений, развившихся из таких протокормов цветение наступает на 3-й год. С изменениями из Xu, Guo, 2000.

18 недель. К возрасту 26 недель некоторые из них несли полностью развившиеся цветки (см. приложение 13.4В и вставку). Хотя описанные процессы развития растения могли в лабораторных условиях проходить быстрее, чем в природе, полученные данные позволяют судить об эффективности микогетеротрофных симбиозов для извлечения углерода из субстратов сложного состава, в данном случае, опилок (Yagame et al., 2007).

Структурные аспекты микоризы микогетеротрофных орхидных

У полностью микогетеротрофных орхидных существует два типа грибной колонизации. У большинства видов образуемые гифами пелотоны сходны с таковыми у зеленых орхидных (см. гл. 12). Эти гифальные клубки активно развиваются в наружных коровых клетках корня, но редко обнаруживаются в слое ризодермы. Г. Бургеф наблюдал стадии развития, во время которых внутриклеточные гифальные клубки превращаются в аморфную массу (Burgeff, 1932). Он предположил, что гриб был переварен растительной клеткой, и описал этот процесс под названием «толипофагия». Подобный тип колонизации был отмечен у *Corallorhiza trifida* (Weber, 1981), *Neottia nidus-avis* (Barmicheva, 1989), *Galeola septentrionalis* (Terashita, 1985) и *Cephalanthera austinae* (Taylor, Bruns, 1997) (см. рис. 13.14А). Стадии автолиза внутриклеточных гиф у *Neottia* были исследованы путем ультраструктурного анализа (Dorr, Kollman, 1969; Barmicheva, 1989).

При втором типе колонизации, описанном Г. Бургефом под названием птиофагии, проникновение гиф в клетки ограничивается средними слоями коры путем образования инкапсулирующих выростов растительной клеточной стенки (Burgeff, 1932). На уровне световой микроскопии птиофагия была описана у *Gastrodia*, *Galeola*, *Zeuxine* и *Cystorchis* (Burgeff, 1932). Несмотря на то, что пелотоны могут формироваться, обычно они менее плотные, чем при толипофаговых микоризах, и приурочены к наружной коре. Основной отличительной особенностью птиофагового типа является то, что рост гиф в клетках средних слоев коры останавливается из-за образования инкапсулирующих выростов клеточной стенки хозяина. Таким образом формируется структура, очень похожая на шпильку — отличительную черту монотропоидной микоризы (см. выше). Ультраструктурный анализ корней *Gastrodia elata*, колонизированных *Armillaria mellea* также подчеркнул это сходство. Были описаны продольные каналы между наружной и внутренней корой *G. elata*, по которым проходят недифференцированные подобные ризоморфам пучки гиф (Wang et al., 1997). Клетки наружной коры, в дальнейшем «клетки хозяина», пронизывают гифы из пучка, образующие внутриклеточные долгоживущие клубки. Напротив, проникновение гиф в клетки внутренней коры — «переваривающие клетки» (Wang et al., 1997), задерживается, и грибные структуры оказываются окружены разграничивающей плазматической мембраной с электронопрозрачными пузырьками лизосом (рис. 13.16Б). При процессе переваривания гиф, как предполагается, система электроноплотных эндоцитозных пузырьков пролиферирует в цитоплазме клетки хозяина, окружающей стенки гиф (Wang et al., 1997) (рис. 13.16А, Б). Считается, что пузырьки содержат продукты разложения гиф (рис. 13.16В, Г). Различие между шпильковидными структурами (Wang et al., 1997) и шпилькой подъельниковых в том, что у орхидных не обнаружено ни «взрыва», ни образования мешочка около кончика гифы. Тем не менее, подобный «взрыв» наблюдался у других орхидей (Burgeff, 1936), так, что возможно, что в обсуждаемой работе (Wang et al., 1997) были описаны более ранние стадии развития.

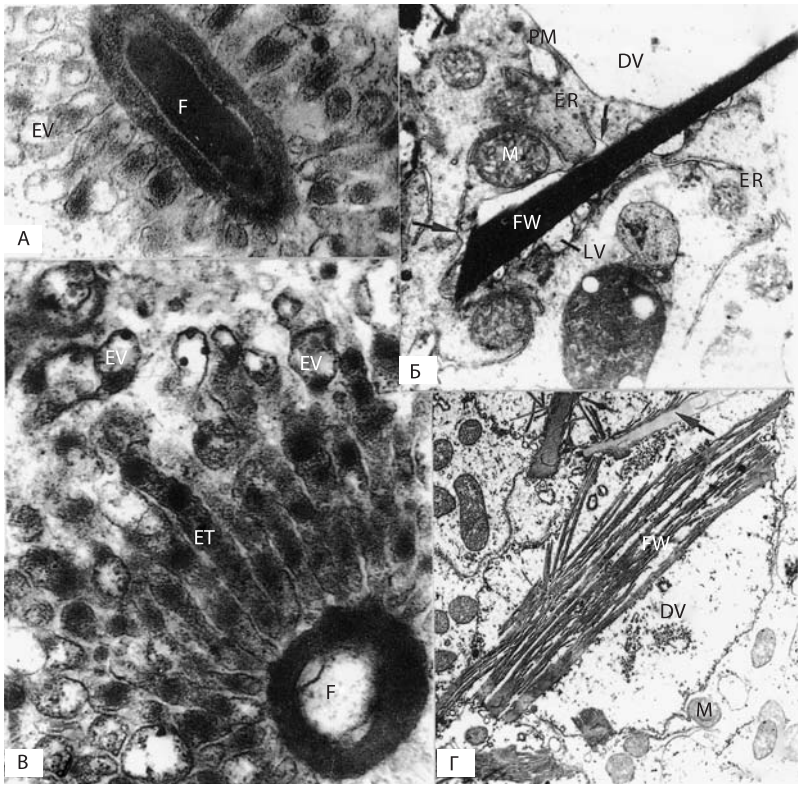


Рисунок 13.16. Срезы, показывающие внутриклеточные ультраструктурные особенности контактных зон в колонизированных клетках микоризного корня *Gastrodia elata*. А — эндоцитозные пузырьки (EV), образующиеся вокруг гиф (F) на ранних стадиях разложения. Увеличение × 24 000. Б — лизосомные пузырьки (LV) и эндоплазматическая сеть (ER), сливающиеся с цитоплазматической мембраной, окружающей грибные структуры, с образованием крупной переваривающей вакуоли (DV) вокруг остатков материала грибной клеточной стенки (FW). Увеличение × 30 000. В — система расходящихся эндоцитозных трубочек (ET), образующаяся вокруг гиф (F) и отсекающая эндоцитозные пузырьки (EV). Увеличение × 26 000. Г — переваривающая вакуоль (DV) с остатками материала грибной клеточной стенки (FW). Увеличение × 15 000. Из Wang et al., 1997.

На основании световой микроскопии Г. Бургеф описал лизис кончика гифы и высвобождение ее содержимого как определяющие особенности птиофагии (Burgeff, 1936). Если лизис кончика гифы является финальной стадией процесса коллапса гиф у микогетеротрофных орхидных, что представляется вполне возможным, то структурный параллелизм с подъельниковыми на этом уровне оказывается весьма значительным.

При этом необходимо подчеркнуть, что понятия «толипофагия», «птиофагия» и «переваривание», предложенные Г. Бургефом (Burgeff, 1936) и используемые другими исследователями, основаны исключительно на анатомических исследованиях. Несмотря на то, что эти термины предполагают наличие переноса питательных веществ к растению, нет свидетельств значимости подобного транспорта в угле-

родном питании микогетеротрофов. При наиболее вероятном, но пока недоказанном, сценарии транспорт углерода происходит, как и в случае АМ (см. гл. 4) и ЭМ (см. гл. 8) симбиозов, через вновь образованные физиологически активные зоны контакта между партнерами. При этом отличительной чертой транспорта углерода у микогетеротрофных растений будет то, что органические вещества движутся в направлении от гриба к растению, а не в противоположном. Согласно этой интерпретации, процессы «переваривания», наблюдаемые при микроскопии, аналогичны процессам разложения арбускулы или сети Гартига при старении, соответственно, АМ и ЭМ симбиозов.

Микогетеротрофные растения, связанные с арбускулярными микоризами

АМ колонизация происходит у полностью микогетеротрофных представителей Двудольных из семейств Polygalaceae (1 род, *Salomonia*) и Gentianaceae (4 рода), Однодольных из семейств Triuridaceae (6 родов), Petrosaviaceae (1 род) и Corsiaceae, все представители которого полностью микогетеротрофны, и Burmanniaceae (14 родов, микогетеротрофны не все). Расположение Burmanniaceae и Corsiaceae в порядке Orchidales в старых системах (напр., Cronquist, 1981) заставляет полагать, что этот тип микоризы представляет собой аномалию, но современная молекулярная филогения, помещает эти семейства в другие порядки, удаляя их от семейства Orchidaceae (см. рис. 12.1). Ранние предположения о том, что структуры, наблюдаемые в корнях представителей этих семейств, сходны с АМ (Groom, 1895; Janse, 1897; Pijl, 1934; Knöbel, Weber, 1988; Schmid, Oberwinkler, 1994, 1996), были недавно подтверждены молекулярными методами (Bidartondo et al., 2002; Franke et al., 2006) и структурным анализом (Imhof, 1997, 1998, 1999a, b, c, 2001, 2003, 2006; Imhof, Weber, 1997, 2000; Yamato, 2001; Franke, 2002).

Молекулярный анализ родов Горечавковых *Voyria* и *Voyriella* из тропических дождевых лесов Южной Америки показал, что они ассоциированы с близкородственными видами *Glomus* из группы A (см. гл. 1), с единственным исключением — *Gigaspora* spp. (Bidartondo et al., 2002). В том же исследовании было показано, что представитель Однодольных *Arachnitis uniflora* (Corsiaceae) из лесов Аргентины также колонизируется АМ грибами, и снова была отмечена узкая специализация. Так как виды рода *Glomus*, обнаруженные в тканях *Arachnitis*, также образовывали микоризу с тремя находящимися поблизости автотрофными растениями из трех различных семейств, можно предполагать, что автотрофы являлись источником углерода для микогетеротрофа. Четыре микогетеротрофных представителя рода *Afrothismia* (Burmanniaceae), как выяснено, колонизируются отдельными кладами *Glomus* из группы A (Franke et al., 2006).

Бесхлорофилльные гаметофиты папоротников *Botrychium lanceolatum* и *B. crenulatum* также колонизируют грибы из небольшой группы в пределах рода *Glomus* группа A (Winther, Friedman, 2007a). У одной из этих линий 18S последовательности оказались очень близки к штамму *Glomus*, выделенному из *Arachnitis uniflora*, в то время как другие — к *Glomus* из корней *Voyria corymbosa* (Bidartondo et al., 2002). Это позволяет предполагать, что множество таксономически удаленных клад гломеромицетов независимо вовлекались в симбиозы с микогетеротрофами. Выявлено, что те штаммы, которые образовывали микоризу с бесхлорофилльными гаметофитами, одновременно были ассоциированы с листостебельными спорофитами обоих видов *Botrychium*, что указывает на возможность прямого транспорта ассимилятов от автотрофной к микогетеротрофной стадии (Winther, Friedman, 2007a).

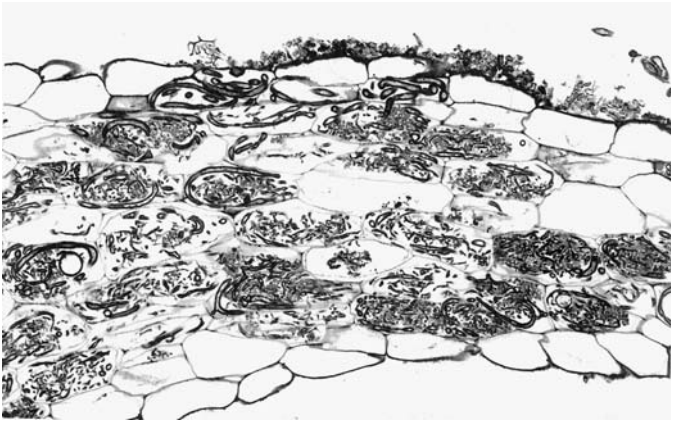
Одна линия присутствовала также в качестве АМ симбионта сопутствующего растения из покрытосеменных, что позволяет предполагать наличие притока органических веществ не только от представителей того же вида. В настоящее время показано, что микогетеротрофные гаметофиты некоторых плауновидных и образующиеся из них спорофиты также колонизируются небольшой группой АМ грибов (*Glomus* группа А) (см. рис. 1.5) (Winther, Friedman, 2007b).

Тщательный структурный анализ представителей этой группы микогетеротрофов позволил выявить особенности грибной колонизации, строения корня и морфологии гиф. *Burmannia tenella* (Burmanniaceae) образует звездовидную корневую систему, состоящую из мясистых, но хрупких корней 0,7–2 мм толщиной, достигающих в длину всего 3 см (Imhof, 1999c). У них имеется слой ризодермы, коровая паренхима около 10 клеток толщиной и эндодерма и очень сильно редуцированный центральный цилиндр. На тангентальных срезах видно, что клетки ризодермы колонизированы плотными клубками гиф (рис. 13.17А). Большинство залегающих глубже коровых клеток заняты внутриклеточными клубками гиф, иногда образующими структуры, подобные арбускулам (рис. 13.17Б), а также интеркалярными везикулами (рис. 13.17В). Слой ризодермы остается свободным от грибных структур, и с ним ассоциировано очень небольшое количество точек проникновения микобионта. Этот тип колонизации описан С. Имхофом (Imhof,. 1999c) как арбускулярная микориза *Paris*-типа (см. гл. 2). *Afrothismia gesnerioides* может служить примером еще более заметной редукции корневой системы, которая в данном случае состоит из яйцевидных корневых клубеньков (рис. 13.18А), от которых могут отходить короткие нитевидные выросты, лишенные центрального цилиндра (Imhof, 2006). В колонизации корневой системы участвуют два морфологически различных типа гиф, как предполагают, принадлежащих разным видам грибов. Первый из них, «вид А», имеет несептированный мицелий и относится к АМ типу, в то время как «вид В» обладает септированными гифами. Септированный мицелий колонизирует центральный цилиндр на ранних стадиях развития корневой системы (рис. 13.18Б), а «вид А» развивается позднее в коровых тканях.

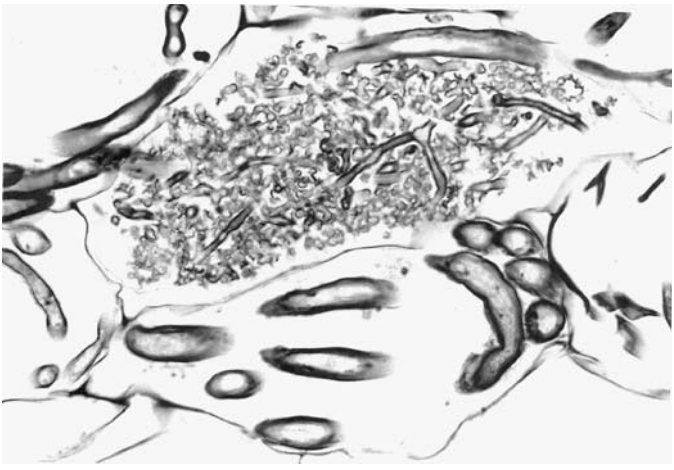
На срезе через корневые клубеньки (рис. 13.19А) видно активное распространение грибных симбионтов. Они образуют гифальные клубки в третьем коровом слое под ризодермой каждого клубенька (рис. 13.19Б, В). Наличие менее активно распространяющегося типа колонизации заметно в нитевидных выростах корней (рис. 13.19Г) (Imhof, 2006).

Микобионт с несептированными гифами, как предполагается, относится к АМ грибам, но в различных областях корня его структурная целостность сохраняется в разной степени. Ровные, долго сохраняющиеся гифы присутствуют в ризодермальных клетках (рис.13.20А), они образуют клубки, но также долгоживущие гифы встречаются в третьем клеточном слое под ризодермой (рис. 13.20Б, В). Более глубокие слои коровой ткани заняты клубками гиф, разрушающимися в так называемой «зоне переваривания» (рис. 13.20Г). И вновь, микоризу можно определить как *Paris*-тип АМ. В том же растении было отмечено наличие второго микобионта неясного таксономического положения с септированными гифами. Его распростра-

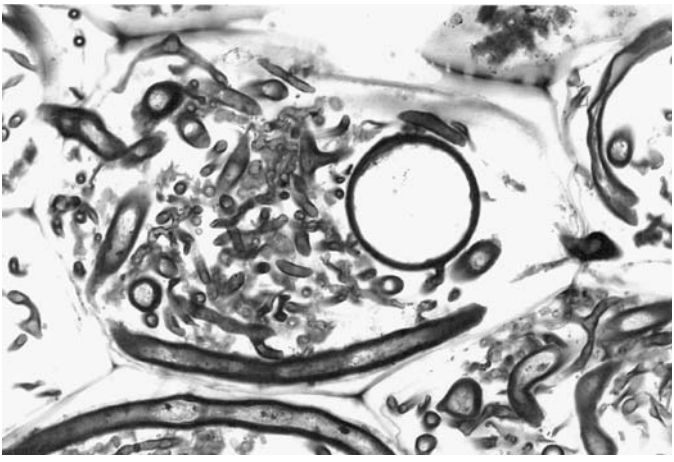
Рисунок 13.17. Тангентальные срезы микоризных корней *Burmannia tenella*. А — на срезе видны ризодермальные клетки (самый верхний слой), через которые проникают толстые несептированные гифы, врастающие в клетки коры, образуя арбускулоподобные структуры и редкие везикулы. Б — увеличенное изображение клетки, содержащей арбускулу и окруженной ризодермальными клетками с толстыми гифами. В — внутриклеточная везикула с частью арбускулы и толстыми гифами в клетке коры. Из Imhof, 1999c.



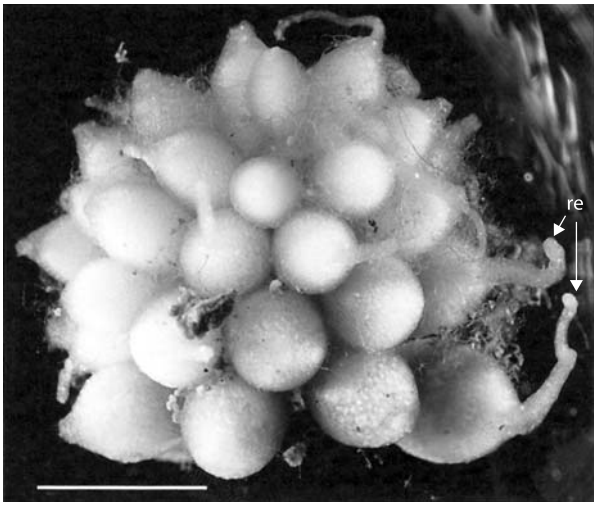
А



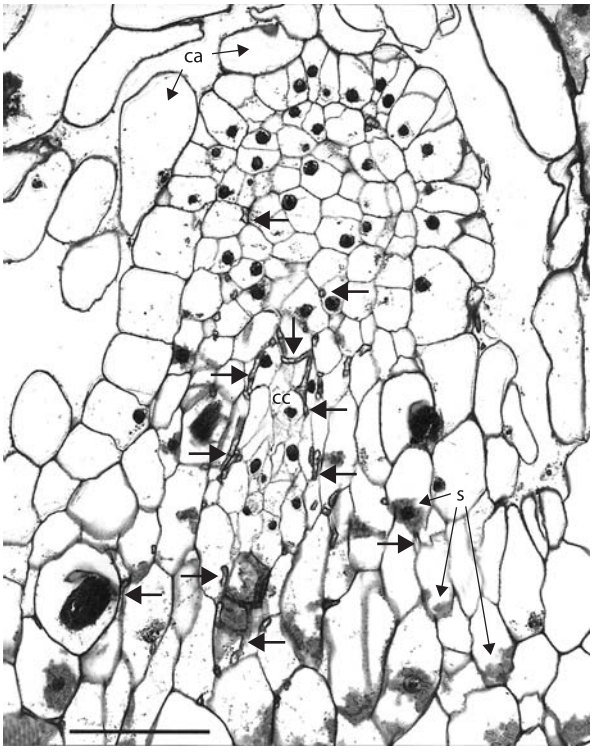
Б



В



А



Б

Рисунок 13.18. Корневые структуры *Afrothismia gesnerioides*. А — кончик корневища, густо покрытый корневыми клубеньками с короткими нитевидными выростами корней (re). Масштаб 250 мкм. Б — продольный срез появляющегося корня, уже колонизированного вблизи центрального цилиндра (cc) септированным микобионтом «вид В». Из Imhof, 2006.

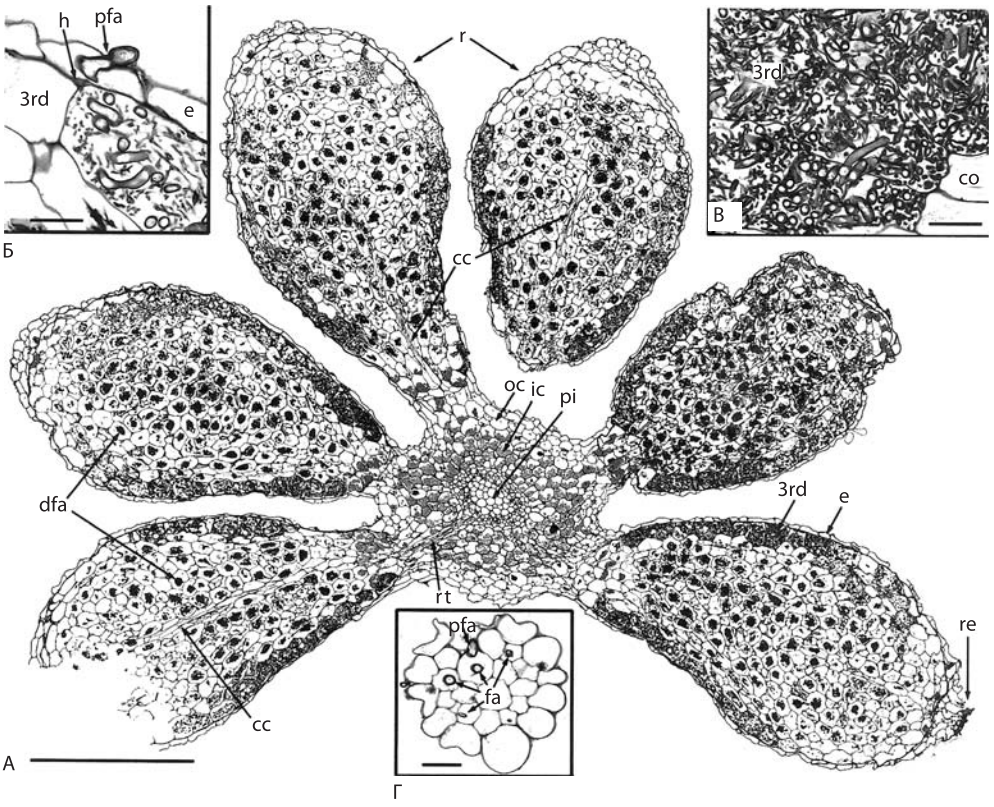


Рисунок 13.19. Характер колонизации корней *Afrothismia gesnerioides* несептированным микобионтом «вид А»). А — общий вид корневища (в поперечном разрезе) и корневых клубеньков (r) (в продольном разрезе) с неколонизированными клетками ризодермы (e), обширной колонизацией клеток третьего ризодермального слоя (3rd) и скоплениями гиф со следами разложения (dfa) в глубоких коровых слоях. Б — срез через ризодерму корня при большем увеличении. Показано проникновение толстой гифы (pfa), разрушающаяся экзодерма (h) и образование арбускулы в третьем ризодермальном слое. Масштаб 50 мкм. В — тангентальный срез третьего ризодермального слоя с клетками, содержащими плотные клубки несептированного «вида А», и неколонизированными клетками внутренней коры (co). Масштаб 50 мкм. Г — поперечный срез нитевидного корневого выроста, показано проникновение (pfa) и рост в продольном направлении гиф «вида А» (fa). Масштаб 50 мкм. Из Imhof, 2006.

нение было приурочено к зонам, свободным от несептированных гиф. *Sciaphila polygyna* (Triuridaceae) также формирует звездчатую корневую систему с индивидуальными корнями до 1,4 мм в толщину и 1 см длиной, отходящими от центра (Imhof, 2003). На поперечном срезе этих корней можно отметить очень ярко выраженную двустороннюю симметрию (рис. 13.21А, Б, В, Г), а также, как и у корней Бурманниевых, описанных выше, заметна четкая компартментализация. Третий слой клеток под ризодермой содержит рыхлые клубки несептированных гиф в дорзальной и латеральной области корня и, напротив, в вентральной области формируются очень плотные клубки из тонких гиф (рис. 13.21А, Б). В этом слое гифы обра-

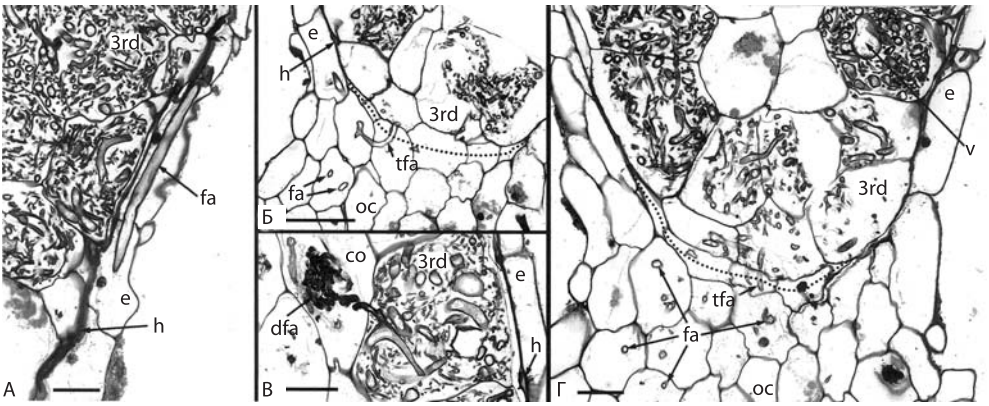


Рисунок 13.20. Колонизация *Afrothismia gesnerioides* «видом А», высокое увеличение. А — тангентальный срез с гифами в ризодерме, не образующими клубки (fa), разрушенным слоем экзодермы (h) и активной пролиферацией гиф в третьем ризодермальном слое. Масштаб 50 мкм. Б — срез через область, соединяющую наружную кору корневища и корня. Гифа в ризодерме корневища ветвится перед непосредственным проникновением в кору корня (tfa). Масштаб 50 мкм. В — колонизация третьего слоя ризодермы интактными гифами, и разложение клубков с образованием аморфных скоплений (dfa) в нижележащем коровом слое. Масштаб 50 мкм. Г — срез через ткани, соединяющие наружную кору корневища (ос) и корня. Не образующие клубки гифы, растущие в наружной коре, проникают в ткани корня (tfa) и пролиферируют с образованием клубков в третьем слое ризодермы. Пунктиром обозначена граница между тканями корневища и корня. Масштаб 50 мкм. Из Imhof, 2006.

зуют везикулоподобные вздутия и в определенных дорзальных областях сохраняют свою целостность (рис. 13.21Б). Четвертый слой клеток анатомически разнороден (рис. 13.21А, Б), в нем встречаются разрозненные «гигантские клетки», достигающие размеров 320 × 130 мкм в вентральной части, в которых гифы разрушаются (рис. 13.21В). Перед коллапсом гифы отчетливо увеличиваются в диаметре и затем дегенерируют, образуя аморфную массу. С. Имхоф предполагает, что функция третьего слоя клеток заключается в обеспечении роста и развития гриба до попадания в «гигантскую клетку» для «переваривания» (Imhof, 2003).

Многие бесхлорофилльные Горечавковые рода *Voyria* обладают звездчатой или коралловидной корневой системой, в которой оси отдельных корней очень короткие, но при этом наблюдается целый ряд различных типов морфологии корня или рисунков колонизации. Так, у *Voyria truncatula* имеются удлиненные корни с почти классической АМ *Paris*-типа (Imhof, Weber, 1997), а *V. tenella* (Imhof, 1997), *V. obconica* (Imhof, Weber, 2000) и *V. flavescens* (Franke, 2002) образуют короткие корни (приложение 13.1Г и рис. 13.22), в которых распространение грибных гиф ограничено, как и у Burmanniaceae (см. выше). У *V. truncata* несептированные гифы активно проникают сквозь ризодерму и растут внутрь, густо колонизируя коровую паренхиму корня. Противоположная ситуация наблюдается у *V. tenella* (Imhof, 1997). Здесь имеется несколько точек проникновения, и гифы, попавшие в корень, растут прямо к внутренним слоям коры, где распространяются вдоль узкого центрального цилиндра непосредственно снаружи от эндодермы. Отсюда они поворачивают обратно и растут в наружном направлении (рис. 13.23), разветвляясь и образуя вну-

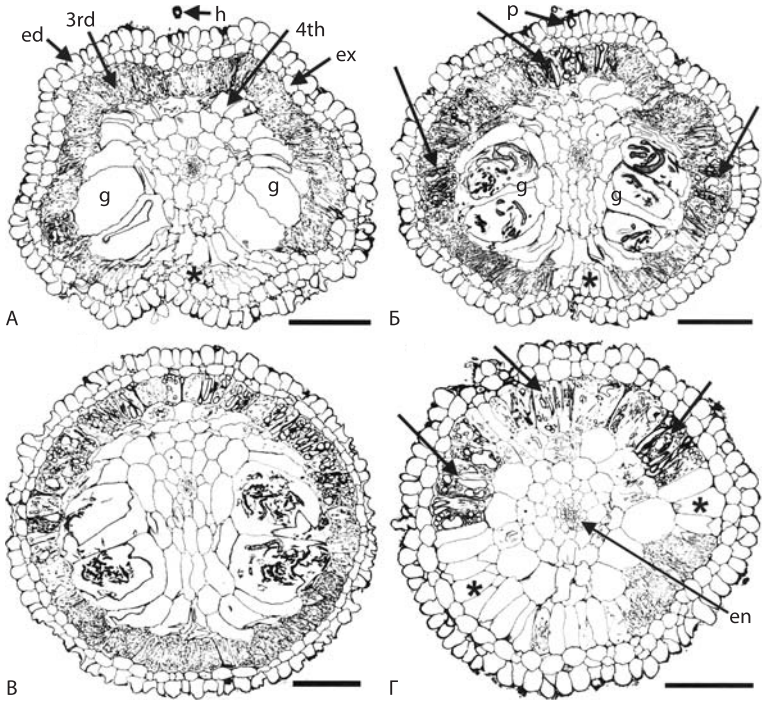


Рисунок 13.21. Поперечные срезы корня *Sciaphila polygyna* (Triuridaceae) через более и менее зрелые участки. А — срез рядом с кончиком, демонстрирующий отчетливые слои, в том числе, неколонизированную ризодерму (ed) и экзодерму (ex), третий ризодермальный слой (3rd) обширно колонизирован несептированными грибными гифами в дорзальном участке корня и в меньшей степени в вентральном, неколонизированный четвертый слой (4th) содержит гигантские клетки (g). Масштаб 250 мкм. Б — срез средней части корня с точкой проникновения (p), толстыми гифами и везикулоподобными структурами в дорзальной и латеральной частях третьего слоя (отмечено стрелками) и распространение колонизации в вентральные клетки третьего слоя. В гигантских клетках четвертого слоя (g) видны толстые гифы, иногда образующие аморфные скопления. Масштаб 250 мкм. В — дальнейшее созревание: полная колонизация вентральных клеток третьего слоя и появление структурных различий между вакуолизированными гифами в дорзальных клетках и невакуолизированными в вентральных. Масштаб 250 мкм. Г — вблизи основания корня дорзовентральное строение менее выражено. Толстые гифы с везикулоподобными расширениями видны в дорзальных клетках третьего слоя (отмечено стрелками). En — эндодерма. Масштаб 250 мкм. Из Imhof, 2003.

триклеточные клубки в центральной коре. Иногда они утолщаются и дегенерируют, что напоминает события при «переваривании».

Была отмечена стимуляция развития эктомикоризного мицелия вокруг корней микогетеротрофов (Bidartondo et al., 2004, см. выше), но мощная пролиферация мицелия внутри корня, наблюдаемая у Burmanniaceae, Triuridaceae и Gentianaceae, вероятно, является уникальной чертой этих растений, колонизированных АМ грибами. Несмотря на то, что вполне правомочно рассуждать о функциях этих массивов мицелия, как это делает С. Имхоф, следует заметить, что мы не располагаем данными ни о механизмах стимуляции развития гриба, ни о последствиях этого развития для растения.

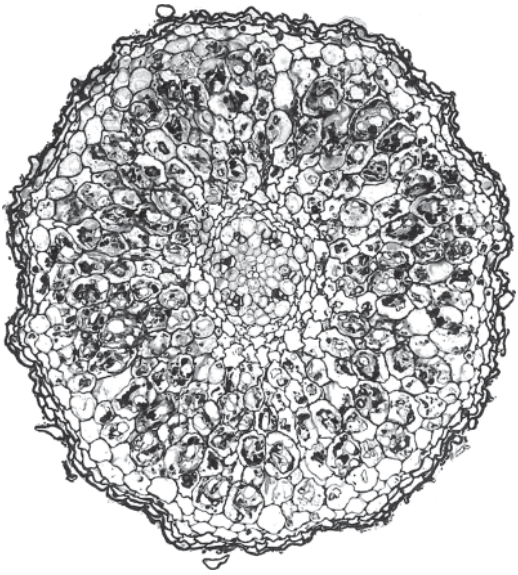


Рисунок 13.22. Поперечный срез корня *Voyria obconica*. Внешние слои ризодермы в основном лишены грибной колонизации, обширно колонизирована зона средней коры, и относительно слабо выражена колонизация внутренней коры. Из Imhof, Weber, 2000.

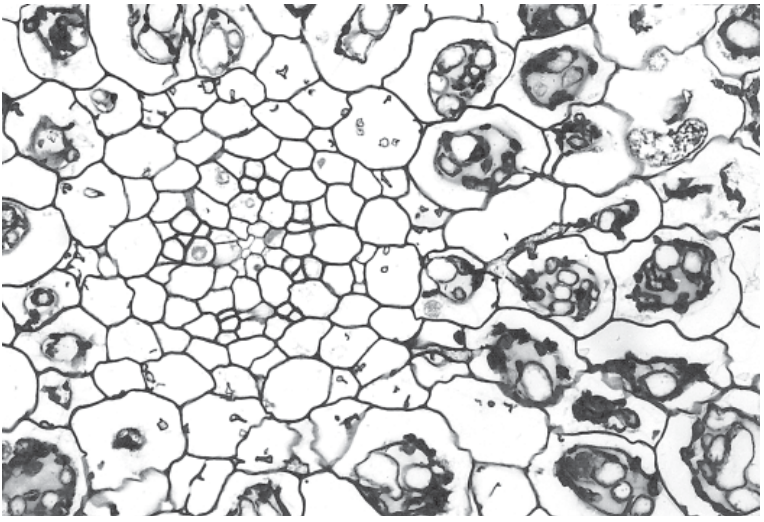


Рисунок 13.23. Поперечный срез корня *Voyria tenella* через промежуточную зону между тканями внутренней и наружной коры, показан рост внутриклеточных гиф из клеток внутренней коры в наружные коровые с образованием заметных утолщений в содержимом. Из Imhof, 1997.

Функции микогетеротрофных микориз

Ф.М. Каменский выдвинул гипотезу о том, что *Monotropa* обладает общим с растущими рядом деревьями симбиотическим грибом (Kamienski, 1881). Исследователь также полагал, что подъельник может получать питание не сапрофитно, но через общий мицелий от соседних с ним деревьев. Это мнение не получило широкой поддержки. А. Кернер был одним из первых, кто признал существование группы растений, паразитирующих на грибах (Kerner, 1894). Его слова о том, что «мы не можем с легкостью признать, что цветковое растение способно использовать грибной мицелий в качестве источника питания», выражают трудности восприятия, испытываемые многими его современниками, когда речь шла о способе питания подобных растений.

Первую экспериментальную проверку гипотезы Ф.М. Каменского осуществил Э. Бьоркман (Björkman, 1960). Он был первым, кто отделил растения *Monotropa* от древесных корней металлическими пластинами и увидел, что они растут хуже по сравнению с прикрепленными к корням особями. Позднее было обнаружено, что глюкоза, меченная ^{14}C, и ортофосфат с меткой ^{32}P в течение пяти дней транспортировались от ели или сосны, в которые были введены, в ткани находящихся поблизости растений *Monotropa*. Расстояние между деревьями и *Monotropa* было 1–2 м, и молодые развивающиеся растения оказались более радиоактивными, чем зрелые. Э. Бьоркман подтвердил точку зрения Ф.М. Каменского, что мицелий в древесных корнях и *Monotropa*, возможно, принадлежал одному и тому же грибу. В других растениях, находящихся рядом, например, *Calluna vulgaris, Vaccinium vitis-idaea* и *V. myrtillus*, ни одна из двух меток (^{14}C-глюкоза и ^{32}P-ортофосфат), введенных в ель и сосну, обнаружена не была, и это наблюдение подтверждает необходимость гифальных контактов для транспорта.

В противоположном эксперименте в растения *Monotropa* вводили метку ^{32}P, которая передавалась к растущим по соседству *Quercus* и другим ЭМ древесным породам и (что удивительно) к АМ *Acer* (Furman, 1966). Повторные попытки найти подтверждение транспорта ^{14}C после внесения $^{14}CO_2$ в *Salix repens*, кустарника, ассоциированного с *Monotropa hypopitys*, не имели успеха (Duddridge et al., неопубликованные данные), но позволили сделать предположение, что микогетеротроф может потреблять не находящиеся в обращении продукты фотосинтеза (которые окажутся мечеными после внесения $^{14}CO_2$), а запасаемые углеводы. Так как у *M. hypopitys* и, возможно, других подъельниковых, ось цветоноса текущего года образуется путем активного роста почки, заложившейся в предыдущем году (Duddridge, Read, 1982a), можно предполагать, что запасаемые источники углерода составляют значительную долю необходимых для развития веществ. Очевидно, что для ответа на вопросы о перемещениях изотопных меток, необходимо исследование сроком более одного вегетационного сезона. Подобные недавние эксперименты, помимо исследования временных и пространственных аспектов микогетеротрофного транспорта углерода, также могут прояснить природу процессов, в результате которых азот и фосфор поглощаются грибным партнером и транспортируются в растение. Удивительные особенности транспорта изотопов азота, выявленные в результате недавних исследований микогетеротрофов (Gebauer,Meyer, 2003; Zimmer et al., 2007), привели к возникновению множества вопросов. Ответы на них возможно дать только путем анализа источников азота, используемых грибными симбионтами, и процессов, посредством которых этот элемент передается микогетеротрофу. Каким бы ни был путь, несомненно то, что получение этих элементов через симбиотический гриб должно компенсировать слабое развитие корневой системы, обычно наблюдаемое у подобных растений.

Со времен ранних исследований питание микогетеротрофных растений не подвергалось столь внимательному рассмотрению, какого оно заслуживает. Тем не менее, новые данные были предоставлены экспериментами с микогетеротрофной орхидеей *Corallorhiza trifida*. В полевом опыте было впервые показано, что семена этого растения прорастают только в ассоциации с ЭМ автотрофами *Betula pendula* или *Salix repens* (McKendrick et al., 2000a, и см. выше). Сеянцы *C. trifida*, полученные в ходе эксперимента из семенных пакетов, взвешивали и затем переносили в микрокосмы с природной почвой и безмикоризными растениями *B. pendula*, *S. repens* или *Pinus sylvestris* (McKendrick et al., 2000b). Корни *B. pendula* и *S. repens*, находящиеся в непосредственной близости от внесенного растения *C. trifida*, формировали эктомикоризу (см. приложение 13.3Г, Д, Е). То, что ЭМ березы и ивы была образована симбионтом орхидного, было показано микроскопированием гифальных тяжей, формирующихся между партнерами (см. приложение 13.3Д). Если сеянцы микогетеротрофа были таким образом соединены с автотрофами, то увеличение их биомассы составляло от 6 до 14% за период 25–28 недель, в то время как в микрокосмах с *P. sylvestris*, в которых не формировалась микориза или при отсутствии автотрофов, они теряли 13% массы за тот же период (рис. 13.24). Эти результаты показывают, что соединение с ЭМ автотрофами требуется для транспорта углерода. Оно необходимо для развития орхидеи, и при образовании подобных связей существует некоторая специфичность.

В результате 28-недельного инкубирования, новые сеянцы *Corallorhiza trifida* появились в микрокосмах, содержащих *Betula pendula* и *Salix repens*, но в микрокосмах с *Pinus sylvestris* они отсутствовали. Эти новые сеянцы, появившиеся из семян, не проросших в пакетах, также оказались соединенными с автотрофами и развивались синхронно с изначально внесенными. Методами цифровой авторадиографии и учета люминесценции показано, что когда в побеги *B. pendula* и *S. repens* поступала метка $^{14}CO_2$, прямой транспорт углерода от автотрофов как к исходным, так

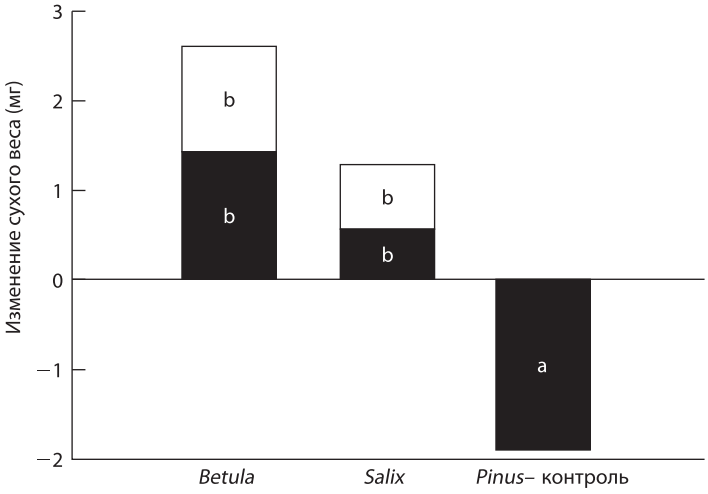


Рисунок 13.24. Изменение сухого веса исходных (черные столбцы) и вновь посаженных (прозрачные столбцы) растений *Corallorhiza* в симбиозе с *Betula* или *Salix* или в контрольных микрокосмах, в которых не образовывался общий микоризный симбиоз с автотрофом (*Pinus* — контроль). Столбцы с одинаковыми буквами отличаются статистически недостоверно. Из McKendrick et al., 2000a.

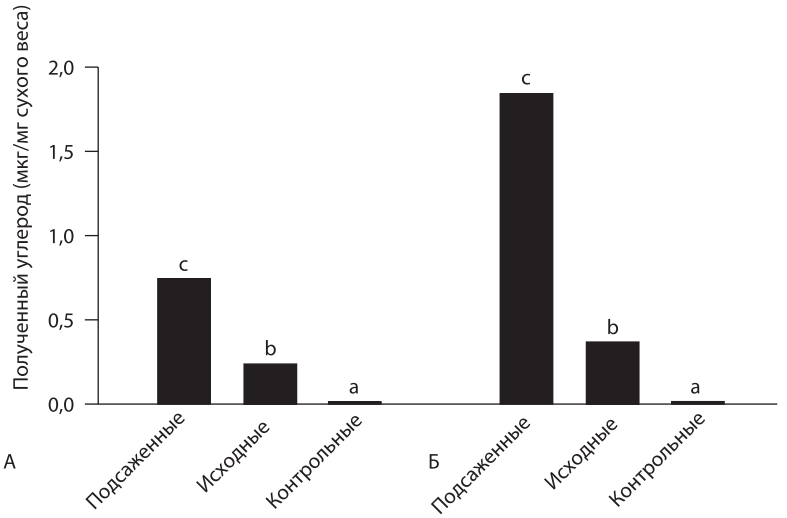


Рисунок 13.25. Количество углерода, получаемое подсаженными, исходными и контрольными растениями *Corallorhiza* в микрокосмах, содержащих (А) *Betula* и (Б) *Salix*. В каждом случае различия между тремя категориями растений были достоверными (P<0,05, тест Тьюки). Из McKendrick et al., 2000a.

и вновь появившимся сеянцам микогетеротрофного растения наблюдался во всех случаях, когда они были объединены общим грибным симбионтом. Не имевшие таких соединений сеянцы орхидных, внесенные в микрокосм в качестве контроля непосредственно перед введением изотопа, не ассимилировали существенного количества углерода (рис. 13.25). В этом исследовании было получено первое экспериментальное подтверждение того, что рост микогетеротрофных орхидных должен поддерживаться притоком углерода извне непосредственно от автотрофного партнера, соединенного с ними грибным мицелием. В последующем эксперименте, в котором микогетеротрофный печеночный мох *Cryptothallus mirabilis* (см. приложение 14.1В) выращивали с *B. pendula*, методом импульсного мечения автотрофа $^{14}CO_2$также было продемонстрировано, что общий грибной симбионт, в данном случае вид рода *Tulasnella* (см. гл. 14), осуществляет транспорт углерода к микогетеротрофу (рис. 13.26) (Bidartondo et al., 2003).

Косвенные методы анализа, в том числе, определение природных концентраций ^{15}N и ^{13}C позволили пролить свет на возможные источники этих веществ. С.А. Труделл с соавт. показали, что $\delta^{15}N$ изотопные подписи подъельниковых *Hemitomes congestum*, *Allotropa virgata*, *Monotropa hypopitys* и *M. uniflora* отличались от таковых у всех не микогетеротрофных растений, обследованных в национальном парке Олимпик в Вашингтоне (Trudell et al., 2003). Изотопные подписи подъельниковых были более всего сходны со значениями у ассоциированных с этими растениями ЭМ грибов, с которыми наблюдалась значительная положительная корреляция по значениям $\delta^{15}N$. Напротив, изотопные подписи ^{13}C этих растений были сходны с таковыми у ассоциированных с ними автотрофов. Авторы работы сделали предположение, что увеличение значений ^{15}N отражает массовый отток содержимого мицелия через «шпильки» подъельниковых, и обогащение еще более усилено ввиду избирательного исключения из этого процесса хитинсодержащего материала грибной клеточной стенки, которая, как известно, значительно обеднена ^{15}N (Taylor et

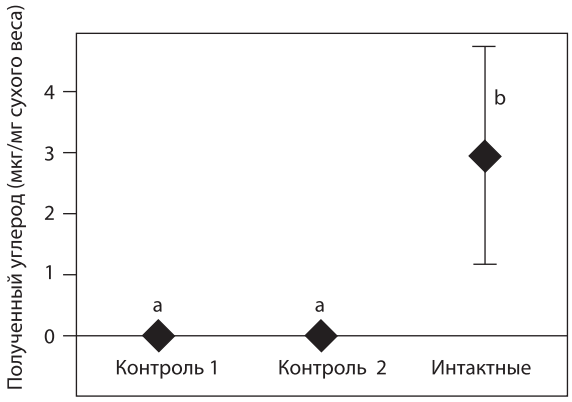


Рисунок 13.26. Концентрация углерода, полученного в течение 21 дня после внесения $^{14}CO_2$ в отдельные талломы *Cryptothallus*, развивающиеся под *Betula pendula*. Талломы соединяются мицелием *Tulasnella* с корнями *Betula*, образующими эктомикоризы. В контроле 1 гифальные соединения между талломами и корнями были повреждены непосредственно перед действием $^{14}CO_2$. В контроле 2 талломы непосредственно перед действием $^{14}CO_2$были перенесены в камеры. Разброс — стандартная ошибка среднего. Разные буквы обозначают статистическую достоверность различий ($P = 0{,}05$, тест Тьюки). Из Bidartondo et al., 2003.

al., 1997). Они предположили, что если «взрывание» мешочка обеспечивает массовый транспорт грибного углерода, отсутствие метаболического фракционирования может объяснять отсутствие различий в изотопных подписях ^{13}C.

Аналогичные различия по обилию изотопов были показаны на примере микогетеротрофных орхидных и ассоциированных с ними автотрофов (Gebauer, Meyer, 2003). Однако, в этом случае и $\delta^{15}N$ (рис. 13.27) и $\delta^{13}C$ (рис. 13.28) полностью микогетеротрофных видов *Neottia nidus-avis* и *Limodorum abortivum* были значительно выше, чем у находящихся рядом других растений. Большая разница в подписях обоих изотопов, наблюдаемая у *N. nidus-avis* и *L. abortivum*, свидетельствует об усвоении источников азота и углерода, отличных от тех, которые используют автотрофы.

Несмотря на имеющиеся мнения о физиологической подоплеке разницы в значениях $\delta^{15}N$, наблюдаемого у микогетеротрофов (Trudell et al., 2003), мы, к сожалению, пребываем в неведении относительно путей транспорта азота и процессов, происходящих при появлении подобных изотопных подписей. Когда такого рода обогащение наблюдается в плодовых телах ЭМ грибов, в том числе, ассоциированных с микогетеротрофами, делают вывод, что его причина в избирательном усвоении грибами трудноразлагаемых органических азотсодержащих веществ почвы, которые сами по себе обогащены $\delta^{15}N$ (см. гл. 15). На тех же основаниях можно утверждать, что обогащение $\delta^{15}N$, наблюдаемое у микогетеротрофных растений, происходит из-за получения ими азота посредством грибов из труднодоступных источников в почве. Усвоение преимущественно органических источников азота должно, в свою очередь, влиять на $\delta^{13}C$ изотопные подписи тканей микогетеротрофов. Хотя иногда утверждают, что почти весь имеющийся у них углерод поступает через мицелий грибного партнера от ассоциированных с ним автотрофов, необходимо учитывать последствия этого частично гетеротрофного пути получения углерода. Применение моделей смешивания изотопов (см. ниже) дало некоторые воз-

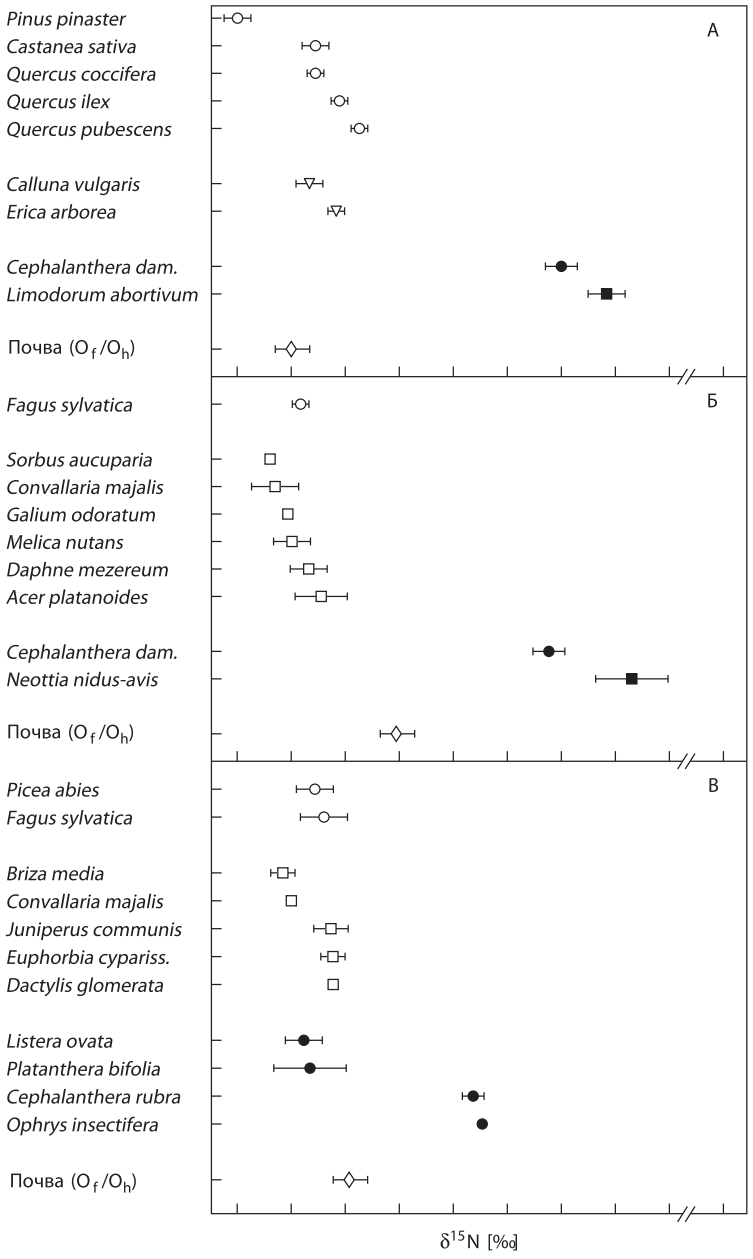


Рисунок 13.27. Средние значения $\delta^{15}N$ ± стандартная ошибка в листьях всех видов растений и почвенных образцах, собранных на четырех участках лесных сообществ в Европе. А — сосновый лес (*Pinus pinaster*, Тезан, юг Франции); Б — буковый лес (*Fagus sylvatica*); В — сосновый лес (*Pinus sylvestris*; последние два участка — лес Фельденштайнер, Северо-Восточная Бавария, Германия). Символы относятся к функциональным группам: ЭМ (О); ЭрМ (Ñ); АМ/НМ (□); АО (Автотрофные орхидные) (●); МГО (Микогетеротрофные орхидные) (■); почва (◊). Разброс не указан, если ошибка меньше, чем размер символа или если $n<3$. Из Gebauer, Meyer, 2003.

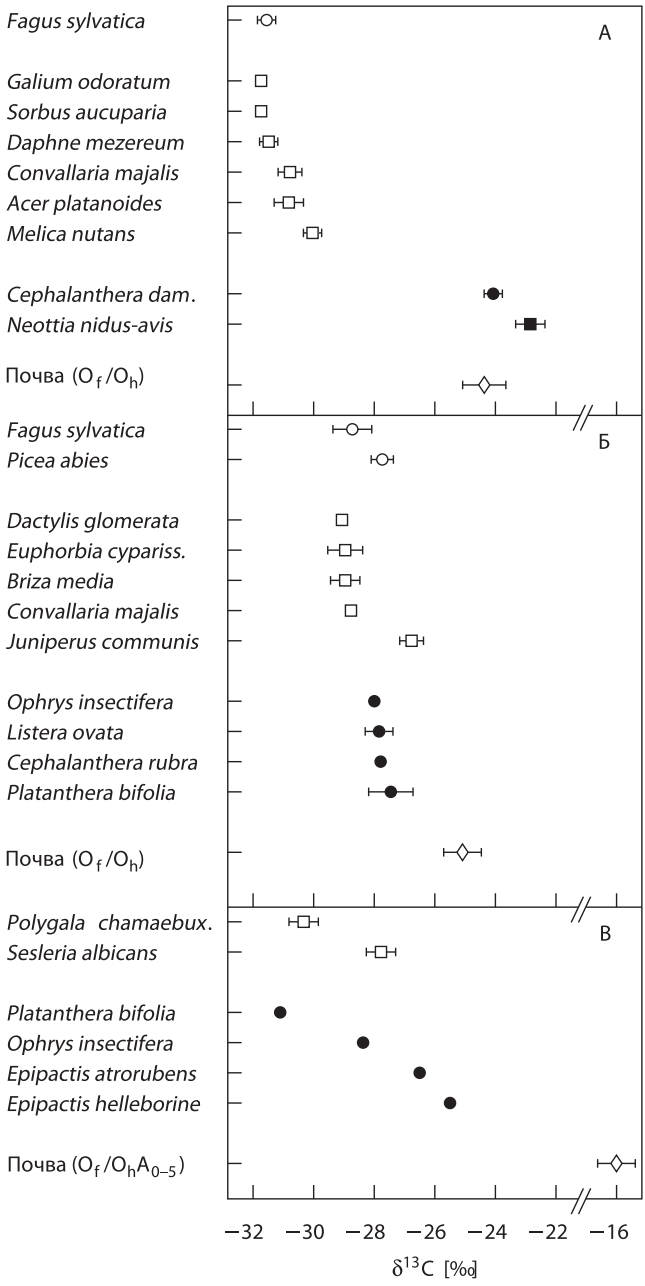


Рисунок 13.28. Средние значения $\delta^{13}C \pm$ стандартная ошибка в листьях всех видов растений и почвенных образцах, собранных на трех участках в лесу Фельденштайнер, Северо-Восточная Бавария, Германия. А — буковый лес (*Fagus sylvatica*); Б — сосновый лес (*Pinus sylvestris*); В — сосновый лес (*Pinus sylvestris*). Символы относятся к функциональным группам: ЭМ (О); АМ/НМ (□); АО (●); МГО (■); почва (◊). Разброс не указан, если ошибка меньше, чем размер символа или если $n<3$. Из Gebauer, Meyer, 2003.

можности решения вопроса об относительной значимости различных источников углерода и азота, используемых микогетеротрофными растениями в природе.

Предположительно фотосинтезирующий вид *Cephalanthera damasonium*, наряду с близкородственными зелеными орхидными *Cephalanthera rubra*, *Epipactis helleborine* и *E. atrorubens*, имеет N и C изотопные подписи, обогащенные по сравнению с другими зелеными орхидеями, иногда встречающимися в тех же точках, (Gebauer, Meyer, 2003) (см. рис. 13.27, 13.28). Это наблюдение указывает на то, что указанные растения, скорее всего, получают значительную часть своего углеродного и азотного питания гетеротрофным способом. Данная точка зрения была подкреплена наблюдениями, что, как минимум, в случае полностью микогетеротрофного вида *Cephalanthera austinae* (Taylor, Bruns, 1997, см. выше), подобные виды ассоциированы с ЭМ, а не с *Rhizoctonia*-подобными грибами, которые обычно обнаруживаются в автотрофных орхидных (см. гл. 12) (Bidartondo et al., 2004). Этим можно объяснить как доступ к углероду из продуктов фотосинтеза, так и сравнительно высокую теневыносливость подобных видов.

Используя линейную модель смешения двух источников изотопов, Г. Гэбауэр и М. Мейер установили, что до 85% углерода, получаемого зелеными, потенциально способными к фотосинтезу орхидными, было предоставлено их грибными партнерами (Gebauer, Meyer, 2003). С помощью того же метода, позднее применявшегося для листьев этих видов в сочетании с параллельными молекулярными исследованиями грибных симбионтов в корнях тех же самых особей, было показано, что растения из затененных местообитаний получают часть углерода посредством ЭМ грибов. Напротив, для *Epipactis palustris*, вида, населяющего открытые местообитания, ассоциированного, как было показано впоследствии, с *Rhizoctonia*-подобными грибами, не было выявлено свидетельств частичной микогетеротрофии. Для этого вида был отмечен небольшой приток азота от грибного партнера, сходный с тем, который показан для автотрофного орхидного вида *Dactylorhiza majalis* (Gebauer, Meyer, 2003; Bidartondo et al., 2004).

Позднее был проведен сравнительный анализ ^{15}N и ^{13}C у подъельниковых, *Pyrola* spp. и АМ или немикоризных автотрофов в лесных сообществах в Калифорнии (Zimmer et al., 2007) (рис. 13.29). В трех изучаемых местообитаниях *Sarcodes sanguinea* (рис. 13.29А, Б, Г) и *Pterospora andromedea* (рис. 13.29В, Г, Е) демонстрировали значительное обогащение как $\delta^{15}N$, так и $\delta^{13}C$ сравнительно с другими растениями в сообществе. Бесхлорофилльная орхидея *Corallorrhiza maculata* обладала изотопной подписью, сходной с подъельниковыми (рис. 13.29А, Б). Эти данные подтверждают, что, как и в случае бесхлорофилльных орхидных в европейских лесах, исследуемые растения являются микогетеротрофами (Gebauer, Meyer, 2003; Bidartondo et al., 2004). Большинство изученных видов рода *Pyrola* занимали промежуточное положение, являясь частичными микогетеротрофами, как минимум, по азоту (см. гл. 7), за исключением бесхлорофилльного вида *P. aphylla* (рис.13.29Е), который, как и можно было предполагать, обладал изотопными подписями, свидетельствующими о полной микогетеротрофии. Однако выборка образцов этого растения не была достаточной для подтверждения его трофического статуса.

К моделям смеси изотопов следует подходить с некоторой осторожностью, так как чистая доля углерода и азота, получаемая по предсказанию модели посредством микогетеротрофного питания, зависит от исходного изотопного обогащения находящихся рядом предположительно полностью автотрофных и частично микогетеротрофных растений. Получаемые данные, особенно в последнем случае, могут существенно различаться, но, тем не менее, они показывают возможные доли питательных веществ, поступающих из двух источников, и позволяют выдвигать гипотезы, для которых возможно прямое экспериментальное подтверждение.

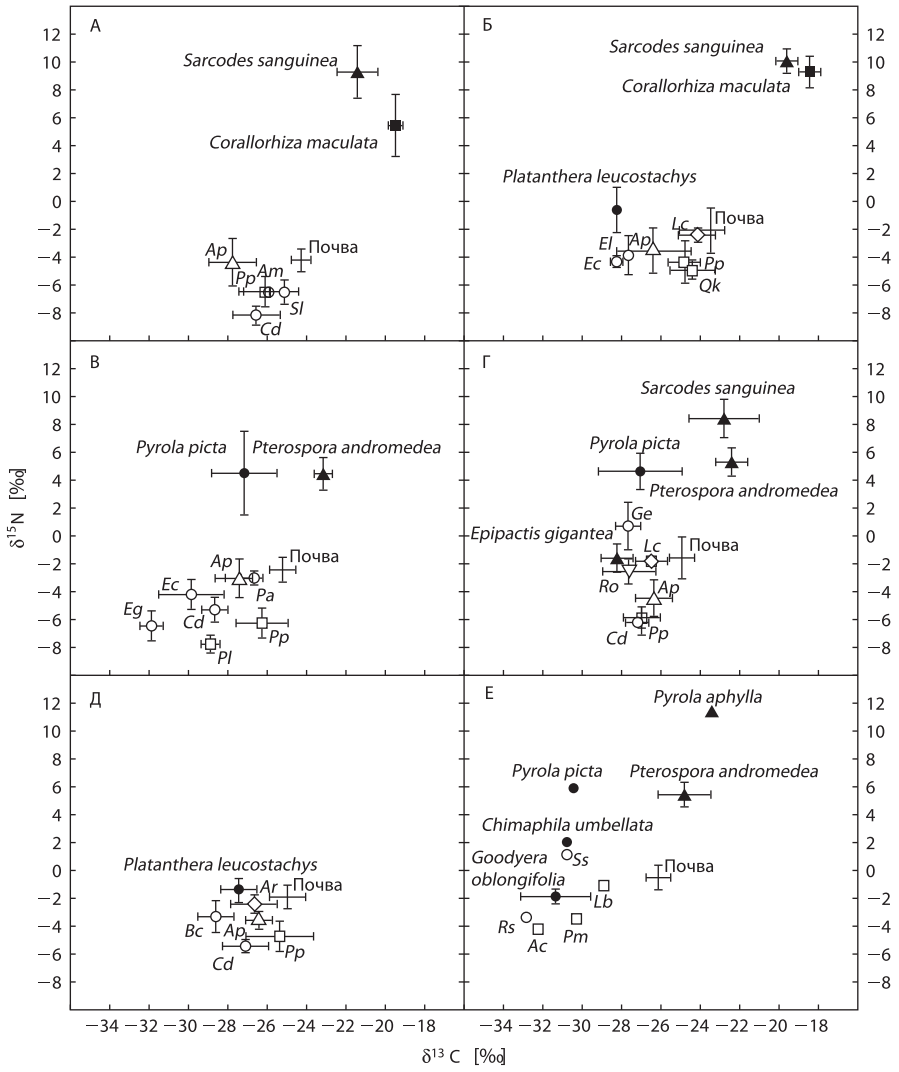


Рисунок 13.29. Средние значения $\delta^{15}N$ и $\delta^{13}C$ подписей тканей растений из четырех различных функциональных групп и почвы с пяти лесных участков в Калифорнии. К функциональным группам относятся, во-первых, полные микогетеротрофы, *Sarcodes sanguinea*, *Pterospora andromedea* (Подъельниковые), *Corallorhiza maculata* (Орхидные), *Pyrola aphylla* (Грушанковые). Во-вторых, два зеленых вида грушанковых, *Pyrola picta* и *Chimaphila umbellata*. В-третьих, три зеленых орхидных, *Goodyera oblongifolia*, *Epipactis gigantea*, *Platanthera leucostachys*. И наконец, 22 полностью автотрофных вида: Ac — *Abies concolor*; AM — *Acer macrophyllum*; Ap — *Arctostaphyllos patula*; Ar — *Alnus rhombifolius*; Bc — *Bromus carinatus*; Cd — *Calocedrus decurrens*; Ee — *Elymus elymoides*; Eg — *Elymus glaucus*; Ec (В) — *Epilobium canum*; Ec (Б) — *Eriophyllum confertifolium*; Ge — *Glyceria elata*; Lb — *Linnea borealis*; Lc — *Lotus crassifolius*; Pa — *Pteridium aquilinum*; Pl — *Pinus lambertiana*; Pm — *Pseudotsuga menziesii*; Pp — *Pinus pondereosa*; Qk — *Quercus kellogii*; Rs — *Ribes* spp.; Ro — *Rhododendron occidentale*; Ss — *Smilacina* spp.; *Stipa lettermanii*. Разброс не указан, если ошибка меньше, чем размер символа или если $n<3$. Из Zimmer et al., 2007.

Дальнейший сбор данных весьма желателен, но уже на данном этапе очевидно, что при переходе из открытых местообитаний в затененные лесные у полностью автотрофных видов орхидных происходит смена микобионтов с *Rhizoctonia*-подобных, сравнительно малоспецифичных грибов, на иную функциональную группу — симбионтов ЭМ, обычно демонстрирующих более высокий уровень специфичности. Подсемейство Monotropoideae, все представители которого населяют очень затененные местообитания, является примером узкой специфичности в отношении той же функциональной группы симбионтов. Они отличаются от орхидных только тем, что, по-видимому, не имеют автотрофных или предполагаемо автотрофных родственных форм. Тем не менее, близкая триба Pyrolae, члены которой ассоциированы исключительно с ЭМ грибами, демонстрирует постепенный переход от полной автотрофии к микогетеротрофии (см. гл. 7). Это указывает на направление эволюции в сторону зависимости от ресурсов, получаемых от грибных симбионтов, что прослеживается как у орхидных, так и у вересковых.

Весьма интересно, почему движение в сторону возрастающей зависимости от симбионта приводит к более высокой специфичности в отношениях пары гриб–растение. Утратив способность к фотосинтезу, эти растения стали полностью зависимы от грибных партнеров как источника углерода. В первую очередь, переключение с *Rhizoctonia*-подобных сапротрофов на ЭМ грибы может быть обусловлено невозможностью поддерживать в достаточном объеме углеродное питание растений после стадии протокорма. Несмотря на то, что до настоящего времени неизвестны примеры таких видов орхидных, у которых в течение жизненного цикла происходила бы смена симбионтов с *Rhizoctonia* на ЭМ грибы, эволюционные стадии, в течение которых такие переходы предположительно могли происходить, остаются предметом дискуссий. Тем не менее, подобное переключение дает определенные преимущества растению, что может быть проиллюстрировано тем, что микогетеротрофы способны существовать в условиях такого затенения, при котором автотрофы не выживают.

Причины крайне высокой специфичности микогетеротрофных растений особенно интересны ввиду того, что становится весьма ограниченной возможность встречи растения на стадии семени и подходящего грибного партнера. Микогетеротрофы не только располагаются в области крайней специфичности микоризного континуума, они также представляют собой единственный пример полностью паразитических растений в континууме «мутуализм-паразитизм». Как уже было сказано, эти растения напрямую паразитируют на своем грибном симбионте, и при этом взаимоотношения высокоспецифичны. Иногда, но не во всех случаях, микогетеротрофы демонстрируют специфичность в отношении вторичных «хозяев», автотрофных растений. Примечательно, что среди симбиозов грибов и растений специфичность характерна именно для паразитизма. Наиболее ярко она проявляется у биотрофных паразитов надземной части растений, где наличие жесткого генетического контроля специфичности было показано неоднократно. Высокая специфичность развивалась, когда гриб и растение вовлекались в динамичный эволюционный процесс, в ходе которого растение вырабатывало устойчивость для элиминации паразита, в то время как гриб эволюционировал в направлении преодоления этой устойчивости. В результате возникла узкая специфичность, часто на уровне расы паразита и разновидности растения.

Можно предполагать, что специфичность в микоризных симбиозах грибов с микогетеротрофами появилась в результате сходных эволюционных процессов, но в этом случае в роли паразита выступает растение. Возможно, что грибы, ассоциированные с микогетеротрофами, или не развили механизмы устойчивости в отношении растений или подобная ассоциация для них не является вредоносной, и они

вполне эффективно предоставляют «дополнительный» углерод, требующийся микогетеротрофам для развития.

Ничего не известно о генетике взаимоотношений микогетеротрофов с микоризными грибами — объектами паразитизма, так что все, что можно сказать, останется просто спекуляциями. Отправной точкой может послужить доскональное исследование взаимоотношений микогетеротрофов, грибов, с которыми они ассоциированы и их близких родственников на очень ранних стадиях развития, и работы в этой области уже были проведены. Известно, что существуют сигнальные молекулы, выделяемые «подходящими» грибными симбионтами, и что они стимулируют прорастание семян микогетеротрофов. «Неподходящие» грибы либо не образуют эти соединения, либо их количества недостаточны для возникновения ответа со стороны растения. Однако это может быть только частью молекулярного диалога между симбионтами. Поскольку узнавание таких сигналов послужит преимуществом для растения, их выделение будет иметь неблагоприятные последствия для гриба. Опять же, можно только рассуждать о том, какие грибные молекулы выделяются в ответ на первичный сигнал, исходящий от семени. Здесь необходимо тщательное микроскопическое исследование обоих симбионтов в ходе развития взаимоотношений. Возможно, изучить клеточные ответы удастся при помощи различных витальных красителей, что поможет узнать, имеется ли устойчивость или реакция сверхчувствительности у несовместимых пар симбионтов.

Более того, пока мы не знаем о качественных и количественных аспектах транспорта питательных веществ, а также, насколько они могут контролироваться грибным симбионтом, мы не сможем определить, каковы «затраты» гриба на поддержание жизнедеятельности микогетеротрофа. Ввиду вышесказанного, важным моментом является транспорт органического углерода от гриба к растению, направление которого, несмотря на возможность переноса органического азота в сторону автотрофов в других типах микориз, является необычным для большинства микоризных симбиозов. Но такой транспорт, очевидно, происходит, и механизмы, лежащие в его основе, прежде всего, требуют изменений в экспрессии переносчиков питательных веществ, в особенности, сахаров, в зоне контакта. Предполагают, что в большинстве микоризных симбиозов, включающих автотрофы, у растения сохраняется способность реабсорбировать органический углерод в апопласте контактной зоны, таким образом минимизируя транспорт к грибному партнеру (см. гл. 4 и 8). Это именно тот механизм, который можно предполагать в случае поглощения органического вещества микогетеротрофами. Остается важный вопрос, какие механизмы индуцируют утрату с трудом добытого углерода грибным партнером. Кроме того, очень существенно выяснение сложных механизмов, лежащих в основе миксотрофии и способности микориз зеленых орхидных изменять направление потока органического углерода между симбионтами в течение суток, вегетационного сезона или полного жизненного цикла растения (см. гл. 12).

В любом случае, одним из следствий специфичности взаимоотношений будет снижение вероятности встречи с подходящим грибным партнером. Очевидно, что образование очень большого количества семян, типичное для этой группы растений, наряду с наличием длительного периода покоя, являются приспособлениями для увеличения возможности контакта между партнерами, который может привести к возникновению симбиоза. Сложная система сигналов также, вероятно, более существенна, чем в других, мутуалистических типах микоризных симбиозов.

Заключение

Развитие технологий сделало возможным значительный прогресс в изучении филогенетических связей микогетеротрофных растений и их грибных симбионтов. Анализ ДНК предполагаемых партнеров из широкого круга ассоциаций подъельниковых и орхидных позволил выявить удивительный уровень специфичности подобных симбиозов. Микогетеротрофы из этих групп избирательно образуют микоризы с базидиальными грибами. В противоположность узкой специфичности, наблюдаемой на уровне индивидуальных пар симбионтов, грибы, участвующие в различных ассоциациях, представляют большое количество удаленных друг от друга таксонов. Родственные связи грибов, ассоциированных с микогетеротрофами, были выявлены путем молекулярного анализа, что позволило Ли Тейлору реконструировать филогенетическое древо наиболее часто встречающейся в симбиозах группы Гименомицетов (Basidiomycota) (рис. 13.30). Эти симбионты не только генетически разнородны, они также принадлежат к различным функциональным группам. Большинство грибов-объектов паразитизма являются микоризообразователями, значительное количество относится к древоразрушающим, а некоторые являются почвенными сапротрофами.

Некоторые микогетеротрофные растения вступают в симбиозы с АМ грибами, принадлежащими, как показано, к узкой группе генотипов, но для подтверждения этого необходимы дальнейшие исследования. В случае ассоциаций микогетеротрофов с ЭМ и АМ грибами, эти растения смещают равновесие в двустороннем мутуализме между автотрофом и грибом посредством паразитизма на гетеротрофном компоненте микоризы. Относительно небольшое количество экспериментов с внесением соединений, меченых ^{14}C, в автотрофный организм или сравнительный анализ подписей стабильных изотопов микогетеротрофов подтвердили ранние предположения, что этот сдвиг обеспечивает доступ к продуктам фотосинтеза автотрофов, включенных в симбиоз. Это вторжение в мутуализм, в норме двусторонний, рассматривается как форма мошенничества, так как до сих пор не было обнаружено очевидных выгод ни для грибного, ни для автотрофного партнеров симбиоза. Возможно, это и есть мошенничество, но так как затраты и грибного симбионта, и, очевидно, гораздо большие, автотрофного растения в этой тройственной ассоциации, по-видимому, невелики, его можно рассматривать как фактор, стабилизирующий эти сложные симбиотические взаимоотношения.

Транспорт питательных веществ у орхидных, паразитирующих на древоразрушающих грибах, изучен в еще меньшей степени, хотя, логично предположить, что большая биомасса некоторых представителей отражает значительный объем углерода, доступный для их грибных симбионтов, разлагающих древесные субстраты. Необходим экспериментальный анализ подобных симбиотических систем. Культивирование одного вида орхидных *in vitro* от семени до цветущего растения с использованием опилок в качестве единственного источника углерода является примером возможностей экспериментального анализа для изучения питания сходных растений.

Необычайно высокий уровень специфичности, демонстрируемый микогетеротрофными ассоциациями, типичен для отношений паразит-хозяин, и, как считается, происходит из того, что паразиту необходимо пройти весь цикл развития на одной особи хозяина. Очевидно, что микогетеротрофы занимают крайнюю позицию в континууме паразитизм-мутуализм в отношении микоризных симбиозов. Исследование растений, представляющих собой промежуточные эволюционные стадии между автотрофными и гетеротрофными способами питания, возможно, прольет свет на факторы, которые способствуют специфичности взаимоотношений

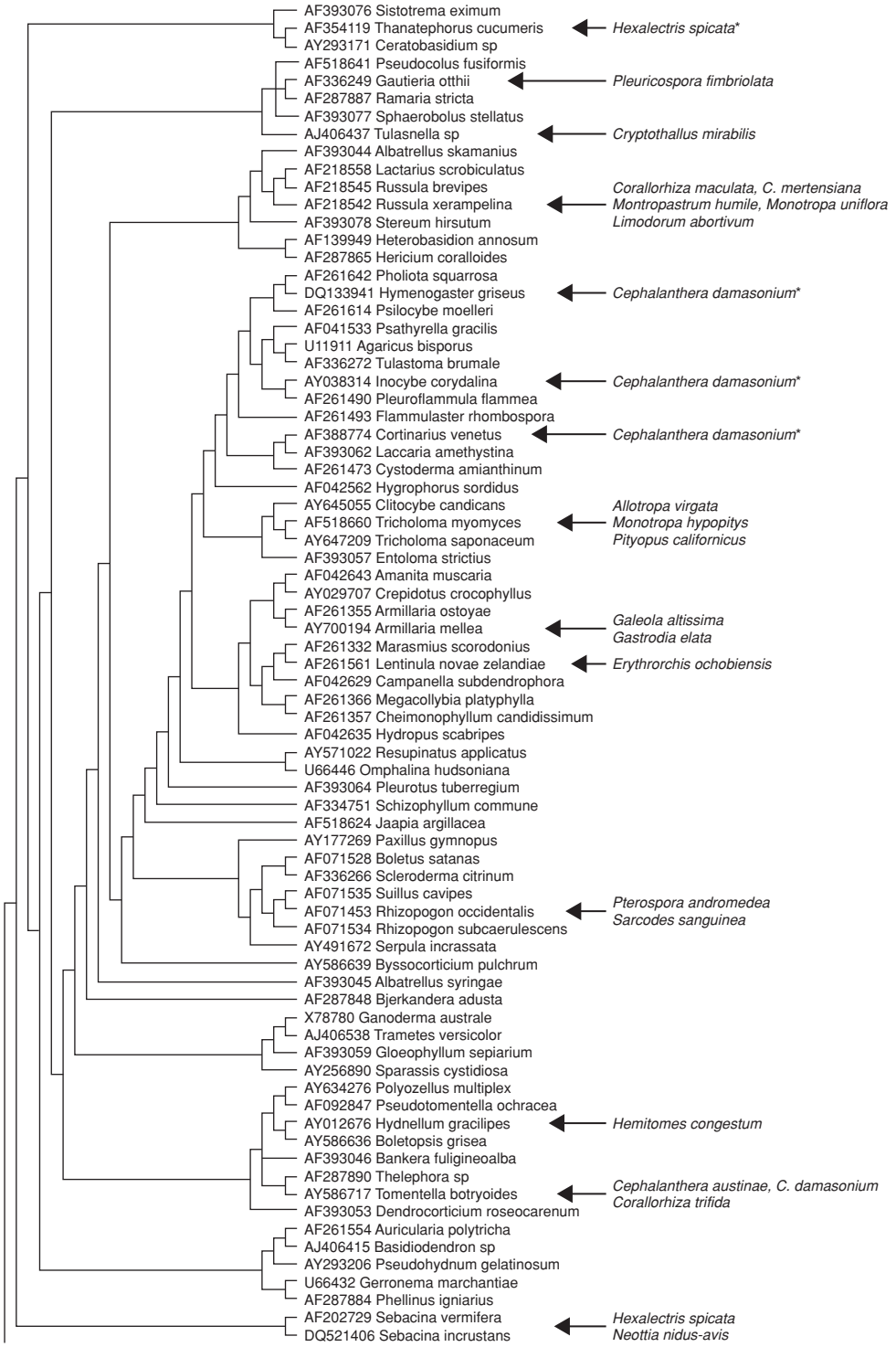

AF393076 Sistotrema eximum
AF354119 Thanatephorus cucumeris
AY293171 Ceratobasidium sp
Hexalectris spicata*
AF518641 Pseudocolus fusiformis
AF336249 Gautieria otthii
AF287887 Ramaria stricta
Pleuricospora fimbriolata
AF393077 Sphaerobolus stellatus
AJ406437 Tulasnella sp
Cryptothallus mirabilis
AF393044 Albatrellus skamanius
AF218558 Lactarius scrobiculatus
AF218545 Russula brevipes
AF218542 Russula xerampelina
AF393078 Stereum hirsutum
AF139949 Heterobasidion annosum
AF287865 Hericium coralloides
Corallorhiza maculata, C. mertensiana
Montropastrum humile, Monotropa uniflora
Limodorum abortivum
AF261642 Pholiota squarrosa
DQ133941 Hymenogaster griseus
AF261614 Psilocybe moelleri
AF041533 Psathyrella gracilis
U11911 Agaricus bisporus
AF336272 Tulastoma brumale
AY038314 Inocybe corydalina
AF261490 Pleuroflammula flammea
AF261493 Flammulaster rhombospora
AF388774 Cortinarius venetus
AF393062 Laccaria amethystina
AF261473 Cystoderma amianthinum
AF042562 Hygrophorus sordidus
Cephalanthera damasonium*
Cephalanthera damasonium*
Cephalanthera damasonium*
AY645055 Clitocybe candicans
AF518660 Tricholoma myomyces
AY647209 Tricholoma saponaceum
AF393057 Entoloma strictius
Allotropa virgata
Monotropa hypopitys
Pityopus californicus
AF042643 Amanita muscaria
AY029707 Crepidotus crocophyllus
AF261355 Armillaria ostoyae
AY700194 Armillaria mellea
AF261332 Marasmius scorodonius
AF261561 Lentinula novae zelandiae
AF042629 Campanella subdendrophora
AF261366 Megacollybia platyphylla
AF261357 Cheimonophyllum candidissimum
AF042635 Hydropus scabripes
Galeola altissima
Gastrodia elata
Erythrorchis ochobiensis
AY571022 Resupinatus applicatus
U66446 Omphalina hudsoniana
AF393064 Pleurotus tuberregium
AF334751 Schizophyllum commune
AF518624 Jaapia argillacea
AY177269 Paxillus gymnopus
AF071528 Boletus satanas
AF336266 Scleroderma citrinum
AF071535 Suillus cavipes
AF071453 Rhizopogon occidentalis
AF071534 Rhizopogon subcaerulescens
AY491672 Serpula incrassata
Pterospora andromedea
Sarcodes sanguinea
AY586639 Byssocorticium pulchrum
AF393045 Albatrellus syringae
AF287848 Bjerkandera adusta
X78780 Ganoderma australe
AJ406538 Trametes versicolor
AF393059 Gloeophyllum sepiarium
AY256890 Sparassis cystidiosa
AY634276 Polyozellus multiplex
AF092847 Pseudotomentella ochracea
AY012676 Hydnellum gracilipes
AY586636 Boletopsis grisea
AF393046 Bankera fuligineoalba
AF287890 Thelephora sp
AY586717 Tomentella botryoides
AF393053 Dendrocorticium roseocarenum
Hemitomes congestum
Cephalanthera austinae, C. damasonium
Corallorhiza trifida
AF261554 Auricularia polytricha
AJ406415 Basidiodendron sp
AY293206 Pseudohydnum gelatinosum
U66432 Gerronema marchantiae
AF287884 Phellinus igniarius
AF202729 Sebacina vermifera
DQ521406 Sebacina incrustans
Hexalectris spicata
Neottia nidus-avis

Рисунок 13.30. Филогенетические связи гименомицетов (отдел Basidiomycota), ассоциированных с микогетеротрофами, отраженные в виде дерева, построенного на основании последовательности ядерной рибосомальной большой субъединицы. Выравнивание MOR для Гомобазидиомицетов (Hibbett et al., 2005) было взято с сайта http://mor.clarku.edu/ и сокращено до основного набора таксонов. Этот набор данных охватывает основные клады в пределах Basidiomycetes (Hibbett et al., 2005). Несколько последовательностей были добавлены для того, чтобы представить линии, ассоциированные с микогетеротрофами, и множество таксонов было убрано в целях экономии места. Модели эволюции последовательностей были построены с помощью программы ModelTest 3.7 (Posada, Crandall, 1998), и наилучшей моделью согласно информационному критерию Акаике оказалась GTR+G+I. Полный эвристический поиск с использованием HKY модели и алгоритм генетического поиска были проведены в программе Metapiga 1.0 (Lemmon, Milinkovitch, 2002). Наиболее вероятная конфигурация дерева, полученная при этом поиске, была затем применена в качестве основы для дальнейшего неполного эвристического поиска в программе PAUP * 4.0b10 по GTR+G+I модели. Виды *Calocera cornea*, *Christiansenia pallida*, *Dacrymyces chrysospermus* и *Tremella foliacea* (порядки Dacrymycetales и Tremellales) были взяты как внешняя группа и затем удалены из дендрограммы в целях экономии места. Приведены роды грибов, известных как партнеры микогетеротрофов; обратите внимание на то, что в большинстве случаев вместо истинных симбионтов данного вида растения были использованы виды грибов, представленные в ГенБанке (GenBank). Для видов орхидных, обозначенных звездочкой, приведенные грибные таксоны не являются, как предполагают, основными симбионтами. Из Taylor et al., 2002, адаптировано.

микогетеротрофов с их грибными симбионтами. Среди микогетеротрофов, ассоциированных с ЭМ грибами, орхидные из группы дремликовых представляют собой перспективные модельные объекты, в то время как в отношении микогетеротрофных ассоциаций с АМ большие возможности для экспериментов предоставляют семейства Burmanniaceae и Gentianaceae, содержащие наряду с микогетеротрофными ряд предположительно автотрофных видов.

14
Грибные симбиозы несосудистых и споровых растений

Введение

Недавние многочисленные филогенетические исследования царства растений позволяют однозначно утверждать, что первыми растениями, распространившимися в наземных местообитаниях, были мохообразные (Shaw, Renzaglia, 2004). Наиболее древние достоверно известные окаменелые остатки наземных растений, которые, как предполагают, принадлежат древнему печеночному мху, датированы средним Ордовиком, около 475 млн. лет назад (Wellman et al., 2003) и, весьма вероятно, что гаметофиты мохообразных могут послужить ключом к разгадке многих тайн эволюции наземных растений. Как пионеры наземных местообитаний, многоклеточные автотрофы были вероятной мишенью для атаки гетеротрофов и оказались первыми сложно устроенными организмами, столкнувшимися с трудностями, связанными с необходимостью добывать питательные вещества из твердой и газообразной среды. По этой причине изучение взаимоотношений между существующими ныне мохообразными и их грибными симбионтами может пролить свет на процессы, вследствие которых так много потомков этих древних растений формирует устойчивые ассоциации с микобионтами, посредством которых они получают доступ к элементам питания. Разумеется, также возможно, что развивались грибные симбиозы и с другими автотрофами, как например, ныне существующая ассоциация между *Nostoc* и близким к гломусовым грибам *Geosiphon* (см. гл. 1). Родственные *Geosiphon* формы не дожили до настоящего времени, поэтому мохообразные остаются единственной группой, на примере которой возможно изучение ранних этапов эволюции симбиозов.

Из трех ныне существующих отделов мохообразных, Печеночных мхов (Marchantiophyta), Антоцеротовых мхов (Anthocerophyta) и Листостебельных мхов (Bryophyta), согласно имеющимся данным, стабильные эндофитные ассоциации с грибами встречаются только у представителей печеночных и антоцеротовых мхов (Duckett et al., 1991; Read et al., 2000; Nebel et al., 2004; Duckett et al., 2006a, b). О существовании симбиоза печеночников с грибами известно на протяжении более чем столетия. Уже в XIX веке были сделаны подробные описания грибных структур в талломах *Pellia* и *Priessia* и проведено наблюдение колонизации ризоидов *Marchantia* и *Lunularia* (Schacht et al., 1854). Широкая встречаемость симбиоза печеночных мхов и грибов была положена Н. Бернаром в основу теории о том, что сосудистые споровые растения произошли от микоризных печеночных мхов (Bernard, 1909b). Целый ряд исследований с помощью методов световой микроскопии (обзор см. в Stahl, 1949; Boullard, 1988) подтверждает то, что подобные симбио-

зы являются нормой в жизнедеятельности печеночных мхов и показывает наличие двух основных типов ассоциаций — с грибами, образующими несептированный и септированный мицелий. Значительно позже применение ультраструктурного и, в меньшей степени, молекулярного методов исследования (см. ниже) позволило отнести несептированные грибы к отд. Glomeromycota, а формы с септированными гифами разделить на аскомицетную и базидиомицетную группы.

Антоцеротовые мхи в настоящее время считают сестринской группой ранних сосудистых растений (Groth-Malonek et al., 2004). Некоторые из них, например, *Phaeoceros laevis*, могут быть колонизированы арбускулярно-микоризными (АМ) грибами (Boullard, 1988; Ligrone, 1988; Schüssler, 2000), но степень распространенности колонизации в пределах группы еще требует изучения.

Отличительной чертой листостебельных мхов, включая базальные линии *Sphagnum* и *Takakia*, является то, что симбиотические ассоциации, аналогичные таковым у печеночных мхов, у них в норме отсутствуют. Периодически появляются данные (Rabatin, 1980; Parke, Linderman, 1980; Mago et al., 1992) о наличии АМ-подобных грибных симбиозов у этой группы, но при тщательном анализе многих сообщений, выясняется, что грибные структуры содержатся в мертвых или отмирающих клетках, что указывает на вторичную колонизацию. Таким образом, в пределах этой группы, которая, согласно данным современных филогенетических исследований (Groth-Malonek et al., 2004), является скорее сестринской, чем базальной по отношению к сосудистым растениям, изначальным являлся безмикоризный статус.

Грибные симбиозы печеночных мхов

Широко распространенная и постоянная встречаемость эндофитных грибов в печеночных мхах вызывает интерес, так как с помощью молекулярных методов показано, что эти растения представляют собой базальную линию, давшую начало сосудистым растениям (Kenrick, Crane, 1997; Davis, 2004; Groth-Malonek et al., 2004; He-Nygren et al., 2006). Таким образом, вполне возможно, что некоторые ныне существующие ассоциации гриб - печеночный мох представляют собой предковые формы микоризного симбиоза, в настоящее время столь широко распространенного у сосудистых растений. Признание подобной возможности привело к новой волне интереса к ассоциациям печеночников с грибами и, особенно, к дискуссиям о функциях грибных симбионтов и правомочности трактовки их как микоризообразователей (Selosse, 2005; Kottke, Nebel, 2005; Duckett et al., 2006). К сожалению, несмотря на то, что недавние исследования позволили выявить высокое разнообразие подобных ассоциаций, сведения об их функциях до сих пор скудны. Имеются данные о том, что талломы некоторых печеночных мхов, инокулированные специфичными базидиомицетными эндофитами, растут более активно, чем неинокулированные (Duckett et al., 2006a, b), и есть свидетельства транспорта углерода к мху через грибной симбионт (Bidartondo et al., 2003; см. ниже и в гл. 13). Однако, досконального исследования физиологического аспекта взаимоотношений печеночный мох – гриб до сих пор проведено не было. По этой причине, а также ввиду того, что гриб колонизирует у мохообразных ризоиды, стебли и талломы, а не корни, как в случае сосудистых растений, применение к подобным ассоциациям термина «микориза» может вводить в заблуждение, несмотря на рекомендации некоторых исследователей (Brundrett, 2004). Скорее такого рода взаимоотношения можно трактовать как «микоризоподобные» (по Kottke, Nebel, 2005), но, до тех пор, пока не появится достаточного количества данных об их функциях, мы предпочитаем использовать более широкое определение «симбиотические ассоциации» (Read et al., 2000).

Недавно опубликованные данные по филогении печеночных мхов (Davis, 2004) в сочетании со сведениями о симбиотических связях этих растений и их приуроченности к наземным или эпифитным местообитаниям (Kottke, Nebel, 2005) позволили пролить свет на эволюционную историю данного симбиоза. Оказывается, симбиотический статус мог независимо приобретаться и утрачиваться неоднократно в ходе эволюции, и преобладание симбиотрофии среди наземных печеночников контрастирует с ее полным отсутствием у эпифитов (рис. 14.1). Возможность приписать функциональную роль корреляции между трофическим статусом и типом местообитания как таковым очень заманчива, но неспособность эпифитов формировать симбиозы может в равной степени быть обусловлена отсутствием грибного инокулюма в эпифитных местообитаниях. В этом контексте заслуживает упоминания тот факт, что микоризный статус превалирует у наземных, а не эпифитных орхидных (см. гл. 12).

На дендрограмме три сестринские группы, Сложные слоевищные (Marchantiales, Monocleales, Blasiales Sphaerocarpales Ricciales), группа Haplomitrales-Treubiales и Простые слоевищные (Fossombroniales, Pelliaceae) помещены в основании. Все представители этих примитивных групп ведут наземный образ жизни и либо ассоциированы с гломеромицетами (Read et al., 2000; Carafa et al., 2003; Nebel et al., 2004; Duckett et al., 2006b; Ligrone et al., 2007) либо, как в случае Blasiales, Sphaerocarpales и происходящих от них Ricciales, не образуют симбиозы с грибами. Так как три последних порядка, как предполагают, являются сестринскими группами для *Marchantia* и *Monoclea*, которые колонизируются представителями отдела Glomeromycota (Davis, 2004), вероятно, что те линии, симбиоз в которых отсутствует, произошли от общего симбиотрофного предка.

В новой системе печеночные мхи с простым слоевищем из порядков Fossombroniales и Metzgeriales разделены на две группы (рис. 14.1). Группа Простые слоевищные 1, включающая *Fossombronia, Pellia, Petalophyllum* и *Pallavicinia*, состоит из преимущественно наземных представителей, в природе часто ассоциированных с гломеромицетами. Напротив, вторая группа, которая считается производной, состоящая в основном из эпифитов и включающая некоторых представителей семейства Metzgeriaceae и род *Pleurozia*, видимо, утратила способность к образованию симбиоза. Тем не менее, в семействе Aneuraceae (группа Простые слоевищные 2), члены которой либо наземные (*Aneura*), либо подземные (*Cryptothallus*) (приложение 14.1B), нормой являются симбиозы с базидиомицетами из порядка Tulasnellales. Так как род *Metzgeria* в настоящее время рассматривают как предковую группу для *Aneura* (Davis, 2004), получается, что члены группы Простые слоевищные 2 вначале утратили симбиотрофный статус, а затем заново образовали ассоциации уже с базидиомицетами.

Как показано (рис. 14.1), листостебельные печеночные мхи составляют две сестринские клады, Листостебельные 1 и Листостебельные 2, и их расхождение произошло давно (Davis, 2004). Группа Листостебельные 1, почти полностью эпифитная, состоящая из порядков Porellales, Radullales и некоторых представителей порядка Lepiicoleales, является базальной относительно группы Листостебельные 2 и представлена несимбиотрофными растениями. Эти данные согласуются с гипотезой о том, что способность к симбиозу с грибами была утрачена общим предком групп Простые слоевищные 2 и листостебельных печеночников (Kottke, Nebel, 2005). Напротив, большинство изученных представителей производной группы Листостебельные 2 образует симбиозы с аскомицетами или базидиомицетами. Все эти симбиотические печеночные мхи, большинство из крупного порядка Jungermanniales, ведут наземный или полуназемный образ жизни, многие заселяют разлагающуюся древесину и гумус. В порядке Jungermanniales представители таких семейств как Cephaloziaceae, Cephaloziellaceae и Lepidoziaceae заселяются преимуществен-

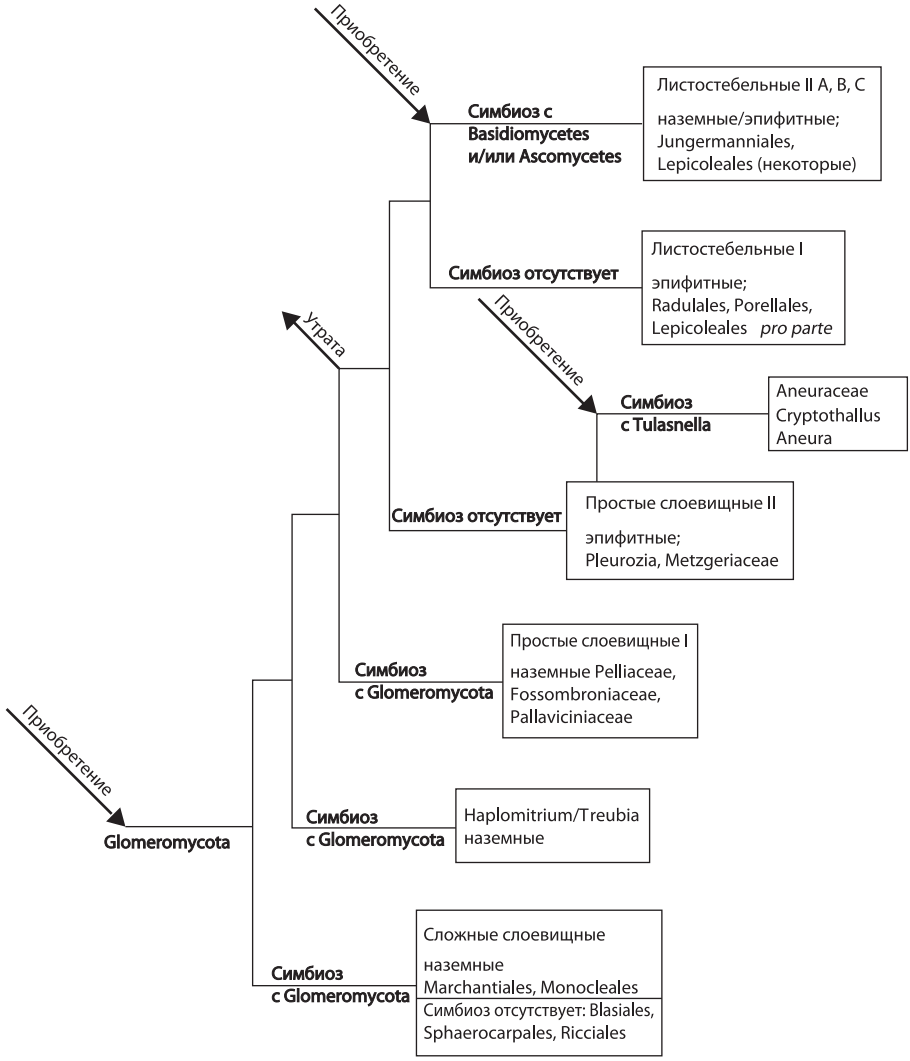


Рисунок 14.1. Встречаемость микоризоподобных ассоциаций в основных кладах печеночных мхов. Филогенетическое дерево печеночных мхов построено на основании дерева максимального сходства, полученного по исходной матрице данных по 12 генам из работы Davis, 2004. С модификациями из Kottke, Nebel, 2005.

но аскомицетами, среди которых преобладают члены комплекса *Hymenoscyphus* (Duckett et al., 1991; Duckett, Read, 1995; Read et al., 2000; Nebel et al., 2004). Имеются также семейства, представители которых обычно ассоциированы с базидиомицетами - Lophoziaceae и Arnelliaceae. Члены других семейств (Jungermanniaceae, Scapaniaceae, Geocalycaceae и Calypogeiaceae) могут быть колонизированы и аскомицетами и базидиомицетами, представители двух различных групп грибов иногда совместно встречаются в одном и том же талломе (Nebel et al., 2004; Duckett et al., 2006a). Среди базидиомицетных симбионтов часто встречаются представители

Подгруппы В рода *Sebacina* (см. рис. 6.5) (Kottke et al., 2003). Грибы из этой подгруппы в настоящее время известны как симбионты эрикоидной микоризы (ЭрМ) и симбиозов орхидных (см. гл. 11, 12 и 13). В серии тщательно выполненных экспериментов по перекрестной инокуляции (Duckett et al., 2006a) было продемонстрировано, что в противоположность симбиозам печеночных мхов с аскомицетами с широким кругом хозяев, для ассоциаций базидиомицетов и представителей семейств Lophoziaceae и Arnelliaceae характерна специфичность.

Таким образом, сложность микоризоподобных симбиозов у печеночных мхов есть результат образования, утраты и повторного образования ассоциаций в ходе эволюции.

Структурные особенности грибных симбиозов печеночных мхов

Исследования ультраструктуры *Conocephalum conicum* (Ligrone, Lopes, 1989) и объединенный ультраструктурный и молекулярный анализ *Marchantia foliacea* (Russell, Bulman, 2004) подтвердили, что оба наземных представителя базальной группы Сложные слоевищные печеночные мхи (рис. 14.1) образуют симбиозы с АМ грибами. Внедрение микобионта происходит преимущественно через ризоиды на вентральной стороне таллома. В этой области можно обнаружить отчетливые зоны колонизации (рис. 14.2А). В пределах такой зоны внутриклеточные гифы образуют арбускулы, состоящие из массы очень тонких разветвленных гиф, клубки и везикулы, гифы в межклетниках отсутствуют (рис. 14.2Б). Такой тип АМ колонизации более сходен с *Paris*- , чем с *Arum*-типом (см. гл. 2).

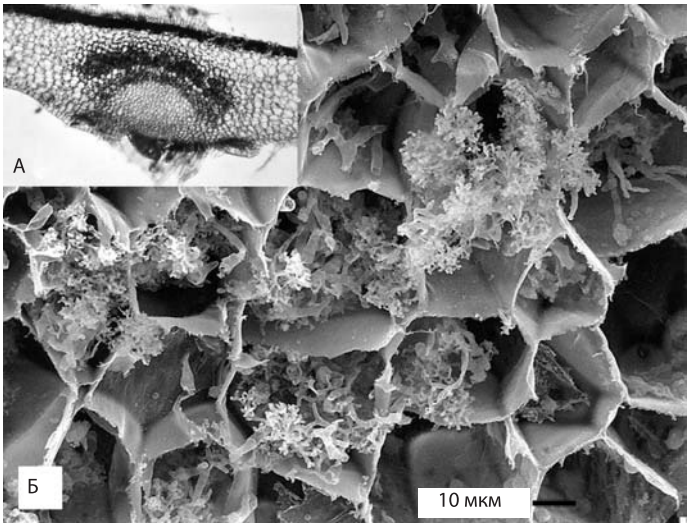


Рисунок 14.2. Распространение микоризной колонизации в талломе *Marchantia foliacea*. А — поперечный срез таллома, окрашенного фуксином, видна четкая зона (темное окрашивание), окружающая область центральной жилки. Б — ткань таллома с клетками, содержащими арбускулы в зоне основной колонизации. Сканирующая электронная микроскопия. Масштаб 10 мкм. Из Russell, Bulman, 2004.

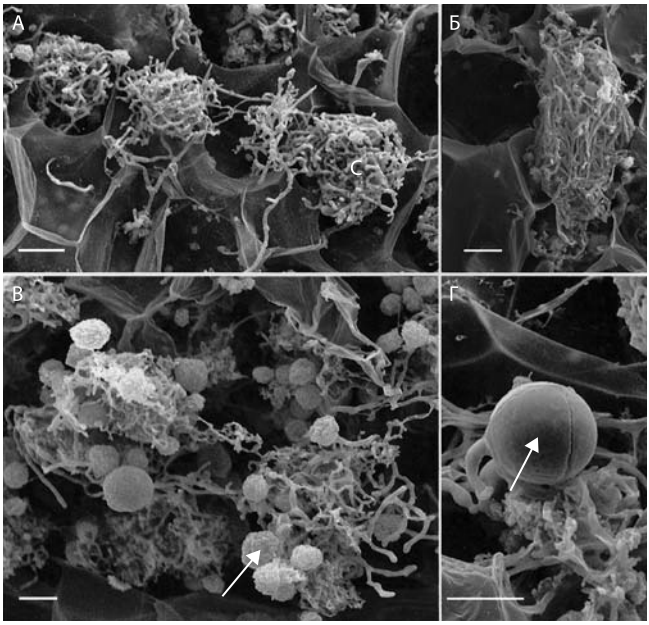


Рисунок 14.3. Внутриклеточная грибная колонизация *Treubia lacunosoides*. А — ранний этап колонизации, видны внутриклеточные клубки на разных стадиях развития; Б — полностью сформированный гифальный клубок; В — более поздний этап внутриклеточной грибной колонизации, видны многочисленные вздутия гиф; Г — формирующееся вздутие на конце короткой ветви гифы. Сканирующая электронная микроскопия. Масштаб 10 мкм. Из Duckett et al., 2006b.

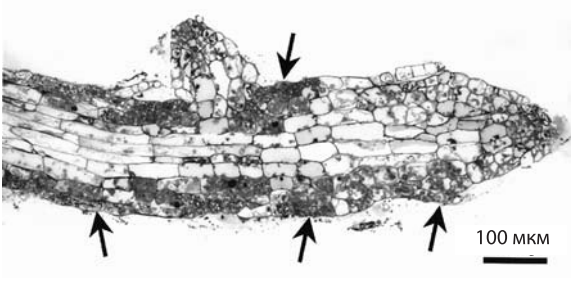
Амплификация рибосомальных последовательностей грибного эндофита *Marchantia foliacea* с использованием метода ПЦР подтвердила, что в талломе находятся множественные генотипы, принадлежащие к роду *Glomus* (Russell, Bulman, 2004). Все они принадлежат к Группе А в пределах рода (*sensu* Schüssler et al., 2001), которая, как предполагают, имеет относительно позднее происхождение. Два из этих генотипов также регулярно обнаруживались в корнях деревьев из семейства Podocarpaceae, растущих рядом с печеночниками, что позволяет предполагать, что две группы растений совместно ассоциированы с грибными симбионтами в одних и тех же местообитаниях.

Два оставшихся базальных порядка печеночных мхов, Treubiales и Haplomitriales, объединяющие наземных представителей, были недавно изучены в плане ультраструктурных особенностей (Carafa et al., 2003; Duckett et al., 2006b). В обоих порядках широко распространена колонизация АМ-подобными грибами, но структурные особенности симбиозов существенно различаются.

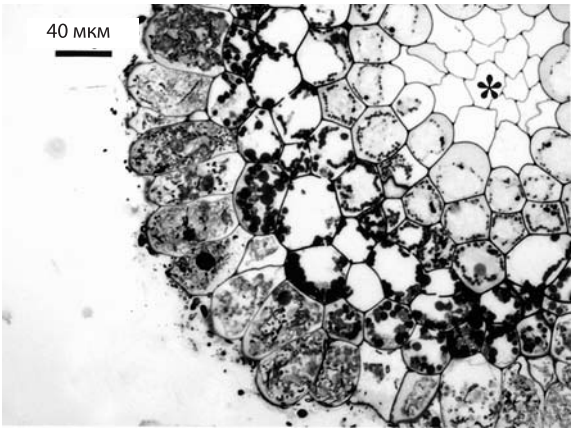
В лопастных зеленых талломах *Treubia* (см. приложение 14.1А) имеется срединное ребро, в котором дифференцированные ткани подвергаются сопряженной внутриклеточной и межклеточной колонизации гломеромицетного типа. Проникновение гриба осуществляется скорее через заполненные слизью щели на нижней поверхности таллома, чем через ризоиды. Грибы образуют внутриклеточные гифальные клубки *Paris*-типа (рис. 14.3А, Б), и на концах некоторых гиф образуются отчетливые терминальные вздутия (рис. 14.3В, Г). Над зоной внутриклеточной коло-

низации располагается другая, псевдопаренхиматозной структуры, в которой происходит преимущественно внеклеточное развитие симбионта. Подобные структуры сходны с образуемыми гломеромицетами в подземных гаметофитах примитивного сосудистого растения *Lycopodium clavatum* (Schmid, Oberwinkler, 1993). Еще одной чертой сходства с плаунами в типе грибной колонизации является частое присутствие внутриклеточных бактерий в грибных гифах. Однако нечто подобное встречается во всех гломеромицетных симбиозах как у печеночных мхов, так и у других растений (см. гл. 1). Несмотря на то, что все структурные особенности симбиоза *Treubia* предполагают участие АМ грибов, необходимо подтверждение их идентификации молекулярными методами.

Талломы *Haplomitrium* морфологически отличны от таковых у *Treubia* и отдаленно напоминают листостебельные печеночники (см. приложение 14.1Б). Растения имеют симподиально растущую систему ползучих, преимущественно подземных осей, называемых некоторыми исследователями «корневищами» (Grubb, 1970), от

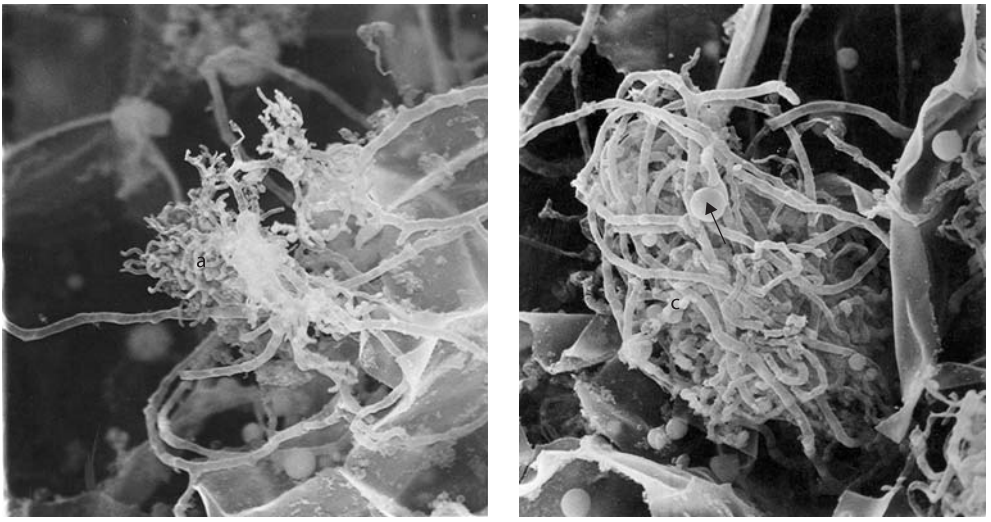


А



Б

Рисунок 14.4. А — продольный срез апикальной части колонизированной оси *Haplomitrium ovalifolium*. Стрелками отмечены колонизированные участки. На небольшом расстоянии от апекса появляется боковая ветвь. Б — поперечный срез колонизированной оси *Haplomitrium gibbsiae*. Эпидермальные клетки обширно колонизированы, в то время как прилегающие к ним клетки коры свободны от грибных структур и в изобилии содержат крахмальные зерна. Звездочкой обозначен центральный тяж. Из Carafa et al., 2003.



А Б

Рисунок 14.5. АМ колонизация талломов печеночного мха из группы Простые слоевищные 1 *Petalophyllum rolfsii*. А — внутриклеточная арбускула; Б — гифальный клубок с терминальными везикулами (стрелка). Любезно предоставлено Дж. Дакеттом.

которой отходят прямостоячие побеги с листьями (см. приложение 14.1Г). От подземных частей отходят покрытые слизью растущие вниз ветви, которые активно колонизируются несептированными грибами (Carafa et al., 2003) (рис. 14.4). Колонизация ограничена эпидермальными клетками или прилегающими к ним клетками коры. Грибные структуры представлены, как у *Treubia*, гифальными клубками, являющимися слабо разветвленными арбусукулоподобными структурами, типичными для *Paris*-типа АМ (см. гл. 2) (Smith, Smith, 1997). Также, как и у *Treubia*, в колонизированных клетках образуются отчетливые короткоживущие терминальные вздутия гиф. Молекулярным анализом подтверждено, что симбионт *Haplomitrium chilensis* — представитель группы А рода *Glomus* (Glomeromycota), близкий к микобионтам маршанциевых и метцгериевых печеночных мхов (Ligrone et al., 2007).

Печеночные мхи из производной группы Простые слоевищные 1 (см. рис. 14.1) также в норме колонизируются грибами АМ типа. Это широко распространенное явление в семействе Pelliaceae, Fossombroniaceae, Allisoniaceae и Pallavicinaceae. Цитологически данные симбиозы сходны с теми, которые показаны для группы Сложные слоевищные. Исследования *Pellia* были начаты М. Магру, и было выявлено образование арбускул и везикул в зрелых тканях таллома (Magrou, 1925). В ходе экспериментов по совместному выращиванию стерильных талломов *Pellia* с колонизированными *Glomus* сеянцами *Plantago lancelolata* была подтверждена способность гриба проникать из растения-хозяина в печеночник (Read et al., 2000). Талломы *Fossombronia* и *Petalophyllum* также колонизируются грибами АМ типа, образующими как арбускулы (рис. 14.5А), так и гифальные клубки (рис. 14.5Б).

В то время как преимущественно эпифитные представители группы Простые слоевищные 2 обычно не вступают в симбиозы с грибами, для производного наземного семейства Aneuraceae как ультраструктурными (Ligrone et al., 1993; Read et al., 2000; Nebel et al., 2004), так и молекулярными (Bidartondo et al., 2003; Kottke

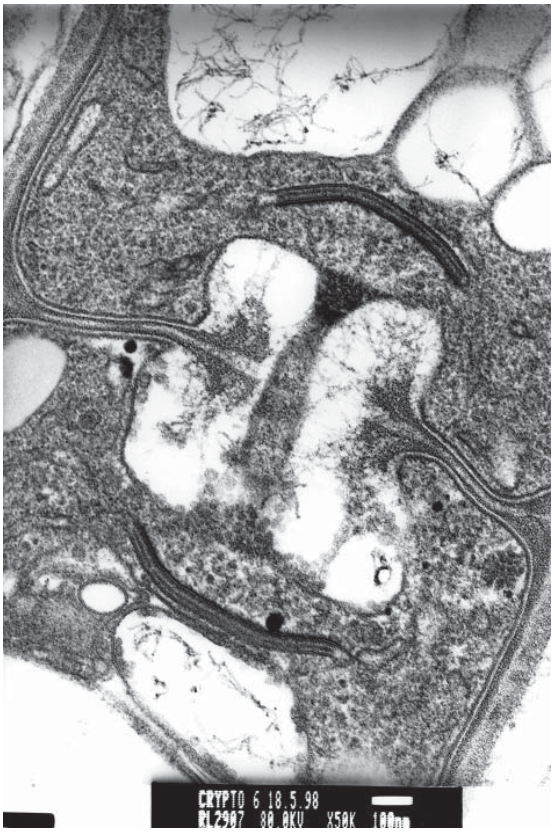


Рисунок 14.6. Колонизированная клетка микогетеротрофного печеночного мха *Cryptothallus mirabilis*, видна долипоровая септа с неперфорированной парентосомой, характерной для гетеробазидиомицетов. Электронная микроскопия. Из Pocock, Duckett 1984.

et al., 2003) исследованиями показана способность к формированию симбиозов с базидиомицетами. Наличие долипоровой септы с неперфорированными парентосомами у грибных эндофитов *Riccardia* (Nebel et al., 2004), *Aneura* (Ligrone et al., 1993) и *Cryptothallus* (рис. 14.6) (Pocock, Duckett, 1984) свидетельствует о том, что они, скорее всего, принадлежат к гетеробазидиомицетам. В случае *Aneura* и *Cryptothallus* это было подтверждено молекулярным анализом, путем которого в обоих случаях была установлена принадлежность грибов к роду *Tulasnella* (Bidartondo et al., 2003; Kottke et al., 2003). Цитология грибной колонизации всех трех родов печеночных мхов сходна. Колонизация наблюдается в отчетливых зонах в центре таллома, где во множестве находятся клубки массивных гиф. Как и у орхидных, здесь имеются повторные циклы внутриклеточной колонизации, следующей за разрушением гиф.

Изучение процессов грибной колонизации в ассоциациях, обнаруженных у многих наземных печеночных мхов из группы Листостебельные 2, упрощается тем, что возможно поддержание микобионтов в культуре и ресинтез симбиоза. В этой группе выявлены два типа ассоциаций, и каждый из них приурочен к отдельным порядкам (Schuster, 1966; Duckett et al., 1991, 2006; Williams et al., 1994; Pockock, Duck-

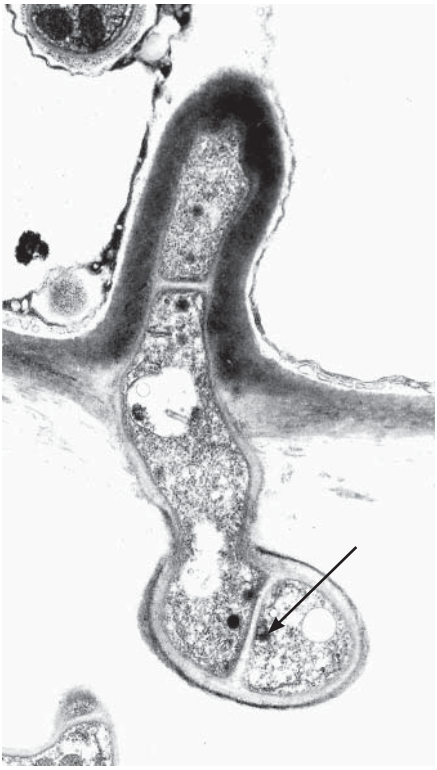


Рисунок 14.7. Проникновение аскомицетного гриба *Hymenoscyphus* (= *Rhizoscyphus*) *ericae* в кончик ризоида *Cephalozia connivens*. Обратите внимание на тельца Воронина (стрелка). Электронная микроскопия. Любезно предоставлено Дж. Дакеттом и Р. Лигроном.

ett, 1995). Один, отмеченный для многих представителей порядка Jungermanniales, включает аскомицеты, легко узнаваемые при цитологических исследованиях по наличию простой септы и телец Воронина (рис. 14.7). Другой, включающий базидиомицеты, выявляемые по образованию долипоровой септы (см. рис. 14.6), обнаруживается преимущественно у семейств Arnelliaceae, Scapaniaceae и Lophoziaceae. В ходе экспериментов по инокуляции было показано, что специфичность аскомицетных ассоциаций была низка, а базидиомицеты оказались в большей степени избирательны в отношении хозяина (Duckett et al., 2006a). Колонизация и аскомицетами и базидиомицетами происходила через ризоиды, но в первом случае гриб в своем распространении оставался ограничен ризоидами, вызывая характерное вздутие их кончиков (рис. 14.8А, Б) (Duckett et al., 1991; Pocock, Duckett, 1995), а при образовании базидиомицетных ассоциаций рост гриба продолжается в ткани побегов печеночного мха (Duckett et al., 2006a). В случае заселения аскомицета проникновение гриба в побег, видимо, предотвращается разрастанием клеточных стенок хозяина, которые образуют структуры в форме шпилек (см. рис. 14.8В).

Предварительная идентификация аскомицетных грибов возможна на основании анализа их культуральных характеристик после выделения из ризоидов. Показано, что эти грибы имеют темноокрашенный септированный мицелий и внешне напоминают ЭрМ комплекс *Hymenoscyphus ericae* (см. гл. 11) (Williams et al., 1994). Ког-

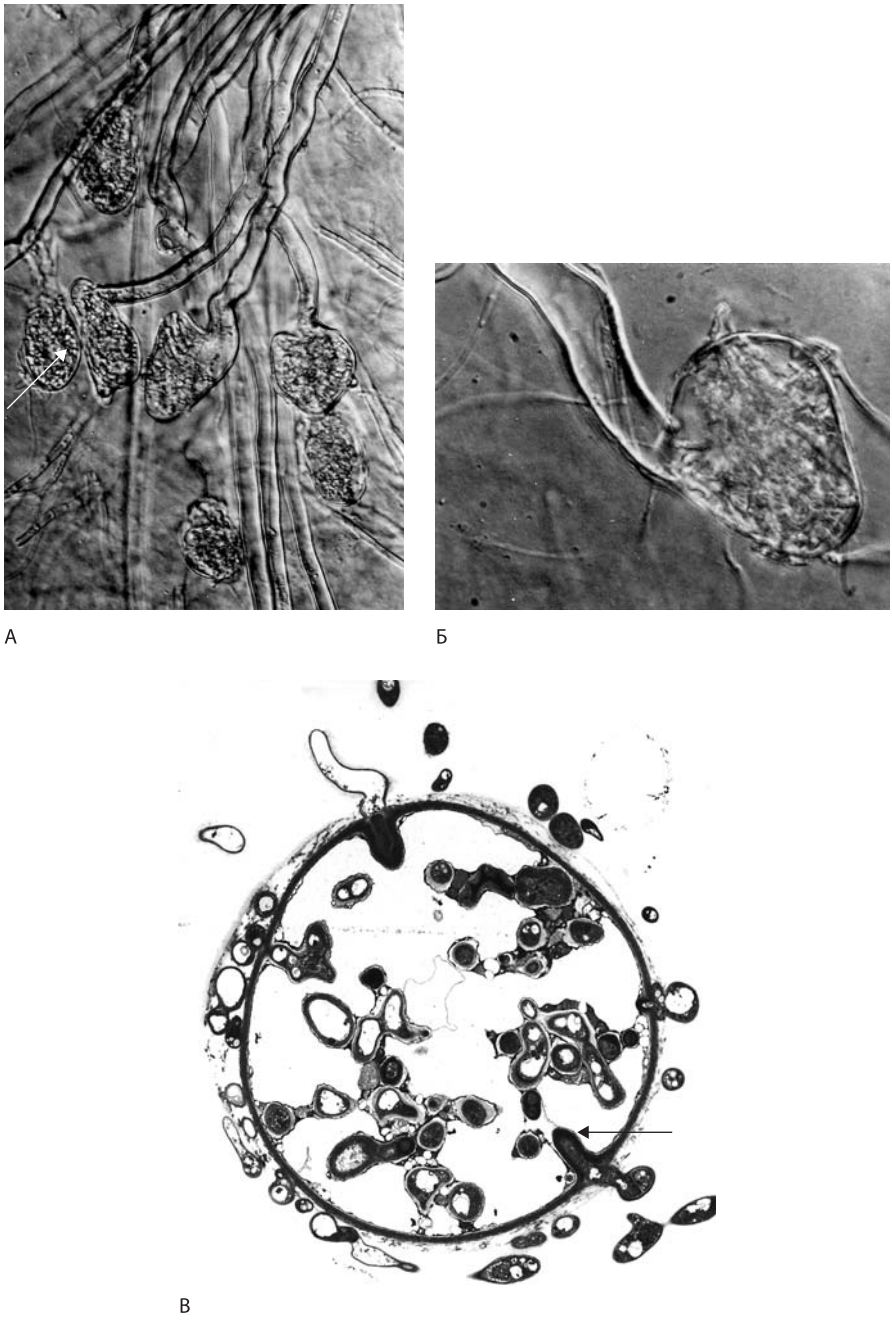


Рисунок 14.8. Ризоиды *Cephalozia connivens* с вздутыми кончиками, что указывает на колонизацию грибными симбионтами. А — в природе, естественная колонизация видом *Rhizoscyphus ericae*; Б — в чистой культуре при инокуляции *R. ericae*; В — вздутый апекс ризоида с отложением материала клеточной стенки вокруг внедряющихся кончиков гиф (стрелка). Электронная микроскопия. Из Duckett, Read, 1995.

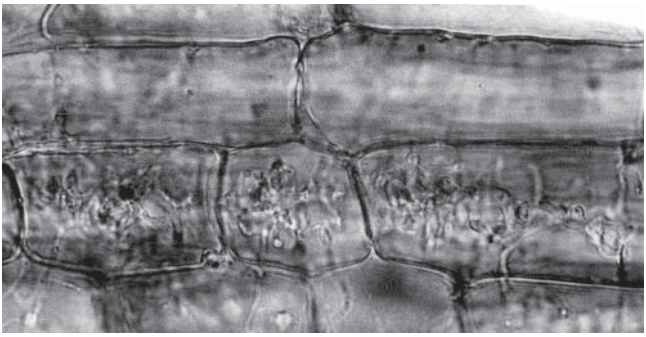


Рисунок 14.9 Типичные для вересковых гифальные комплексы в ризодермальных клетках *Vaccinium oxycoccus*, образованные грибным эндофитом, выделенным из вздутых кончиков ризоидов листостебельного печеночного мха *Kurzia*. Из Duckett, Read, 1995.

да представители ряда семейств из порядка Jungermanniales были инокулированы штаммами *R. ericae*, выделенными из микориз вересковых, они оказались способны колонизировать печеночники, давая типичную картину колонизации (см. рис. 14.8Б) (Duckett, Read, 1995; Read et al., 2000). Аналогично, грибы, выделенные из ризоидов печеночных мхов, образовывали типичные для ЭрМ гифальные комплексы в ризодермальных клетках вересковых растений *Calluna vulgaris* и *Vaccinium oxycoccus* (рис. 14.9). На некоторую степень специфичности ассоциации указывает то, что другой ЭрМ гриб, *Oidiodendron maius*, так же как и ряд эктомикоризных (ЭМ) грибов и микобионтов орхидной микоризы оказались неспособны колонизировать печеночники. К настоящему времени только для одного вида печеночных мхов из этой группы, *Cephalozia exiliflora*, грибной симбионт был идентифицирован посредством анализа ДНК, и было подтверждено, что он принадлежит к комплексу *H. ericae* (Chambers et al., 1999; см. гл. 11).

В ассоциациях, образуемых базидиомицетами, за колонизацией ризоидов, не приводящей к появлению вздутий на их кончиках, следует проникновение в побег печеночника (Duckett et al., 2006a). Существует два возможных варианта колонизации. У представителей семейства Arnelliaceae, в стеблях имеется центральная зона колонизированных клеток (рис. 14.10А, Б), в то время как у Lophoziaceae и Scapaniaceae, обнаружено мозаичное расположение колонизированных и неколонизированных клеток. В противоположность гломеромицетной и базидиомицетной колонизации у семейства Aneuraceae, в данном случае нет свидетельств переваривания гиф растительными клетками (рис. 14.10В). Наоборот, возможна противоположная ситуация: при колонизации мозаичного типа в стеблях погибают колонизированные клетки растения (Duckett et al., 2006a). Таким образом, последовательность событий более сходна с таковой в эрикоидной, чем в арбускулярной микоризе (см. гл. 2 и 11). При таком типе колонизации кончики гиф при внедрении в клеточные стенки печеночника часто оказываются инкапсулированными в шпильковидных структурах (рис. 14.11).

К настоящему времени о видовой принадлежности базидиомицетных симбионтов известно немного, но наличие плоских, а не изогнутых неперфорированных парентосом (см. рис. 14.6) и результаты анализа ДНК указывают на то, что в некоторых случаях грибы принадлежат к порядку Sebacinales, в том числе, к группе *Sebacina vermifera* из подгруппы В (см. рис. 6.5) (Kottke et al., 2003; Nebel et al., 2004). Ввиду того, что перекрестная инокуляция с использованием изолятов бази-

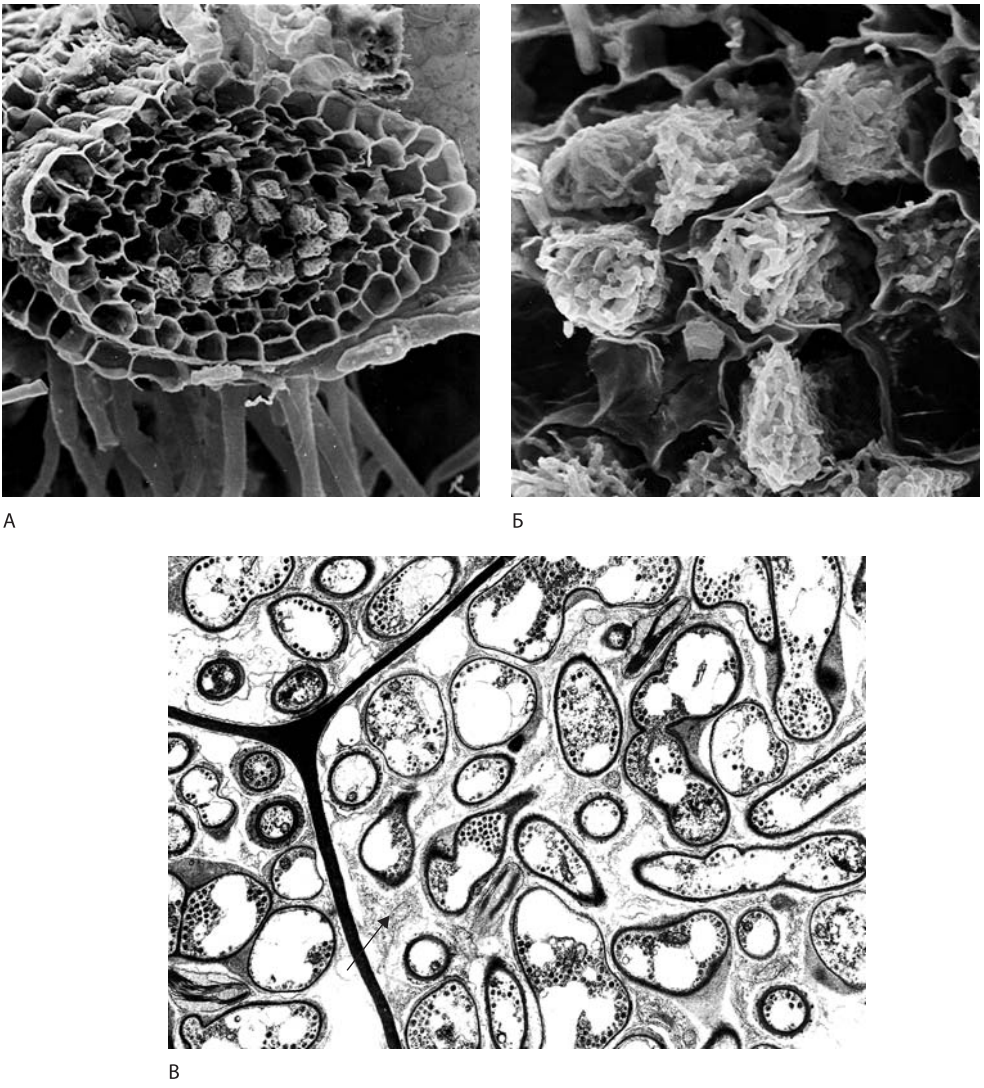
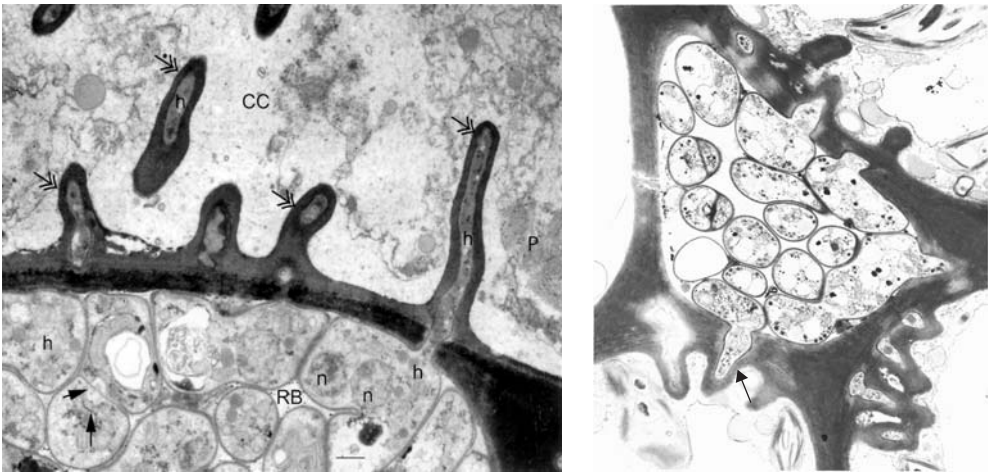


Рисунок 14.10. Колонизация базидиальными грибами тканей побегов листостебельных печеночных мхов из группы 2. А — колонизированные клетки в сердцевине *Southbya* (Arnelliacecae); Б — гифальные клубки в колонизированных клетках *Southbya*, сканирующая электронная микроскопия; В — колонизированная область таллома *Southbya* со структурно целостными гифами, трансмиссионная электронная микроскопия. Из Duckett et al., 2006a.

диомицетов, выделенных из указанных семейств печеночных мхов, показала существенную специфичность к хозяину (Duckett et al., 2006a), вероятно, что в образовании симбиозов принимает участие большое количество генотипов грибов. В данном случае, как и при изучении гломеромицетных и аскомицетных симбиозов представляется необходимым активное применение молекулярного анализа для идентификации таксонов, ассоциированных с разными группами печеночных мхов.



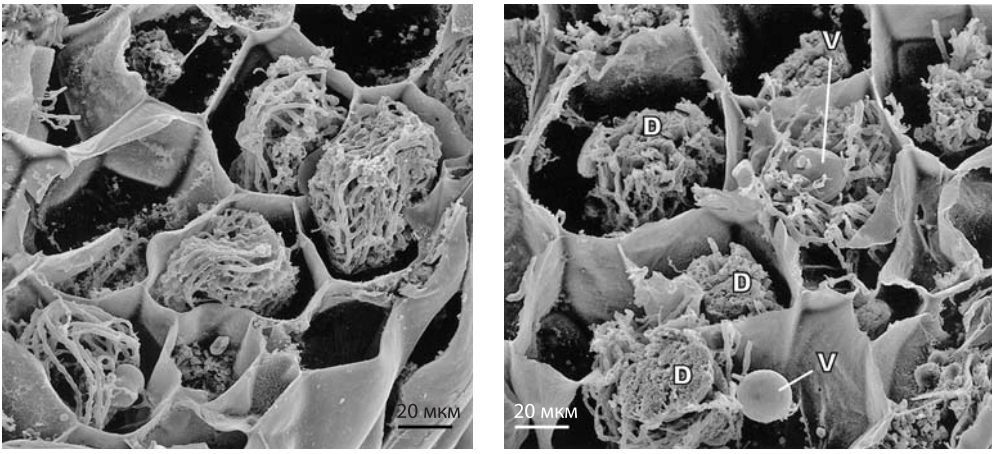
А Б

Рисунок 14.11. Инкапсулирование гиф, проникающих в клетки коры листостебельных печеночных мхов. А — густая гифальная колонизация основания ризоида *Calypogeia muelleriana* и внедрение гиф в прилегающие коровые клетки, в которых при инкапсулировании образуются шпильковидные структуры (отмечены стрелками). h — гифы; CC — клетка коры; RB — основание ризоида. Из Kottke et al., 2003. Б — шпильковидные структуры в тканях, окружающих густо колонизированную клетку *Scapania* spp. Из Duckett et al., 2006a.

Сравнение особенностей симбиозов печеночных мхов и гаметофитов споровых растений

Наряду с базальной группой Сложных слоевищных печеночных мхов и представителями семейств Treubiaceae и Haplomitraceae, гаметофиты примитивных сосудистых растений, возможно, за исключением хвощей (Equisetopsida) (Read et al., 2000), колонизируются АМ грибами. В отличие от печеночников, для этой группы растений не показаны ассоциации с аскомицетами или базидиомицетами. Структурные особенности АМ колонизации сходны с теми, которые наблюдаются у сложных и простых слоевищных печеночных мхов. Почти во всех работах отмечено наличие *Paris*-типа АМ; арбускулы не выявлены. У плаунообразных (Lycopsida) колонизация грибами наблюдается как у подземных бесхлорофилльных гаметофитов — *Lycopodium clavatum* (Schmid, Oberwinkler, 1993), *Huperzia hypogea* (Winther, Friedman, 2007b), так и у зеленых — *Lycopodium cernuum* (Duckett, Ligrone, 1992) и другие. Филогенетический анализ показал, что симбионты, встречающиеся в гаметофитах *L. clavatum* и *H. hypogea*, представлены четырьмя филотипами *Glomus* из единственной клады *Glomus* Группа А (Winther, Friedman, 2007b). Ультраструктурным анализом подземных бесхлорофилльных гаметофитов двух представителей порядка Psilotales, *Psilotum nudum* и *Tmesipteris tannensis* продемонстрировано, что эти растения также колонизированы АМ грибами (см. гл. 1).

Проникновение гриба осуществляется по тому же типу, что и у порядка Marchantiales и в аскомицетных ассоциациях печеночников, но через волоски корневища, а не через ризоиды. Р. Петерсон с соавт. наблюдали плотные клубки несепти-



А Б

Рисунок 14.12. Гаметофиты *Tmesipteris*. Сканирующая электронная микроскопия. А — клетки коры с плотными гифальными клубками; Б — клетки коры с разрушающимися клубками (D) и гифами, образующими везикулы (V). Из Duckett, Ligrone, 2005.

рованных гиф в клетках коры таллома *P. nudum* (Peterson et al., 1981). При детальном сравнительном анализе анатомии гаметофитов *Psilotum nudum* и *Tmesipteris tannensis*, было показано, что, в отличие от мохообразных, они содержат сосудистые элементы (Duckett, Ligrone, 2005). Большая часть клеток коры у обоих видов была колонизирована АМ-подобными грибами с толстыми гифами, образующими мелкие, похожие на везикулы структуры и плотные клубки (рис. 14.12А, Б), характерные для *Paris*-типа ассоциаций. Грибные структуры, наблюдаемые в спорофитах этих видов, были сходны с выявленными в гаметофитах, что указывает на возможность соединения гаплоидного бесхлорофиллного растения с фотосинтезирующим спорофитом и получения питания (см. гл. 1). По структуре ассоциации подземных гаметофитов *Botrychium* (Ophioglossales) сходны с таковыми у *Psilotum* (Schmid, Oberwinkler, 1994; Winther, Friedman, 2007a; см. также гл. 13).

Заключение

Из вышеизложенного следует, что целый ряд структурных особенностей грибных ассоциаций свидетельствует в пользу того, что примитивные сосудистые растения, так же как и базальные группы печеночных мхов в норме колонизируются грибами из отдела Glomeromycota. Все больше данных филогенетического анализа демонстрирует, что во многих случаях симбионты принадлежат к небольшой кладе *Glomus* Группа А. Информация о физиологии симбиозов, их функционировании и, следовательно, их потенциальном значении в природных условиях, полностью отсутствует. Можно предполагать наличие взаимной выгоды в подобных ассоциациях, т.к. печеночные мхи испробовали ряд различных стратегий, включая симбиозы с грибами, участвующими в формировании таких типов микориз как АМ, ЭМ, ЭрМ с другими растениями, от автотрофов до полностью гетеротрофных.

Раздел 4

Функционирование микоризных симбиозов в сообществах

15
Роль микоризных симбиозов в сукцессионных процессах и в отдельных биомах

Введение

Исследования видового состава и структуры сообществ наземных растений и зависимых от них гетеротрофов в течение последнего столетия позволили вычленить отдельные биомы в планетарном масштабе (Odum, 1971). Также выяснилось, что в этих биомах происходят некоторые сукцессионные изменения, сопровождающие переход от неустановившегося и нарушенного к зрелому и стабильному сообществу. Примерно в тот же период времени, начиная с пионерных работ (Janse, 1897; Gallaud, 1905), активные исследования подземной части ценозов подтвердили наличие микоризных симбиозов в течение большинства, но не всех, сукцессионных стадий и у большей части растений, составляющих сформировавшиеся биомы. Также были обнаружены различия между семействами растений, как по степени колонизации микоризными грибами, так и по типам образуемых микориз (Trappe, 1987; Newman, Redell, 1987; Fitter, Moyersoen, 1996; Wang, Qui, 2006).

Хотя описать одновременно видовой состав надземной части биома и природу подземных микоризных сообществ относительно несложно, более важным оказалось определить связи между встречаемостью микориз и возможным вкладом симбиозов в динамику биомов, в которых они обнаружены. Невзирая на определенные трудности, был достигнут некоторый успех в этом направлении. Оказывается, что функции микориз более многогранны, чем учитывают простые схемы, описывающие улучшение минерального питания отдельных особей растений или поступление органического С к грибным симбионтам. Можно предполагать, что помимо совместного влияния факторов почвы и климата на состав автотрофного сообщества каждого биома, также происходил отбор микоризных симбионтов и микориз, подходящих для данного комплекса условий окружающей среды. Далее следует обсуждение, насколько это предположение подтверждается фактами.

После анализа роли микориз в сукцессионной динамике приведено описание различных биомов: арктоальпийского, верескового, бореального и умеренного лесного сообщества и тропического леса. Каждый из них, в свою очередь, рассматривается как стабильное климаксное сообщество, распространенное по широтному градиенту от полюсов до экваториальной зоны[1]. Степень и тип микоризной колонизации в каждом случае обсуждается в контексте их функций, которые могут быть важны при условиях, преобладающих в определенном сообществе. На данном эта-

[1] Мы признаем значимость лугов как одного из основных наземных биомов. Здесь не приводится их подробное описание, но аспекты взаимодействий растений в таких сообществах обсуждены в гл. 16 (прим. авт.).

пе вопросов существует больше, чем ответов. Можно надеяться, что постановка проблемы, по крайней мере, поможет будущим поколениям исследователей, которые продолжат проверку гипотез, подобных приведенным выше.

Значение микоризной колонизации в первичной сукцессии

Постепенное развитие растительных сообществ после значительных нарушений окружающей среды, таких как оледенение (Crocker, Major, 1955) и вулканическая активность (Simkins, Fiske, 1983) подробно описано. Также известно, что малое количество питательных веществ в плохо поддающихся выветриванию породах, появляющихся в результате подобных событий, может определять ранние стадии начинаемой ими первичной сукцессии (Gorham et al., 1979). При таких обстоятельствах весьма вероятно, что микоризные грибы будут способствовать сукцессии, но до сих пор существует очень немного прямых доказательств подобной их роли в природе. Работы Кацухидэ Нара и его группы, проведенные по градиенту высотности горы Фудзи в Японии, описывают роль грибов в вулканических местообитаниях. Так, на высоте 1500–1600 м на склонах, покрытых слоем вулканической тефры до 10 м толщиной, возникшем в результате извержения в 1707 г., развивается скудная неравномерная растительность, среди которой как пионерный эктомикоризный вид встречается кустарник *Salix reinii*.

К. Нара с соавт. начали с описания сукцессии плодовых тел грибов, ассоциированных с естественным образом колонизированными растениями *Salix reinii* (Nara et al., 2003a). Два вида рода *Laccaria* и один вид *Inocybe* были первыми «поселенцами», за которыми по мере роста растений-хозяев следовали другие виды (рис. 15.1). Этот

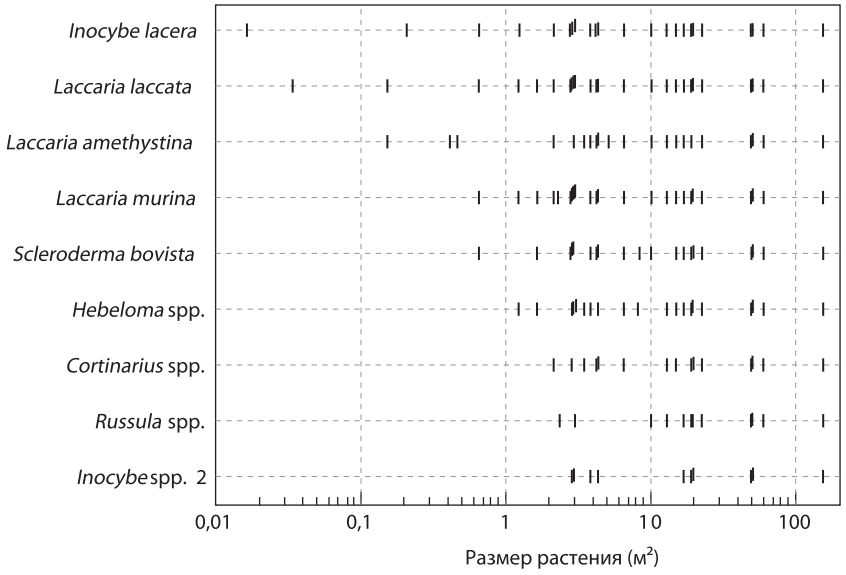


Рисунок 15.1. Появление видов эктомикоризных грибов, согласно наблюдениям плодовых тел, в течение периода увеличения в размерах автотрофных кустарников *Salix reinii* (площадь покрытия почвы, м^2) по мере роста. Из Nara et al., 2003a.

тип развития сходен с отмеченным для местообитаний, подвергающихся вторичной сукцессии (Last et al., 1983; см. гл. 6), но здесь нет свидетельств смены видов грибов с ростом растения. Продукция биомассы плодовых тел была исключительно высокой, прирост эквивалентен значению 633 кг/га/год, отмеченному в симбиозе с самыми крупными особями *S. reinii*. При сравнительном анализе состава надземной и подземной частей грибных сообществ методом секвенирования ITS участка ядерной р-ДНК было выявлено, что виды, доминировавшие в популяции плодовых тел, были также наиболее часто встречающимися эктомикоризными (ЭМ) симбионтами на корнях *S. reinii* (Nara et al., 2003b) (табл. 15.1).

Таблица 15.1. Видовой состав надземной и подземной части эктомикоризного (ЭМ) сообщества, ассоциированного с особями *Salix reinii* на ранних стадиях сукцессии в вулканической пустыне.

Участок №	Размер растения ($м^2$)	Ранг обилия плодовых тел[1]					Ранг обилия ЭМ[2]				
		1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Мелкие растения											
8	0,03	Ll					Ll				
125	0,15	Ll	La				Ll	La			
41	0,21	Il					Il	T1			
127	0,47	La					La	Lm	Ll		
Средние растения											
131	2,83	Sb	Ll	Hp	Il	Lm	Il	Lm	Sb	L	T1
61	3,87	Sb	Ll	Hm	Lm	La	La	Sb	Ll	Lm	T1
120	4,31	Sb	Ll	La	Il	Lm	Lm	La	Il	Sb	Ll
142	6,58	Il	Sb	Lm	La	I2	Il	Lm	Sb	Ll	La
Крупные растения											
89	48,45	Ll	La	Hm	Lm	Sb	La	Ll	Sb	Lm	Ud
83	50,23	Ll	La	Hm	Sb	Il	Il	Ll	Sb	La	Lm
90	59,84	Ll	Sb	Hm	La	Il	La	Lm	Ud	Sb	Ll
139	153,73	Ll	La	Hm	Cd	Sb	Lm	T2	Sb	Il	Ll

Сокращения названий ЭМ видов грибов: Cd — *Cortinarius decipiens*; Hm — *Hebeloma mesophaeum*; Hp — *Hebeloma pusillum*; Il — *Inocybe lacera*; I2 — *Inocybe* spp.; L — *Laccaria* spp.; La — *Laccaria amethystina*; Ll — *Laccaria laccata*; Lm — *Laccaria murina*; Sb — *Scleroderma bovista*; T1 — *Tomentella* spp.; Ud — неопределенный D морфотип.

[1] Данные о плодовых телах взяты из Nara et al., 2003a.

[2] Ранги обилия ЭМ приведены по данным относительного обилия ЭМ корневых окончаний в трех почвенных образцах, собранных из-под каждого мелкого и среднего растения-хозяина, и в 12 почвенных образцах, собранных из-под каждого крупного растения. Из Nara et al., 2003b.

Эти исследования подтвердили раннее появление ЭМ грибов и показали наличие корреляции между образованием симбиоза и состоянием растения, но не дали прямого ответа на вопросы о связи грибов с приживаемостью растений. Эти вопросы затрагивают эксперименты с трансплантацией сеянцев. При посадке сеянцев вблизи здоровых или нездоровых особей *Salix reinii* на голой почве или на участках растительности, где отсутствовал данный вид, впервые было показано, что обильное образование ЭМ происходит только при ассоциации со здоровыми растениями (Nara, Hogetsu, 2004). Кроме того, к концу трехмесячного вегетационного периода

сеянцы, ассоциированные со здоровыми ивами, имели достоверно более высокую биомассу, а также содержание N и P, чем посаженные на голую почву или на участки без уже прижившихся растений этого вида (табл. 15.2). Так как ранее была показана линейная зависимость между скоростью фотосинтеза прижившихся растений *S. reinii* и содержанием N (рис. 15.2А) и P (рис. 15.2Б) в их тканях (Nara et al., 2003a), было подтверждено значение ранней колонизации совместимыми ЭМ симбионтами. Рост пересаженных сеянцев наиболее сильно коррелировал с содержанием в них N. Фотосинтетическая активность на данном участке была наиболее тесно связана с содержанием N в тканях (рис. 15.2А), поэтому появилось предположение, что именно доступ к этому элементу играет определяющую роль в выживании и развитии растений (Nara, Hogetsu, 2004).

Таблица 15.2. Влияние уже прижившихся кустарников ивы (*Salix reinii*) на образование эктомикоризы (ЭМ) и состояние пересаженных сеянцев *S. reinii* в вулканической пустыне на горе Фудзи, Япония.

Место пересадки[1]	Число сеянцев[2] (ЭМ/ общее)	Число ЭМ корневых окончаний/ сеянец[3]	Сухой вес побегов[3] (мг/ сеянец)	Содержание N в побегах[3] (мкг/ сеянец)	Содержание P в побегах[3] (мкг/ сеянец)
Голая почва	0/14	$0,0^{a} \pm 0,0$	$0,8^{a} \pm 0,1$	$10,8^{a} \pm 1,0$	$4,6^{a} \pm 0,4$
Участок без ивы	1/17	$0,2^{a} \pm 0,2$	$0,8^{a} \pm 0,1$	$11,0^{a} \pm 1,2$	$4,5^{a} \pm 0,3$
Нездоровые растения ивы	10/16	$9,3^{b} \pm 2,5$	$1,1^{a} \pm 0,2$	$20,4^{b} \pm 3,7$	$4,7^{a} \pm 0,4$
Здоровые растения ивы	17/17	$25,5^{c} \pm 2,9$	$2,2^{b} \pm 0,3$	$27,7^{b} \pm 1,6$	$6,4^{b} \pm 0,5$

Из Nara, Hogetsu, 2004.

[1] Сеянцы были пересажены в местообитания четырех типов: голая почва, периметр участков растительности без кустов ивы (участок без ивы), периметр участков растительности с нормально растущими среднего размера (площадь поверхности кроны 10 м^2) кустами ивы (здоровые растения ивы) и периметр участков растительности с явно нездоровыми кустами ивы среднего размера (нездоровые растения ивы).

[2] Число ЭМ сеянцев приведено вместе с общим числом выживших сеянцев. [3] Средние значения ± стандартная ошибка среднего с разными буквами в пределах столбца различаются статистически достоверно (тест Тьюки, $P<0,05$).

Роль мицелиальных сетей, образуемых 11 наиболее распространенными на территории исследования видами микоризообразующих грибов, в усилении роста и получении минерального питания пионерных растений была изучена путем пересадки сеянцев в природные местообитания с уже существующими соединениями с «материнскими» растениями или в отсутствии грибных ассоциаций (Nara, 2006a). Общие ЭМ мицелиальные сети, включающие грибы, выделенные из природных условий, вначале создавали у растений, выращенных в микрокосмах в лаборатории. Затем рядом с такими «материнскими» растениями высаживали сеянцы того же вида, чтобы они колонизировались общим ЭМ инокулюмом. При перенесении микрокосма целиком на природный участок, где корни и мицелий могли свободно распространяться в естественной среде, возможно было учесть вклад отдельного грибного симбионта и сравнить растения с пересаженными немикоризными особями. Только восемь из пятнадцати немикоризных сеянцев сохранили жизнеспособность к концу четырехмесячного периода роста, в то время как среди растений дру-

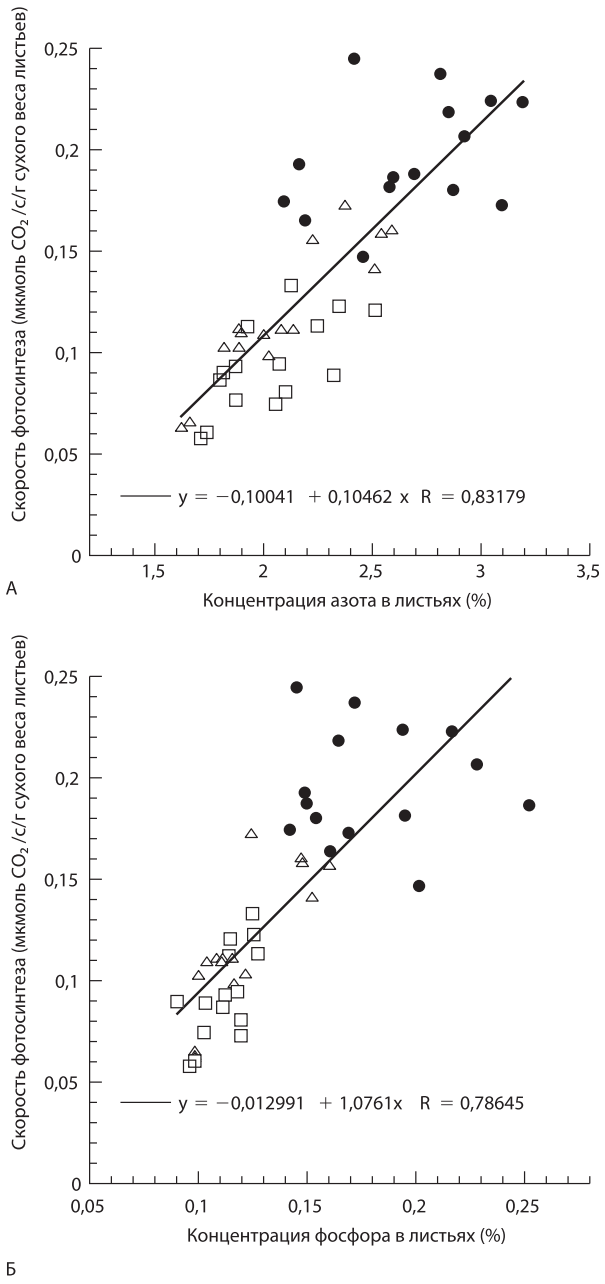


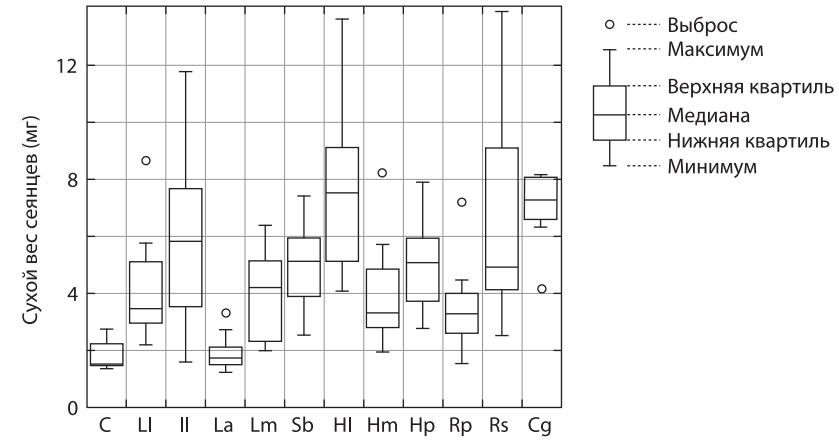
Рисунок 15.2. Зависимость между скоростью фотосинтеза и концентрацией азота (А) и фосфора (Б) в листве *Salix reinii* в связи с продукцией плодовых тел эктомикоризных симбионтов. ● обозначает листья, собранные на участках, где продукция ЭМ плодовых тел была относительно высокой; Δ обозначает листья с участков со средней продуктивностью; □ обозначает листья с участков без плодовых тел. Значения *R* на графиках (А) и (Б) свидетельствуют о статистически достоверной корреляции (P<0,01). Из Nara et al., 2003a.

гих категорий выжило большинство особей. Ни один из немикоризных сеянцев не смог перезимовать (К. Нара, устное сообщение). По биомассе сеянцев и содержанию в них N и P были получены достоверные различия в зависимости, во-первых, от микоризного статуса и, во-вторых, от вида гриба, внесенного в качестве изначального инокулюма (рис. 15.3). Почти во всех случаях скорость роста и содержание N и P были выше у микоризных растений. Исключением оказались растения, инокулированные грибом *Laccaria amethystina*, у которых ни один из параметров достоверно не отличался от безмикоризных. Особенно сильной была ответная реакция на колонизацию *Hebeloma leucosarx, Russula sororia* и *Inocybe lacera*.

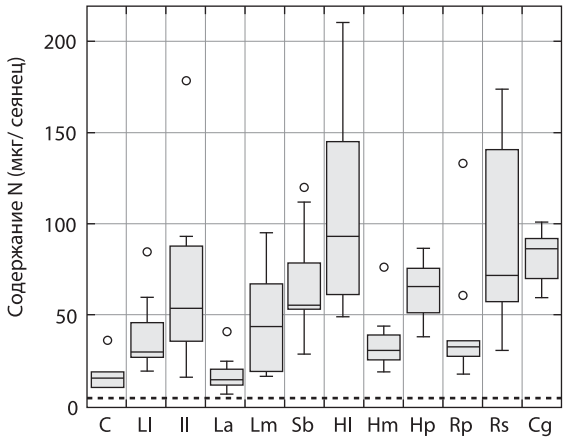
Эти результаты свидетельствуют в пользу предположения, что ранняя колонизация ЭМ грибами очень важна для выживания ассоциированного с ними вида ивы в таких суровых условиях. Вероятно, что приживаемость первых древесных сеянцев будет зависеть от случайной встречи со спорами пионерных видов грибов. Эти растения формируют обширные мицелиальные сети, которые будут способствовать приживаемости других особей вокруг них. Большинство пионерных видов грибов, обнаруженных на горе Фудзи, генералисты по своим предпочтениям в отношении растения (см. гл. 6), и, следовательно, способны колонизировать и включать в сеть другие ЭМ древесные породы. Поселяющиеся позже ЭМ растения, такие как *Betula ermanii* и *Larix kaempferi*, успешно приживаются только на участках, где уже растет *Salix reinii*, вид, с которым у перечисленных пород имеются общие ЭМ симбионты (Nara, Hogetsu 2004). Таким образом, грибы управляют сукцессионными процессами в данном местообитании.

Необходимым условием влияния грибов на первичную сукцессию является транспорт пропагул на вновь появляющиеся субстраты. Э. Казарес с соавт. исследовали возможную роль доступности пропагул в определении первичной сукцессии в хронологической последовательности почв, обнажающихся после отступления ледника (Cazares et al., 2005). Авторы провели *in situ* анализ микоризного статуса растений, а также взяли образцы сеянцев-приманок из почв вдоль по градиенту. Почвы, образовавшиеся недавно, за период до15 лет, не содержали никаких природных растений, но в их образцах были обнаружены пропагулы темных септированных (ТС) грибов (см. гл. 7). В почвах, с которых ледник отступил раньше, можно выделить четыре четкие группы растений. Во-первых, на почвах, существующих около 25 лет, обитают растения из семейств, обычно считающихся немикоризными, таких как Cyperaceae, Juncaceae, Caryophyllaceae и Onagraceae. У них был подтверждено отсутствие микориз, но имеется слабая колонизация ТС грибами. Третья и четвертая группы состояли из растений, часть которых образует микоризы. Среди них представлены симбиозы АМ, ЭМ и ЭрМ типа, но даже в самых старых почвах, около 65 лет, только 20% проанализированных образцов содержали каждый из этих типов колонизации. Подобные данные предоставляют возможность рассуждать о роли доступности пропагул в определении первичной сукцессии, но только сочетание экспериментов по инокуляции и трансплантации, аналогичные поставленным К. Нара с коллегами (см. выше) позволяет установить причины и следствия выявленных зависимостей.

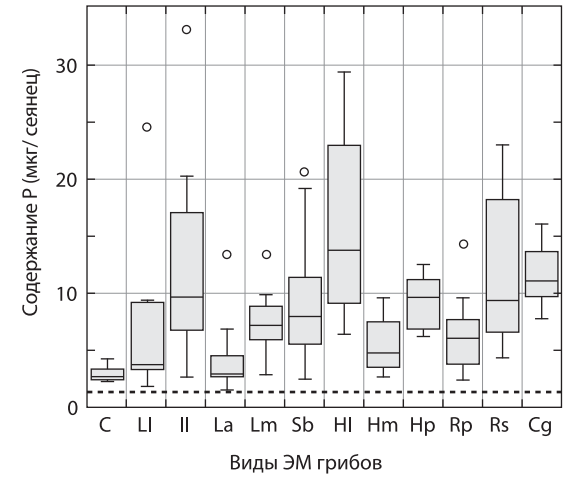
Рисунок 15.3. Влияние микоризных сетей, образованных отдельными видами эктомикоризных грибов на (А) сухой вес сеянцев, (Б) содержание азота и (В) фосфора в сеянцах *Salix reinii* возраста до года на ранних стадиях сукцессии в вулканической пустыне на горе Фудзи, Япония. С — контроль; Ll — *Laccaria laccata*; Il — *Inocybe lacera*; La — *Laccaria amethystina*; Lm — *Laccaria murina*; Sb — *Scleroderma bovista*; Hl — *Hebeloma leucosarx*; Hm — *Hebeloma mesophaeum*; Hp — *Hebeloma pusillum*; Rp — *Russula pectinatoides*; Rs — *Russula sororia*; Cg — *Cenococcum geophilum*. Пунктирными линиями обозначены средние значения для семян *S. reinii*. Из Nara, 2006a.


Выброс
Максимум
Верхняя квартиль
Медиана
Нижняя квартиль
Минимум
Сухой вес сеянцев (мг)
0
4
8
12
C
Ll
Il
La
Lm
Sb
Hl
Hm
Hp
Rp
Rs
Cg

А


Содержание N (мкг/ сеянец)
0
50
100
150
200
C
Ll
Il
La
Lm
Sb
Hl
Hm
Hp
Rp
Rs
Cg

Б


Содержание P (мкг/ сеянец)
0
10
20
30
C
Ll
Il
La
Lm
Sb
Hl
Hm
Hp
Rp
Rs
Cg
Виды ЭМ грибов

В

Нам до сих пор очень мало известно о факторах, влияющих на транспорт грибных пропагул в условиях первичной сукцессии. Ветер почти наверняка является основным агентом переноса спор, образуемых надземными плодовыми телами, а животные переносят споры подземных плодовых тел (см. также гл. 6).

Показано, что споры АМ грибов могут переноситься ветром на расстояние до 2 км (Warner et al., 1987), в то время как животные способны транспортировать АМ пропагулы на несколько миль по стерильному вулканическому материалу горы Св. Елены, возникшему после извержения (Allen, 1988). Таким образом, более мелкие споры ЭМ и ТС грибов, таких как *Phialocephala fortinii*, могут распространяться на еще большие расстояния (см. гл. 2 и 7).

Резупинатные плодовые тела видов *Tomentella*, широко распространенных ЭМ симбионтов, были обнаружены на почвах, с которых недавно сошел ледник, в циркумполярных регионах (Koljalg, 1995). Так как многие почвенные беспозвоночные поедают эти плодовые тела, существует возможность распространения членистоногими грибов и на большие, и на малые расстояния. Есть данные, что споры *T. sublilacina* сохраняют жизнеспособность и могут образовывать микоризы после прохождения через пищеварительный тракт многих видов беспозвоночных (Lilleskov, Bruns, 2005).

Близость уже сформировавшейся растительности, возможно, осложняет сукцессионные процессы, обеспечивая локальный источник микоризных пропагул. Такие пятна исходной растительности наблюдались в центре участка пирокластического потока на г. Св. Елены после извержения (Allen, 1988). Данные из видовых списков, составленных для отдельных островов, возникших в результате извержений вулканов, не вносят существенного вклада в прояснение ситуации, хотя немикоризные или факультативно микоризные виды, последние часто принадлежащие к травянистой жизненной форме, часто встречались в качестве ранних поселенцев на Кракатау. За ними следовали виды, более восприимчивые к микоризным грибам, в том числе, орхидные и виды рода *Casuarina* (Simkin, Fiske, 1983). Получить ответы на важнейшие вопросы, касающиеся роли микоризной колонизации в приживаемости растений в исходных местообитаниях, возможно только в ходе экспериментальной работы, в том числе, посадки растений в такие местообитания и мониторинга последовательности изменений зависимости колонизации и поглощения питательных веществ, роста и жизнеспособности растений.

Первичная сукцессия в экосистемах песчаных дюн — более предсказуемый процесс, при котором взаимосвязи между изменением структуры почвы и микоризным статусом отчетливо видны (Read, 1989). В нарушенных местообитаниях и при повышении концентрации питательных веществ преобладают немикоризные виды, особенно представители Chenopodiaceae и Brassicaceae. При более стабильных условиях происходит сукцессия сообществ, состоящих из видов, восприимчивых к АМ колонизации, начиная от лугов с доминированием *Ammophila arenaria* на первичных дюнах, и до богатых разнотравных сообществ на более стабильных дюнах. Сукцессия от зыбучих песков до стабильных дюн обычно соответствует градиенту снижения pH и повышения содержания органического вещества в почве (рис. 15.4), на котором сообщества с преобладанием ЭМ или ЭрМ растений становятся все более значимыми, и лес или верещатник сменяют луг в качестве климаксного растительного сообщества.

Достоверность этой модели вызывает некоторые сомнения. На основании наблюдений преобладания ЭМ симбиоза *Salix repens* на карбонатных и кислых дюнах в Нидерландах, было сделано заключение, что основанная на градиенте модель может иметь ограниченное применение (van der Heijden, Vosatka, 1999; van der Heijden, 2001). Несомненна способность *S. repens* колонизировать карбонатные почвы, хотя этот вид в норме не заселяет подвижные первичные дюны, где обитают

Рисунок 15.4. Схематическое изображение сукцессии микоризных сообществ на береговой песчаной дюне по осям, обозначающим снижение степени нарушенности сообщества, pH и доступности минеральных питательных веществ и увеличение количества органического вещества в почве. C — конкурент; R — рудерал; S — стресс-толерант; АМ — арбускулярно-микоризные; ЭМ — эктомикоризные виды; ЭрМ — виды с эрикоидной микоризой. Из Read, 1989, с разрешения.

АМ травянистые растения. Сохраняется вероятность того, что заселившись на стабилизированном карбонатном песке *S. repens*, путем накопления опада в поверхностных слоях начинает процесс подкисления, который смещает равновесие сообщества в направлении, благоприятном вначале для ЭМ, а затем ЭрМ растений. Совместимость *S. repens* одновременно с АМ и ЭМ грибами (van der Heijden, 2001; см. гл. 6) может способствовать приживаемости этого растения на карбонатном песке и, следовательно, ускорению сукцессионных процессов.

Значение микориз во вторичных сукцессиях

В то время как первичная сукцессия обычно происходит на истощенных по питательным веществам почвах, вторичная, следующая за нарушением существующего растительного сообщества, в норме начинается в условиях большего обогащения, приток N и P обеспечивается минерализацией остатков, сохранившихся от предшествующего сообщества (Walker, Syers, 1976). Нарушенные почвы обычно вначале заселяются травянистыми однолетниками, особенно из семейств Chenopo-

diaceae, Brassicaceae и Polygonaceae, которые, как давно известно, преимущественно не образуют микориз (Stahl, 1900). Традиционная интерпретация исходной ступени сукцессии, представленной подобными рудеральными растениями, заключается в том, что, как «r» стратеги они обладают высокой активностью размножения, коротким циклом развития и способностью быстро усваивать ставшие доступными питательные вещества (Grime, 1979). Однако восприимчивость многих таких растений к наличию АМ мицелия или к конкуренции со стороны АМ растений (см. гл. 16) указывает на возможность того, что снижение потенциала инокулюма грибов, происходящее в результате нарушений (см. гл. 2 и 17), может быть важной предпосылкой успеха этих видов.

Сокращение доступности питательных веществ после того, как исходный объем минералов усвоен или утрачен в ходе экстрагирования, постепенно приводит к конкуренции между растениями за ресурсы, и создается ситуация, в которой микоризная колонизация будет обеспечивать заметное преимущество в питании растений. Возможная роль микориз в определении направления сукцессионных процессов известна давно. Э. Горхэм с соавт. высказали предположение, что растения, характерные для определенной стадии сукцессии, посредством своих грибных симбионтов могут иметь более высокое «сродство» к питательным веществам, присутствующим на этом этапе (Gorham et al., 1979). Однако только немногие экологи признают, что микоризы могут играть центральную роль в сукцессионной динамике. Гипотеза о том, что микоризная колонизация может повышать конкурентоспособность растений-хозяев и приводить к ускорению процессов сукцессии, была проверена в эксперименте по внесению инокулюма АМ грибов в высокогорные почвы, нарушенные открытой разработкой угля и заселенные преимущественно однолетними «несовместимыми» видами растений (Allen, Allen, 1988). Наличие инокулюма снижало скорость роста рудералов и таким образом убыстряло сукцессию на некоторых пробных площадях. Однако на других утрата растительного покрова, создаваемого рудералами, приводила к ущербу для видов, преимущественно травянистых, которые потенциально восприимчивы к колонизации и, следовательно, скорость сукцессии снижалась (Allen, 1989). Подобные эксперименты демонстрируют сложные взаимосвязи между факторами, влияющими на сукцессионные процессы, и подчеркивают то, что и подземные и надземные воздействия могут оказывать влияние на ответные реакции растений (см. гл. 16).

Экологи уделяют большое внимание вторичной сукцессии старых полей, где, как считается, постепенное снижение доступности N является основной движущей силой происходящих изменений (Odum, 1960; Golley, 1965; Tilman, 1987). После рудеральной фазы начинается смена видов злаков с возрастающей способностью к конкуренции за N (Tilman, 1990). Хотя эти злаки, вероятно, колонизируются АМ грибами, роль микориз в определении результатов конкурентной борьбы между ними до сих пор не выяснена. Необходимы дальнейшие исследования с применением естественных симбионтов данных видов растений. Теоретически, так как снижение доступности N происходит частично из-за прогрессирующего ингибирования нитрификации и смены минерального источника N с мобильного нитрата на относительно неподвижный аммоний (Robertson, Vitousek, 1981), микоризные растения должны получать преимущество. В этом контексте стоит отметить, что описанные выше злаковые прерии типичны для местообитаний, где лимитирующим фактором является в большей степени доступность N, чем P.

Ответной реакцией на изменение N статуса, наблюдаемой в некоторых экосистемах, служит появление в качестве краткосрочных поселенцев деревьев и кустарников, фиксирующих N_2 (van Cleve, Viereck, 1981). В сукцессии от луга до бореального или умеренного леса рано появляются древесные породы из родов *Salix* и *Populus*, которые характеризуются, помимо мелких пропагул, увеличивающих ак-

тивность распространения, также пластичностью, позволяющей им формировать одновременно арбускулярные и эктомикоризы. Совместимость с АМ грибами может быть фактором, способствующим их приживаемости в дерне, где преобладают АМ травы, в то время как связь с ЭМ грибами будет полезной в ситуации, когда все большая доля почвенного N присутствует в виде аммония или в органической форме.

Предполагается, что изменение N статуса экосистемы от преобладания неорганического N к условиям, где N содержится преимущественно в органической форме в накапливающихся растительных остатках, является ключевым фактором отбора в пользу ЭМ деревьев на поздних стадиях сукцессии, представителей Fagaceae во многих умеренных лесах или Pinaceae в бореальных лесах Северного полушария (Read, 1993). По тем же причинам, в местах, где из-за неблагоприятного климата, например, на больших высотах или в приполярных областях, рост ЭМ древесных пород ограничен, развиваются кустарники с эрикоидной микоризой, которые также способны мобилизовать питательные вещества из органических источников (см. гл. 11 и ниже).

В ходе сукцессии, направленной в сторону ЭМ леса или ЭрМ вересковой пустоши, обязательно имеются стадии, на которых сосуществуют группы видов с разными типами микориз. Даже в стабильном лесном сообществе состав почвы и освещенность могут позволять развитие под пологом преимущественно ЭМ деревьев травянистого яруса, состоящего из растений с арбускулярной микоризой. Тем не менее, различный характер распространения корней может обеспечивать разделение местообитаний. Было показано, что сеянцы травянистого растения *Hyacinthoides non-scripta*, растущие в органическом горизонте в лесу с преобладанием ЭМ *Quercus*, преимущественно немикоризны (Merryweather, Fitter, 1995b). Со временем развивающаяся луковица и отходящие от нее корни опускаются в минеральный слой почвы, где образуется АМ, изолированная от обычно поверхностных корней деревьев. На самом деле, существуют два отдельных сообщества, и, виды, составляющие их, посредством своих микориз осваивают различные ресурсы. Подобная дифференциация может присутствовать даже на внутривидовом уровне. П. Редделл и Н. Малайчук наблюдали образование АМ у *Eucalyptus marginata* при росте в минеральной почве и эктомикориз при выращивании в подстилке (Reddell, Malajczuk, 1984). Такая пластичность может иметь очень большое значение в подверженных пожарам экосистемах, в которых встречаются виды *Eucalyptus*, где под действием огня накопление и утрата органического вещества происходит циклично.

Если, как считают некоторые экологи (напр., Clements, 1916; Odum, 1971; MacMahon, 1981), сукцессия представляет собой ряд прогнозируемых процессов, ход которых, прежде всего, зависит от доступности питательных веществ, очевидно, что микоризная колонизация может играть важную роль в определении как скорости, так и направления этих процессов. Необходима постановка экспериментов в полевых условиях, направленных на изучение влияния изменений микоризного статуса на взаимодействия между видами растений на разных стадиях сукцессии. Только таким способом можно отследить истинное влияние симбиоза на динамику процесса.

Из сказанного в этой главе ранее следует, что существует некоторый тип взаимосвязи между биомом и преобладающим микоризным типом в стабильных климаксных сообществах. На основании этого возникло предположение, что сочетание климатических и почвенных факторов в каждой области градиента широты или высотности способствует отбору типа микоризы, имеющего функциональные атрибуты, необходимые для процветания обоих партнеров в данных условиях (Read, 1984, 1991) (рис. 15.5). Несомненно, в мировом масштабе при отсутствии нарушений зависимое от типа биома преобладание определенного микоризного типа мо-

жет быть заметно, даже если данный тип встречается наряду с другими. Степень и природу участия микоризного симбиоза в определении характера наблюдаемого распределения предстоит выяснить экспериментальным путем.

Микоризы в Арктике, Антарктике и альпийских биомах

Небольшое количество видов растений, присутствующих обычно в виде отдельных особей, в приполярной Арктике, континентальной и приморской Антарктике и нивальной зоне Альп периодически находится под снежным покровом. Растения обитают в минеральных почвах, постоянно увлажненных за счет таяния снегов, и обычно не колонизируются микоризными грибами. У одного из очень немногих видов растений нивальной зоны Австрийских Альп, *Ranunculus glacialis*, не было обнаружено никакой грибной колонизации (Haselwandter, Read, 1982; Haselwandter et al., 1983). Авторы пришли к выводу, что это растение имеет достаточный приток N и P из талой воды в течение короткого сезона вегетации, и что его выживание в таких местообитаниях определяют скорее физические ограничения, чем нехватка питательных веществ. Есть данные, что ни один из шести видов *Ranunculus*, обнаруженных на Шпицбергене в Арктике, не был колонизирован АМ грибами (Väre et al., 1992). Это резко контрастирует с ситуацией для данного рода при обитании ниже нивальной зоны (Mullen, Schmidt, 1993) и в умеренных широтах (напр., Harley, Harley, 1987a), где колонизация АМ грибами является нормой.

Только два вида сосудистых растений являются нативными для континентальной Антарктики. Это злак *Deschampsia antarctica* и представитель сем. Caryophyllaceae, *Colobanthus quitensis*. Они встречаются на тонких почвенных слоях, начиная от галечника и до почв, полностью состоящих из кислых органических остатков. При детальном изучении этих растений по широтному градиенту от 60 до 68º ю.ш. было выявлено, что они в норме колонизируются ТС и, за небольшим исключением, «тонкими эндофитными» грибами, а АМ грибы отсутствуют (Upson, 2006). Эти данные согласуются с наблюдениями *D. antarctica* в приморской Антарктике, где АМ колонизация обнаружена не была (Christie, Nicolson, 1983). Однако АМ симбиозы были обнаружены в менее экстремальных субантарктических местообитаниях на Фолклендских островах и Южной Георгии, а также на о. Маккуори, где АМ колонизация отмечена для 18 из 40 обследованных видов растений (Laursen et al., 1997).

Ниже нивальной зоны в альпийских местообитаниях и в тех областях Арктики, для которых характерен стабильный бесснежный вегетационный период, в норме могут существовать участки постоянного растительного покрова и происходить накопление органического вещества, по крайней мере, у поверхности. При изучении *Ranunculus adoneus* на высоте 3500 м в альпийской зоне Передового хребта Колорадо было показано, что в то время как растения были слабо колонизированы АМ эндофитами в мицелиальной фазе на протяжении всего года, арбускулы присутствовали только в течение короткого периода роста (Mullen, Schmidt, 1993). Вслед за их образованием происходило повышение концентрации P в побегах и корнях. Было сделано предположение, что P, получаемый в этот период, запасается для использования при росте и цветении следующей весной, происходящих до оттаивания почвы и высвобождения питательных веществ. Необходимы дальнейшие исследования в природных условиях, направленные на изучение годовой динамики колонизации и поступления питательных веществ. С их помощью можно получить не только экологически значимую информацию, но и подчеркнуть важность выявления относительной роли арбускул и гиф в транспорте P.

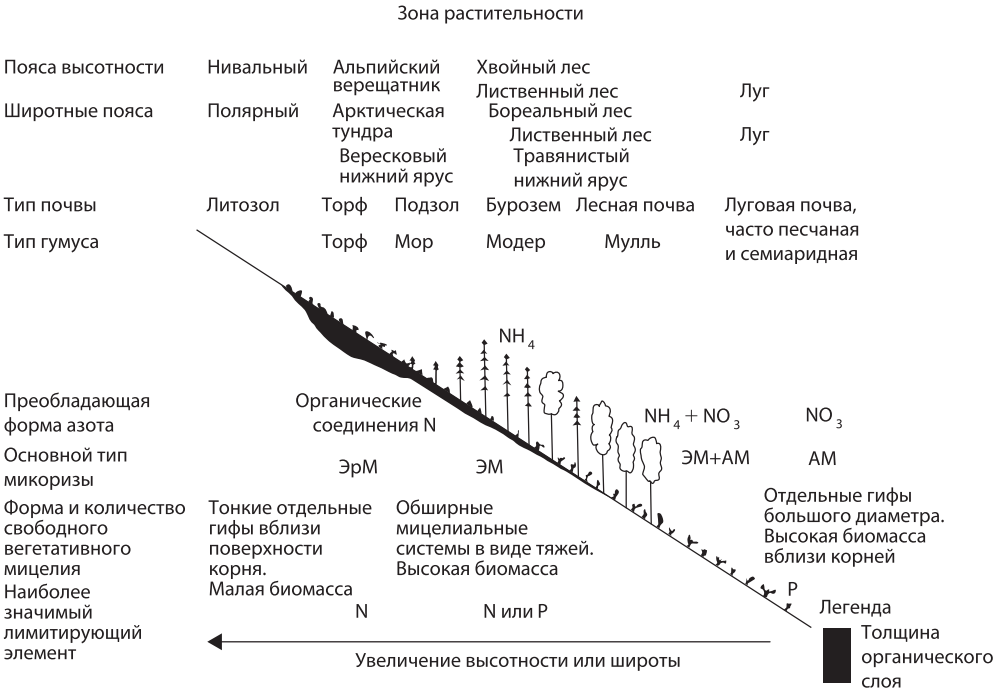


Рисунок 15.5. Схематическое изображение гипотетических взаимосвязей между широтой или высотностью, климатом, типом почвы и типом микоризы, а также степенью развития вегетативного мицелия, ассоциированного с микоризами. Из Read, 1984, с разрешения.

Часто, особенно в арктических регионах, где уровень грунтовых вод постоянно находится вблизи поверхности, на органических почвах возникает кочкарная тундра с преобладанием видов из типично безмикоризных семейств, таких как Cyperaceae и Juncaceae. Эти сообщества резко отличаются от вересковой тундры на несколько более сухих почвах, содержащей большую долю кустарниковых ЭрМ и ЭМ видов (см. ниже). Хотя преобладание осоковых растений в кочкарной тундре может частично обусловливать малую степень АМ колонизации (Bledsoe et al., 1990), оно не является исчерпывающим объяснением, так как многие виды растений-хозяев АМ в низких широтах не колонизируются или слабо колонизируются в Арктоальпийских сообществах. Даже там, где арбускулярные микоризы присутствуют, они чаще, как в Антарктике, образованы «тонкими эндофитами», и с увеличением высоты происходит постепенное повышение колонизации видом *Glomus tenuis* (Crush, 1973; Haselwandter, Read, 1980; Olsson et al., 2005). Тем не менее, присутствием «тонких эндофитов» не стоит пренебрегать, так как они могут играть очень важную роль в увеличении поглощения растением P (Crush, 1973; Smith, Smith, неопубликованные данные).

Характерной чертой растений, обитающих на больших высотах и в высоких широтах, как следует из многочисленных работ, является широкое распространение в их корнях ТС грибов (Haselwandter, Read, 1980; Read, Haselwandter, 1981; Christie, Nicolson, 1983; Currah, van Dyke, 1986; Kohn, Stasovski, 1990; Väre et al., 1992; Treu et al., 1996; Jumponnen et al., 1998, Ruotsalainen et al., 2002; Upson, 2006). При исследовании 179 видов сосудистых растений Альберты было выявлено, что корни 87%

альпийских видов были колонизированы ТС грибами сравнительно с только 9% в других местообитаниях (Currah, van Dyke, 1986).

Преобладание грибов данного типа на растениях в альпийских местообитаниях отражено в исследованиях почвенной микрофлоры, показавших, что в почвах Антарктики (Heal et al., 1967), Арктики (Väre et al., 1992) и альпийских сообществ (Haselwandter, Read, 1980) грибы с ТС гифами доминируют в почвенных микробных сообществах. Выявление их количественной значимости в этих и других местообитаниях, подвергающихся действию климатических стрессорных факторов или истощения элементов питания, привлекло внимание к возможному таксономическому и функциональному статусу данной группы грибов. Некоторые успехи были сделаны в отношении определения их таксономического положения, и большинство из них в настоящее время трактуется как аскомицеты, принадлежащие к сем. Dermateaceae (пор. Helotiales) (см. гл. 7). Среди них представители рода *Phialocephala*, особенно *P. fortinii*, широко представлены в альпийских сообществах (Read, Haselwandter, 1981; Currah, van Dyke, 1986). Молекулярный анализ особенно часто встречающихся ТС эндофитов антарктических видов *Deschampsia antarctica* и *Colobanthus quitensis* не только подтвердил значимость таксонов Dermateaceae в этом биоме, но и дал свидетельства специфичности этих грибов по отношению к хозяину (Upson, 2006). В то время как виды, доминирующие на корнях злака *D. antarctica*, были родственны моллизиоидным таксонам, тесно связанным с *P. fortinii* sensu lato (см. рис. 7.4А), корни *C. quitensis* избирательно колонизировались видами *Cadophora* и *Leptodontidium* (см. гл. 7).

Намного меньше известно о возможных функциях ТС грибов в полярных и альпийских регионах. К. Хазелвандтер и Д. Рид выделяли ТС эндофиты из здоровых, собранных в природных условиях корней альпийских осок *Carex firma* и *C. sempervirens*, и получили положительную ростовую реакцию у *C. firma* при инокуляции растения и выращивании на песке с одним из изолятов (Haselwandter, Read, 1982). Однако так как ни субстрат, ни климатические факторы в эксперименте не соответствовали таковым в альпийских местообитаниях, необходимо быть очень осторожным при интерпретации таких ответных реакций, трактуя их как свидетельство скорее «приуроченности», чем типичных микоризных взаимоотношений. Сходный эксперимент был поставлен в более близких к природным климатических условиях (дневная температура 6º, ночная 4ºС), в котором растения *Deschampsia antarctica* инокулировали ТС изолятами и выращивали на перлите с питательным раствором, содержащим аммоний или гидролизат казеина в качестве источника N (Upson, 2006). Результаты варьировали в зависимости как от источника N, так и от вида колонизирующего гриба. Прирост биомассы инокулированного злака сравнительно с неинокулированным контролем при внесении аммония или сокращался или оставался неизменным. Однако четыре ТС изолята давали значительный прирост биомассы, когда растения выращивали с органическим источником N (рис. 15.6). Эти результаты подтверждают, что бывают обстоятельства, при которых растения *D. antarctica* могут получать выгоду от сапротрофной активности некоторых ассоциированных с ними ТС грибов, но механизмы, за счет действия которых достигается подобный эффект, и степень их влияния в природных условиях, когда корни колонизируются большим количеством ТС таксонов, еще остаются невыявленными.

Также остается неясным статус ЭМ-подобных структур, которые часто, но не постоянно обнаруживаются в корневых системах травянистых видов, таких как *Kobresia* (Fontana, 1963; Haselwandter, Read, 1980; Kohn, Stasouski, 1990) и *Polygonum viviparum* (Hesselman, 1900; Read, Haselwandter, 1981; Lesica, Antibus, 1986). Обычно эти ассоциации также образованы грибами с темным мицелием. Среди них выделяется *Cenoccum geophilum*, хотя частое присутствие гиф с пряжками указывает на возможное участие базидиальных грибов. Существует предположение, что

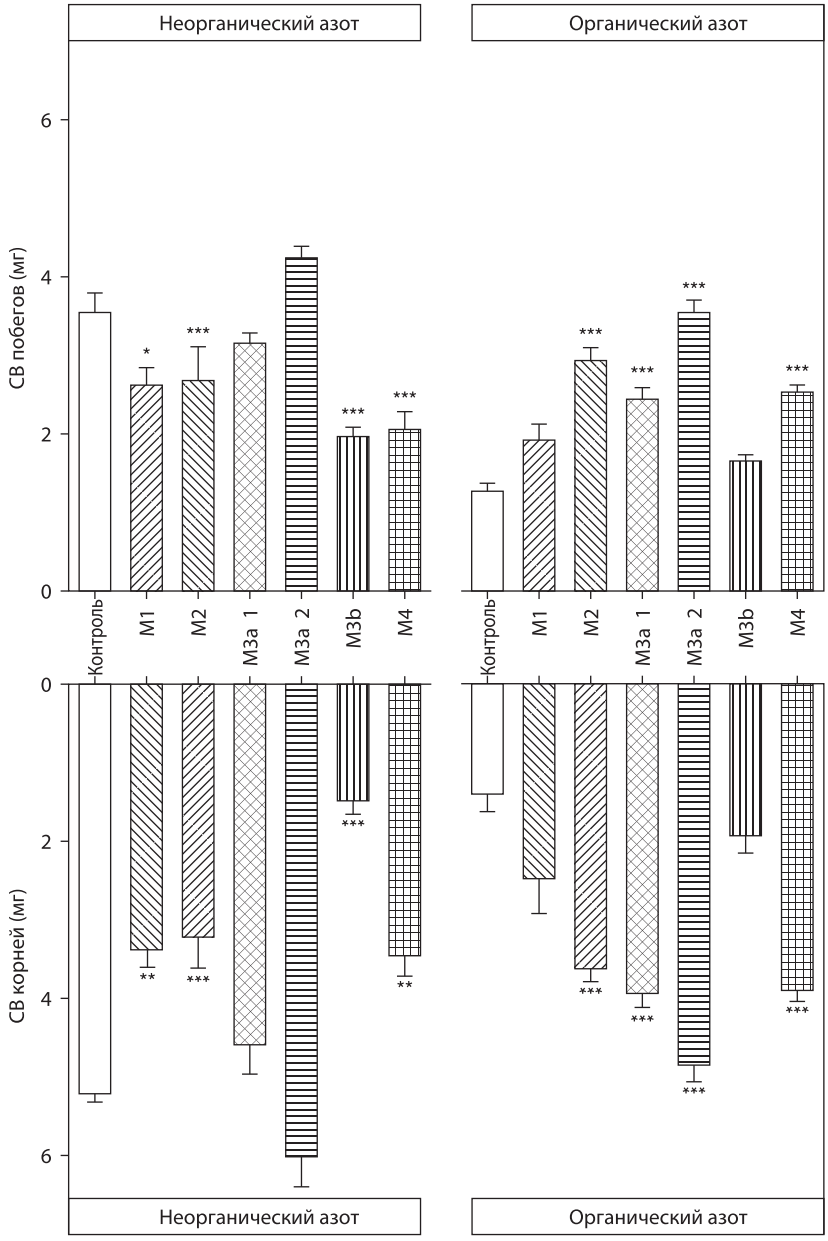


Рисунок 15.6. Сухой вес (СВ) побегов и корней растений *Deschampsia antarctica*, выращенных на перлите с добавлением неорганического или органического азота и либо неинокулированных (прозрачные столбцы), либо инокулированных изолятами ТС грибов M1, M2, M3a (изолят 1 или 2), M3b или M4. Достоверные по двухфакторному дисперсионному анализу (ANOVA) и попарному сравнению (тест Тьюки) различия между инокулированными и неинокулированными растениями обозначены: * P<0,05, ** P<0,01, *** P<0,001. Столбцы показывают средние значения (+ стандартная ошибка) из 5 или 6 повторностей. Из Upson, 2006.

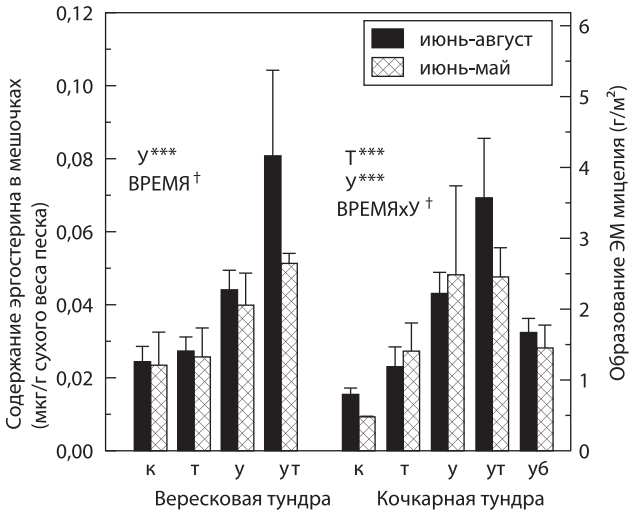


Рисунок 15.7. Продукция свободного эктомикоризного (ЭМ) мицелия, ассоциированного с *Betula nana*, измеренная по концентрации эргостерина в наполненных песком мешочках после инкубации в природных условиях в течение одного вегетационного сезона (июнь–август) или одного года (июнь–май) (среднее ± стандартная ошибка), в контроле (к), при повышенной температуре (т), с внесением удобрений (у); или на площадках при сочетании у и т после 14 лет эксперимента в вересковой тундре в субарктической Швеции и в кочкарной тундре в арктической Аляске. Статистически значимое влияние основных факторов (Т, повышение температуры; У, внесение удобрений; ВРЕМЯ, инкубационный период) и их взаимодействий отмечены: ***, $P<0{,}0001$; †, $P < 0{,}10$. Дополнительные пробные площади в кочкарной тундре, удобряемые в течение 6 лет (уб), не были включены в статистический анализ. Из Clemmensen et al., 2006.

эти растения чаще колонизируются при совместном росте с типичными ЭМ видами (Väre et al., 1992). Опять же, необходим экспериментальный анализ статуса этих типов колонизации.

Есть мнение, что глобальное потепление климата таит в себе серьезную угрозу для арктических и субарктических экосистем. Можно ожидать, что прогнозируемое повышение температуры почти на 5ºС в Арктике (по данным Международного Комитета по вопросам изменения климата — IPCC, 2001), может привести к сдвигу на север ареала ЭМ кустарников (Bret-Hart et al., 2001; van Wijk et al., 2004; Clemmensen, Michelsen, 2006; Clemmensen et al., 2006). Сопряженные с этим изменения подземной биоты, в том числе более высокая скорость минерализации органического вещества, могут, в свою очередь, повлечь за собой повышение плодородия почвы и высвобождение около 14% от общего количества органического С, запасающегося в арктических экосистемах всего мира (Mack et al., 2004). Так как ЭМ чехол и ассоциированные с ним гифы свободного мицелия являются зоной контакта корней с почвенным запасом С, требуется больше информации о возможных взаимодействиях между этими компонентами. К. Клемменсен с соавт. исследовали влияние искусственного прогревания почвы и внесения в виде удобрений N, N и P или NPK в течение 14 лет на развитие ЭМ мицелия в симбиозе с *Betula nana* в кочкарной и вересковой тундре (Clemmensen et al., 2006). Используя эргостерин в качестве маркера, авторы обнаружили, что внесение удобрений увеличивает продук-

цию свободного ЭМ мицелия в обоих сообществах, а повышение температуры способствует увеличению биомассы в кочкарной тундре (рис. 15.7). Согласно полученным результатам, одним из последствий потепления и связанной с ним эвтрофикации будет активизация круговоротов C и N в исходно бедной питательными веществами экосистеме. Также возможно, что в Арктике потепление приведет к изменениям популяционной структуры ЭМ грибных сообществ. В результате детального анализа грибных изолятов, выделенных по градиенту от Арктики через бореальные леса к лесам умеренной зоны, было сделано заключение, что виды рода *Hebeloma* демонстрируют значительную физиологическую адаптацию к локальным местообитаниям (Tibbett et al., 1998a, b). Сравнительно с изолятами из бореальных и умеренных лесов, виды и расы более северных широт обладают большими способностями к мобилизации питательных веществ при низких температурах. Эти виды грибов, приспособленные к жизни при низких температурах, могут по мере потепления почвы либо смещаться к северу, либо, если необходимые местообитания недоступны, постепенно исчезать.

Микоризы на вересковых пустошах

Вересковые пустоши могут встречаться в качестве основных типов сообществ в двух случаях. Во-первых, горные или приморские верещатники могут образовываться как в островных, так и в континентальных условиях на определенных высотах между альпийской зоной и уровнем лесов (рис. 15.8). Во-вторых, равнинные верещатники занимают области очень обедненных кислых почв на малых высотах. Эти биомы характеризуются наличием кустарниковых жестколистных вечнозеленых растений из сем. Ericaceae, у которых волосовидные корни в норме всегда колонизированы ЭрМ грибами (Read, 1983; см. гл. 11).

Анализ градиента условий окружающей среды, вдоль которого растения с микоризой эрикоидного типа постепенно становятся преобладающими, показал, что такие сообщества возникают в основном при очень низких концентрациях питательных веществ (Specht, 1981; Rundel, 1988; Read, 1989). Их присутствие в теплых средиземноморских областях в виде «сухих верещатников» или формаций «песчаных равнин», а также в субальпийских местообитаниях подчеркивает тот факт, что главную роль в определении распространения таких сообществ играет скорее обеспечение питанием, чем климатические факторы. Ответной реакцией на низкую доступность N и P будет перевод большей доли фиксированного C в структурные компоненты лигнина и целлюлозы, а не в молекулы, содержащие P или белки, т.е., будет происходить процесс, непосредственно ведущий к склерофиллии (Specht, Rundel, 1990) и появлению остатков с высоким отношением C:N и значительной устойчивостью к разложению. Они накапливаются в поверхностных слоях почвы и обеспечивают среду, в которой развиваются ЭрМ корни.

На северных вересковых пустошах волосовидные корни растений-доминантов, таких как *Calluna vulgaris, Erica* spp. и *Vaccinium* spp. обычно расположены на глубине 10 или менее сантиметров почвенного профиля, где они тесно контактируют с подстилкой (Reiners, 1965; Gimingham, 1972; Persson, 1980). Интересно, что когда травянистые растения, к примеру, *Molinia caerulea, Eriophorum vaginatum* и *Carex* spp. сосуществуют с вересковыми кустарниками, их корни концентрируются в почве на бо́льших глубинах (Gimingham, 1972), так что две группы растений не конкурируют между собой за одни и те же ресурсы питания. К тому же, травы могут быть колонизированы АМ грибами, что также представляет собой отдельную стратегию получения питательных веществ. Д. Рид создал модель, показывающую как отдель-

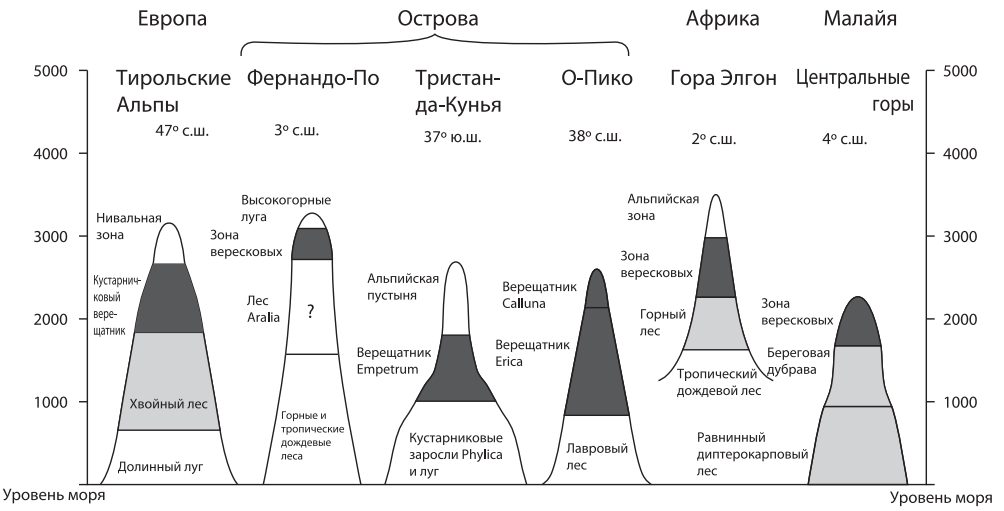


Рисунок 15.8. Упрощенная схема глобального распространения основных биомов, отмечено распределение основных микоризных типов в определенных растительных сообществах. Типы микоризы: ЭрМ — черная заливка, ЭМ — серая заливка, АМ–ЭМ — без заливки. Обратите внимание на то, что в лесах, образованных диптерокарповыми, важную роль играют АМ растения, находящиеся как в верхнем ярусе, так и под пологом (см. в тексте). Из Read, 1993, с разрешения.

ные мутуалистические взаимодействия, вместе с изменениями в распространении и анатомии корней, могут способствовать сохранению видового разнообразия в сообществах северных верещатников посредством использования различных источников основного лимитирующего элемента, N (Read, 1993). Согласно этим представлениям (рис. 15.9), сосуществование вересковых, бобовых и насекомоядных растений, обычно наблюдаемое в верещатниках с умеренной кислотностью, обусловлено способностью растений к использованию различных источников N, из органического вещества почвы, атмосферы и поедаемых насекомых соответственно. Структурные модификации, особенно образование аэренхимы, помогают корням осоковых, таких как *E. vaginatum*, проникать в заполненные водой горизонты и усваивать N из источников, недоступных группам растений с поверхностными корневыми системами.

Возникает вопрос, насколько немикоризные растения способны конкурировать за органический N с соседствующими ЭрМ и ЭМ видами на верещатниках и в вересковых тундрах. Не вызывает сомнений, что некоторые из немикоризных растений потенциально способны ассимилировать простые формы органического N (Chapin et al., 1993; Nasholm et al., 1998), но результаты непосредственного сравнения этих видов с ЭрМ и ЭМ предполагают, что эти способности весьма ограниченны (Emmerton et al., 2001b). При внесении меченной ^{15}N глутаминовой кислоты и глицина в асептических условиях, ЭрМ растение *Vaccinium vitis-idaea* и ЭМ *Betula nana* активно ассимилировали эти источники N, в то время как немикоризные *Eriophorum vaginatum* и *Luzula wahlenbergii* получали из них очень малое количество данного элемента. Было подтверждено, что способность *Vaccinium macrocarpon* к ассимиляции аминокислот выражена у растения только в ЭрМ состоянии (Read et al., 2004). В любом случае, следует помнить, что мелкие молекулы, такие как аминокислоты, могут быть быстро ассимилированы или минерализованы почвенными сапротро-

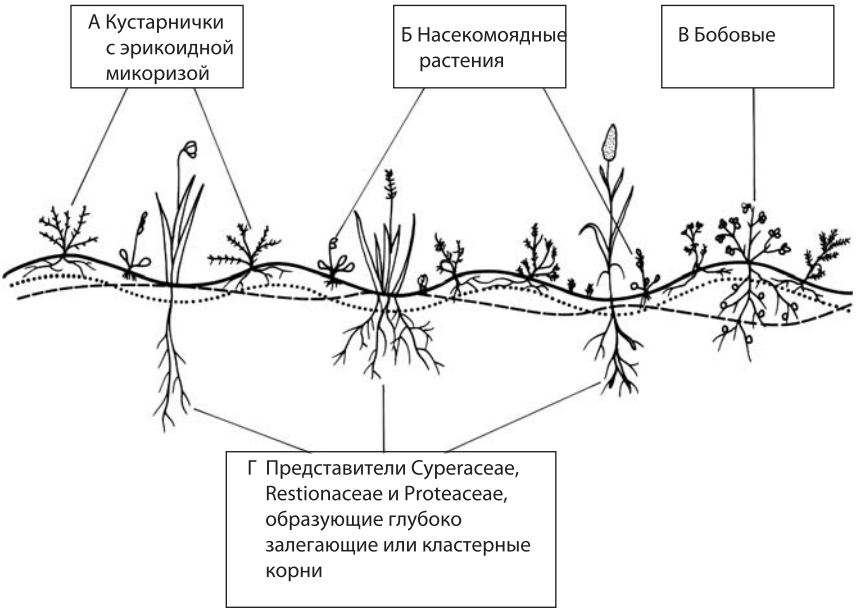


Рисунок 15.9. Схематическое изображение разделения источников питания в вересковых сообществах на основе определенных мутуалистических симбиозов или специализации корневых систем: А — кустарнички с эрикоидными микоризами, играющими важную роль в мобилизации N из растительного опада и микробного белка. Б — насекомоядные растения, питающиеся насекомыми и получающие из них N. В — бобовые растения, фиксирующие N_2. Г — представители Cyperaceae, Restionaceae и Proteaceae, образующие глубоко залегающие корни, улавливающие N в глубинных почвенных горизонтах, и/или протеоидные или кластерные корни, активно поглощающие питательные вещества (особенно P, но также, возможно, N, в поверхностных горизонтах). Из Read, 1993, с разрешения.

фами, и поэтому имеют малую продолжительность существования в почве. При такой потенциально возможной конкуренции важные преимущества ЭрМ (и некоторых ЭМ, см. гл. 9) растений заключаются в наличии обильных тонких корней и систем свободного мицелия.

Независимо от различий между немикоризными растениями и ЭрМ и ЭМ видами по способности к конкуренции за простые органические N и их ассимиляции, весьма вероятно, что прямое воздействие на макромолекулярные органические источники N, связанное с протеолитической активностью (см. гл. 9 и 11), будет преимуществом ЭрМ и ЭМ растений при росте в условиях конкуренции с видами, не имеющими таких свойств (Read et al., 2004).

Было исследовано, насколько $\delta^{15}N$ подписи растительных побегов могут указывать на степень использования органического N в микоризах различных типов. Сравнительный анализ $\delta^{15}N$ обогащения тканей листьев ЭрМ (*Vaccinium vitis-idaea*), ЭМ (*Picea mariana*) и АМ (*Calamagrostis canadensis*) видов, произрастающих в переходной зоне между вересковой тундрой и бореальным лесом на Аляске, выявил значимые различия по обогащению между данными растениями. У вида *P. mariana* значение $\delta^{15}N$ было достоверно более низким (-6,496), чем у *V. vitis idaea* (-3,837) и *C. canadensis* (+0,585) (Schultze et al., 1994). Некоторый вклад может вносить глу-

бина залегания корневой системы, но также возможно различие, обусловленное типом микоризной колонизации. В пользу последнего предположения свидетельствуют данные, полученные при полевых исследованиях субарктических растений (Michelsen et al., 1996). В каменистой пустыне и вересковом сообществе до измерения $\delta^{15}N$ обогащения в тканях листьев исследовали степень микоризной колонизации у растений известного статуса, принадлежащих к ЭрМ, ЭМ, АМ и немикоризной категориям. В каменистой пустыне среднее значение $\delta^{15}N$ у ЭрМ видов равнялось –5,5, у ЭМ — –4,1 и у АМ и немикоризных — нулю. На вересковой пустоши средние значения $\delta^{15}N$ для тех же групп растений составляли –7,6, –6,4 и –1,8 соответственно. Во всех случаях значения, полученные для ЭрМ и ЭМ растений, достоверно отличались от таковых у АМ или немикоризных видов. Хотя различия между ЭрМ и ЭМ видами не были достоверными (P = 0,051 в пустыне и 0,270 на верещатнике), ЭМ растения занимали в микоризном ряду промежуточное положение. Был сделан вывод, что ЭрМ и ЭМ колонизация способствует доступу к органическим источникам N, которые не только являются наиболее широко представленными в почве, но также имеют достоверно более низкий уровень $\delta^{15}N$ обогащения.

Более поздние работы поставили под сомнение значимость $\delta^{15}N$ подписей побегов для получения информации об источниках N, ассимилируемых ЭрМ корнями. С использованием определенных источников N с известным уровнем $\delta^{15}N$ обогащения было показано, что при ассимиляции происходит значительное фракционирование изотопов N как у грибов в чистой культуре (Emmerton et al., 2001a), так и у микоризных растений (Emmerton et al., 2001b). В этой связи наибольший интерес вызывает то, что обилие ^{15}N в корнях, побеге и растении в целом часто достоверно отличается от такового для соединений N, вносимых в микоризные растения. Кроме того, по степени фракционирования N на пути гриб-корень-растение имеются различия между разными микоризными категориями. Интерпретация данных $\delta^{15}N$ обсуждается далее в этой главе применительно к биомам бореального леса.

Уже была отмечена способность ЭрМ грибов образовывать широкий круг ферментов, разлагающих полимеры, и таким образом способствовать мобилизации N и P, содержащихся в различных органических источниках (см. гл. 11). На уровне биома наиболее важным свойством эрикоидных микориз может быть обеспечение непосредственного доступа к разложившимся остаткам основных компонентов системы. Была выявлена важность качества подстилки в определении благосостояния растений вересковых пустошей, но предполагалось, что осуществляют этот круговорот сапротрофные организмы (Berendse, 1994). Эксперименты, показавшие способность ЭрМ грибов к высвобождению N из остатков собственного и ЭМ мицелия (Kerley, Read, 1997), а также из мортмассы их автотрофных партнеров (Kerley, Read, 1998), подтвердили возможное участие микобионтов эрикоидной микоризы в биоразложении. ЭрМ растения *Vaccinium macrocarpon* были способны за 60 дней получать 40% N, содержащегося в мортмассе *Vaccinium*, в то время как немикоризные растения получали за тот же период только 5% (см. гл. 11). Очевидно, что стерильный детрит, полученный путем высушивания, не является точным аналогом природного субстрата, но эксперименты такого типа предоставляют некоторые свидетельства того, что ЭрМ грибы могут вносить вклад в извлечение питательных веществ из труднодоступных источников в остатках их растений-хозяев.

В свете прогнозируемого в течение следующего столетия заметного потепления в арктических и субарктических биомах, в том числе, на вересковых пустошах (см. выше), было изучено воздействие повышения температуры и концентрации CO_2 на особенности ЭрМ колонизации (Olsrud et al., 2004). Было выявлено, что в таких условиях повышается степень ЭрМ колонизации вместе со скоростью фотосинтеза. Однако на пробных площадях, обогащенных CO_2, содержание N в листьях вересковых сокращалось. М. Ольсруд с соавт. предположили, что снижение доступно-

сти неорганического N при повышении концентрации CO_2 будет ограничивать продуктивность сообществ вересковых растений (Olsrud et al., 2004).

При том, что ЭрМ растения хорошо приспособлены к жизни в почвах высоких широт, богатых органическим N, они демонстрируют отрицательную ответную реакцию на антропогенное увеличение доступности нитрата и аммония, происходящее в более южных промышленных регионах (Aerts, 2002). Часто встречающееся замещение верещатников с преобладанием *Calluna* луговыми сообществами, состоящими из более продуктивных АМ видов растений, может быть объяснено действием ряда факторов. Среди них, вероятно, важнейшими являются более высокая конкурентоспособность трав при обогащении почв N и неспособность ЭрМ эффективно ассимилировать нитрат (Aerts, Bobbink, 1999; Aerts, 2002; Read et al., 2004).

Высокое видовое разнообразие растений на эпакрисовых верещатниках Южного полушария разительно отличается от ситуации в северных вересковых пустошах, где часто наблюдается преобладание единственного вида (Pate, Hopper, 1993). Весьма вероятно, что с повышением биоразнообразия происходит соответствующее усиление специализации корневых систем (Lamont, 1982, 1984; Pate, 1994; Lambers et al., 2006), что предполагает еще более явное разделение ниш, чем в менее экстремальных местообитаниях. Среди растений, характерных для южных верещатников и некоторых других растительных сообществ, занимающих почвы с выраженным дефицитом P, представители немикоризных семейств Proteaceae и Restionaceae, а также микоризообразующего рода *Casuarina*, отличающиеся образованием «протеоидных» или кластерных корней. Эти структуры формируются путем высокоспециализированного ветвления боковых корней, в результате которого образуется плотное скопление корешков малого диаметра (Lamont, 1984; Lambers et al., 2006). Эти скопления существуют недолго, они растут, созревают и стареют за период около 2–3 недель, по крайней мере, в экспериментальных условиях. Эти изменения в развитии сопровождаются выделением органических кислот, которые, как показано, играют важную роль в увеличении доступности P и, возможно, также Fe, содержащихся в форме трудноразлагаемых неорганических соединений (Dinkelaker et al., 1995; Comerford, 1998; Lambers et al., 2006). Также предполагается, что расположение кластерных корней вблизи поверхности почвы и иногда в подстилке может усиливать поглощение питательных веществ, вымывающихся из почвы. Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что образование кластерных корней является адаптацией к экстремальному недостатку P в почве. Было показано, что представители сем. Proteaceae встречаются в крайне обедненных P почвах западной Австралии, которые содержат явно недостаточное количество этого элемента для усвоения АМ растениями (Lambers et al., 2006). Последние выявляются в том же регионе на почвах, дефицитных по P, но не в такой степени. Виды вересковых в сходных местообитаниях должны иметь способность к использованию растительных остатков посредством своих ЭрМ грибных симбионтов, в то время как насекомоядные и азотфиксирующие виды могут применять приспособления другого типа (см. рис. 15.9). Следует заметить, что растение *Casuarina* эволюционировало по пути максимально возможного разнообразия способов поглощения питательных веществ из скудных ресурсов, образуя АМ и иногда ЭМ симбиозы, а также клубеньки для фиксации азота и кластерные корни.

Есть данные о некотором функциональном разделении по N питанию в экосистемах, где встречаются растения с широким кругом стратегий получения питательных веществ (Stewart et al., 1993). В подверженных пожарам местообитаниях сразу после выгорания нитрат представлен относительно обильно, хотя также присутствует некоторое количество аммония. Нитратредуктазная активность (НРА), наблюдаемая в побегах и корнях представителей трех родов протейных (*Banksia, Petrophile* и *Stirlingia*), достаточна для предполагаемой способности к ассимиляции

нитрата, если он доступен, в природных условиях. Напротив, два вида эпакрисовых, *Astroloma macrocalyx* и *Conostephium pendulum*, образующие эрикоидные микоризы, обладают очень слабой НРА, даже после внесения нитрата путем транспирационного тока. Эти виды должны зависеть от ассимиляции аммония, который всегда присутствует в почвах и преобладает на участках, где несколько лет не было пожаров, или от поглощения органического N посредством ЭрМ симбионтов.

Другие семейства растений, широко распространенные в эпакрисовых вересковых пустошах, но не встречающиеся или малозначимые в Северном полушарии, это Rutaceae, Dilleniaceae и Compositae, большинство представителей которых колонизируются АМ грибами. Этот тип микоризы, к примеру, отмечен для *Boronia* (Rutaceae), *Hibbertia* (Dilleniaceae) и *Helichrysum* (Compositae) (Lamont, 1984). У таких растений мочковатость корневой системы выражена в меньшей степени, чем у эпакрисовых, и, кроме того, корни проникают на большие глубины в песчаных почвах (Dodd et al., 1984; Pate, 1994), обеспечивая пространственное разделение активности. Кроме того, хотя АМ колонизация усиливает поглощение P, для видов родов *Helichrysum* и *Hibbertia* показана значительная НР активность (Stewart et al., 1993), что опять же предполагает дифференциацию и пищевых и пространственных ниш между этими растениями и видами, образующим ЭрМ. Однако представления о том, что АМ колонизация, особенно, в сухих почвах, может повышать поглощение аммония, применимы и в данном случае. Именно в подобных местообитаниях весьма важно поступление N (см. гл. 5). Наличие таких физиологических типов предполагает, что отбор, благоприятствовавший различной специализации, является важным фактором, способствующим сосуществованию таксономически удаленных видов в австралийских вересковых сообществах, где наиболее высокое биоразнообразие наблюдается на наименее плодородных почвах (Pate, Hopper, 1993). Согласно модели уравновешивания конкуренции растений, в бедных ресурсами местообитаниях разнообразие будет низким, так как только немногие виды способны выдерживать экстремальную недостаточность питательных веществ (Tilman, 1982, 1988). В пустынных верещатниках, напротив, отбор явных мутуалистических взаимодействий и стратегий получения питательных веществ на протяжении длительного периода эволюции может способствовать сосуществованию видов в очень разнообразных сообществах. Последние исследования, проведенные, однако, в искусственных условиях, предполагают, что микоризная колонизация может быть важнейшим преимуществом при конкуренции в условиях, когда ресурсов мало, и плотность растений низка (см. гл. 16).

Микоризы в бореальных и умеренных лесных биомах

Сообщества ЭМ древесных пород, особенно представителей Pinaceae, Fagaceae, Betulaceae и Salicaceae, преобладают в бореально-умеренных биомах земного шара. Это крупнейший из типов растительности планеты. Подобные леса образуют в Северном полушарии непрерывный циркумполярный пояс шириной 1000–2000 км (Odum, 1971). Как и в северных вересковых сообществах, видовое разнообразие растений-хозяев в ЭМ лесах обычно мало, но, в противоположность верещатникам, в них встречается очень много симбиотрофных видов грибов, ассоциированных с этими растениями (см. табл. 6.2, гл. 6). Прохладный климат, характерный для большей части биома, обусловливает низкую скорость эвапотранспирации и процессов разложения, и в результате кислые органические остатки растений накапливаются либо в виде сырого гумуса в поверхностных слоях почвы, либо в виде торфяных отложений, которые могут достигать значительной толщины. В таких усло-

виях кустарнички с эрикоидной микоризой обычно встречаются под пологом. Тем не менее, даже в этих преимущественно ЭМ местообитаниях есть участки, где обогащение почвы может создавать условия, подходящие для развития растений с АМ типом колонизации. Они могут встречаться в качестве доминантов в лесах, образованных *Acer* и *Fraxinus*, или входить в состав кустарничкового или травянистого ярусов (Brundrett, Kendrick, 1988, 1990a, b; Giesler et al., 1998; Högberg et al., 2003). Изменение доступности питательных веществ, обусловливающее смену типов микориз по подобным градиентам, описано ниже.

Выявление характера распределения корней по почвенному профилю очень важно, так как оно определяет, какие субстраты будут доступны для растений и, особенно, для их грибных симбионтов. В подзолистых и торфяных почвах, характерных для бореальной зоны, а также в почвах с гумусом модер и мулль в умеренной зоне ЭМ корни в основном находятся в поверхностных органических горизонтах (Meyer, 1973; Harley, 1978; Persson, 1978; George, Marschner, 1996). В торфяниках, занимающих в бореальной зоне большие площади, анаэробные условия, создаваемые высоким уровнем грунтовых вод и постоянным или зимним промерзанием глубинных слоев, ограничивают развитие нуждающихся в кислороде микоризных корней близкими к поверхности горизонтами. В лесах, образованных черной елью (*Picea mariana*), на почвах такого типа во внутренних районах Аляски почти 100% тонких корней первого порядка микоризованы и 84% их продукции сосредоточено в пределах поверхностного слоя толщиной 20 см (Ruess et al., 2003). На песчаных подзолистых почвах в сосняках, образованных *Pinus sylvestris*, с кустарничковым ярусом из вересковых было отмечено, что наличие кустарничков оказывает влияние на распространение ЭМ корней (Persson, 1983). В поверхностном органическом горизонте (O) тонкие корни в основном сконцентрированы в области L (опад) и F (ферментативный горизонт), если деревья растут в отсутствие кустарничкового яруса. Однако на участках, где он имеется, ЭМ пролиферация подавляется в нескольких сантиметрах от переходной зоны F-H (гумус) – минеральный горизонт.

При анализе распределения корней *Picea abies* по широтному градиенту в Европе от бореальной до умеренной зоны было выявлено, что в каждой точке основная масса тонких корней локализована в верхних 10 см почвенного профиля (Stober et al., 2000). Однако имеются данные о более активной пролиферации в органическом горизонте на участке в бореальной зоне (93%), чем в двух точках в умеренной (75 и 78%). Кроме того, в верхних 10 см профиля большинство тонких корней были жизнеспособны, а те из них, которые залегали на большей глубине, были в основном отмершими.

Распространение молекулярных методов исследования сделало возможным сочетание анализа распределения тонких корней с определением их грибных симбионтов. А. Рослинг с соавт., работая в бореальном лесу *Pinus sylvestris – Picea abies*, подтвердили полученные ранее данные о том, что поверхностные органические горизонты подзолистых почв наиболее интенсивно используются тонкими корнями (Rosling et al., 2003) (рис. 15.10). Однако авторы также показали, что значительное количество ЭМ корневых окончаний встречается в минеральных горизонтах и что половина выявленных грибных таксонов связаны именно с этими субстратами (табл. 15.3). Минеральные горизонты, наиболее заселенные ЭМ корнями, относились к элювиальным (E1), располагающимся непосредственно под горизонтом O, и иллювиальным (B). Это зоны, из которых вымываются органические соединения (EI), или зоны их осаждения (B1 и B2). Очень интересно то, что грибные сообщества, населяющие органические и минеральные горизонты, различаются (табл. 15.3). Такие представители как *Dermocybe* spp., *Tomentellopsis submollis* и три вида *Piloderma* были обнаружены преимущественно в органическом горизонте, а *Suillus luteus, Lactarius utilis* и три других вида *Piloderma* были ассоциированы в основном с минеральными горизонтами.

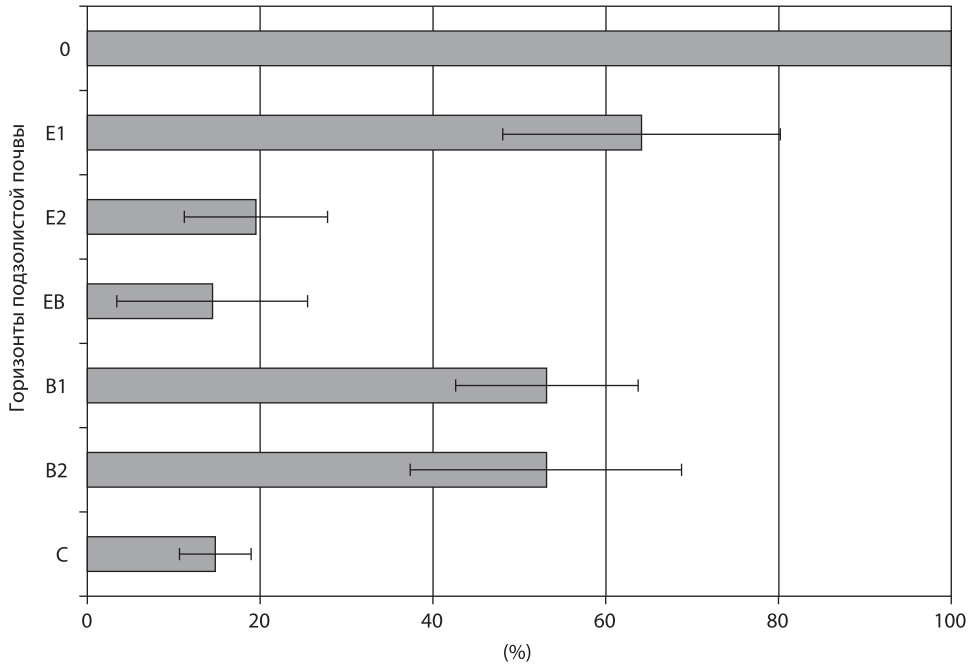


Рисунок 15.10. Среднее количество корневых окончаний в различных горизонтах подзолистой почвы бореального леса (O — органический; E1, E2, EB — элювиальные; B1, B2 — иллювиальные; C — материнская порода), выраженное в виде процентной доли от количества корневых окончаний в органическом горизонте. Из Rosling et al., 2003.

Другие недавно проведенные исследования, одно с применением анализа ДНК фрагментов гиф из L, F, H и B горизонтов почвы под сосняком (Dickie et al., 2002), второе, сочетающее методы секвенирования и морфотипирования в различных субстратах из бореального леса (Tedersoo et al., 2003), и третье, основанное исключительно на морфотипировании (Koide, Wu, 2003), показали сосредоточение отдельных типов ЭМ грибов в специфичных местообитаниях в пределах почв хвойных лесов. По наблюдениям Л. Тедерсоо с соавт., у телефороидных и ателиоидных грибов с резупинатными плодовыми телами имеется заметное предпочтение в отношении разлагающихся древесных субстратов (Tedersoo et al., 2003).

Несмотря на то, что пролиферация мицелия у отдельных видов грибов при контакте с определенным источником питания отмечалась неоднократно (Carleton, Read, 1991; Agerer, 1991b; Perez-Moreno, Read, 2000, см. ниже), межвидовые различия по распространению в разных почвенных горизонтах до недавнего времени не были оценены в полной мере. Они могут оказаться очень важными в случае, если их характер отражает различную способность к использованию субстратов разного типа (см. ниже). Для различения функциональных групп грибов, принимающих участие в круговоротах C и N в подзолистой почве бореального леса, были применены методы анализа ДНК в сочетании с датированием радиоактивным углеродом ^{14}C органических веществ, измерением отношений C:N и обилия $\delta^{15}N$ (Lindahl et al., 2007). Было выявлено отчетливое изменение состава грибного сообщества на границе опада (горизонт L) и нижележащего слоя F, в котором подстилка утрачивает свою структурную целостность (рис. 15.11). В недавно образо-

Таблица 15.3. Вертикальное распределение таксонов эктомикоризных грибов в профиле подзолистой почвы.

	O	E1	E2	EB	B1	B2	C
Tylospora spp.	×	×	×	×		×	×
Cortinarius spp.	×		×	×	×	×	×
Piloderma reticulatum	×	×	×	×		×	×
Piloderma spp. JS15686	×	×			×	×	
Piloderma byssiium	×						
Inocybe	×						
Tomentellopsis submollis	×	×					
Piloderma fallax	×	×	×				
Hygrophorus olivaceoalbus	×	×	×				
Russula decolorans	×	×	×	×			
Dermocybe spp.	×	×	×	×			
Томентеллоидный			×				
Lactarius utilis			×	×	×	×	
Piloderma spp.2			×	×	×	×	
Piloderma spp.3				×	×	×	
Piloderma spp.1				×	×	×	
Suillus luteus			×	×	×	×	×
НИ ≠ 15						×	
НИ ≠ 12						×	
Wilcoxina							×
Russula adusta							×
Tricholoma portentosum							×

Данные взяты из Rosling et al., 2003. O — органический горизонт; E1 и E2 — элювиальные горизонты; B1и B2 — иллювиальные горизонты; C — материнская порода; НИ — неидентифицированный микобионт.

ванной подстилке (менее 4 лет назад) в самой верхней части профиля преобладали сапротрофные грибы, среди которых особенно выделялись немикоризные аскомицеты из пор. Helotiales. В этой зоне происходила минерализация органического C, и удерживался N. ЭМ грибы, представители так называемой «поздней стадии» (рис. 15.11), впервые появляются в качестве основного компонента грибного сообщества в более старой фрагментированной подстилке и гумусе ферментативного горизонта. Зона гумуса характеризуется небольшим увеличением отношения C:N по мере старения органического вещества, что указывает на изъятие N организмами, использующими C, полученный от корней. Селективное использование N можно предполагать на основании существенного повышения значения $\delta^{15}N$ на этом уровне. Считается, что обогащение ^{15}N обусловлено фракционированием более тяжелого изотопа при транспорте N из почвы по гифам ЭМ грибов к их растительным партнерам (Högberg et al., 1996, 1999; Lindahl et al., 2002; Berg, McClaugherty, 2003; Hobbie, Colpaert, 2003; Hobbie et al., 2005). Одними из первых среди ЭМ грибов в верхней части профиля появляются виды рода *Cortinarius*, которые избирательно колонизируют отмершие мхи. Селективное использование стареющих частей побегов зеленых мхов ЭМ грибами было отмечено ранее (Carleton, Read, 1991, см. рис. 15.16; Genney et al., 2006). Оно может быть особенно важным в бореальных сооб-

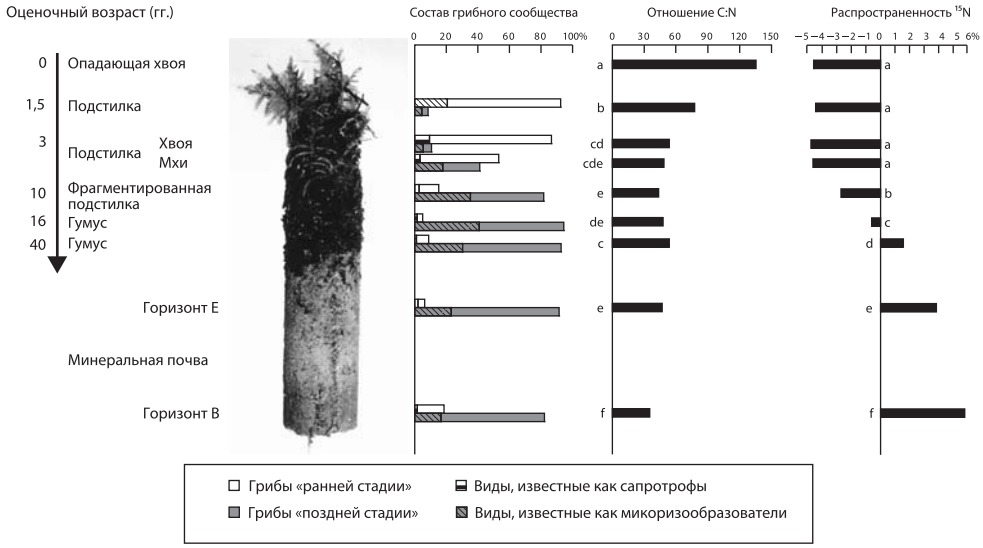


Рисунок 15.11. Состав грибного сообщества, отношение углерод: азот (C:N) и распространенность ^{15}N ($\delta^{15}N$) в верхней части почвенного профиля леса, образованного *Pinus sylvestris*, в Скандинавии. Разные буквы на диаграммах обозначают статистически достоверные различия между горизонтами по значениям C:N и распространенности ^{15}N. Стандартная ошибка среднего <0,3% для распространенности ^{15}N и <3 для значений C:N (n = 19–27, для недавно опавшей хвои n = 3). Возраст органического вещества вычислен по превышающему среднее значению $\Delta^{14}C$ трех образцов из каждого горизонта (пяти образцов в случае фракции подстилки 2 (хвоя)), с вычетом срока смены хвои (3 года). Данные о составе сообщества выражены в виде частоты наблюдений. Грибами «ранней стадии» названы те виды, которые с более высокой частотой встречаются в образцах опада сравнительно с более старым органическим веществом и минеральной почвой. Грибы «поздней стадии» - те виды, которые встречаются с более высокой частотой в более старом органическом веществе. Из Lindahl et al., 2007.

ществах с преобладанием перистых мхов в нижнем ярусе. Как и в исследовании А. Рослинг с соавт., было отмечено, что видовой состав ЭМ сообщества менялся при переходе из органических горизонтов в залегающие глубже минеральные. Методом канонического анализа соответствия, которым смену состава грибного сообщества сравнивали с изменениями соотношения C:N и содержания ^{15}N в почвенных горизонтах (рис. 15.12), показана наиболее сильная связь эктомикоризных грибных таксонов с положительными изменениями отношения C:N и заметным повышением обилия ^{15}N. Сапротрофные грибы, напротив, были ассоциированы с отрицательными изменениями значения C:N и слабым изменением обилия ^{15}N.

Несмотря на сложность интерпретации подписей $\delta^{15}N$ тканей, данные недавних исследований позволяют сделать некоторые осторожные обобщения о возможном характере использования источников N в почве в пределах функциональной группы ЭМ и провести сравнение между симбиотрофными и сапротрофными грибами. Эти обобщения основаны на имеющейся информации о том, что фракционирование $\delta^{15}N$ в результате минерализации почвенного N приводит к истощению $\delta^{15}N$ в минеральных источниках этого элемента и обогащению устойчивых органических соединений N гумуса (Nadelhoffer, Fry, 1994; Kohzu et al., 1999). Сравнитель-

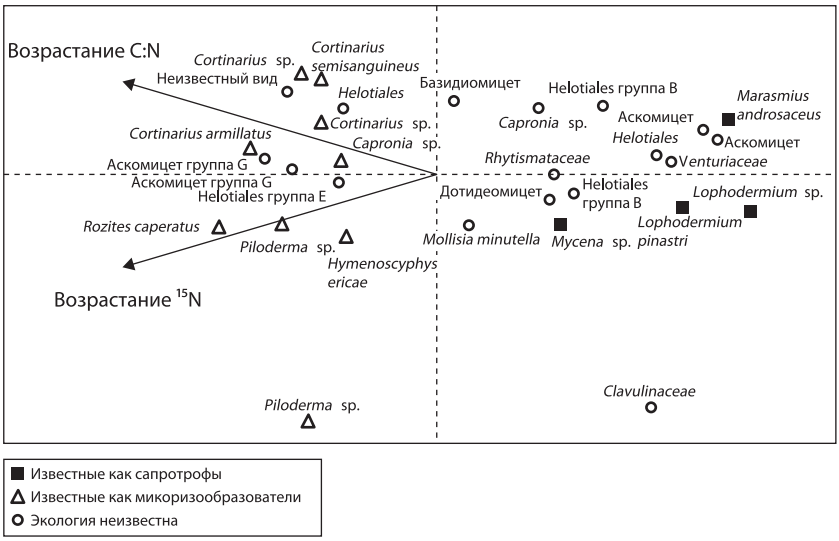


Рисунок 15.12. Канонический анализ соответствия, описывающий зависимость между составом грибного сообщества и изменениями соотношения углерод: азот (C:N) и распространенностью ^{15}N в бореальной лесной почве. Стрелками отмечено возрастание соотношения C:N или распространенности ^{15}N по мере накопления органического вещества. ■ — таксоны, известные как сапротрофы; Δ — таксоны, известные как эктомикоризообразователи; ○ — таксоны, экология которых неизвестна. Из Lindahl et al., 2007.

ный анализ ЭМ и сапротрофных групп грибов свидетельствует, что первая из них обычно обогащена $\delta^{15}N$ сравнительно со второй (Hobbie et al., 1999, 2001; Kohzu et al., 1999), предположительно, потому, что ЭМ грибы в большей степени используют трудноусвояемые источники N. Более глубокое понимание происходящих процессов было достигнуто в ходе исследований, в которых $\delta^{15}N$ подписи субстратов напрямую сравнивали со значениями для развивающихся на них грибов (Gebauer, Dietrich, 1993; Gebauer, Taylor, 1999). Полученные данные свидетельствуют о том, что существенные различия в характере усвоения N ЭМ и сапротрофными грибами на основании различий их $\delta^{15}N$ подписей могут представлять собой чрезмерное упрощение. При сравнении $\delta^{15}N$ подписей компонентов почвы, которые предполагаемо поддерживают жизнедеятельность мицелия различных грибов с таковыми у плодовых тел в смешанных лесах центральной Европы было выявлено четыре функциональные группы (Gebauer, Taylor, 1999). Две из них составляли ЭМ грибы, для которых известна способность к утилизации органического N, и сапротрофы, способные использовать N из гумуса. Плодовые тела представителей обеих групп были обогащены $\delta^{15}N$. Оставшиеся две группы состояли из ЭМ грибов, неспособных использовать полимерные источники N, и сапротрофов, развивающихся на разлагающейся древесине. В обоих случаях плодовые тела демонстрировали обеднение $\delta^{15}N$. Очевидно, возможно предполагать, что, хотя $\delta^{15}N$ подпись отражает тип источника N, она может не обеспечивать достаточного различия между функциональными группами ЭМ грибов и сапротрофов.

Дальнейшие свидетельства в пользу мнения, что $\delta^{15}N$ подписи плодовых тел ЭМ грибов отражают значения для субстрата, были получены при сравнении отношений между подписями природных образцов грибов и способностью тех же видов

к использованию органического N при росте в чистой культуре (Lilleskov et al., 2002a). Такие виды как *Tricholoma inamoenum*, которые хорошо растут при добавлении белков и обладают чувствительностью к высокому содержанию неорганического N в почве (Lilleskov et al., 2001), демонстрировали наиболее высокие значения $\delta^{15}N$ в плодовых телах, в то время как виды *Laccaria*, относительно нечувствительные к большому количеству неорганического N и неспособные к использованию органических источников этого элемента в культуре, показывали самый низкий уровень $\delta^{15}N$ обогащения.

Из данных, представленных в гл. 9 и 10, следует, что ЭМ грибы, выделенные из местообитаний в пределах бореальной и умеренной зоны, мало отличаются от сапротрофов по своим предпочтениям в отношении неорганических форм N и P и способностям к их ассимиляции. Когда минеральные соединения присутствуют в почвенном растворе, основной функцией микобионта является усиление их поглощения путем обеспечения динамичной и обширной абсорбирующей системы, представленной сетью свободного мицелия. Однако накапливаются данные о том, что эти элементы, особенно, минеральный N, часто находятся в почвах в столь малых количествах, что являются лимитирующими факторами продуктивности сообществ (Tamm, 1991). Вследствие этого, в последние два десятилетия повышенное внимание было обращено на потенциальную способность ЭМ грибов бореального и умеренного биомов к разложению некоторых макромолекулярных органических соединений, присутствующих в их непосредственном окружении, что обеспечивает доступ к дополнительным источникам N и P (Read, Perez-Moreno, 2003).

Попытки установить функциональные свойства ЭМ грибов в значительной степени зависят от анализа их способностей к разложению сложных субстратов в чистой культуре (см. гл. 8, 9 и 10). Так как успешно культивируемые грибы, используемые в подобных исследованиях, составляют меньшинство среди микоризообразующих видов, интерпретировать результаты, полученные в экспериментах с их использованием, следует с осторожностью. Тем не менее, было продемонстрировано наличие некоторых способностей к разложению структурных полимеров, соответствующих представленным в остатках растительного и грибного происхождения. Можно ожидать, что активность такого рода обеспечивает доступ к полимерным источникам N и P или соединениям с углеродным полимерным каркасом. Тем не менее, не стоит преувеличивать способности ЭМ грибов к осуществлению функций деструкторов. При сравнении этой функциональной группы грибов с симбионтами эрикоидной микоризы (Bending, Read, 1996a, b; см. гл. 11) или сапротрофами (Maijala et al., 1991; Colpaert, van Laere, 1996; Colpaert, van Tichelen, 1996), способности ЭМ грибов к деполимеризации сложных источников C были несравнимо ниже, чем у представителей других групп. Отсутствие у большинства ЭМ грибов способности к проникновению сквозь клеточную стенку их автотрофных партнеров может быть следствием их низкой целлюлозолитической активности. Кроме того, утверждения о наличии у ЭМ грибов генов, ответственных за лигнолитическую активность (Chen et al., 2001), были опровергнуты (Cairney et al., 2003). Лигнолитическая активность, возможно, будет обнаружена у некоторых до сих пор некультивируемых ЭМ грибов, но, весьма вероятно, что эти способности были утрачены после перехода от сапротрофного к микоризному образу жизни (см. гл. 6).

После наблюдений избирательной пролиферации ЭМ корневых окончаний и ассоциированного с ними мицелия в залегающих под подстилкой органических горизонтах в почвах бореальных и умеренных лесов, экспериментальным путем была показана различная степень мобилизации питательных веществ из этих субстратов. При сравнении содержания N и P в органическом веществе, на котором развивался образующий мицелиальные маты вид *Hysterangium setchelii*, и находящемся рядом неколонизированном участке наблюдали более чем 30%-ное сокращение

обоих элементов в органических остатках, заселенных грибом (табл. 15.4) (Entry et al., 1991a). Были проведены исследования в лабораторных мезокосмах, направленные на изучение способности видов *Suillus bovinus* и *Thelephora terrestris* в симбиозе с сосной (*Pinus sylvestris*) мобилизовать питательные вещества из соснового опада, собранного в горизонте FH (Bending, Read, 1995a) (см. приложение 6.2). Выяснилось, что оба вида могут экспортировать некоторое количество N и P из органических субстратов, но между ними имеются различия (табл. 15.4). Вид *S. bovinus* транспортировал значительно большее количество обоих элементов, чем *T. terrestris*. Когда аналогичные способности вновь проанализировали в симбиотической системе *Betula pendula – Paxillus involutus* с использованием подстилки различных типов, наблюдалось явное использование источников P, но при этом слабое сокращение содержания N в подстилке (Perez-Moreno, Read, 2000) (табл. 15.4). Такого типа различия в результатах разных работ могут отражать межвидовое варьирование способностей ЭМ грибов к мобилизации N из подстилки или быть следствием использования в экспериментах разных сроков инкубации. Это еще раз подтверждает необходимость осторожности обобщения на основании данных, полученных для одной микоризной системы и одного типа субстрата.

При закапывании растительных остатков из горизонтов L, F и H в посадках *Pinus resinosa* заметное снижение отношения C:N наблюдалось даже после 16 месяцев инкубации (Koide, Wu, 2003). Авторы указывают, что продолжительность изменений значения C:N и стадия, на которой высвобождение N будет максимальным, зависит от факторов окружающей среды, действующих в данном местообитании. Например, доступность влаги, которая в некоторых местообитаниях может быть снижена ввиду деятельности корней, может оказывать существенное влияние на активность микроорганизмов. Эта активность выше в условиях постоянного увлажнения, но, иногда, при повышенной температуре при инкубировании в лаборатории, исследования в условиях мезокосма подтверждают использование ЭМ грибами N и P из подстилки и соответствующее увеличение значений C:N и C:P. Об эффективном усвоении N и P в процессе разложения свидетельствует очень низкий остаточный уровень этих элементов в более глубоко залегающих слоях гумуса в лесных почвах (Stevenson, 1982).

Эти данные оставляют открытым вопрос о природе богатых N и P субстратов, используемых ЭМ грибами в горизонте FH и в соседствующих с ним. Широко известно, что органические источники N в гумусированной почве быстро осаждаются совместно с полифенольными соединениями (Handley, 1954; Northup et al., 1995), и результаты, полученные в лабораторных исследованиях, указывают на очень слабую способность протестированных ЭМ грибов высвобождать N и P из таких комплексов (Bending, Read, 1996a; Wu et al., 2003). Ввиду наличия у ЭМ грибов высоких потребностей в питании, особенно, в отношении N, можно ожидать, что их поисковая активность будет направлена на те источники данного элемента, которые не подвергаются кополимеризации или совместному осаждению с полифенольными соединениями. В почвах бореальных и многих умеренных лесов, где находится много полифенольных остатков, это будет означать, что грибы должны разлагать богатые N субстраты до того, как они будут иммобилизованы в почве.

После выявления таких ограничений при постановке новой серии опытов были изучены способности отдельных видов ЭМ грибов к мобилизации N из субстратов одновременно имеющих низкое содержание фенолов и присутствующих в бореальных лесных почвах в достаточно больших количествах. Среди использованных в исследованиях веществ отмерший мицелий (мортмасса) самих ЭМ грибов (Andersson et al., 1997), пыльца (Perez-Moreno, Read, 2001a), семена (Tibbett, Sanders, 2002) и составляющие большую долю в сообществе представители бореальной почвенной мезофауны, такие как нематоды (Perez-Moreno, Read, 2001b) и коллембо-

Таблица 15.4. Мобилизация питательных элементов, выраженная в процентах утраты азота (N) и фосфора (P) из различных органических природных субстратов, эктомикоризными грибами в симбиозе с разными видами растений (выделено жирным шрифтом) и параллельно в контроле, где микоризный мицелий отсутствовал или был развит очень слабо.

Тип субстрата	Мобилизация элементов питания (%)			Пара растение-хозяин – эктомикоризный гриб	Источник
	N	P	Время (дни)		
Растительные остатки					
Опад дугласовой ели	**32**	**33**	**365**	*Pseudotsuga menziesii* – маты *Hysterangium setchellii*	Entry et al., 1991b
Опад дугласовой ели	16	19	365	Контроль (без растения) – микоризные гифальные маты отсутствуют	
Сосна ВФГ	**23**	**22**	**120**	*Pinus sylvestris – Suillus bovinus*	Bending, Read, 1995a
Сосна ВФГ	**13**	**3**	**120**	*Pinus sylvestris – Thelephora terrestris*	
Сосна ВФГ	5	0	120	Контроль (без растения) – микоризный гриб отсутствует	
Береза ВФГ	**0**	**40**	**90**	*Betula pendula – Paxillus involutus*	Perez-Moreno, Read, 2000
Сосна ВФГ	**1**	**35**	**90**	*Betula pendula – Paxillus involutus*	
Бук ВФГ	**14**	**37**	**90**	*Betula pendula – Paxillus involutus*	
Сосна ВФГ	**25**	**63**	**90**	*Betula pendula – Pinus sylvestris* соединены мицелием *Paxillus involutus*	Х. Перес-Морено, Д. Рид (неопубликованные данные)
Сосна ВФГ	**25**	**54**	**90**	*Betula pendula – Pinus sylvestris* соединены мицелием *Paxillus involutus*	
Пыльца					
Пыльца сосны	**76**	**97**	**115**	*Betula pendula – Paxillus involutus*	Perez-Moreno, Read, 2001a
Пыльца сосны	42	35	115	Контроль (немикоризное растение) – микоризный гриб отсутствует	
Почвенные животные					
Нематоды	**68**	**65**	**150**	*Betula pendula – Paxillus involutus*	Perez-Moreno, Read, 2001b
Нематоды	37	25	150	Контроль (немикоризное растение) – микоризный гриб отсутствует	

Условные обозначения: ВФГ — вещество ферментативного горизонта

лы (Klironomos, Hart, 2001). Скорость и интенсивность, с которой микобионты заселяют эти богатые питательными веществами субстраты, поразительна (см. приложение 6.3Б). При использовании в качестве субстрата пыльцы и нематод колонизация ЭМ грибами приводила к изъятию достоверно большего количества N и P из исходного вещества сравнительно с колонизацией сапротрофами (см. табл. 15.4).

Широко используемые представления о мобилизации N ЭМ грибами как ключевом процессе в бореальных лесах могут помешать выявлению более тонких различий, связанных с определенными локальными изменениями условий в почве. Лучше всего эти тонкости можно продемонстрировать при анализе локальных градиентов, вдоль которых в зависимости от геологических, топографических или гидрологических особенностей заметно изменяется pH почвы, форма N и состав растительности под пологом. На трансекте длиной 90 м, заложенной по такому градиенту в Бетселе (север Швеции), обнаружено изменение кислотности почвы от значения pH 3,5 на одном конце, где поступала дождевая вода, до почти нейтральной области (pH 6,4) на другом, где был выход обогащенных основаниями грунтовых вод (Giesler et al., 1998; Högberg et al., 2003) (рис. 15.13А, Б, В). Вдоль того же градиента при смене значений pH от кислых до нейтральных также значительно снижалось отношение C к N (Högberg et al., 2003, 2006). На трансекте отмечены существенные изменения в составе верхнего и напочвенного ярусов, а также общей микрофлоры и микоризной составляющей сообщества. Вероятно, они определяются градиентом источников N, в котором органический N преобладает в кислой области, а минеральный N присутствует, в основном, в форме аммония, в центральной части, а нитрата — на противоположном конце градиента. Сосняк (*Pinus sylvestris*) с нижним ярусом, представленным вересковыми кустарничками, на начале трансекты (в области повышенной кислотности) постепенно сменялся ельником (*Picea abies*), вначале с низкотравным, а затем с высокотравным растительным сообществом на богатой нитратом почве. Несмотря на то, что ни дыхание почвы, ни общая почвенная микробная биомасса не менялись по градиенту, анализ подписей фосфолипидных жирных кислот (см. гл. 2 и 6) этой биомассы предполагает, что физико-химические переходы приводят к значительным качественным изменениям в микробных популяциях (Högberg et al., 2003, 2006). Подписи показывают, что по мере увеличения значений pH (рис. 15.14А) и доступности минерального N (рис. 15.14Б) по градиенту происходит резкое снижение отношения грибного к бактериальному компонентов биомассы. Также их значения указывают на изменение структуры грибного сообщества от преобладания ЭМ и ЭрМ грибов в кустарничковых сосняках и условиях низкотравья (рис. 15.15А) к доминированию АМ грибов в области высокотравья, что следует из распространения предполагаемой АМ грибной метки 16:1ω5c (рис. 15.15Б). Эти исследования подтвердили, что доступность N является основным фактором, определяющим как тип, так и функции микориз в бореальном биоме. Существует гипотеза о том, что в условиях малого поступления N в области градиента с повышенной кислотностью автотрофы увеличивают долю продуктов фотосинтеза, направляемых в подземную часть (Högberg et al., 2003). Помимо стимуляции активности грибных симбионтов этот процесс должен приводить к созданию в подстилке высокого отношения C:N. И напротив, широко известно, что если в бореальных лесных системах происходит повышение содержания N, оно ведет к уменьшению доли C в подземной части сообщества (Waring, Running, 1998). Это может наносить достаточно сильный ущерб ЭМ грибным симбионтам с их высокими потребностями в C, в меньшей степени влияя на бактерии и АМ грибы. Эта схема согласуется с данными, полученными для экосистем подобного типа с применением подписей фосфолипидных жирных кислот. Показано, что из двух маркеров, 18:1ω6,9 и 18:2ω6,9, соответствующих ЭрМ и ЭМ грибной биомассе, 18:2ω6,9 был высокочувствителен к доступности минерального

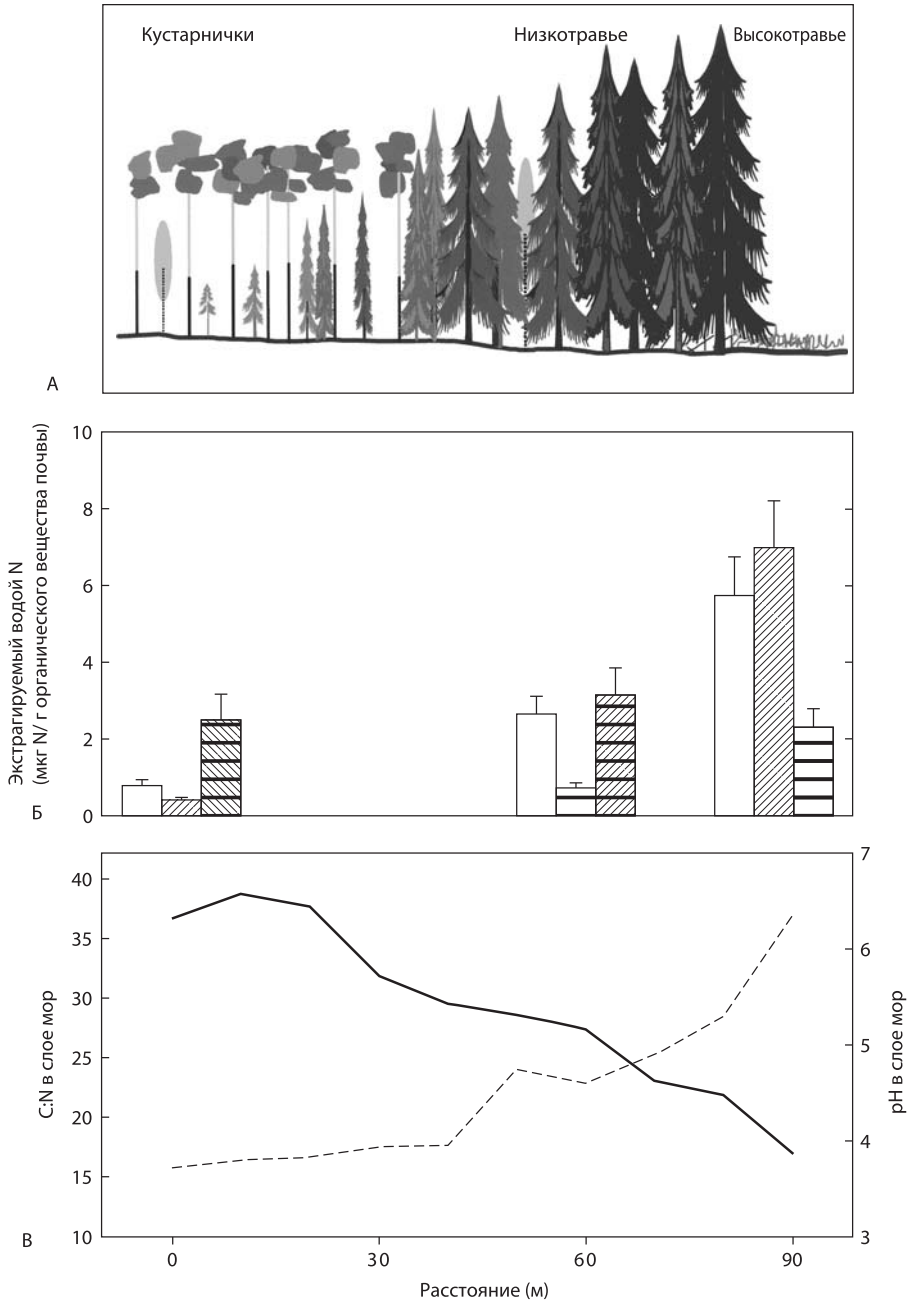


Рисунок 15.13. Градиент продуктивности растений в Бетселе. А — типы леса: кустарничковый нижний ярус на расстоянии 0–40 м, низкотравный нижний ярус 50–80 м и высокотравный нижний ярус на 90 м. Б — экстрагируемые водой формы N: прозрачные столбцы, аммоний; косая штриховка, нитрат; перекрещенная штриховка, аминокислоты. В — отношение C:N в почве мор (сплошная линия) и pH почвенного раствора (пунктир). Из Högberg et al., 2003.

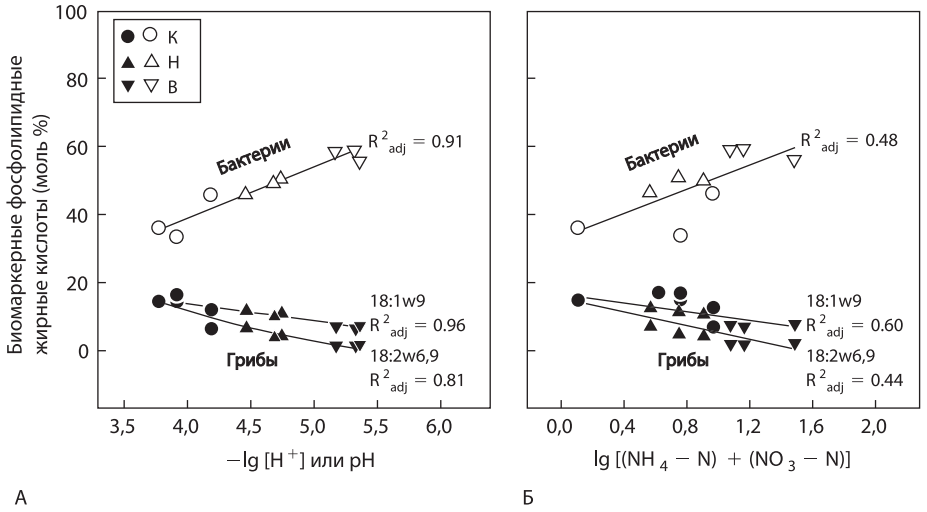


Рисунок 15.14. Разделение между основными функциональными группами микроорганизмов в сообществах с тремя различными типами нижнего яруса. Зависимость между подписями грибных и бактериальных липидных биомаркеров и (А) $-\log_{10}(H^+)$, т.е., pH почвы и (Б) $\log_{10}$ (неорганический N). Двенадцать фосфолипидных жирных кислот были использованы в качестве биомаркеров для бактерий и две — для грибов. К — кустарнички; Н — низкотравье; В — высокотравье. Из Högberg et al., 2007.

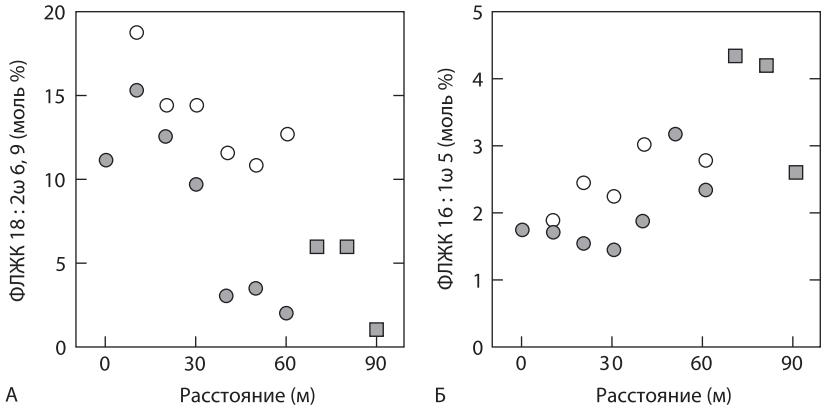


Рисунок 15.15. Молярная доля (%) отдельных фосфолипидных жирных кислот (ФЛЖК) в горизонтах F (○), H (●), и F + H (■) слоя мор вдоль градиента в лесу Бетселе. А — 18:2ω6 9 — индикатор ЭрМ+ЭМ грибов; Б — 16:1ω5 — индикатор АМ грибов. Из Högberg et al., 2003.

N (Högberg et al., 2006). Это наблюдалось не только на природном градиенте содержания N в Бетселе (рис. 15.16А), но также и при внесении трех различных концентраций минерального N в находящемся недалеко сосновом лесу с вересковыми кустарничками (рис. 15.16В). Различный характер распределения двух маркеров сохранялся также и после кольцевания сосен, под пологом которых развивались вере-

сковые кустарнички, в Ахедене (рис. 15.16Б). Так как в последней точке на поступление С в ЭМ сообщество было обращено особое внимание, можно заметить, что 18:2ω6,9 представляет собой лучший маркер для ЭМ грибов. Насколько подпись 18:1ω6,9 отражает ЭрМ и сапротрофные грибы, еще предстоит выяснить. В сумме полученные результаты предполагают, что в условиях, когда постоянно поддерживается приток С от автотрофного партнера, структура популяций грибных симбионтов в бореальных лесах в основном определяется количественными и качественными аспектами баланса N в почве.

Помимо данных (рис. 15.15Б) о том, что под влиянием локального повышения значений pH и N обогащения возможно увеличение АМ мицелиального компонента почв бореальных лесов, имеется очень мало информации о степени функционирования АМ колонизации в сообществах травянистых растений, развивающихся в подобных условиях. Показано, что виды рода *Pulsatilla*, растущие на почвах с pH 8,6 в бореальной зоне Эстонии, обширно колонизированы АМ грибами (Opik et al., 2003). В составе АМ грибного сообщества имелись географические различия, но предварительный анализ разных видов *Pulsatilla* показал отсутствие специфичности в симбиозах. Когда семена двух видов рода были высеяны в почву с внесением АМ грибного инокулюма или без него, в случае наличия АМ грибов приживаемость растений была ниже (Moora et al., 2004). В этом исследовании показано, что АМ грибной инокулюм из лугового сообщества в отношении колонизации корней был более эффективен, чем полученный из почвы бореального леса, и способствовал более высокой продуктивности одного из видов *Pulsatilla* и повышению содержания P в его тканях, в то время как «лесной» инокулюм был несколько более эффективен в симбиозе со вторым видом растения. Был сделан вывод, что различные ответные реакции у видов, принадлежащих к одному роду, могут быть обусловлены специфичностью грибного симбионта. Необходимы дальнейшие исследования подобного рода, так как на долю травянистых сообществ в бореальных лесах приходится большая часть видового разнообразия растений биома.

Хотя P редко является основным лимитирующим фактором в таких сообществах, интересно то, что процессы его иммобилизации и высвобождения в подстилке сходны с таковыми для N (Berg, McClaugherty, 1989). Как и в случае N, наступление энергетического дефицита в популяциях сапротрофов будет способствовать успешной конкуренции за P со стороны ЭМ грибов с их способностью к образованию целого ряда фосфомоно- и диэстераз (см. гл. 10). Конечно, сохранение ЭМ образа жизни в лесах с типом гумуса мулль, в которых происходит активная нитрификация (Aber et al., 1989; Ellenberg, 1988), может быть связана со способностью этих грибов к высвобождению P из органических остатков. Кроме распространенных данных о наиболее интенсивной пролиферации ЭМ мицелия в FH горизонте, имеются свидетельства, что в меньшем масштабе характер роста гиф будет обеспечивать наиболее тесный контакт с источником питательных веществ определенного типа. С помощью световой микроскопии удалось наблюдать избирательное усвоение гифами ЭМ грибов сосновой хвои, частей ваий папоротника *Pteridium* и трупов животных (Ponge, 1990). Пытаясь воссоздать условия, близкие к преобладающим в ЭМ хвойных зеленомошных растительных сообществах, которые занимают большую площадь в пределах зоны бореальных лесов, Т.Дж. Карлтон и Д.Дж. Рид выращивали микоризные сеянцы *Pinus* вместе с зеленым мхом *Pleurozium schreberi* (Carleton, Read, 1991). Гифы грибного симбионта *Suillus bovinus* избирательно колонизировали стареющие части побегов мха и образовывали вокруг них чехловидные структуры (рис. 15.17), что, как было показано, обеспечивает возможный доступ к ресурсам мха. Весьма вероятно, что в природе такая колонизация обеспечивает ключевые связи в круговороте питательных веществ, так как большинство элементов из почвенной подстилки в таких экосистемах перехватывает моховой ярус.

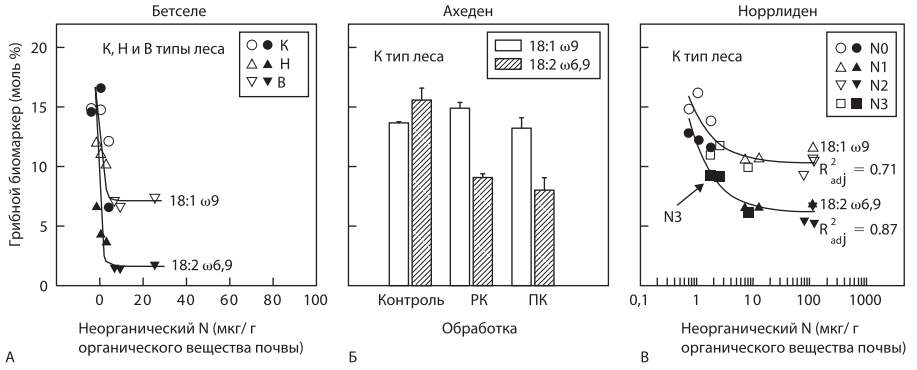


Рисунок 15.16. Влияние концентрации почвенного N и кольцевания деревьев на абсолютные и относительные количества двух фосфолипидных жирных кислот (ФЛЖК), биомаркеров грибов, 18:1ω6,9 и 18:2ω6,9 в бореальных лесах. А — количество маркера 18:2ω6,9 снижается сильнее, чем 18:1ω6,9 по естественному градиенту увеличения минерального N от кустарничкового (К) через низкотравное (Н) к высокотравному (В) сообществу в Бетселе. Б — в то время как подпись 18:1ω6,9 не снижалась в ответ на раннее (РК) или позднее (ПК) кольцевание стволов, подпись 18:ω6,9 сократилась примерно на 50% в ходе эксперимента в сообществе с кустарничковым (К) нижним ярусом в Ахедене. В — внесение минерального N в качестве удобрения в трех концентрациях (N1, N2, N3 и контроль N0) приводило к постепенно возрастающему уменьшению 18:2ω6,9 сравнительно с 18:1ω6,9 в другом типе леса с кустарничковым нижним ярусом в Норрлидене. Из Högberg et al., 2007.

В еще меньшем масштабе Р. Агерером были показаны структурные модификации гифальных окончаний у ЭМ грибов в точке соприкосновения с определенными веществами почвы (Agerer, 1991b). Кончик гифы крепится к субстрату с помощью аппрессорииеподобной структуры (рис. 15.18), обеспечивающей увеличение площади контакта, где происходит биохимическое взаимодействие. Вероятно, у кончиков ЭМ гиф стенки менее гидрофобны, чем на других участках (Unestam, Sun, 1995; Sun et al., 1999). Именно в районе кончика гифы происходит наиболее активное взаимодействие с окружающей средой. Ввиду роли гиф в транспорте веществ на большие расстояния как каналов, по которым идет передвижение С и минеральных соединений как в сторону растущего кончика, так и в обратном направлении, непроницаемость их стенок в зрелом состоянии может быть наиболее важным свойством.

Помимо взаимодействий с органическими соединениями, все большее внимание исследователей привлекает возможность образования минеральных соединений при выделении протонов, органических анионов или CO_2 из кончиков гиф. Выявление того, что в подзолистых почвах значительная доля ЭМ корневых окончаний (см. выше) может встречаться в минеральных горизонтах и некоторые грибы-симбионты локализованы именно в этой области почвенного профиля, привело к предположению об их непосредственном участии в растворении минералов и вкладе в процессы подзолообразования (van Breemen et al., 2000b; Smits, 2006; Wallander, 2006). Интерес к этому аспекту физиологии микориз усилился после обнаружения небольших (3–10 мкм в диаметре) туннелеобразных структур в частицах роговой обманки и полевого шпата в подзолистых почвах бореальных лесов Швеции (Jongmans et al., 1997). Как считается, эти туннели образовались в результате растворения под действием низкомолекулярных органических кислот, выделяе-

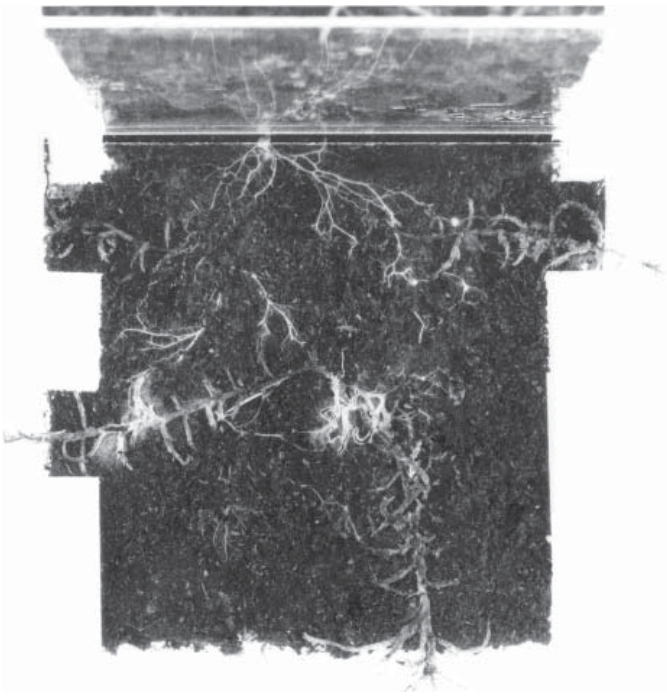


Рисунок 15.17. Камера для наблюдений, где видна колонизация стареющих частей побегов мха *Pleurozium schreberi* мицелием *Suillus bovinus* (отмечено стрелкой), растущего от колонизированного растения *Pinus contorta* (не показано). Из Carleton, Read, 1991, с разрешения.

мых гифами ЭМ грибов. Впоследствии было сделано предположение, что продукты растворения, в особенности P, из апатитовых включений полевого шпата, а также Ca, Mg и K транспортируются к корням в обход основного почвенного раствора (van Breemen et al., 2000a; Landeweert et al., 2001). Следующими важными свидетельствами в пользу возможного участия гиф в образовании туннелей было выявление положительной линейной зависимости между длиной туннелей и обилием ЭМ корневых окончаний (Hoffland et al., 2003), а также наблюдения того, что туннели встречаются почти исключительно в ЭМ лесах бореального и умеренного биомов (Hoffland et al., 2002). Однако до настоящего времени нет полученных в ходе наблюдений или экспериментальным путем непосредственных свидетельств участия гиф ЭМ грибов в образовании туннелей. Гифы занимают менее 1% выявленных туннелей, и отсутствуют прямые доказательства того, что их происхождение связано с ЭМ. Кроме того, расчеты (Smits, 2006) и модели (Sverdrup et al., 2002) показывают, что образование туннелей в минеральных частицах вносит очень малый вклад в общее выветривание в почвах. Однако сохраняется возможность того, что ввиду присущей грибам способности к выделению низкомолекулярных органических анионов (Gadd, 1999), а также к подкислению почвы путем высвобождения протонов (Rosling et al., 2004b), ЭМ грибное сообщество может оказывать влияние на процессы минерализации в почве (см. гл. 10).

Когда была оценена угроза, создаваемая бореальным и умеренным лесным биомам антропогенным повышением содержания C в атмосфере и накоплением N, началось изучение ответных реакций ЭМ сообществ на повышение содержания обо-

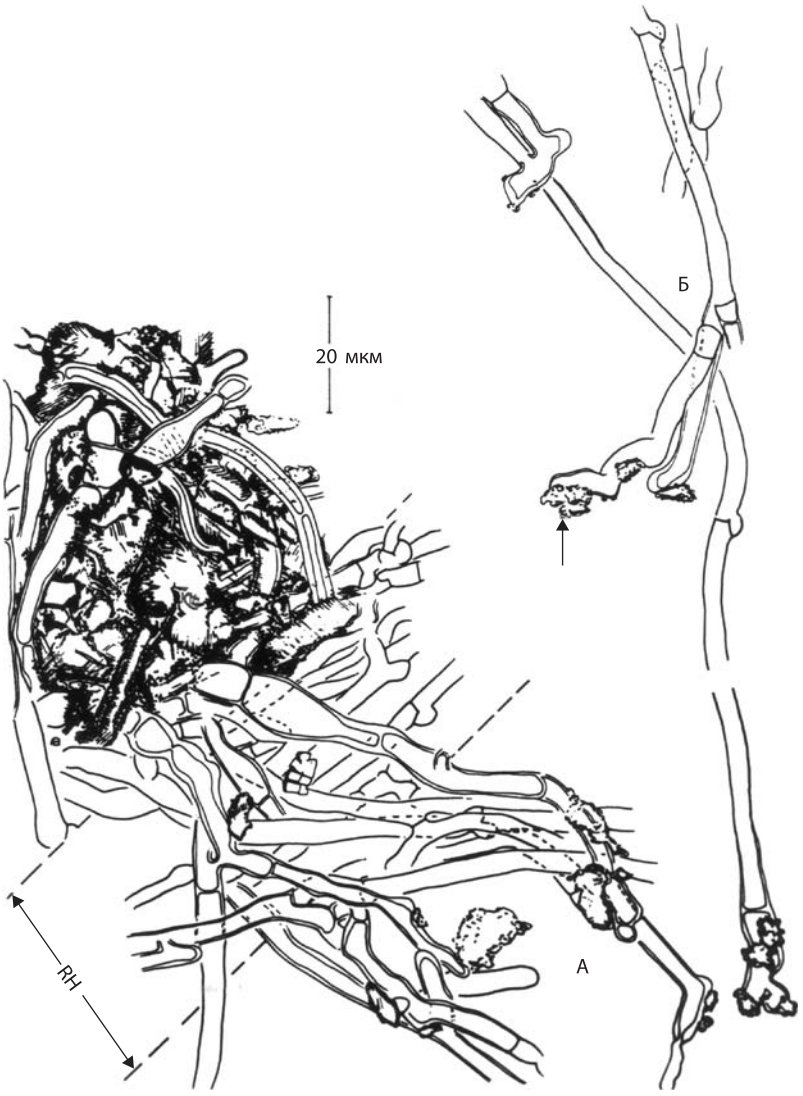


Рисунок 15.18. Толстостенные гифы *Sarcodon imbricatus*. А — гифы, растущие в частицах гумуса. Б — в близком контакте с органическим веществом в почве находятся толстостенные гифы с несколько вздутыми, аппрессориеподобными кончиками, прилипающими к почвенным частицам (отмечено стрелкой). Из Agerer, 1991, с разрешения.

их элементов. Было показано, что в условиях обогащения CO_2 происходят значительные изменения относительного обилия различных морфотипов ЭМ, и увеличивается доля типов с большим количеством ризоморф и свободного мицелия (Godbold et al., 1997; Godbold, Berntson, 1997). Увеличение вдвое концентрации CO_2 около надземной части *Betula pendula* приводит к стимуляции роста ЭМ мицелия как у *Paxillus involutus*, так и у *Suillus bovinus* в условиях микрокосма. Так как вид *P. involutus* был более восприимчив, чем *S. bovinus*, это можно считать очередным

примером межвидовых различий в пределах ЭМ сообщества (Rouhier, Read, 1998). Посредством влияния на доступность С, можно ожидать, что увеличение содержания CO_2 в окружающей среде будет воздействовать на продуктивность и срок существования микоризных корней и ассоциированного с ними мицелия. Имеются данные, что повышение концентрации CO_2 в микрокосмах с ЭМ растениями *Pinus ponderosa* приводило к увеличению продуктивности корней, но не оказывало влияние на продолжительность их жизни (Rygiewicz et al., 1997). Однако при интерпретации результатов экспериментов, приведенных выше, следует иметь в виду, что резкое, а не постепенное нарастание концентрации CO_2 может приводить к мощным и, возможно, нереалистичным, ответным реакциям (Klironomos et al., 2005; см. гл. 2).

Ответные реакции ЭМ систем на увеличение содержания CO_2 являются предметом ряда недавно вышедших обзорных работ (Gorrissen, Kuyper, 2000; Treseder, Allen, 2000; Rillig et al., 2002a), а также мета-анализа (Treseder, 2004; Albertson et al., 2005). Делать выводы на основании этих анализов следует весьма осторожно, так как и условия проведения экспериментов, и наблюдаемые реакции при изучении влияния CO_2 заметно различались. Эта ситуация сходна с наблюдаемой при исследовании АМ симбиозов (см. гл. 2). Несмотря на все разнообразие, в целом результаты указывают на тот факт, что и ЭМ растения, и их грибные партнеры дают положительные ответные реакции на повышение содержания CO_2 в окружающей среде. Возможно, неудивительно, что в определенных парах симбионтов степень выраженности ответа автотрофного и грибного партнеров может быть очень различной (Albertson et al., 2005). Расчеты коэффициентов отклика, проведенные на основании целого ряда морфологических и физиологических параметров, показывают, что активность микобионтов в ЭМ симбиозах очень заметно стимулируется обогащением CO_2. В ходе экспериментов было продемонстрировано увеличение значения коэффициента отклика на 34% у ЭМ грибов при повышенным содержании CO_2 сравнительно с обычной концентрацией этого соединения в окружающей среде (Albertson et al., 2005). Так как эта цифра заметно больше, чем в случае АМ грибов (увеличение на 21%), то можно прогнозировать, что сообщества, в которых преобладают ЭМ симбиозы, будут в большей степени затронуты глобальным повышением содержания CO_2, чем те, которые состоят преимущественно из АМ видов. ЭМ растения в среднем обычно менее восприимчивы к CO_2, чем их грибные партнеры. При увеличении концентрации на 26% значение коэффициента отклика увеличивается только на 1% по сравнению с АМ растениями. Ввиду более высокой восприимчивости грибов, особенно ЭМ, к повышению содержания CO_2 назрела необходимость «микоцентристского» подхода к анализу ответных реакций сообщества на увеличение количеств этого соединения (Albertson et al., 2005).

Проведено множество исследований, посвященных влиянию азотного загрязнения на микоризы бореальных и умеренных лесов. Этой тематике посвящен ряд обзорных работ (Jansen, Dighton, 1990; Colpaert, van Tichelen, 1996; Wallenda, Kottke, 1998; Cairney, Meharg, 1999; Avis et al., 2003), и здесь она будет упомянута вкратце. Снижение продукции плодовых тел ЭМ грибов - первое проявление накопления N (Arnolds, 1991). Это подтверждено в экспериментах, где показано, что внесение азотных удобрений в лесную почву снижает образование плодовых тел на пробных площадях (Rühling, Tyler, 1991; Termoshuizen, 1993). Воздействие N обогащения на продукцию надземных плодовых тел, вероятно, является следствием влияния N на долю углерода в подземной части сообщества, получаемую ЭМ мицелием. Экспериментальное исследование такого рода влияния дало очень разнообразные результаты. Некоторые из них свидетельствуют о том, что внесение N в микрокосм приводит к умеренному усилению развития мицелия (напр., Arnebrandt, 1994), другие показывают подавление (напр., Wallander et al., 1994), а в третьих не отмечено никакого эффекта (напр., Wallander et al., 1999). Это неудивительно, так как показано,

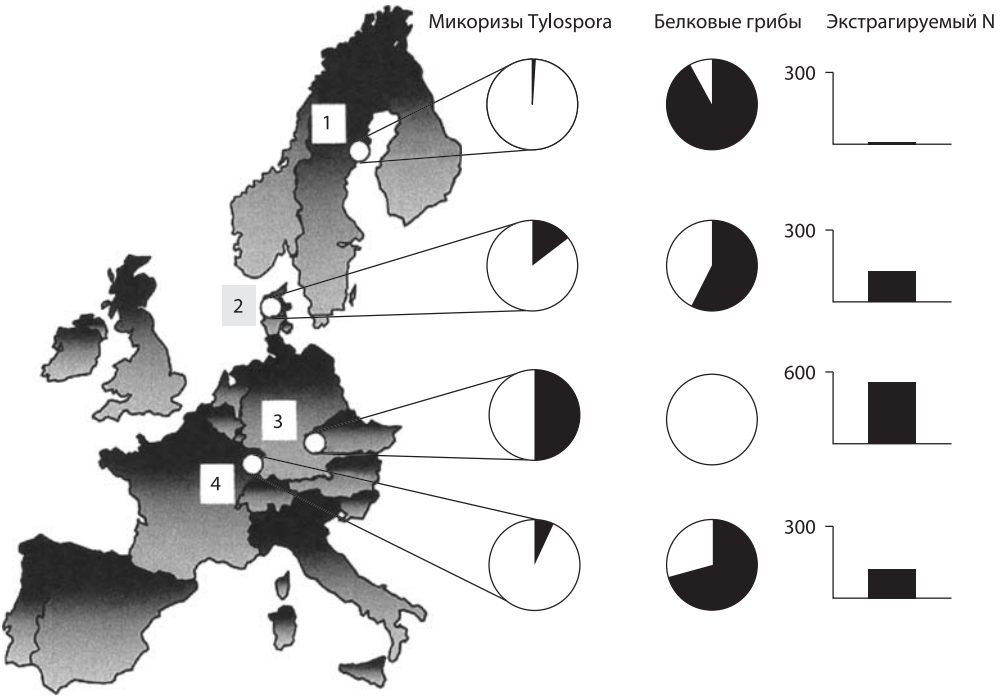


Рисунок 15.19. Результаты анализа эктомикоризных сообществ в четырех лесах, образованных елью обыкновенной (*Picea abies*), по трансекте с севера на юг Европы. На круговых диаграммах представлена доля корневых окончаний на каждом участке, колонизированных *Tylospora fibrillosa*, и доля изолятов из каждой точки, способных усваивать белок как источник азота (белковые грибы, «protein fungi» *sensu* Abuzinadah, Read, 1986a). Ни один из изолятов с участка 3 не мог использовать белок в качестве источника N. Столбчатые диаграммы показывают количество экстрагируемого KCl неорганического N (мкг N/г LOI) в почвенных горизонтах LFH (обратите внимание на то, что масштаб оси для участка 3 вдвое меньше, чем для остальных точек). Участки: 1 — Ахеден, север Швеции; 2 — Клостерхеде, западная Ютландия, Дания; 3 — Вальдштейн, Фихтельгебирге, Германия; 4 — Обур, горы Вогез, северо-восток Франции. Данные взяты из Taylor et al., 2000; Persson et al., 2000.

что влияние N, как минимум, частично, опосредовано действием на фотосинтез и перераспределение C, а также определяется изначальным содержанием N в сообществе. Азотное обогащение медленно повышалось в индустриальных зонах в течение прошедшего столетия, поэтому, как и в случае CO_2, при постановке экспериментов необходимо учитывать длительность процессов накопления. Кумулятивный эффект увеличения содержания N на уровне биома был исследован в ельниках, образованных *Picea abies*, по градиенту накопления минерального N в почве от нетронутого бореального леса в северной Швеции, где минерализация азота почти не выявляется (Persson et al., 2000), до сильно загрязненных участков в центральной Европе (Taylor et al., 2000). По мере увеличения содержания экстрагируемого почвенного N в южном направлении наблюдалось сокращение биоразнообразия ЭМ гри-

бов и одновременно снижение доли микобионтов, обладающих протеолитической способностью (рис. 15.19). С повышением концентрации минерального N в почве было связано преобладание среди симбионтов ЭМ кортициоидного гриба с резупинатными плодовыми телами *Tylospora fibrillosa*, указывающее на то, что сокращение разнообразия ЭМ грибов с плодовыми телами в загрязненных лесах является результатом скорее замены видов, чем полного исчезновения некоторых симбионтов (Taylor et al., 2000).

Внесение N на протяжении 16 лет в течение эксперимента в лесостепи с преобладанием ЭМ дуба среди древесных пород привело к снижению биоразнообразия и сокращению на 50% общего обилия плодовых тел, что показывает сходство проявлений антропогенного влияния в бореальных и более южных растительных сообществах. Однако отличительной чертой лесостепи с преобладанием дуба было то, что в результате внесения азота (17 г N/м^2/год) происходило 5-кратное увеличение образования плодовых тел у видов рода *Russula* (Avis et al., 2003). Подобные результаты демонстрируют возможность существования нескольких различающихся ответных реакций экосистем на резкие изменения содержания питательных веществ.

Микоризы в тропических и субтропических биомах

Микоризные симбиозы во влажных тропиках

Высокопродуктивные экосистемы тропических дождевых лесов занимают большую часть экваториального пояса, простирающегося по территории Южноцентральной Америки, западной Африки и Юго-Восточной Азии. Этим лесам серьезно угрожает человеческая деятельность, влияющая на них как напрямую, путем вырубок, так и косвенно, посредством глобального изменения климата. К сожалению, несмотря на уязвимость этих сообществ, мы до сих пор почти ничего не знаем даже об основных аспектах биологии дождевых лесов. Пробелы в знаниях проявляются и в отношении микоризного статуса этих экосистем. Известно, что почти все изученные к настоящему времени дождевые леса содержат микоризообразующие виды, и получена некоторая информация о распределении микоризных симбиозов различных типов (Alexander, 1989a), но в отношении видовой принадлежности и функций грибных симбионтов, принимающих участие в их образовании, до сих пор вопросов больше, чем ответов (Janos, 1996; Alexander, Lee, 2005).

Отличительной чертой дождевых тропиков является невероятно высокое видовое разнообразие растений в пределах сообщества. Флора только древесных пород на площади 0,52 км^2 на острове Борнео представлена 1175 видами (Wright, 2002). Эта цифра выше, чем для всех бореальных и умеренных лесов Северного полушария. В пределах этого разнообразия возможно выделить некоторые системы в соответствии с распределением микориз разных типов. Большинство древесных пород дождевых тропических лесов ассоциировано с АМ грибами, но существуют семейства тропических растений, преимущественно или полностью эктомикоризные (Alexander, 1989a). Это сем. Dipterocarpaceae (Lee et al., 1996), Fagaceae (Corner, 1972), многие представители Caesalpinoideae (Alexander, 1989b) и члены подсемейства Leptospermoideae из Myrtaceae (Moyersoen et al., 2001). Имеются косвенные свидетельства связи между типом микоризы и почвенными условиями. В то время как деревья, колонизированные АМ грибами, преобладают в большей части тропических сообществ, локально встречаются леса, в которых доминируют ЭМ виды. Такие местообитания известны в Южной Америке (Singer, Araujo, 1979, 1986; Henkel, 2003), западной Африке (Newbery et al., 1988) и Юго-Восточной Азии

(Whitmore, 1984). Несмотря на то, что они часто приурочены к наиболее бедным питательными веществами почвам с накоплением на поверхности подстилки и грубого гумуса (Torti et al., 2001; Henkel, 2003), выводы о возможной экологической зависимости между типом почвы и микоризным симбиозом следует делать весьма осторожно, учитывая филогенетическую историю каждого семейства. Возникающие сложности ярко иллюстрирует пример в целом ЭМ семейства Dipterocarpaceae, представители которого доминируют в лесах Юго-Восточной Азии, практически независимо от типа почвы (Whitmore, 1984), и без заметной связи с условиями дефицита азота (Alexander, Lee, 2005). Обусловленные таксономическим положением ЭМ особенности отличают исходно ЭМ тропические леса Старого Света от первично АМ лесов в тропиках Нового Света. Можно сказать, что, особенно в случае образования однородных рощиц, как это бывает во многих ЭМ тропических сообществах, обратные связи между качеством и количеством подстилки, типами микоризной колонизации и поступлением питательных веществ, вероятно, являются важными факторами в поддержании стабильности экосистемы.

Получение сведений о таксономическом статусе грибных симбионтов растений тропических дождевых лесов служит необходимым условием для понимания функций микоризы в этих экосистемах, и в связи с этим очень важно знать, соответствует ли видовое разнообразие микобионтов наблюдаемому у растений. Картина до сих пор остается неполной, но с увеличением интенсивности изучения ЭМ грибов (Henkel et al., 2002; Lee et al., 2003) и применением молекулярных методов к анализу АМ симбиозов а (Husband et al., 2002a, b; Vandenkoornhuyse, 2002) стало очевидным, что разнообразие в этих сообществах намного выше, чем предполагалось ранее. Было проведено изучение АМ грибного сообщества, ассоциированного с корнями сеянцев двух древесных пород, совместно встречающихся в дождевом лесу в Панаме (Husband et al., 2002a). С помощью праймеров, специфичных для АМ грибов, было проанализировано 48 растений. Сравнительно с сообществами подобного типа из умеренных местообитаний, исследованных теми же методами, и разнообразие и видовое богатство оказались выше в дождевом лесу. Было выявлено 30 типов АМ грибов, из них 17 отмечены впервые (табл. 15.5). Также были показаны временные изменения в АМ сообществе (Husband et al., 2002a, b). Грибные симбионты, преобладавшие у только что проросших сеянцев, через год сменялись другими, и сеянцы разного возраста, образцы которых были взяты одновременно, содержали существенно отличающиеся АМ сообщества. Даже при учете некоторых вариаций в схемах отбора образцов в разных исследованиях, эти результаты свидетельствуют не только о более высоком разнообразии АМ, чем считалось ранее, но и о том, что оно значительно выше, чем в умеренном климате. При том, что заметное сокращение АМ разнообразия в умеренной зоне произошло в результате ведения сельского хозяйства (Helgason et al., 1998; см. гл. 17), а вырубка лесов снизила потенциал АМ инокулюма в тропиках (Alexander et al., 1992), можно ожидать, что хозяйственная деятельность в дождевых тропических экосистемах создает серьезную угрозу для биоразнообразия АМ грибов (Janos, 1996). Необходимо более интенсивное и широкомасштабное выявление генотипов АМ грибов в тропических почвах, как для описания сообществ, так и для сохранения их для будущих поколений.

Ввиду отсутствия аналогичных молекулярных анализов ЭМ ассоциаций, представление о разнообразии этой группы грибов может быть получено только по данным о встречаемости плодовых тел предполагаемо ЭМ видов и результатам морфотипирования.

В Малайзии встречаемость плодовых тел изучали на протяжении 7 лет на площади 20 га в равнинном дождевом лесу с преобладанием представителей сем. Dipterocarpaceae и Fagaceae (Lee et al., 2003). Всего было обнаружено 296 видов, из которых 66% оказались новыми для науки. Это более высокое разнообразие, чем вы-

явленное в умеренном лесу в Швейцарии в результате еженедельных посещений на протяжении 21 года, где было обнаружено в общем 265 предполагаемо ЭМ видов (Straatsma et al., 2001), и более чем вдвое превышающее отмеченное за 7-летний период сбора в лесу в Австрии (Straatsma, Krisai-Greilhuber, 2003). В то время как для лесов умеренной зоны Северного полушария существуют обширные базы данных с описаниями ЭМ морфотипов (Agerer et al., 1987–2002; Goodman et al., 1996–2002), для тропиков имеется очень мало информации. Тем не менее, недавние исследования с применением аналогичных подходов для характеристики микоризных сообществ сеянцев диптерокарповых в Юго-Восточной Азии (Lee, Alexander, 1996; Lee et al., 1996; Ingleby et al., 1998), показывают, что количество морфотипов, присутствующих в тропических экосистемах, по меньшей мере, не уступает таковому в умеренной зоне (Alexander, Lee, 2005).

Таблица 15.5. Количество типов АМ грибов и разнообразие АМ грибного сообщества в ряде экосистем на основании филогенетического анализа частичных рРНК последовательностей малой субъединицы (SSU). Заметно сравнительно высокое разнообразие типов АМ в тропическом биоме.

Экосистема	Число образцов корней	Число видов растений - хозяев	Число типов АМ грибов	Разнообразие[1] (H')	Источник
Тропический лес, Панама	48	2	30	2,33	Husband et al., 2002a
Луг в умеренной зоне, Великобритания	47	2	24	1,71	
Лес в умеренной зоне, Великобритания	49	5	11	1,44	Helgason et al., 1998
Пахотные поля, Великобритания	79	4	8	1,16	Daniell et al., 2001

Из Husband et al., 2002a.
[1] Индекс разнообразия Шеннона–Винера

В работе по пересадке немикоризных сеянцев *Hopea nervosa* (диптерокарповые) на вырубки или ненарушенные участки леса в Малайзии было выявлено, что спустя 6 месяцев роста в обоих случаях степень ЭМ колонизации была одинаковой, но сеянцы в ненарушенном лесу содержали на 40% больше морфотипов, чем растущие на вырубке (Lee et al., 1996). Кроме того, в лесу, не подвергавшемся рубке, отмечено вдвое больше необычных морфотипов, что указывает на вероятность исчезновения относительно редких видов грибов в результате вырубки. Сравнение с морфотипами, выявленными у сеянцев другого вида из диптерокарповых, *Shorea leprosula*, продемонстрировало, что наиболее частые виды грибов были в равной степени представлены у обоих растений, и это свидетельствует об отсутствии специфичности у грибов, ассоциированных с диптерокарповыми. В общем, можно сказать, что в сообществах ЭМ грибов, как и симбионтов АМ, в тропических дожде-

вых лесах разнообразие выше, чем в умеренной зоне, но для этого биоразнообразия большую угрозу представляет интенсивная рубка лесов.

Что известно о функциях этих очевидно широко распространенных микоризных симбиозов? Были предприняты попытки использовать горшечные эксперименты для определения ростовых ответных реакций тропических деревьев на микоризную колонизацию. Как отмечают И. Александр и С. Ли, к полученным результатам следует относиться с большой осторожностью, так как опыты неизбежно проводятся на протяжении краткого периода времени, в них обычно используются минеральные почвы с низким содержанием органических веществ, и инокулюм относится к неопределенным или модельным видам (Alexander, Lee, 2005). Было показано усиление роста и увеличение поглощения P у двух видов *Hopea* после инокуляции изолятом *Pisolithus* (Yazid et al., 1994). У тех же видов С. Ли и И. Александр также показали, что внесение ЭМ инокулюма, в данном случае собранного в природе, повышало поглощение P (Lee, Alexander, 1994). В этом эксперименте ростовой ответ на микоризную колонизацию был мощнее, чем на добавление P, что предполагает влияние иных факторов, нежели поступление этого элемента. Сходный эффект был получен при работе с широко распространенным АМ видом из дождевого леса Камеруна, *Oubangia alata* (Moyersoen et al., 1998b). В том же исследовании было показано, что у ЭМ вида *Tetraberlinia moreliana* происходило усиление поглощения P и при низком и при высоком уровне его поступления, но ростовой ответной реакции на внесение P отмечено не было (см. гл. 5 и 10). Для того, чтобы более точно воспроизвести условия, в которых развиваются корни, сеянцы трех ЭМ видов диптерокарповых выращивали в горшках с минеральной почвой с добавлением подстилки или без нее (Brearley et al., 2003). Сеянцы лучше росли при наличии подстилки и демонстрировали отрицательную зависимость между $\delta^{15}N$ подписями и степенью ЭМ колонизации. Так как значение $\delta^{15}N$ подписи подстилки ниже, чем почвы, эти данные были интерпретированы как свидетельство того, что ЭМ колонизация способствует поглощению N из подстилки. Исходя из результатов подобных экспериментов, можно заключить, что микоризная колонизация способствует доступу к P и N, но многие, особенно, медленнорастущие теневыносливые виды не всегда дают ростовую ответную реакцию на дополнительный приток питательных веществ. Это, в свою очередь, предполагает значительное разграничение во времени абсорбции и перераспределения питательных веществ, особенность, которая будет обсуждена далее.

Для выявления лимитирования недостатком P в зрелых насаждениях тропических древесных пород, в роще, образованной ЭМ видом *Microberlinia bisulcata* в Камеруне вносили P (Newbery et al., 2002). Авторы не обнаружили влияния внесения P на приживаемость сеянцев или рост сеянцев либо взрослых деревьев на удобренных площадках, несмотря на поглощение этого элемента, заметное по увеличению концентрации P в листве и опаде. Эксперимент с повторным внесением одновременно P и N удобрений в равнинном ЭМ диптерокарповом лесу в центральной Малайзии дал сходные результаты. Хотя биомасса лиственного опада и концентрация P увеличились, что свидетельствует, как минимум, о поглощении P, изменений диаметра деревьев за 5-летний период не произошло (Mirmanto et al., 1999). Эти данные не согласуются с мнением о том, что P часто является лимитирующим элементом, по крайней мере, в ЭМ лесах равнинных тропиков. Однако это мнение хорошо подтверждается данными исследований горных лесов влажных тропиков (Tanner et al., 1998). Тем не менее, авторы пришли к выводу, что серьезные ростовые ограничения в лесах такого типа обусловлены низкой доступностью N. Также азот является основным лимитирующим элементом питания в тропических вересковых лесах (Vitousek, Stanford, 1986). Придерживаясь точки зрения, что ограниченная доступность N, характерная для бореальных и умеренных лесов, способ-

ствовала отбору в пользу ЭМ колонизации (Read, 1991b), можно предполагать доминирование ЭМ деревьев и в тропических лесах с недостатком N. Эта гипотеза была тщательно проверена путем анализа микоризного статуса древесных пород, произрастающих в тропических лесах с особенно ярко выраженным дефицитом азота, но данных в ее поддержку было получено очень мало (Alexander, Lee, 2005). Наиболее интенсивно изучавшиеся сообщества такого типа в горных тропиках содержали немного ЭМ древесных видов, или не содержали их вовсе (Tanner, 1977; Tanner et al., 1992; Vitousek et al., 1995). Сходным образом, при экстремальном дефиците N в вересковых лесных сообществах Брунея (Moyersoen et al., 2001), Венесуэлы (Moyersoen, 1993) и Гайаны (Bereau et al., 1997), большинство видов деревьев было ассоциировано с АМ грибами.

Исходя из результатов анализа стратифицированных почв такого типа, как в бореальных лесах, также возможно, что ЭМ и АМ виды занимают различные горизонты. Первые развиваются преимущественно в поверхностных органических слоях, вторые – в нижележащих минеральных горизонтах. Имеются некоторые данные сравнительного анализа распространения ЭМ и АМ корней в тропических почвах. При изучении вертикального распределения микоризных корневых окончаний в равнинном лесу Камеруна было выявлено, что доля ЭМ и АМ колонизации корней не зависела от горизонта (Moyersoen et al., 1998a). Впоследствии было подтверждено отсутствие различий относительного обилия ЭМ и АМ корней в органических и минеральных горизонтах и в смешанных диптерокарповых и в вересковых лесах Брунея (Moyersoen et al., 2001). Более того, явно показано, что доля АМ колонизации была достоверно выше в органических кислых почвах вересковых лесов, испытывающих наибольший дефицит питательных веществ. Такого рода данные подчеркивают необходимость выявления таксономического и функционального статуса АМ грибов, преобладающих при подобных неблагоприятных условиях. Также представляется важным одновременное изучение концентраций питательных веществ в тканях и кратковременные изменения скорости роста (или их отсутствие) в контексте всего цикла развития древесных растений, а не только в период проведения эксперимента.

Несмотря на то, что произрастая совместно, ЭМ и АМ деревья могут занимать одни и те же локальные местообитания в почве, в тропических лесах древесные породы, вступающие в симбиозы разного типа, часто разделены в пространстве. В таком случае, структура формирующегося сообщества может быть различной. Так, в дождевых лесах Западной Африки (Alexander, 1989a; Hart et al., 1989; Torti et al., 2001) и Южной Америки (Henkel, 2003; Mayor, Henkel, 2006), монодоминантные лесные сообщества («рощи»), состоящие из ЭМ древесных пород, могут быть окружены массивами АМ деревьев с богатым видовым разнообразием. На обоих континентах монодоминантные эктомикоризные виды часто представлены цезальпиниевыми бобовыми, и большинство из них не принимает участия в процессах азотфиксации. Практически отсутствуют свидетельства связи этих сообществ с определенными типами почвы, так как они могут встречаться на субстратах от белопесчаниковых почв до красных тропических оксизолей (Nascimento, Proctor, 1997; Henkel et al., 2002; Henkel, 2003). Однако есть данные, что такие сообщества способны формировать мощные слои опада и способствовать накоплению гумуса, и оба этих горизонта активно используются ЭМ корневыми окончаниями (Torti et al., 2001; Henkel, 2003). В Гайане в монодоминантном сообществе ЭМ цезальпиниевого вида *Dicymbe corymbosa* обнаружены повышения, образованные корнями крупных деревьев, выступающими на поверхность, создавая «ловушки» для опада глубиной до 50 см, активно используемые ЭМ мицелием и корнями (Henkel, 2003). Для проверки гипотезы о том, что эта активность ведет к изменениям качества опада, была измерена потеря массы в мешочках с подстилкой, размещенных на проб-

ных площадях с преобладанием *D. corymbosa* с целостными микоризными корневыми системами или нарушенными в результате окапывания (Mayor, Henkel, 2006). Присутствие эктомикориз не влияло на снижение массы листового опада, и единственное видимое изменение содержания в подстилке питательных веществ заключалось в более активном перемещении Ca на площадках без окапывания. Следовательно, полученные результаты противоречат точке зрения, изначально высказанной Р.Л. и П.Д. Гэдгилами, что наличие ЭМ грибов ведет к подавлению сапротрофов и, следовательно, к снижению скорости разложения подстилки (Gadgil, Gadgil, 1975). Ввиду отсутствия явного влияния ЭМ мицелия на процессы разложения опада было сделано заключение, что толстый слой подстилки, характерный для сообществ *D. corymbosa* может способствовать поддержанию монодоминирования путем ингибирования укоренения сеянцев АМ видов (Mayor, Henkel, 2006). Исследователи, работавшие в Конго в монодоминантных ЭМ лесах, образованных *Gilbertiodendron dewevrei*, пришли к аналогичным выводам (Torti et al., 2001). В этом контексте может быть очень важна способность многих видов, образующих такие монодоминантные лесные сообщества, продуцировать, особенно в «семенные» годы (см. ниже), очень большие количества сеянцев, которые быстро интегрируются в ЭМ мицелиальную сеть. Имеющиеся данные указывают на то, что монодоминирование в ЭМ сообществах в тропиках поддерживается скорее благодаря исключению соперников, чем вследствие конкуренции за ресурсы, но возможно также участие в этих процессах пока еще неизвестных биотических факторов.

Трудность выявления прямой зависимости между микоризной колонизацией и улучшением питания древесных растений во влажных тропиках предполагает, что поиск иных функций в симбиозе может оказаться более плодотворным. Две гипотезы, косвенно связанные с питанием, заслуживают дальнейшей разработки. Первая, основанная на данных о положительном влиянии микоризной колонизации на приживаемость сеянцев (Alexander et al., 1992; Onguene, Kuyper, 2002), заключается в том, что транспорт C от хорошо освещенных деревьев верхнего яруса может поддерживать молодые растения (Read et al., 1985; Read, 1997). Вторая предполагает, что колонизация способствует поглощению и накоплению запасов питания, достаточных для обильного образования семян (Newbery et al., 1997, 2006; Henkel et al., 2005).

Предположение о том, что органический C может поступать от находящихся на освещенных участках растений-доноров к затененным сеянцам-акцепторам, остается дискуссионным (Robinson, Fitter, 1999; Newbery et al., 2000; см. гл. 4 и 16). Однако помимо полученных экспериментальным путем данных об этом процессе в ЭМ сообществах (см. гл. 16), имеются некоторые косвенные свидетельства его наличия в АМ системах влажных тропиков. М. Бидартондо с соавт. подтвердили, что все стадии развития полностью микогетеротрофных растений из целого ряда семейств, произрастающих под пологом влажных тропических лесов, колонизированы АМ грибами (Bidartondo et al., 2002) (гл. 13). Так как эти виды грибов являются облигатными микоризными симбионтами автотрофов, наиболее вероятно, что микогетеротрофы представляют собой вторичных акцепторов продуктов фотосинтеза зеленых растений. Путь транспорта C, показанный для этих видов, аналогичен тому, который присущ множеству прочих микогетеротрофов, обычно колонизированных ЭМ грибами (см. гл. 13). Конечно, полностью микогетеротрофные растения (ассоциированные как с АМ, так и с ЭМ микобионтами), представляют собой конечную точку эволюционного процесса, часто являясь единственными обитателями очень слабо освещенных участков под пологом леса. Так как в сем. Orchidaceae нередко встречаются частично микогетеротрофные зеленые растения, связанные с ЭМ грибами, есть основания считать, что это промежуточное физиологическое состояние может быть присуще и сеянцам, включающимся в ЭМ мицелиальные сети в тропиках.

В процессе плодоношения растений отмечены происходящие раз в несколько лет отчетливые вспышки семенной продукции, в большинстве случаев чередующиеся с периодами, в течение которых плодоношения не происходит. Лучше всего этот процесс изучен у ЭМ древесных пород из семейств Dipterocarpaceae, Fagaceae и цезальпиниевых бобовых в тропических лесах, но также отмечен в умеренной зоне у представителей Fagaceae, Pinaceae и Betulaceae. Несмотря на то, что такая стратегия не приурочена исключительно к ЭМ древесным породам, и это явление иногда наблюдается в АМ семействах (Alexander, Högberg, 1986; Newman, Reddell, 1987), она преобладает у таксонов с первым типом симбиоза. Было предложено два не противоречащих друг другу возможных объяснения данного явления. Первая гипотеза, связанная с ограничением питательных веществ, предполагает, что плодоношение древесных пород требует столь больших объемов С и минерального питания, что ежегодное образование семян становится невозможным (Isagi et al., 1997; Newbery et al., 1997). Вторая, гипотеза «насыщения хищника» (predator satiation), исходит из того, что нерегулярное образование семян приводит к сокращению численности растительноядных животных и таким образом повышает выживаемость сеянцев сравнительно с видами с ежегодным плодоношением (Janzen, 1974; Kelly, Sork, 2002).

Не вызывает сомнений, что вспышки образования семян требуют наличия у растения большого запаса питательных веществ. В монодоминантных ЭМ сообществах *Dicymbe corymbosa* в тропиках Нового Света объем ресурсов, затрачиваемый на образование семян в урожайный год, составляло 3,0 т/га (Henkel et al., 2005). Африканский ЭМ вид цезальпиниевых, *Microberlinia bisulcata*, как показано, вкладывает количество углерода, эквивалентное порядка 55% от ежегодной продукции сухого веса листьев в образование семян и бобов в период вспышки семенного размножения, а относительные значения для N и P были 13 и 21% соответственно (Green, Newbery, 2002). Была предложена гипотеза фенологических и климатических ответных ЭМ реакций, гласящая, что ЭМ системы имеют способность к поглощению и накоплению С, P и N в течение сезонов повышенной влажности, предшествующих урожайным годам, и эта способность компенсирует затраты растения на массовое образование семян (Newbery et al., 1997). На дефицит P, испытываемый растениями в связи со вспышкой семенной продукции, указывает то, что в годы, следующие за этим событием, концентрация P в опавших листьях ниже, чем обычно. В среднем, отток P из листьев ЭМ видов перед листопадом составляет приблизительно половину от объема у немикоризных растений (Chuyong et al., 2000). Очевидно, что несмотря на убедительность некоторых доказательств функциональной связи между ЭМ симбиозом и вспышками семенной продукции, в большинстве своем эти данные остаются косвенными и требуют дальнейшей проверки. К тому же, как отмечено далее (см. гл. 16), эксперименты охватывают только очень краткий период жизни растения. Возможно, что именно недостаток информации о роли увеличения концентраций питательных веществ в тканях растений (явно избыточного поглощения) в процветании растения, приводит к представлениям о том, что это накопление бесполезно, так как не приводит к усилению роста.

Микоризные симбиозы в сезонно засушливых тропиках

За пределами пояса экваториальных влажных лесов развиваются биомы с выраженными засушливыми сезонами. П.М. Витушек сделал заключение, что изменение климатического режима по градиенту такого рода оказывает явственное влияние на содержание питательных веществ в почве (Vitousek, 1984). Он пришел к выводу, что, в то время как во влажных тропических дождевых лесах лимитирую-

щим элементом в почве чаще всего является P, в сезонно засушливых саваннах, где в результате пожаров часто происходит утрата N, именно этот элемент ограничивает развитие растений. Если эти ограничения существуют на самом деле, они должны способствовать отбору в направлении симбиозов, оптимизирующих доступ к лимитирующему элементу. На этот процесс, разумеется, будет влиять геологическая история, поэтому некоторые почвы, в течение миллионов лет подвергавшиеся выветриванию и эрозии, будут отличаться дефицитом всех необходимых элементов питания.

Альтернативным, но также косвенным методом оценки роли микориз в таких суровых условиях, является изучение ответных реакций нативных растений на инокуляцию при росте в лесных почвах в условиях теплиц. При интенсивном изучении в норме АМ колонизированных древесных растений в сезонно засушливой области бассейна реки Тибага на юге Бразилии было выявлено широкое варьирование восприимчивости растений (Siquera et al., 1998; Zangaro et al., 2000, 2003; Siquera, Saggin-Junior, 2001). Хотя значительное количество нативных видов относилось к немикоризным, многие оказались высоковосприимчивыми и явно зависимыми от АМ колонизации. Пионерные виды обладают мелкими семенами и одновременно высоковосприимчивы к АМ колонизации и дают мощные ответные ростовые реакции. Виды поздних стадий сукцессии с более крупными семенами были менее зависимы от колонизации, по крайней мере, на начальных этапах развития (Siqueira et al., 1998). Эти наблюдения были подтверждены в дальнейшем исследовании 80 древесных пород из того же леса (Zangaro et al., 2003). Ответная реакция на колонизацию и степень ее развития были, соответственно, в 5,9 и 4,2 раза выше у видов ранней, чем поздней стадии сукцессии. Были вновь установлены обратные корреляции между массой семян и восприимчивостью растения к АМ колонизации. Исследования такого рода, охватывающие широкий круг нативных видов предоставляют ценную информацию об экологии малоизученных сообществ и являются первым шагом к оценке возможной роли микориз в нарушенных местообитаниях.

Широкое распространение древесных азотфиксирующих бобовых в сообществах, особенно видов *Acacia* в Африке, *Prosopis* в Америке и *Acacia* и *Casuarina* в Австралии может быть результатом ответной реакции на дефицит N, испытываемый древесными породами в таких биомах (Högberg, 1986, 1989, 1992). Однако в большинстве сообществ, где они встречаются, бобовые представляют собой только часть древесного яруса. В субгумидных редколесьях миомбо в Африке, к примеру, они составляют только 20–25% видов деревьев в сообществе (Högberg, Pearce, 1986). В любом случае, смягчение недостатка N ведет к их замещению другими видами. Зависимость азотфиксирующих бобовых от поступления P продемонстрирована в экспериментах, где показано, что внесение P в сухие субтропические леса повышало одновременно продуктивность и нитрогеназную активность у растущих под пологом бобовых из родов *Acacia* и *Kennedia* в Австралии (Hingston et al., 1982). Не следует упускать из вида взаимную зависимость поступления N и P, ею может объясняться тот факт, что фиксирующие азот бобовые обычно колонизируются АМ грибами (Alexander, 1989a, b). Не образующие клубеньков виды древесных бобовых часто успешно сосуществуют с клубеньковыми в саваннах, и это предполагает, что в таких относительно аридных тропических биомах образование обширной корневой системы для активного поглощения воды может быть ключевым моментом успешного развития растений (Sprent, 1985). Такая же стратегия характерна для доминирующих в саваннах видов травянистых растений, у которых обширные корневые системы также часто колонизированы АМ грибами (Newman et al., 1986).

Отсутствие баз данных по содержанию питательных веществ в почвах сухих тропиков привело к появлению работ, посвященных измерению концентраций различных элементов. Содержание N и P в листьях было определено для 98 видов из

разных местообитаний в Танзании и на северо-востоке Замбии, принадлежащих к трем отдельным функциональным группам: азотфиксирующие АМ виды, не фиксирующие азот АМ виды и не фиксирующие азот ЭМ виды (Högberg, Alexander, 1995). Концентрации N и P в каждой группе оценивали, исходя из принятых оптимальных отношений в растительных тканях в интервале от 12,5:1 до 10:1. Азотфиксирующие АМ виды отличались превышающим оптимальное отношением N:P. что указывает на дефицит P, не фиксирующие азот АМ виды демонстрировали субоптимальное отношение N:P, что предполагает недостаток N, в то время как ЭМ виды занимали промежуточное положение, при котором отношение N:P было почти оптимальным. Такое распределение можно считать подтверждением мнения, что АМ колонизация избирательно способствует поглощению P в этих сообществах, а ЭМ симбиоз обеспечивает доступ к обоим элементам.

В тканях были измерены $\delta^{15}N$ подписи для определения, насколько разные типы симбиозов в сухих тропиках используют различные источники N (Högberg, 1992; Högberg, Alexander, 1995). Первые исследования клубеньковых, АМ и ЭМ растений в редколесьях миомбо в Танзании показали различия между этими группами. В тканях ЭМ видов отмечено большее $\delta^{15}N$ обогащение сравнительно с клубеньковыми растениями, что предполагает возможность использования ими органических источников N. АМ растения занимали промежуточное положение (Högberg, 1992). Однако последующие измерения у растений миомбо в Замбии не подтвердили показанное распределение (Högberg, Alexander, 1995). Трудности интерпретации характера поглощения питательных веществ на основании обогащения стабильных изотопов в листве были обсуждены выше. Вероятно, успехом увенчаются исследования такого рода, проводимые на растениях вересковых сообществ и бореальных лесов, включающие непосредственный параллельный анализ мобилизации питательных веществ и состава стабильных изотопов.

Заключение

Информация, полученная в результате экспериментов в природных условиях, постепенно начинает сменять умозрительные рассуждения о важности роли микоризных грибов в сукцессионных изменениях в приполярных областях и на высокогорьях. Данные подтверждают, что в то время как пионерные травянистые виды могут быть немикоризованными рудералами, появление первых древесных растений, особенно ЭМ видов, зависит от микоризной колонизации. Выявлена важная роль эрикоидных и эктомикориз в тундре и вересковых сообществах в обеспечении доступа к присутствующим в этих биомах преимущественно органическим источникам N. При этом возрастает понимание того, насколько велика угроза для этих уязвимых экосистем, заключающаяся в глобальном изменении климата. В этом случае эксперименты в полевых условиях также дали ценную информацию об ответных реакциях микоризного компонента подобных сообществ на повышение температуры и накопление N, усиливающееся при антропогенной нагрузке.

Для изучения разнообразия и распространения ЭМ грибов в бореальных и умеренных лесных сообществах были применены молекулярные методы. Возникло предположение, что отдельные виды грибов могут избирательно использовать строго определенные ниши как в органических, так и в минеральных горизонтах подзолистых почв, но получение информации о функциональных различиях грибных симбионтов отстает от изучения их пространственного распределения. Значимость роли почвенного N в определении структуры и активности микоризного грибного сообщества была установлена путем тщательного исследования микробных популяций по при-

родным градиентам увеличения доступности N. В результате таких работ выявлена чувствительность микоризных сообществ к антропогенному накоплению N и получены механистические основы для оценки подобного влияния.

Таблица 15.6. Схематическое изображение типов источников P и N в почве, которые могут быть доступны для растений с различными адаптациями корневой системы, включая разные микоризные симбиозы. Интенсивность заливки обозначает степень предполагаемой способности адаптаций корневой системы обеспечивать доступ к питательным веществам. Считается, что растения без специальных приспособлений могут поглощать все типы питательных веществ из растворимых неорганических пулов в почве, хотя, возможно, что некоторые из них имеют доступ и к растворимым органическим пулам.

Стратегия / Источник	Корни и корневые волоски	АМ	Экссудаты/ кластерные корни	ЭМ/ ЭрМ
Растворимый неорганический		P (N)	P	P и N
Нерастворимый неорганический		P	P	P и N
Лабильный/ растворимый органический		(P)	(P)	P и N
Трудноразлагаемый органический				P и N

Хотя N до сих пор считается многими исследователями основным лимитирующим элементом в наземных биомах, существует также множество местообитаний, где продуктивность сообщества ограничивает доступность P. В таких условиях, если P в почве преобладает в неорганической форме, растения обычно зависят от образования арбускулярных микориз, но обнаружен также ряд других адаптаций корневых систем, большинство которых прежде всего направлено на мобилизацию и ассимиляцию P (табл. 15.6). АМ могут играть ключевые роли у видов, вступающих в азотфиксирующие симбиозы, позволяя растениям заселять бедные питательными веществами почвы, подвергающиеся сильному выветриванию. Однако в почвах с дефицитом P, где, тем не менее, накапливается некоторое количество P (и N) в органической форме, ЭрМ и ЭМ виды будут иметь больший доступ к таким источникам питания. Так как антропогенное накопление N изменяет баланс питательных веществ в экосистемах, очень важно обращать внимание на возможные изменения растительности, которые могут происходить в результате варьирования доступности разных форм N, P и других элементов питания при формировании микоризных симбиозов с разными партнерами.

Несмотря на то, что исследование функций микориз в тропических биомах все еще отстает от уровня умеренной зоны, был достигнут значительный успех в оценке степени биоразнообразия подземной части сообществ в тропиках. К настоящему времени было выявлено неожиданно высокое разнообразие как в АМ, так и в ЭМ грибных сообществах. Сейчас стоит задача ввести некоторые неописанные до сих пор виды из обеих функциональных групп в культуру с целью определения их функциональных свойств. Исследования такого рода крайне необходимы не только для лучшего понимания роли этих грибов в динамике питательных веществ в тропических лесах, но и ввиду того, что массовое нарушение таких биомов в результате деятельности человека несет угрозу вымирания потенциально значимых видов еще до то того момента, как они будут описаны.

16
Биотические связи микоризных симбиозов

Введение

Как отмечено в главе 15, микоризные симбиозы представлены во всех основных наземных биомах. Причины такого широкого распространения не всегда понятны на современном уровне знаний о функциях симбиозов, изучаемых в горшечных экспериментах с использованием единственного вида растения, особенно, когда речь идет о питании всего растения в целом. В результате, сейчас исследователи активно занялись поставленными во втором издании данной книги (Smith, Read, 1997) вопросами, касающимися биологии микоризных растений в природных условиях (см. гл. 15). Особенно интересны вопросы, влияет ли микоризная колонизация на состояние отдельных особей растений и на исход конкурентной борьбы. И если да, то в каких условиях проявляются эти эффекты, и какими механизмами они обусловлены? В ходе исследований установлен вклад микориз в улучшение состояния особей растений и процветание отдельных видов, влияние на результат межвидовой конкуренции, и предполагается возможность воздействия микориз на изменение способности растений к совместному существованию и на биоразнообразие в растительных сообществах. По мере выявления структурного и функционального разнообразия микоризных симбиозов появлялись представления о том, что взаимозависимость симбиотических партнеров может приводить к изменениям как грибных, так и растительных сообществ.

Экспериментальные подходы для определения, какие взаимодействия особенно важны в природных условиях, и выявления механизмов, обусловливающих их на физиологическом, биохимическом и молекулярном уровнях, несомненно, весьма сложны. К примеру, широкая, даже повсеместная, встречаемость микориз влечет за собой необходимость уничтожения или значительного снижения микоризной колонизации для получения подходящего немикоризного контроля, необходимого при постановке эксперимента. До сих пор не найдено удовлетворительного способа решения этой проблемы в полевых условиях (Hartnett, Wilson, 2002). Часто применяемое внесение фунгицидов, не обладающих избирательным действием в отношении микоризных грибов, затрудняет последующее определение причин наблюдаемых эффектов: заключались ли они в снижении активности микоризных грибов или других восприимчивых групп, таких как фитопатогены или сапротрофы. Вследствие этого экологи, занимающиеся физиологическими процессами и заинтересованные в выявлении деталей взаимодействий и обусловливающих их механизмов, вынуждены полагаться на данные горшечных экспериментов или работать в микрокосмах для получения информации о природных сообществах или следствиях различных воздействий в полевых условиях. То, что в некоторых горшечных экспериментах не удалось продемонстрировать выгоду растения по крите-

риям улучшения роста и питания, вместе с результатами полевых экспериментов, не показавших повышение эффективности поглощения корнями питательных веществ, привело к предположениям, что в симбиозе растение может получать другие преимущества, отчасти объясняющие постоянное присутствие микориз в природной растительности. Ввиду того, что известны случаи внесения микоризными грибами значительного вклада в поглощение питательных веществ без видимых проявлений в форме ростовых реакций или увеличения содержания элементов питания (см. гл. 4, 5 и 15), одним из результатов исследований было выявление мультитрофных взаимодействий между почвенной микрофлорой и фауной, фитофагами, фитопатогенами и микоризными растениями. Кроме того, повсеместность микоризной колонизации не обязательно подразумевает получение преимуществ или улучшение состояния растений. Это может означать только то, что против симбиоза не идет мощного отбора.

В этой главе обсуждаются некоторые наблюдения и эксперименты, которые были выполнены в природных условиях или в горшечной культуре с целью расширения представлений о механизмах, посредством которых микоризы оказывают влияние на растительные и грибные сообщества. В ней также кратко обозначены мультитрофные взаимодействия, еще труднее поддающиеся экспериментальному исследованию, но, вероятно, существенно влияющие на естественные экосистемы.

Читатели, заинтересованные в обзорах литературы, посвященных развитию представлений и работам, направленным на изучение роли микориз в экологических взаимодействиях, могут обратиться к некоторым книгам (напр., Allen, 1991, 1992; van der Heijden, Sanders, 2002) и целому ряду обзорных статей. Работа Майка и Эдит Алленов в США сыграла важную роль в расширении экологических представлений и включении микоризных симбиозов в анализ сукцессии растительных сообществ и конкуренции (Allen, Allen, 1984; Allen, 1991, 1992). Огромный вклад, особенно в отношении выявления важности микориз в использовании труднодоступных источников питательных веществ и, следовательно, повышении разнообразия путей в круговоротах элементов питания, был сделан Дэвидом Ридом и Джонатаном Ликом (Leake et al., 2004a; Leake, Read, 1997; Read et al., 2004), хотя важную роль в установлении не связанных с питанием преимуществ микоризации также сыграли работы Элистера Фиттера и его сотрудников (Fitter, 1991, 2001, 2005; Robinson, Fitter, 1999). Последний обзор множества связанных с микоризой направлений содержится в книге «Экология микоризы» («Mycorrhizal Ecology» (van der Heijden, Sanders, 2002), сборника, написанного множеством авторов, в котором изложены современные представления о данной проблематике.

Опосредованное влияние микориз на уровне вида растения

Общие представления

В результате анализа литературы было выявлено, что экспериментальные подходы для определения функций микориз в природных условиях применялись в основном в сообществах, где многие виды растений образуют арбускулярные микоризы, а не симбиозы других широко распространенных типов. На этот очевидный «перекос» повлияло несколько факторов. Во-первых, сообщества с преобладанием АМ, такие как луга, прерии, степи, тропические леса и некоторые лесные массивы умеренной зоны, часто характеризуются более высоким флористическим разнообразием, чем

те леса и верещатники, в которых большинство видов образуют ЭМ или эрикоидные микоризы (см. гл. 15). Следовательно, «АМ» сообщества более привлекательны для ботаников-экологов, интересующихся механизмами, обусловливающими взаимоотношения между растениями и их влиянием на биоразнообразие. Кроме того, в таких растительных сообществах доминируют злаки и другие травянистые растения, с которыми легче работать в природных условиях и в горшечных культурах, чем с крупными древесными многолетниками, типичными для «ЭМ» сообществ. Тем не менее, с использованием коммерчески важных видов ЭМ деревьев было поставлено большое количество экспериментов, направленных на повышение продуктивности лесного хозяйства (см. гл. 17). Третьей причиной преобладания исследований роли именно арбускулярных микориз служит то, что для этих симбиозов изучено варьирование степени колонизации и ответные реакции растений и получено объяснение эволюционных преимуществ факультативного микоризного статуса. Напротив, общепринятым мнением относительно ЭМ или ЭрМ типов симбиоза является то, что они представляют собой неоходимое условие получения доступа к основным источникам питательных веществ, особенно, органическим соединениям N, в сообществах, где обитают эти виды растений (см. гл. 9, 11 и 15).

Получение данных о встречаемости (и предполагаемой активности) микориз вдоль сукцессионных градиентов способствовало выявлению возможных функций симбиозов без необходимости прибегать к манипуляциям для удаления микобионтов. В результате анализа имеющейся литературы был сделан вывод, что арбускулярные микоризы относительно малозначимы в нарушенных местообитаниях и на ранних стадиях сукцессии, характеризующихся высоким содержанием доступных питательных веществ (Allen, Allen, 1984). Напротив, в местообитаниях с низкими концентрациями элементов питания и на поздних стадиях сукцессии, все растения обычно колонизированы, что предполагает значительную роль симбиозов в жизнедеятельности данных видов. Авторы также подчеркнули возможность того, что АМ симбиозы могут быть важны для определения исхода конкурентной борьбы между растениями в местообитаниях, где доступны вода и питательные вещества, так как высокая продукция биомассы будет приводить к более интенсивной конкуренции (Grime, 1979 и см. гл. 15).

Отбор, вероятно, благоприятствует преобладанию скорее АМ, чем ЭМ колонизации во многих сообществах, где основным лимитирующим элементом является P. Тем не менее, оказалось достаточно сложно экспериментально продемонстрировать преимущества, получаемые растениями в естественных местообитаниях от увеличения доступа к P в терминах общего объема поглощения (Fitter, 1985, 1990). Это привело к предположениям о меньшем значении АМ колонизации в природных условиях сравнительно с ожидаемым, исходя из опытов с горшечными культурами. Одна из проблем заключается в том, что, согласно ранним представлениям, для того, чтобы продемонстрировать роль АМ в P питании растения, необходимо выявить повышение концентрации P в тканях или эффективности корневого поглощения (т.е., поступления вещества). Как описано в главе 5, в настоящее время известно, что действие АМ пути не обязательно приводит к усилению поглощения P. Соответственно, отсутствие возможности наблюдать увеличение поступления P под действием микоризы (на основе измерений растения в целом) в природных условиях не должно рассматриваться как свидетельство того, что путь поглощения через микобионт не вносит вклад в приобретение питания растением. Помимо того, исследования с применением радиоактивных меток для прослеживания поглощения P мицелием из свободных от корней гифальных отсеков с природной почвой, показали значительный вклад АМ в P питание, даже у невосприимчивых растений (Schweiger, Jakobsen, 2000) (см. гл. 5 и 17). Этот подход может быть успешно применен в природных местообитаниях. Остается справедливым то, что

вклад АМ грибов может не оказывать влияния на рост или поглощение Р растением в целом, и что положительные ответные реакции растений, наблюдаемые в горшечных экспериментах, могут быть больше, чем встречающиеся в полевых условиях (Fitter, Merryweather, 1992). Важной задачей современных и будущих исследований является установление того, какие выгоды приносит растению АМ поглощение при таких условиях.

Для объяснения противоречий между результатами полевых и горшечных экспериментов было предложено еще несколько гипотез. Скорость роста многих растений в природе может быть ограничена не только дефицитом Р, но и другими факторами окружающей среды, например, недостатком воды. У стресс-толерантов скорость роста может сама по себе быть низкой, поэтому их потребность в Р возможно удовлетворить за счет процессов диффузии, в которых не участвуют микоризные гифы. Однако против этого предположения свидетельствует то, что даже медленнорастущая и долго существующая корневая система развивает вокруг себя значительную зону истощения в результате длительного поглощения питательных веществ из одного и того же участка почвы (Smith F.A. et al., 2003b). Показано, что выедание свободного мицелия членистоногими, особенно, коллемболами, в некоторых условиях приводит к исчезновению ответной реакции на АМ колонизацию (Warnock et al., 1982; Fitter, Sanders, 1992). Однако подобный урон может компенсировать ускорение оборота питательных веществ при поедании стареющего мицелия, в результате чего повышается доступность элементов питания (см. ниже). Очень важно не придавать большого значения отсутствию видимых эффектов в природных условиях, так как взаимоотношения весьма сложны, и их трудно выявить. При постановке корректных экспериментов возможно продемонстрировать важность микоризных грибов в регуляции взаимодействий между растениями и их влияние на продуктивность и биоразнообразие растительных сообществ. В любом случае, эволюционное постоянство микоризного статуса грибов-симбионтов, требующее значительных затрат С их растительных партнеров, свидетельствует в пользу того, что симбиоз в естественной среде обитания предоставляет растениям определенные преимущества.

Прекращение или подавление развития и функционирования микоризы в природных условиях для получения немикоризного контроля чаще всего осуществлялось путем пропитки почвы фунгицидом беномилом. Его внесение в почву альпийских лугов снижало у ряда видов колонизацию АМ грибами, но не оказывало влияния на концентрацию Р в тканях (Fitter, 1986). Одно из возможных объяснений полученных результатов связано с предположением о слабом влиянии АМ колонизации на Р питание растений в природе. Тем не менее, необходимо понимать, что, во-первых, содержание элемента в тканях может не отражать общий уровень поглощения растения, и, даже последний показатель не обнаруживает полностью вклад грибных симбионтов (см. также гл. 15). Во-вторых, этим исследованиям присущ тот же недостаток, которым грешат горшечные эксперименты, охватывающие только малую часть жизненного цикла растения. Значимость этого недостатка демонстрирует работа по изучению вида *Hyacinthoides non-scripta*, проводимая в лиственном лесу (Merryweather, Fitter, 1995a, b). В ней впервые на примере природной популяции растений явственно показано, что скорость поглощения Р, необходимая для поддержания положительного годового баланса, может быть достигнута только в АМ состоянии. Вид *H. non-scripta* представляет собой многолетний весенний геофит, который обычно доминирует в травянистом ярусе лиственных лесов северо-восточной Европы. Его корневая система представлена толстыми (0,5–10 мм) неразветвленными корнями, ежегодно образующимися от основания луковицы. Новая луковица и корневая система формируются каждый год. Зависимость между АМ колонизацией и поглощением Р изучали путем регулярного отбора образцов

интактных растений *H. non-scripta* на протяжении годичного цикла развития (Merryweather, Fitter, 1995a). Быстрое увеличение доли корневой системы, колонизированной АМ грибами, происходило начиная с момента появления корней в сентябре и достигало максимума (свыше 70%) в январе и феврале (рис. 16.1А), до появления надземных побегов. Соответственно, как видно по снижению количества точек проникновения (рис. 16.1Б), новая колонизация замедлялась. С момента роста корней поступление Р быстро усиливалось, совпадая по скорости с колонизацией, хотя до декабря значения были отрицательными, что указывает на результирующий отток Р (рис. 16.1В). Поступление достигало максимума в период фотосинтетической активности, но оно постепенно снижалось в соответствии с сокращением колонизации. При совмещении кривых, построенных по данным поступления Р и степени колонизации, выяснилось, что их характер очень сходен, и между двумя переменными была обнаружена достоверная корреляция (рис. 1Б.1Г).

Отдельные растения *Hyacinthoides non-scripta* теряли значительные количества Р, особенно, в конце вегетационного периода, при затенении, что было заметно по содержанию элемента в семенах, старых листьях и корнях. Выращенные в теплице без АМ колонизации растения не были способны поглощать Р из почвы в количествах, достаточных для поддержания нужной концентрации этого элемента. Вегетационный сезон у них оканчивался в условиях значительного дефицита Р, который они не смогли бы пережить в природных условиях. В последующем эксперимен-

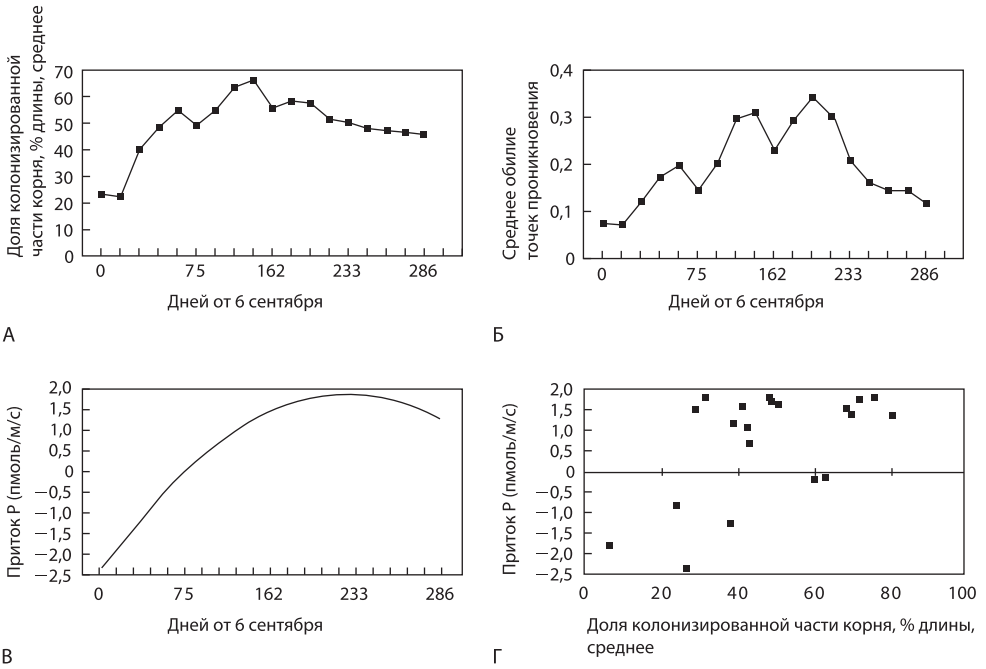


Рисунок 16.1. Сезонная динамика АМ колонизации и поступления Р у *Hyacinthoides non-scripta* в природных условиях. А — средний процент колонизации; Б — среднее обилие точек проникновения; точки на кривых представляют скользящее среднее при трехкратном сборе данных; В — апроксимированные значения притока Р в природных условиях; Г — корреляция между притоком Р и процентом колонизации. Линейная регрессия: $r^2 = 28{,}8$; $P = 0{,}15$. Из Merryweather, Fitter, 1995a, с разрешения.

те также интактные растения *H. non-scripta*, развивающиеся в природных условиях, обрабатывали беномилом с двухмесячным интервалом на протяжении двух лет, что вызывало сильное снижение АМ колонизации при отсутствии влияния на доступность Р в почве (Merryweather, Fitter, 1996). Это привело к заметному уменьшению концентрации Р во всех вегетативных органах сравнительно с необработанными растениями. Однако цветки и семена растений, обработанных беномилом, имели такое же содержание Р, как в контроле после первого сезона, и сокращение концентрации фосфора у них наблюдалось только спустя два года (рис. 16.2). Это предполагает, что когда поглощение фосфора ограничено, *H. non-scripta* защищает свои репродуктивные структуры путем перераспределения в них Р.

Избирательное поступление Р к структурам для размножения у АМ растений в почвах с недостатком этого элемента также наблюдалось при выращивании в горшках растений дикого овса (*Avena fatua*) и томата (*Solanum lycopersicum*) (Bryla, Koide, 1990; Koide et al., 1988a), пшеницы (Li et al., 2005) и *Campanula rotundifolia* (Nuortila et al., 2004). В последнем случае, хотя у АМ растений семенная продукция была снижена, образовавшиеся семена в следующем сезоне обладали более высокой скоростью роста, чем у немикоризных растений. При детальном изучении размножения у томата было выявлено значительное положительное влияние на общее образование цветков, массу плодов, количество семян и продукцию пыльцы по отношению к растению или к цветку, а также скорость роста пыльцевых трубок *in vitro*, что также было связано с улучшением Р питания (Poulton et al., 2001, 2002). Таким образом, АМ колонизация может существенно влиять на плодовитость растения и непосредственно определять его состояние в природных условиях, но необходимо проведение дальнейших исследований дикорастущих видов в естественной среде обитания. Крайние проявления такого эффекта можно наблюдать при вспышках семенной продукции у ЭМ деревьев, возможно, обусловленных очевидно избыточным накоплением N в результате микоризной активности (см. гл. 15).

Чисто теоретически можно предположить, что такие растения как *Hyacinthoides non-scripta*, обладающие очень толстыми корнями, могут быть восприимчивы к АМ колонизации, но под вопросом остается роль симбиоза, например, у злаков, у которых мочковатые корневой системы, тем не менее, сохраняют в природных условиях высокую степень колонизации. В тепличных условиях со злаками, как и с другими травянистыми растениями, было поставлено множество эксперимен-

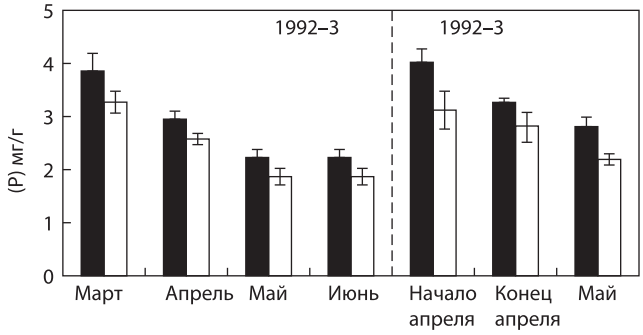


Рисунок 16.2. Влияние полива беномилом на концентрацию Р в листьях *Hyacinthoides non-scripta*, измеренное через определенные интервалы в течение двух вегетационных сезонов в природных условиях. Черные столбцы, контроль; белые столбцы, беномил. Из Merryweather, Fitter, 1996, с разрешения.

тов, в результате которых показано, что усиление поглощения Р может вести к повышению продуктивности, но подобные эффекты редко можно наблюдать в природе. Б. Хетрик с соавт. при изучении восприимчивости двух видов злаков, доминировавших в высокотравных прериях в США, обнаружили, что у С3 вида *Bromus inermis*, несмотря на более высокое поглощение Р в АМ состоянии, ростовая ответная реакция была очень слабой или отсутствовала (Hetrick et al., 1988, 1990). В природных условиях *B. inermis* растет в основном в течение прохладных сезонов, осени и весны, и в этот период образование арбускул достигает максимума. Авторы предположили, что рост в начале вегетационного сезона помогает этому растению избегать конкуренции с другим видом-доминантом, *Andropogon gerardii*, С4 растением, которое развивается в течение теплого сезона и чрезвычайно восприимчиво к АМ колонизации. Было сделано предположение, что преимущества от поступления Р могут проявляться только на более поздней стадии роста в виде повышения фертильности и улучшения состояния потомства. Когда в экспериментальных условиях в горшках выращивали только один вид, *B. inermis*, это конкурентное преимущество утрачивалось и, возможно, что избыточное потребление Р в начале вегетационного сезона усиливало конкурентоспособность этого злака за счет предотвращения доступа других видов к данному элементу. Нельзя не отметить, что ответная реакция отдельных растений в горшечных условиях на АМ колонизацию, носящая положительный, отрицательный или нейтральный характер, может сильно меняться в зависимости как от внутривидовой, так и межвидовой специфичности взаимоотношений в природе.

Влияние, зависимое от плотности

В популяции растений плотность и объем субстрата влияют на продуктивность особей. В результате целого ряда экологических исследований установлено, что биомасса (или другой показатель преуспеяния) отдельной особи растения достигает максимума, когда оно выращивается одиночно, и снижается при увеличении плотности посадок. Хотя во многих подобных работах микоризный статус не учитывали, можно допустить, что потенциально совместимые растения колонизируются в необработанной природной почве, и соответствующим образом трактовать полученные результаты. Эксперименты, направленные на выявление влияния АМ колонизации на внутривидовые взаимоотношения восприимчивых видов, стабильно подтверждают, что особи АМ растений лучше всего развиваются при самой низкой плотности посадок, а при более высокой между ними начинается жесткая конкуренция за почвенные ресурсы (Koide, 1991b; Allsopp, Stock, 1992b; Hetrick et al., 1994a; West, 1996; Facelli et al., 1999; Schroeder, Janos, 2004). Напротив, при выращивании без АМ инокулюма между особями одного вида конкуренция мала или отсутствует. Отдельные растения в немикоризном состоянии растут сравнительно плохо, даже при самой низкой плотности, и их успех (речь вновь идет об особях) не зависит от ее повышения (рис. 16.3). Наоборот, отрицательная ответная реакция некоторых видов на АМ колонизацию, отчетливо проявляющаяся при низкой плотности, иногда ослабевает при высокой (Hartnett et al., 1993; Schroeder, Janos, 2004; Li et al., неопубликованные данные). Причина заключается не в том, что АМ растения лучше развиваются при высокой плотности, а, скорее, в более высоком отрицательном влиянии плотности в случае более крупных немикоризных растений. Это можно объяснить более сильным перекрыванием корней и, следовательно, зон поглощения питательных веществ, у крупных немикоризных растений, что приводит к повышению конкуренции.

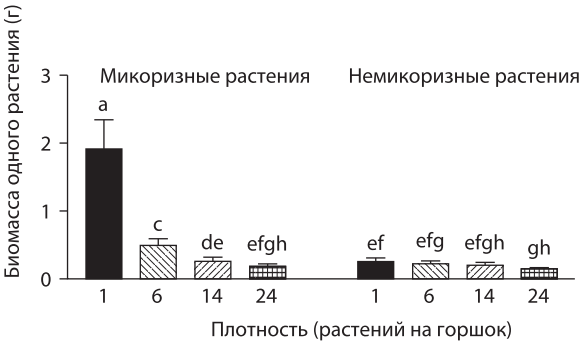


Рисунок 16.3. Влияние плотности посадки на биомассу растений *Trifolium subterraneum*, инокулированных *Gigaspora margarita* или неинокулированных. Столбцы, отмеченные разными буквами, обозначают достоверные различия. Данные из E. Facelli. См. Facelli et al., 1999.

Влияние плотности связано не только с АМ колонизацией, но также и с доступностью P и видовой принадлежностью АМ грибных симбионтов, и результаты будут различаться в зависимости от восприимчивости растущих по отдельности растений к АМ колонизации и поступлению P (Schroeder, Janos, 2004; Li et al., неопубликованные данные). Удивительно, что не было обнаружено влияния снижения освещенности на ответные реакции на АМ колонизацию при изменении плотности (Facelli et al., 1999). В данном исследовании интенсивность внутривидовой конкуренции повышалась при АМ колонизации и при низком и при высоком уровне освещенности в результате увеличения поглощения P из почвы. Рост конкуренции выражался в повышении различий в размерах растений в АМ состоянии при низкой плотности. Авторы пришли к важному заключению, что нельзя ожидать проявления эффекта АМ колонизации на особь растения на популяционном уровне ввиду значительных изменений, зависящих от плотности популяции.

Подобные результаты предполагают несколько следствий влияния плотности на восприимчивые растения:

1) потенциально АМ виды могут не иметь способности к эффективному использованию почвенных ресурсов в отсутствие колонизации, поэтому увеличение размеров популяции повышает плотность корней и поглощение питательных веществ популяцией, но не отдельными особями, до тех пор, пока не выйдет на плато;

2) колонизированные растения обладают и корнями, и гифальным компонентом, позволяющими эффективное использование намного большего объема почвы, чем у неколонизированных, что приводит к высокой конкуренции между растениями;

3) ответные реакции на АМ колонизацию будут максимальными при наиболее низкой плотности, как на уровне особей, так и на уровне популяций.

Применение подобных аргументов к видам с отрицательными ответными реакциями объясняет, почему повышение плотности может минимизировать отрицательный ответ.

В большинстве исследований использовали растения одного возраста, а ситуация, когда укореняющиеся сеянцы конкурируют со взрослыми растениями, может значительно отличаться. В условиях отсутствия конкуренции сеянцы *Hypericum perforatum* были более восприимчивы к АМ инокуляции, чем взрослые растения, хотя положительный ответ наблюдался в обоих случаях. Когда взрослые растения и

сеянцы конкурировали между собой, ответные реакции были снижены, в большей степени у сеянцев (Moora, Zobel, 1997). Авторы пришли к выводу, что на результат взаимодействий влияет тот факт, что отрицательное воздействие конкуренции на (мелкие) сеянцы сильнее, чем положительный эффект АМ колонизации. Эти результаты не согласуются с сообщениями о преимуществах АМ сеянцев при прорастании в сформировавшихся растительных сообществах (Grime et al., 1987; Read, 1991; Gange et al., 1993; Francis, Read, 1994; van der Heijden, 2004). Противоречия, скорее всего, связаны со стратегиями поглощения питательных веществ у конкурирующих видов и их ответными реакциями на микоризацию при совместном росте, кроме того оба показателя влияют на АМ колонизацию и разнообразие растений (см. ниже).

Недавно проведенное исследование значимости ЭМ связей для приживаемости сеянцев выявило сходные преимущества (Nara, 2006a). При изучении приживаемости сеянцев ивы (*Salix reinii*) в бедной питательными веществами вулканической пустыне на склонах горы Фудзи в Японии было показано отсутствие спорового инокулюма на территории исследования. Подробности работы были изложены в главе 15. Наиболее важным результатом было выявление того, что споровый инокулюм не играет существенной роли в колонизации на данном участке, и развитие ЭМ обеспечивают общие мицелиальные сети (ОМС), отходящие от материнских растений. Эти ОМС снижают конкуренцию за N между крупными и мелкими растениями, независимо от вида грибного партнера и числа ЭМ корневых окончаний. Таким образом, значимость ОМС для приживаемости сеянцев, усиления поглощения питательных веществ и снижения конкуренции была установлена в естественных условиях, без применения метода окапывания, который затруднял интерпретацию данных предыдущих работ.

Межвидовая конкуренция

АМ колонизация влияет на сравнительную продуктивность взрослых растений различных видов в смешанных сообществах, изменяя видовое разнообразие и влияя на рост отдельных особей. В одной из наиболее ранних работ было показано, что АМ колонизация заметно влияла на результат конкуренции между злаком *Lolium perenne* и представителем бобовых *Trifolium repens*. Вид *L. perenne* активно колонизировался, но не давал ответных реакций на колонизацию, в основном потому, что его корни достаточно эффективно поглощали P из почвы. Напротив, вид *T. repens*, характеризующийся высоким уровнем ответных реакций, в микоризном состоянии был высокопродуктивен только при совместном росте с *L. perenne* (Hall, 1978). Сходным образом, АМ инокуляция в горшечной культуре изменяла относительную продуктивность и выживаемость ряда видов травянистых растений при совместном выращивании в почве с низким содержанием P (Grime et al., 1987). Аналогичные данные часто получают для групп или пар видов, что свидетельствует о значительном влиянии АМ симбионтов на совместную встречаемость видов растений, их конкурентные взаимоотношения и, следовательно, на биоразнообразие сообществ (Hetrick et al., 1994a; West, 1996; van der Heijden et al., 2003).

Выявление механизмов, посредством которых микоризные грибы изменяют относительную продуктивность растений в условиях межвидовой конкуренции, представляет собой очень трудную задачу, отчасти из-за различий в поглощении питательных веществ и стратегий роста конкурирующих растительных видов и отчасти ввиду разной эффективности грибных симбионтов. Ответные реакции могут

сильно изменяться в ходе потенциально конкурентных взаимоотношений, и прогнозировать возможные результаты конкуренции на основании ответов отдельных особей растения достаточно сложно, что показано в ходе экспериментов с дикорастущими видами. Ростовые ответные реакции отдельных видов растений высокотравной прерии были использованы для предсказания результатов совместного произрастания этих видов. В данном случае, как упомянуто выше, злак теплого сезона *Andropogon gerardii* был высоковосприимчив, и это свойство сочеталось с его высокой конкурентоспособностью. Однако при изучении механизмов, обусловливающих инвазионную способность *Centaurea maculata* в степях Монтаны, никаких положительных ростовых ответных реакций не наблюдалось ни у этого вида, ни у вида *Festuca idahoensis*, с которым он успешно конкурировал (Marler et al., 1999). Тем не менее, при выращивании с крупными растениями *F. idahoensis* и снижении диспропорции в размерах между двумя видами, для *C. maculata* была показана высокая восприимчивость к АМ инокуляции и высокая конкурентоспособность в отношении злака, как это было отмечено и в природных условиях. Авторы предположили, что причиной наблюдаемого эффекта в смешанных сообществах может являться транспорт С между видами, но позднее эту гипотезу проверили более тщательно и не нашли безоговорочных свидетельств в ее пользу (Zabinski et al., 2002; Carey et al., 2004). Наиболее вероятно, что АМ колонизация *C. maculata* приводит к усилению способности к поглощению Р, что проявлялось в повышении концентрации этого элемента в тканях растений (Zabinski et al., 2002). Это может служить еще одним примером более высокой конкурентоспособности, основанной на приоритетном поглощении лимитирующих веществ.

Некоторые представления о механизмах конкуренции были получены в результате горшечных экспериментов, в которых томат дикого типа (в норме АМ, но невосприимчивый в используемом типе почвы) выращивали совместно с полученным на его основе дефектным по признаку микоризообразования мутантом (Cavagnaro et al., 2004a). Без инокуляции два растения (оба немикоризные) росли с одинаковой скоростью и демонстрировали одинаковые ответные реакции на внесение Р и на плотность посадки, как на уровне отдельных генотипов, так и в условиях конкуренции в эксперименте методом рядов агрессивности (Cavagnaro et al., 2004a). Так, единственной стратегией, при которой возможно усиление поглощения питательных веществ из обедненной Р почвы, была способность дикого типа образовывать АМ при инокуляции. Несмотря на потенциальные различия в углеродном балансе между диким типом (АМ) и мутантом (отсутствие микоризы), в результате конкуренции в условиях инокуляции было отмечено явное преимущество в росте у АМ дикого типа за счет повышенной способности к поглощению Р в бедной питательными веществами почве. Ростовая ответная реакция была очевидна только в условиях конкуренции; дикий тип томата демонстрировал нейтральную или отрицательную ответную реакцию на колонизацию при отдельном выращивании.

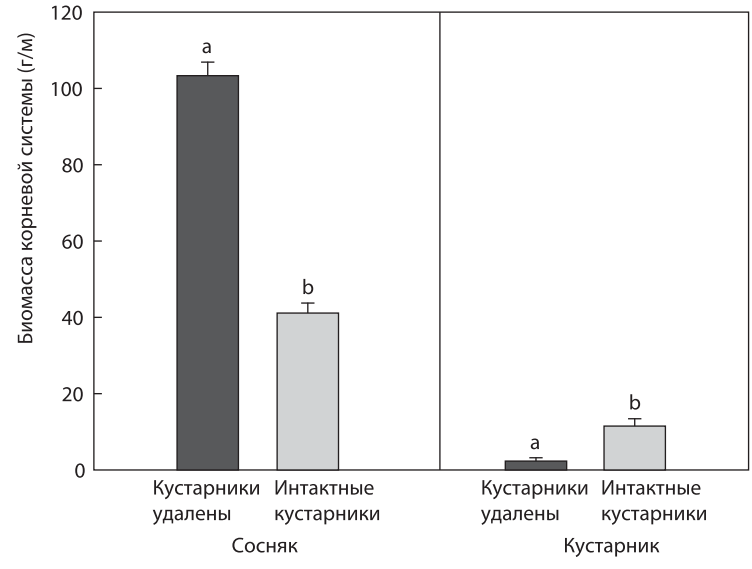
Имеющиеся на данный момент примеры включают АМ растения, которые, как предполагается, имеют доступ к тем же самым неорганическим источникам питательных веществ, что и их грибные симбионты (см. гл. 5). Образование эктомикориз позволяет *Pinus elliottii* поглощать большее количество Р из неорганических источников при конкуренции с немикоризным злаком *Panicum chamaelonche*, чем в конкурентных взаимодействиях с другим видом сосны (Pedersen et al., 1999). Авторы предупреждают, что в природных условиях результат конкуренции может сильно отличаться от выявленного, так как вид *P. chamaelonche* будет образовывать арбускулярные микоризы, увеличивающие его способность к усвоению доступного неорганического Р.

В результате эксперимента, проведенного в полевых условиях, была продемонстрирована значимость взаимодействий в подземной части сообщества между ЭМ

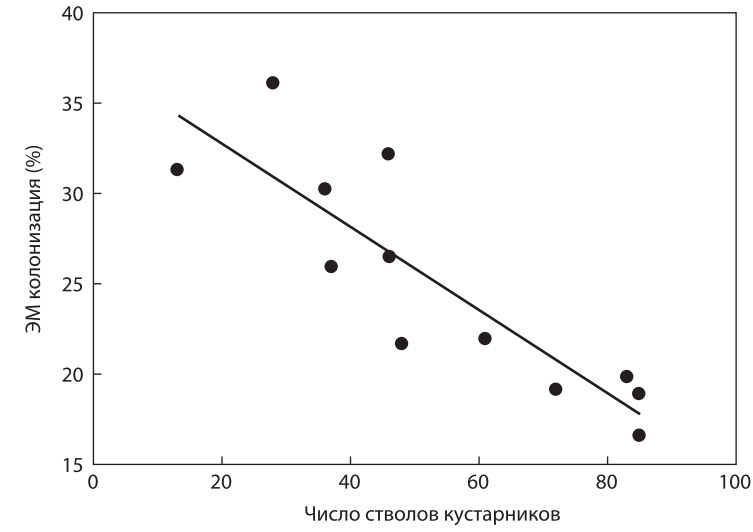
однохвойной сосной (*Pinus edulis*) и встречающимися совместно с ней АМ кустарниками. В засушливый период продуктивность в полевых условиях и биомасса корней сосны были ниже в присутствии кустарников, что предполагает конкуренцию за ресурсы в почве (рис. 16.4А). Более того, когда кустарники в процессе эксперимента были удалены, рост и надземной и подземной частей растений сосны усиливался. В то же время ЭМ колонизация повышалась вдвое (рис. 16.4Б), хотя разнообразие грибного сообщества оставалось неизменным (McHugh, Gehring, 2006). Эти результаты согласуются с полученными ранее данными о воздействии таких процедур как окапывание для снятия влияния конкуренции на продуктивность изучаемых видов. Авторы сделали предположение, что влияние, наблюдаемое в их экспериментах, было наиболее выраженным в силу недостатка влаги на исследуемой территории.

Для многих видов растений было выявлено, что основными источниками элементов питания являются органические соединения N и P. Это особенно значимо для растительных симбионтов ЭМ или ЭрМ (см. гл. 9, 10, 11 и 15), в которых грибные партнеры расширяют круг доступных источников, как неорганических, так и органических. Подобная разносторонность играет очень важную роль в таких обедненных элементами питания местообитаниях как вересковые пустоши, позволяя растениям использовать пулы питательных веществ, недоступные для АМ или немикоризных видов. Это делает возможным сосуществование растений с разными стратегиями получения питания посредством снятия прямой конкуренции за N и P. Были отмечены изменения, происходящие по мере увеличения содержания неорганического N в почве в результате осаждения азота из атмосферы (Aerts, 1999). Вследствие этого обилие АМ злаков, таких как *Molinia caerulea* и *Deschampsia flexuosa,* зависимых от неорганического N, будет повышаться за счет снижения доли представителей Ericaceae, которые доминируют на вересковых пустошах в настоящее время (см. также гл. 15).

Было проведено очень немного экспериментальных исследований способов влияния эктомикориз на конкуренцию между растениями за природные источники питания. С помощью метода рядов агрессивности изучали влияние как специфичных ЭМ грибов, так и генералистов на конкуренцию между *Pseudotsuga menziesii* и *Pinus ponderosa*, совместно встречающихся в лесных массивах юго-западного Орегона (Perry et al., 1989b). Растения сажали в горшки в лесную почву из подстилочного и гумусного горизонтов, предварительно простерилизованную и инокулированную определенными видами ЭМ грибов или не содержащую микобионт. Без инокуляции (но при наличии микориз, образованных контаминантом *Thelephora terrestris*), две древесные породы подавляли друг друга, но ингибирование исчезало после инокуляции горшков двумя видами ЭМ грибов, специфичных или для *P. menziesii*, или для *P. ponderosa* (*Rhizopogon vinicolor* и *R. ochraceorubens*, соответственно). Когда были внесены четыре микобионта (два специфичных и два генералиста), вид *P. menziesii* достоверно лучше рос в смеси, чем одиночно, а рост *P. ponderosa* не снижался. Полученные результаты указывают на то, что грибной симбионт-генералист *Laccaria laccata* усиливал поступление N и P к *P. menziesii* и сокращал избыточное поглощение у *P. ponderosa*, однако недостаточно для снижения продукции биомассы. Влияние на рост, вероятно, не было результатом увеличения числа микобионтов, а, скорее, было следствием присутствия эффективных грибных партнеров, что весьма важно в связи с вопросами, обсуждаемыми ниже.



А



Б

Рисунок 16.4. Влияние удаления кустарников на эктомикоризную колонизацию и рост сосны однохвойной (*Pinus edulis*). А — удаление надземной части снижало биомассу корневой системы кустарников. Особи сосны, ассоциированные с удаленными кустарниками, имели в три раза более высокую биомассу корневой системы, чем ассоциированные с интактными кустарниками. Столбцы представляют средние значения и стандартную ошибку. Буквами a и b обозначены достоверные различия. Б — зависимость между эктомикоризной колонизацией (%) взрослых деревьев однохвойной сосны и количеством стволов кустарников, оставшихся в зоне роста сосны. Перерисовано из McHugh, Gehring, 2006.

Влияние арбускулярных микориз на видовое разнообразие растений

Можно ожидать, что влияние микориз на конкуренцию между растениями повлечет за собой изменения совместной встречаемости растений и биоразнообразия сообщества. Однако экспериментальные данные сильно различаются, поэтому очень важно проанализировать причины этих отличий и, по возможности, выявить обусловливающие их механизмы. С использованием микрокосмов было воссоздано растительное сообщество, характерное для бедных питательными веществами карбонатных почв северо-запада Европы (Grime et al., 1987). Растения представляли собой смесь злаков и разнотравья, и для всех видов, за исключением двух (*Arabis hirsuta* и *Rumex acetosa*), представителей типично немикоризных семейств, в природных условиях была характерна активная колонизация АМ грибами. Растения выращивали из семян на протяжении года на газоне из посеянного заранее доминантного злака *Festuca ovina* либо в немикоризном, либо в АМ состоянии, что обеспечивало естественный источник инокулюма для прочих растений. Выживание растений наблюдали в течение года, и влияние колонизации на биомассу и структуру сообщества оценивали в ходе однократного сбора данных. Среди злаков только один вид, *Holcus lanatus*, демонстрировал положительную ответную реакцию на АМ колонизацию по критерию сухого веса; рост прочих либо не менялся, либо снижался (табл. 16.1). Те травы, которые обычно колонизируются АМ грибами, давали достоверно более высокие показатели роста в инокулированных сравнительно с неинокулированными микрокосмами (табл. 16.1). Напротив, вид *A. hirsuta* был более продуктивным в немикоризном сообществе. Выживаемость может служить лучшим критерием благополучия, чем продуктивность, особенно, в местообитаниях, бедных питательными веществами, таких, как луга с карбонатной почвой, так как выжившие растения образуют достаточно жизнеспособные семена. Отсутствие АМ инокулюма приводит к резкому снижению выживаемости АМ трав (табл. 16.2), но для *A. hirsuta* и *R. acetosa* было показано обратное. Только небольшое количество особей этих растений сохраняли жизнеспособность в АМ микрокосмах через шесть месяцев. Это исследование дает некоторое представление о роли АМ колонизации в ингибировании развития сеянцев в сомкнутом дерне. Неколонизирующиеся виды, вместе с некоторыми другими, оказались «несовместимыми» с дерном и, следовательно, были отнесены к группе рудералов (Grubb, 1976, 1977; Fenner, 1978). Сходное отрицательное влияние АМ колонизации на несовместимые виды наблюдалось и в микрокосмах и в природных условиях (напр., O'Connor et al., 2002; van der Heijden et al., 1998b).

Было сделано предположение, что чувствительность к присутствию свободного АМ мицелия является фактором, определяющим рост и выживание несовместимых видов растений. Виды *Rumex acetosa* и *Arabis hirsuta*, а также ряд других совместимых и несовместимых растений, выращивали в горшках вместе в АМ «растениями-донорами», разделяя корневые системы сетками, позволяющими проникновение АМ мицелия. Так гифы могли взаимодействовать с корнями изучаемых видов растений, которые реагировали на их присутствие очень различным образом (Francis, Read, 1994, 1995). Несовместимые виды (напр., *A. hirsuta*) росли плохо, и их жизнеспособность снижалась, но совместимые растения, как, например, *Plantago lanceolata* и *Centaurium erythraea* давали положительную ответную реакцию. Причины антагонистического эффекта АМ грибов в отношении несовместимых видов-рудералов еще не выявлены. В некоторых случаях отрицательное влияние на развитие корневой системы наблюдалось в отсутствие грибной колонизации, что предполагает возможность химического воздействия (Allen et al., 1989;

Таблица 16.1. Влияние АМ инокуляции на прирост сухого веса побегов на растение у видов, совместно выращиваемых в микрокосме в течение 1 года.

Растения	Без АМ инокуляции	С АМ инокуляцией	Влияние колонизации
Злаки			
Anthoxanthum odoratum	5,02	5,40	-
Briza media	13,55	54,26	*
Dactylis glomerata	160,19	286,84	НД
Festuca ovina +	922,68	609,43	***
Festuca ovina	24,14	22,02	*
Festuca rubra	27,67	25,37	*
Poa pratensis	15,07	19,34	НД
Разнотравье			
Arabis hirsuta[1]	0,26	0.13	-
Campanula rotundifolia	0,73	4,20	**
Centaurea nigra	1,70	10,90	***
Centaurium erythraea	0,23	7,08	-
Galium verum	1,87	9,39	**
Hieracium pilosella	0,93	7,63	***
Leontodon hispidus	0,83	3,72	**
Plantago lanceolata	3,62	33,96	***
Rumex acetosa[1]	9,72	8,77	НД
Sanguisorba minor	5,06	17,14	***
Scabiosa columbaria	2,46	10,19	***
Silene nutans	16,85	44,89	***

Данные взяты из Grime et al., 1987).
[1] Несовместимые растения, не колонизирующиеся при инокуляции. Вид *Festuca ovina* вносили в микрокосмы в виде мелких растений (+) или семян.

Таблица 16.2. Выживаемость (%) трав через 6 месяцев в микоризованных и немикоризных микрокосмах.

Вид	Микрокосм	
	Микоризованный	Немикоризный
Centaurium erythraea	64	2
Galium verum	58	11
Hieracium pilosella	49	6
Leontodon hispidus	42	13
Plantago lanceolata	71	10
Sanguisorba minor	53	6
Scabiosa columbaria	84	16
Arabis hirsuta	8	42
Rumex acetosa	11	60

Достоверное повышение выживаемости было показано для большинства трав, выращенных в микоризном состоянии, за исключением несовместимых видов *Arabis hirsuta* и *Rumex acetosa,* у которых наблюдалась обратная тенденция.

Francis, Read, 1994). В других ситуациях ингибирование было связано с проникновением мицелия в корень и обильным образованием везикул, вызывающим значительный отток С (Francis, Read, 1995). Однако объяснение может быть и более простым. Хотя корни растений разделены, весьма вероятно, что использование почвы гифами дает хозяину преимущество в питании, и ослабление роста несовместимого вида происходит в результате конкуренции. Такого типа взаимодействия наблюдались в сходной экспериментальной системе, в которой мутант томата (*rmc*) выращивали вместе с *Allium porrum* в качестве донора (Cavagnaro et al., 2004b). Каковы бы ни были механизмы взаимодействия, выявление которых требует более детального цитологического и физиологического исследования, очевидно, что АМ грибы можно рассматривать в качестве основных факторов, влияющих как на структуру, так и на биоразнообразие растительных сообществ.

Описанный выше эксперимент в микрокосмах (Grime et al., 1987) одним из первых предоставил четкое свидетельство возможного влияния АМ грибов на структуру и видовой состав фитоценозов. Повышение разнообразия под влиянием арбускулярных микориз было следствием значительного сокращения роста доминантного вида, *Festuca ovina*, и улучшения выживаемости некоторых из высоковосприимчивых АМ видов, таких как *Centaurium erythraea*, хотя видовое богатство не претерпело изменений. На конечном результате сказалось изменение относительного обилия доминантов и прочих видов. В данном растительном сообществе вид *F. ovina* давал отрицательную ростовую ответную реакцию на АМ колонизацию, несмотря на высокую степень колонизации.

Значительно позднее были получены подобные результаты, вновь с использованием степных или луговых растений, выращенных в микрокосмах. М. Ван дер Хейден с соавт. (van der Heijden et al., 1998b) показали повышение разнообразия и, в одном из экспериментов, увеличение продуктивности, которые не были отмечены ранее (Grime et al., 1987). Тем не менее, сходство обоих исследований заключается в том, что ответная реакция доминирующего вида злака на внесение АМ инокулюма была или отрицательной, или нейтральной. Так, в обоих случаях было показано повышение разнообразия растений при АМ колонизации, и это было результатом улучшения роста и выживаемости второстепенных АМ растений, ассоциированных с доминантами, конкурентоспособность которых была снижена при АМ колонизации. Следовательно, возможны два пути влияния: облегчение доступа второстепенных растений к питательным веществам через АМ мицелий, отходящий от их корней, и ослабление и, таким образом, снижение конкурентоспособности, доминантов.

Два полевых исследования, сопровождавшихся горшечными экспериментами, дали результаты, на первый взгляд, противоречащие данным, полученным в микрокосмах. Как было отмечено (см. выше и в гл. 4 и 5), в сообществах высокотравных прерий преобладают С4 злаки теплого сезона, которые высоковосприимчивы к АМ колонизации. Также в фитоценозах присутствуют С3 злаки прохладного сезона, которые несколько менее восприимчивы, и целый ряд других трав, различающихся по своим ответным реакциям, по крайней мере, в условиях эксперимента. Взаимоотношения между видами были изучены в полевых условиях методом рядов агрессивности с применением доминантных С4 злаков или подавления АМ грибов с помощью фунгицида беномила в течение двух сезонов (Smith et al., 1999). Оба способа повышали видовое богатство растений, а при обработке беномилом также увеличивалось значение индекса разнообразия Шеннона. Обилие доминантного высоковосприимчивого вида *Andropogon gerardii* и субдоминантного восприимчивого *Bouteloua curtipendua* сокращалось при подавлении АМ колонизации в природных условиях, в то время как доля других растений (с различной восприимчивостью в горшечных экспериментах) повышалась. Подобный эффект удаления

доминантов и внесения беномила предполагает, что конкуренция с доминантными видами является основным фактором, определяющим флористическое разнообразие в этом сообществе.

Сходные данные были получены при работе в разнотравной семиаридной степи в южной Австралии с преобладанием *Medicago minima*, однолетника, в горшечных экспериментах высоковосприимчивого к АМ колонизации (O'Connor et al., 2002). Два других травянистых растения, *Carrichtera annua* (Crucifereae, однолетнее несовместимое растение) и *Salvia verbenaca* (Labiatae, короткоживущий многолетник, невосприимчивый к колонизации), также вносили значительный вклад в общую биомассу, кроме того, в сообществе присутствовал ряд видов — минорных компонентов с различной степенью восприимчивости. Внесение беномила в течение одного сезона эффективно подавляло АМ колонизацию сравнительно с контролем, как без увлажнения, так и при поливе водой. Применение воды в качестве дополнительного контроля было необходимо в этих условиях, где количество осадков мало, а их выпадение изменчиво и непредсказуемо. Сравнение двух типов контроля показало, что увлажнение повышает продуктивность, но отличий между ними по относительному количеству растений или биомассе каждого вида выявлено не было. Подавление АМ активности отчетливо снижало надземную биомассу и число особей доминантного вида, *M. minima*. Оба вида *C. annua* и *S. verbenaca* демонстрировали значительное увеличение биомассы, сопровождавшееся у последнего заметно повышенной выживаемостью семян. У других нативных видов (*Velleia arguta*, *Erodium crinitum* и *Vittadinia gracilis*) показаны небольшие различия при обработке водой или беномилом (рис. 16.5). Подобные колебания биомассы или обилия не выражались в виде результирующих изменениях видового богатства, но показатели разнообразия (+29%, индекс Шеннона *H'*) и выровненности (+32%, индекс выровненности *J*) повышались на площадках, где развитие микоризы подавлялось. Различия значений биоразнообразия являлись результатом изменения вклада трех основных видов (рис. 16.6). Когда АМ активность подавлялась, конкурентоспособность доминанта *M. minima* сильно снижалась, что давало преимущества видам *C. annua* и *S. verbenaca* не вследствие их статуса как растения-хозяина, а скорее из-за отсутствия выраженной восприимчивости. Однако, вероятно, что так как *S. verbenaca* при колонизации использует путь поглощения питательных веществ через АМ, это и позволяет данному виду успешно сосуществовать с *M. minima*.

Можно сделать вывод, что влияние АМ колонизации на разнообразие растений не абсолютно и сильно зависит от восприимчивости вида в сообществе (Bergelson, Crawley 1988). Были предприняты попытки создания концептуальных моделей для лучшего понимания происходящих процессов (Hartnett, Wilson, 2002; Urcelay, Diaz, 2003). Из всех данных, полученных к настоящему моменту, следует, что восприимчивость и, следовательно, конкурентоспособность, доминантов играет наиболее важную роль в наблюдаемых эффектах. Если они дают положительную ответную реакцию, то подавление АМ колонизации, вероятно, повышает разнообразие, так как у прочих видов снимается нагрузка конкуренции. Напротив, когда у доминантов ответ на микоризацию отрицательный, подавление образования АМ будет снижать разнообразие из-за утраты второстепенными растениями конкурентного преимущества, возникающего за счет АМ симбиозов. Соотношение экспериментальных данных предполагает, что микоризная восприимчивость в первую очередь доминантов, а не прочих растений, играет наиболее важную роль (см. Urcelay, Diaz, 2003), но исследования должны быть расширены для охвата более широкого круга типов растительности.

В ЭМ сообществах было проведено очень мало работ подобного рода. Однако данные для некоторых тропических лесных массивов свидетельствуют о том, что ЭМ симбиозы значимы для способности определенных древесных пород образо-

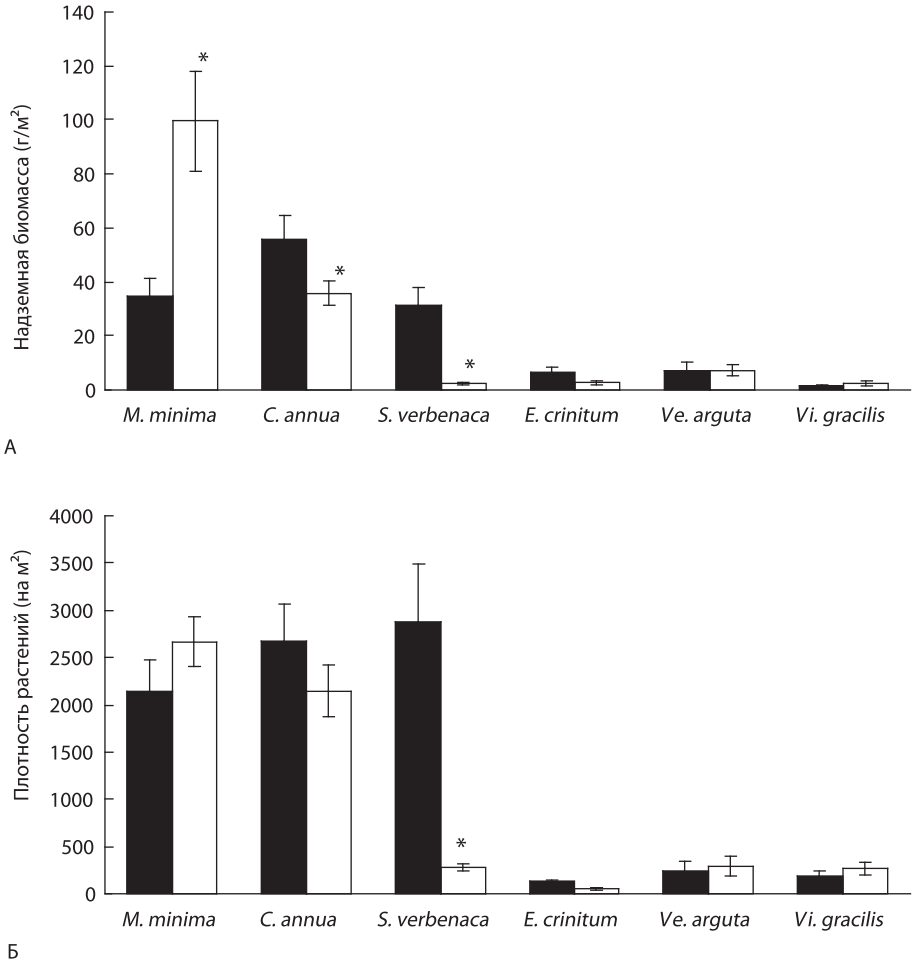


Рисунок 16.5. Ответные реакции основных видов растений на пробных площадях в естественной семиаридной степи на подавление АМ колонизации беномилом (черные столбцы) сравнительно с увлажняемыми пробными площадями (прозрачные столбцы). А — надземная биомасса; Б — плотность растений. Звездочка над столбцом обозначает достоверное отличие площадок, обработанных фунгицидом, от контроля (P<0,05) по тесту Тьюки. На представленные виды приходилось >90% биомассы на площадке (n = 7). Виды: *Medicago minima*, *Carrictera annua*, *Salvia verbenaca*, *Erodium crinitum*, *Vellea arguta*, *Vittadinia gracilis*. Воспроизведено из O'Connor et al., 2002, с разрешения журнала «*New Phytologist*».

вывать монодоминантные сообщества. Они резко контрастируют с часто находящимися поблизости на почвах того же типа дождевыми лесами с высоким биоразнообразием и преобладанием АМ симбиозов (Connell, Lowman, 1989). Эта ситуация описана в главе 15.

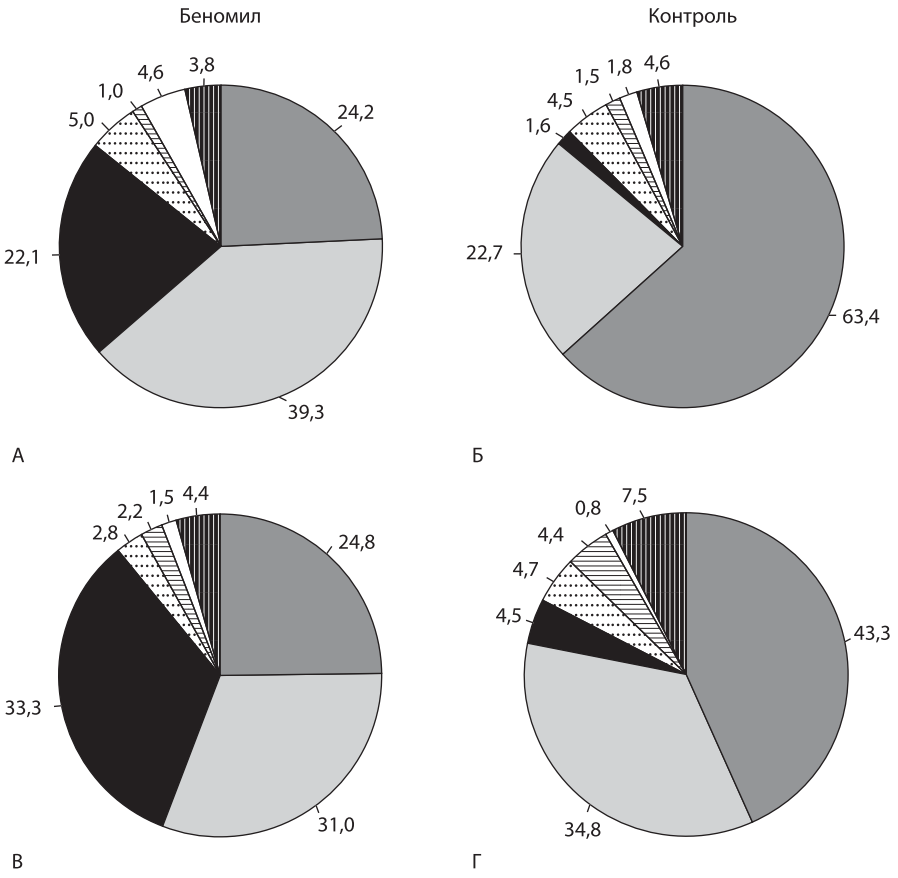


Рисунок 16.6. Вклад (%) видов в общую надземную биомассу (А и Б) и общее число особей (В и Г) на пробных площадях с подавлением АМ (беномил, А, В) или активными АМ грибами (контроль, Б, Г). Виды: ■ — *M. minima*; ■ — *C. annua*; ■ — *S. verbenaca*; пунктирная штриховка — *Ve. arguta*; горизонтальная штриховка — *Vi. gracilis*; □ — *E. crinitum*; вертикальная штриховка — другие. Приведены средние значения из семи повторностей.

Влияние сообщества грибов

До сих пор при обсуждении влияния микоризы на конкуренцию и, следовательно, биоразнообразие и продуктивность в фитоценозах не был затронут вопрос о возможной роли различий в составе АМ грибных сообществ. Однако высокое функциональное разнообразие между различными парами гриб–растение, а также избирательность в отношении партнера, подразумевает, что изменения грибного сообщества как в отношении численности, так и видового состава могут влиять на взаимоотношения между растениями (см. гл. 1 и 4). В экспериментах в условиях микрокосма было проведено сравнение влияния внесения четырех видов АМ грибов по отдельности и в сочетании на рост растений и его следствия, такие как продуктивность и биоразнообразие (van der Heijden et al., 1998b). Авторы обнаружили, что

неудивительно, значительные различия в ответах отдельных особей растений на инокуляцию определенными видами грибов, и отличающиеся ответные реакции на внесение смеси симбионтов. Множественная инокуляция иногда более продуктивна для получения ответа, чем внесение одного вида, и было сделано предположение, что биоразнообразие и продуктивность растений будут повышаться с увеличением количества АМ грибов в почвенном сообществе, хотя в данном эксперименте не было выявлено изменений продуктивности.

Несколько более убедительные свидетельства были получены во втором эксперименте, проводимом в полевых условиях, где использовали инокуляцию 14 случайно отобранными видами АМ грибов сообщества из 15 видов растений. В этом случае продуктивность по показателям растительной биомассы и плотности гиф возрастала с увеличением численности грибов, а также происходило повышение биоразнообразия, причем все параметры достигали асимптотического приближения при внесении около 8 видов АМ грибов. Содержание Р в растениях повышалось, а в почве падало, и это указывает на то, что более активное использование почвенных источников Р может служить одной из причин наблюдаемых явлений. Были получены данные, согласующиеся с этой точкой зрения, демонстрирующие взаимосвязь между повышением содержания Р в побегах *Plantago lanceolata* и разнообразием развивающихся в корневой системе АМ грибов при культивировании в микрокосмах с различными типами воздействия на растение (Johnson et al., 2004). Однако мнение о том, что повышение разнообразия АМ грибов является движущей силой увеличения продуктивности и биоразнообразия растений, подверглось критике на основании того, что на результаты многих экспериментов оказывал влияние эффект выборки. Вероятность включения в сообщество грибного симбионта, дающего растению б*о*льшие преимущества, повышается по мере увеличения числа АМ грибов, используемых в опыте (Wardle, 1999). Этот эффект наблюдался в эксперименте Д. Перри с соавт., в котором увеличение продуктивности сеянцев двух древесных пород при инокуляции четырьмя видами ЭМ грибов было обусловлено положительным влиянием *Laccaria laccata* на *Pseudotsuga menziesii*, а не разнообразием ЭМ симбионтов (Perry et al., 1989b; см. выше).

В других исследованиях не удалось показать стабильную связь между видовым богатством микоризных грибов и продуктивностью растений. Влияние ЭМ сообщества на рост и продуктивность сеянцев двух деревьев изучали в двух типах почвы с разной доступностью питательных веществ (Jonsson et al., 2001). Действие микоризы на рост растений различалось между восемью видами ЭМ грибов и между типами почвы при инокуляции отдельными микобионтами. Только в одном случае (*Betula pendula* на малоплодородной почве) была отмечена четкая положительная зависимость между видовым богатством грибов и продуктивностью растений, не связанная с эффектом выборки. Отрицательная зависимость между видовым богатством грибов и продуктивностью *Pinus silvestris* наблюдалась на высокоплодородной почве, а в двух других вариантах никаких зависимостей выявлено не было.

Данные о том, что продуктивность растений не обязательно связана с разнообразием грибных симбионтов, не должны являться неожиданностью. Как и в случае влияния наличия или отсутствия АМ грибов (см. выше), результат будет сильно зависеть не только от способностей членов грибного сообщества колонизировать корни, но и от восприимчивости того вида растения, который вносит наибольший вклад в общую биомассу. В эксперименте в микрокосме не было отмечено изменений продуктивности по мере увеличения числа АМ грибов, так как виды растений, вносящие наиболее значимый вклад в биомассу, были или невосприимчивыми, или давали отрицательную ответную реакцию. Ответ не изменялся при инокуляции несколькими видами по сравнению с таковым на внесение единственного АМ вида (van der Heijden et al., 1998b). К сожалению, не были представлены данные о колонизации корней АМ

грибами и, в любом случае, применяя доступные в то время методы, было бы сложно оценить вклад каждого вида в общую колонизацию при внесении смешанного инокулюма. Малоизученные различия между грибами по типу и агрессивности инокулюма, а также по их конкурентоспособности (см. гл. 2), вероятно, весьма важны для определения «заселенности» корня и, следовательно, способности к более эффективному использованию почвы для получения источников питания. В противоположность большинству исследований, в которых видовое богатство симбионтов оценивалось по числу видов, внесенных в начале эксперимента, в работе Л. Джонсон с соавт. было показано, что все инокулированные виды ЭМ грибов сохраняли жизнеспособность до конца опыта (Jonsson et al., 2001). Тем не менее, в некоторых случаях доли корневых окончаний, колонизированных различными видами грибов, неравны, что указывает на конкурентное вытеснение.

Обратные связи, возникающие при влиянии растений на АМ грибные сообщества и наоборот, были изучены в основном на уровне споровой продукции. В нескольких работах показана положительная зависимость между численностью спор АМ грибов и количеством видов растений в сообществе (Burrows, Pfleger, 2002; Chen et al., 2004). Эти данные согласуются с выявлением случаев наличия положительной корреляции между видовым богатством растений и биомассой АМ грибов (Hedlund et al., 2003). При анализе видовой принадлежности спор АМ грибов в дубовом лесу с естественными градиентами видового состава растений была показана мощная корреляция между видовым богатством растений и АМ грибов (Landis et al., 2004). В этих исследованиях, как правило, не измеряли продуктивность или состояние растений в зависимости от состава сообщества АМ грибов. Однако К. Хедлунд с соавт. отметили отрицательную зависимость между биомассой АМ (определенной на основании подписи жирной кислоты 16:1ω5) и растений (Hedlund et al., 2003). Полученные данные предполагают, что активная колонизация корней и почвы грибными гифами не является причиной высокой продуктивности растений.

Дж.Д. Бивер проанализировал динамику сообщества совместно встречающихся видов растений и АМ грибов на участке луга, приняв в качестве критериев благополучия рост и продукцию спор (Bever, 2002a, 2003). Он представил доказательства асимметричности соотношения благополучия симбионтов и отрицательной обратной связи между растениями и АМ грибами. Автором было продемонстрировано, что, в общем, вид гриба предоставляет наибольшие преимущества одному виду растений, но развивается лучше (образует большее количество спор) в сочетании с другими видами, и отобразил взаимоотношения в виде моделей обратной связи (рис. 16.7). Он не обнаружил свидетельств положительной обратной связи, при которой грибной симбионт, приносящий растению наибольшее преимущество по критериям роста, также получает именно от него максимальную выгоду, т.е., ситуации, которая привела бы к эволюции в направлении специфичности и отношениям «лучших друзей» (см. гл. 1). Эти результаты очень важны, так как помогают объяснить некоторые из часто получаемых данных о специфичности, встречаемости и функциях АМ симбиозов в сложных сообществах. При отрицательной обратной связи не будет развиваться специфичность симбиозов, будут происходить флуктуации преимуществ различных грибных и растительных партнеров и поддерживаться сосуществование конкурирующих видов, что повлечет за собой высокое видовое богатство и растительного, и грибного сообществ. Таким образом, данная модель взаимоотношений наилучшим образом отображает современные представления об АМ симбиозах как о в большинстве случаев неспецифичных ассоциациях со значительным функциональным разнообразием, характерным для флористически богатых экосистем (гл. 1).

Работы Дж.Д. Бивера были основаны на разнообразии спор, которое не дает информации о развитии АМ симбиозов на корнях, потенциально значимых для ро-

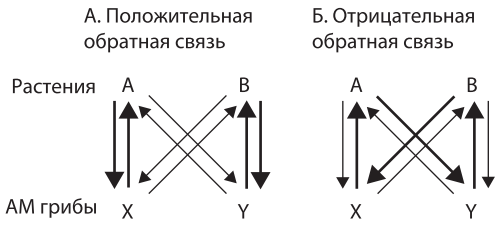


Рисунок 16.7. Модель состояний растений и АМ грибов, которые могут давать положительные или отрицательные обратные связи в ходе взаимодействий симбионтов. На схемах толщина и направление стрелок отражает относительную выгоду, получаемую в симбиозе двумя типами растений (A и B) и двумя типами АМ грибов (X и Y).
А. В случае симметричных взаимоотношений между растениями и АМ грибами изначальное обилие растения А будет повышаться в присутствии гриба X, который усиливает рост вида А и таким образом создает положительную обратную связь, ведущую к снижению разнообразия. Б. Напротив, при значительно асимметричных взаимоотношениях изначальное обилие растения А будет повышаться в присутствии АМ гриба Y, что поддерживает жизнеспособность вида В, создавая отрицательную обратную связь для растения А. Воспроизведено из Bever, 2002, с разрешения.

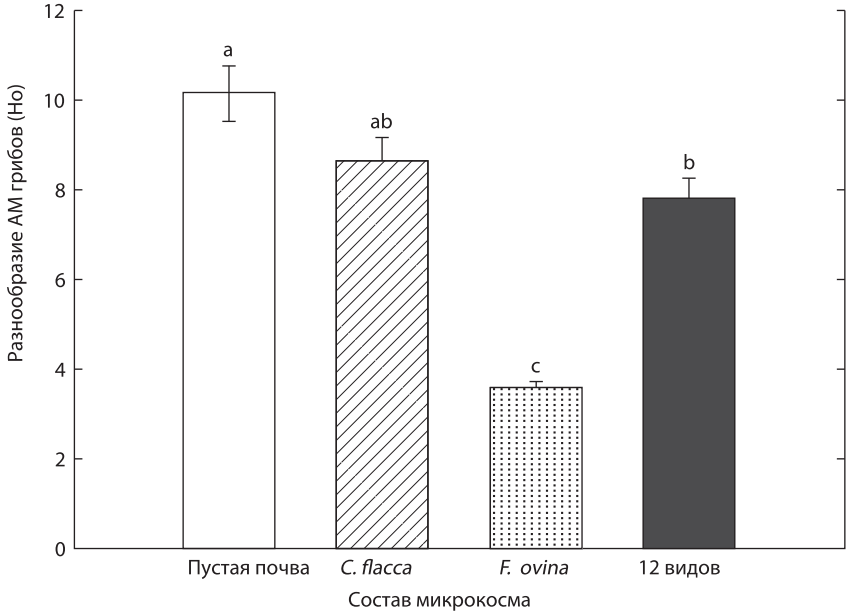


Рисунок 16.8. Среднее разнообразие АМ грибов (*Ho*), колонизирующих корни биотестовых сеянцев *Plantago lanceolata*, извлеченных из луговых микрокосмов через 12 недель роста. Микрокосмы содержали пустую почву (прозрачный столбец), *Carex flacca* (столбец со штриховкой), *Festuca ovina* (столбец с пунктирной штриховкой) или смесь 12 видов растений (черный столбец). Приведены средние значения ± стандартная ошибка, $n = 3$. Столбцы с одинаковыми буквами различаются недостоверно ($P>0{,}05$). Из Johnson et al., 2004, с разрешения журнала «*New Phytologist*».

ста и питания растений. Однако появление методов идентификации АМ последовательностей позволило оценить разнообразие АМ сообществ на корнях *Plantago lanceolata* в микрокосмах, содержащих 12 видов луговых растений с известняковых почв, и сравнить его с таковым для микрокосмов с пустой почвой или монокультурой несовместимого растения *Carex flacca* или активно микоризующегося вида *Festuca ovina* (Johnson et al., 2004, 2005). На разнообразие АМ грибов статистически достоверно влиял видовой состав растений (рис. 16.8) , но, что удивительно, наибольшее видовое богатство (индекс Шеннона *Ho*) было выявлено в пустой почве и микрокосмах с *C. flacca*, а наименьшее — с *F. ovina*. Авторы полагают, что колонизация из почвы без растений или с несовместимыми растениями начиналась из спор большого количества видов, которые пережили 3-летний предварительный период эксперимента без растений. Напротив, активный мицелий в почве, наиболее вероятно, инициировал колонизацию в тех микрокосмах, в которых находились совместимые растения. Если это объяснение верно, колонизация *P. lanceolata* будет отражать набор видов грибов, которые заселяют корни этих потенциальных растений-хозяев и, следовательно, существовавшую до того избирательность симбионтов. Если в таких почвах присутствуют споры, колонизация ими будет, вероятно, медленнее, и, в результате, эти симбионты колонизируют корни в меньшей степени, чем те, у которых инокулюм имеет мицелиальное происхождение. Разносторонние исследования такого рода необходимы для понимания постепенно выявляемых очень сложных взаимоотношений и обратных связей между сообществами растений и грибов. Кроме того, важно учитывать продолжительность экспериментов, особенно при оценке временных различий в колонизации разными источниками инокулюма и изменений в грибных сообществах, которые, возможно связаны с встречаемостью видов с *r*- и *K*- стратегиями отбора.

Роль мицелиальных сетей в перераспределении питательных веществ между членами растительного сообщества

Как следует из предыдущих глав, имеются четкие свидетельства того, что растения могут быть объединены в общие мицелиальные сети (ОМС) грибом-микоризообразователем, обитающим на определенном участке почвы. Не вызывает сомнений, что ОМС играют важную роль в микоризации сеянцев, укореняющихся поблизости от уже колонизированных растений. Функции мицелиальных сетей в перераспределении питательных веществ между растениями активно дискутировались, но до сих пор нет единого мнения относительно количества переносимых соединений и даже механизмов, обусловливающих транспорт. Весьма вероятно, что процессы, происходящие в ОМС, различаются в микоризах разных типов. Имеющиеся данные подробно изложены и обобщены в ряде обзорных работ последних лет (Robinson, Fitter, 1999; Simard et al., 2002; Simard, Durall, 2004).

Одно из первых доказательств передвижения меченых ^{14}C соединений между АМ видами было получено в эксперименте в микрокосмах, описанном выше (Grime et al., 1987). Непосредственно перед сбором образцов в микрокосме в побеги *Festuca* был внесен $^{14}CO_2$ и прослежено распределение метки. Ее транспорт произошел почти исключительно в тех микрокосмах, где находились АМ грибы, и только колонизированные растения имели высокое содержание ^{14}C. Эти результаты свидетельствуют о наличии АМ грибных соединений между растениями в многовидовых сообществах. Также было сделано предположение, что результирующий перенос органического С между растениями оказывает значительное влияние на их рост в микрокосме. Однако в другом исследовании в качестве вероятно-

го объяснения приводилось освобождение второстепенных растений от конкуренции (Bergelson, Crawley, 1988). Многочисленные работы подтвердили это предположение, и в некоторых из них экспериментальным путем (например, путем затенения) изучались возможные эффекты донорно-акцепторных взаимодействий. Во многих случаях действительно происходил транспорт ^{14}C из побегов одного растения в АМ корневую систему другого, но само по себе это не демонстрирует перенос в клетки растения-акцептора или его количественный вклад в общий баланс С. Это свидетельствует о том, что растения соединены общим АМ грибным симбионтом и указывает на возможное разделение растениями «затрат» на поддержание грибного симбионта и его поглощающей активности, что может иметь важные последствия в плане относительной выгодности АМ колонизации для растений (см. гл. 4). На степень вклада различных растений в ОМС может очень сильно влиять изменение донор-акцепторных взаимодействий.

В ходе изучения возможной роли АМ колонизации в определении взаимоотношений между инвазивным видом *Centaurea maculosa* и нативным злаком *Festuca idahoensis*, М. Марлер с соавт. показали, что ни один из этих видов растений не давал положительной ответной реакции на АМ инокуляцию при одиночном выращивании в горшках (Marler et al., 1999). Однако при совместном произрастании вид *C. maculosa* обладал более высокой конкурентоспособностью и подавлял развитие *F. idahoensis* при инокуляции АМ грибами в большей степени, чем когда инокуляция не производилась. Затем для изучения возможности транспорта С от *F. idahoensis* к *C. maculata* и его роли в межвидовой конкуренции исследователи применили мечение ^{13}C в горшках, разделенных сеткой на отсеки (Zabinski et al., 2002; Carey et al., 2004). В некоторых экспериментах не было обнаружено никаких свидетельств переноса С между растениями, несмотря на тот факт, что различия в росте между видами были такими же, как и в более ранних опытах (Zabinski et al., 2002). Также у вида *C. maculosa* была показана достоверно более высокая концентрация Р при выращивании в горшках совместно со злаком при разделении сеткой их корневых систем, и сделано заключение, что инвазивный вид более активно использовал свой АМ симбионт для поглощения Р, чем нативный. При повторной проверке возможности существования результирующего транспорта С, несмотря на получение некоторых доказательств того, что он происходит, на основании распределения ^{13}C нельзя исключить роль различий в эффективности использования влаги в определении характера этого распределения (Carey et al., 2004). Различия в усвоении Р из общей мицелиальной сети или даже отдельных сетей, сформированных разными видами АМ грибов, остаются для данного случая наиболее правдоподобным объяснением конкурентных взаимоотношений.

В двух исследованиях, упомянутых выше, изучали растения, одновременно произрастающие в горшках. Были исследованы возможные сезонные различия транспорта С между широколиственной древесной породой *Acer saccharum* (сахарный клен) и геофитом *Erythronium americanum* (кандык американский) (Lerat et al., 2002). Растения были выращены в горшках из волокна и помещены в кленовый лес. *E. americanum* образует листья по весне, примерно в то время, когда у клена происходит вскрывание почек, но до начала полноценного фотосинтеза кленовых листьев. Позднее, когда листья клена смыкаются, надземная часть растений *E. americanum* отмирает, и остается только клубнелуковица, формирующая новые корни в начале осени. Способность этих двух видов, образующих арбускулярные микоризы, передавать друг другу ^{14}C была различной в разные периоды роста. Внесение метки $^{14}CO_2$ проводили весной и осенью, и полученные результаты предполагают наличие транспорта от *E. americanum* к *A. saccharum* весной, до момента распускания листьев включительно, т.е., происходил перенос веществ от грибного симбионта к растению и перераспределение их в побеги. В находящемся рядом

ЭМ растении *Betula alleghaniensis* метка не была обнаружена, что свидетельствует в пользу транспорта по АМ мицелиальной сети. Можно предположить, что осенью ^{14}C тоже перемещался, но в направлении от *A. saccharum* к корням некоторых растений *E. americanum*. В клубнелуковицах метка не была выявлена, так что в этом случае возможно, что ^{14}C задерживался в грибных структурах в корнях *E. americanum*.

Несмотря на некоторые интригующие данные, строго говоря, до сих пор имеется очень мало бесспорных доказательств транспорта меченых ^{14}C соединений в достаточных для питания количествах от одного вида растений к другому по АМ мицелиальным сетям. Механика транспорта до сих пор не исследована и, как отмечено в главе 5, маловероятно, что С перемещается от грибного партнера к растению в виде С скелетов аминокислот или других органических молекул, содержащих N (Pfeffer et al., 2004; Govindarajulu et al., 2005; Jin et al., 2005).

Свидетельства транспорта органических питательных веществ между растениями, объединенными ЭМ сетью, более убедительны, но его влияние на исход конкурентной борьбы не было установлено ни в горшечных экспериментах, ни в полевых условиях. Однако существование микогетеротрофных видов, таких как *Monotropa hypopitys*, само по себе зависит от переноса С от автотрофа к гетеротрофу посредством общей мицелиальной сети (см. гл. 13). Способность ЭМ мицелиальных связей служить потенциальными каналами для транспорта органического С была продемонстрирована методом авторадиографии после внесения $^{14}CO_2$ в побеги растений-доноров (Finlay, Read, 1986a; см. гл. 8). Метка проходила по общему мицелию и накапливалась в колонизированных корнях растений-акцепторов. Эти гифальные связи хрупки настолько, что их сложно проследить в природной почве. Тем не менее, косвенным доказательством их существования в природе может служить наблюдение метки из вносимого во взрослое растение *Pinus contorta* $^{14}CO_2$ в соседних растениях того же или других видов, образующих эктомикоризу (Read et al., 1985). В находящихся рядом АМ видах была обнаружена всего лишь малая радиоактивность. Наиболее высокая радиоактивность была отмечена у ряда растений-акцепторов, которые подвергались искусственному затенению в течение и после периода внесения изотопа в донорное растение. Это предполагает, что сила поглощения может оказывать влияние на транспорт углерода.

Эксперименты подобного рода, наряду с аналогичными исследованиями АМ транспорта, подвергались вполне заслуженной критике за то, что в них учитывается только односторонний перенос, следовательно, не принимается в рассмотрение возможность транспорта С в противоположном направлении (Newman, 1988; Jakobsen, 1991; Robinson, Fitter, 1999). Чтобы непосредственно установить наличие результирующего транспорта, необходимо продемонстрировать, что одно из объединенных общим мицелием растений получает больше вещества, чем другое. В исследованиях с применением методов двойного мечения, давших весьма интересные результаты, было показано, что между разными видами растений, объединенных одним ЭМ симбионтом, может происходить статистически значимый результирующий перенос углерода (Simard et al., 1997a, c). Два изучаемых вида ЭМ растений, береза (*Betula papyrifera*) и пихта Дугласа (*Pseudotsuga menziesii*), произрастали совместно в естественных влажных смешанных лесах Британской Колумбии, где у них было обнаружено семь общих ЭМ морфотипов из 11 встречающихся, заселяющих 90% корневых окончаний у обоих видов (Simard et al., 1997b). Таким образом, вероятность наличия гифальных соединений между ними была достаточно высока. Для сравнения в работу был включен еще один встречающийся в тех же местообитаниях вид, *Thuja occidentalis*, образующий арбускулярную микоризу. Однолетние особи растений каждого вида были посажены на расстоянии 50 см друг от друга, образуя треугольники. Такие «треугольные» группы до начала эксперимента выращивали на протяжении одного или двух лет. За 4-6 недель до мечения расте-

ния *P. menziesii* подвергались глубокому или частичному затенению или оставались при естественном освещении. *P. menziesii* или *B. papyrifera* из каждой группы затем были импульсно помечены (2 ч) $^{13}CO_2$ или $^{14}CO_2$. Импульсная метка затем была прослежена в течение 9 дней при том же режиме освещения.

Транспорт органического С происходил в обоих направлениях, при этом отмечен достоверный результирующий перенос от *Betula papyrifera* к *Pseudotsuga menziesii* (рис. 16.9А, Б). Также было показано перераспределение от корней к побегам в количествах, значительно превышающих выявляемые в ЭМ системах ранее (Finlay, Read, 1986a). Это может служить существенным отличием от экспериментов с растениями, соединенными АМ мицелием, и подтверждением транспорта С от грибного симбионта к растению, возможно, в форме С скелетов азотсодержащих соединений (см. гл. 9). Тем не менее, недавно возникшее предположение о том, что N переносится в виде неорганического аммония/аммиака, ставит данный механизм под сомнение (Chalot et al., 2006).

В эксперименте, проведенном через год после посадки, результирующий транспорт в направлении хвойной древесной породы был отмечен только в случае, когда растения были выращены при полном освещении. Переносимые объемы вещества содержали 2% от общего количества изотопа, фиксированного обоими видами, 4% — изотопа, ассимилированного *Betula papyrifera* и 7% от ассимилированного *Pseudotsuga menziesii*. При 50 и 5% освещенности изотопный перенос в сторону *P. menziesii* был уравновешен транспортом к *B. papyrifera* (т.е., результирующий транспорт равнялся нулю). На второй год после посадки результирующий перенос изотопа составлял в среднем 6% от общего фиксированного количества, усредненного по всем вариантам затенения, и при наиболее сильном затенении был вдвое больше, чем при 50% или полной освещенности. Объем транспорта отражает основное поступление углерода к *P. menziesii*, он сходен с достаточным для улучшения роста и выживаемости взаимосвязанных ramet у некоторых клональных растений (Hutchings, Bradbury, 1986; Alpert et al., 1991). Результирующего транспорта в направлении АМ *Thuja* не происходило, что указывает на участие в переносе ЭМ мицелиальных сетей.

На результирующий перенос и эффект затенения при транспорте С в течение второго года оказывали влияние как пространственный, так и временной факторы. В пространственном аспекте, близость корней потенциально взаимодействующих видов, а также количество мицелиальных связей между ними, вероятно, увеличились через два года после посадки сравнительно с ситуацией через год после посадки. Возможно, еще более важным является тот факт, что внесение изотопа на второй год производили в августе, через месяц после прекращения роста побегов *Pseudotsuga menziesii,* в то время как эксперимент в первом году был поставлен в июле, когда активный рост побегов продолжался. Возможное значение сезонности в отношении перераспределения углерода в подземной части сообщества было отмечено выше (см. гл. 8).

Результирующий транспорт от *Betula papyrifera* к *Pseudotsuga menziesii* совпадал с общей для всего сеянца динамикой суммарного фотосинтеза, скорость которого была в 1,5 и 4,3 раз выше для *B. papyrifera*, чем для *P. menziesii* в условиях полной освещенности и полного затенения соответственно, и происходил, когда концентрация N в листве была в 1,2–6,7 раз выше у *B. papyrifera*, чем у *P. menziesii*. Таким образом, возможно, что на транспорт оказывают влияние градиенты ассимилятов и/или концентраций питательных веществ между двумя видами. Так как скорость фотосинтеза у *B. papyrifera* при полной освещенности была значительно выше, чем у *P. menziesii* при затенении, вероятно, что поступление углерода к колонизированным корням *Betula*, было больше, чем к таковым у *Pseudotsuga*. В сочетании с тем, что содержание N в растениях *Betula* было достоверно более высоким, чем в *P. menziesii*, такое обстоятельство может влиять на наблюдаемый эффект оттока.

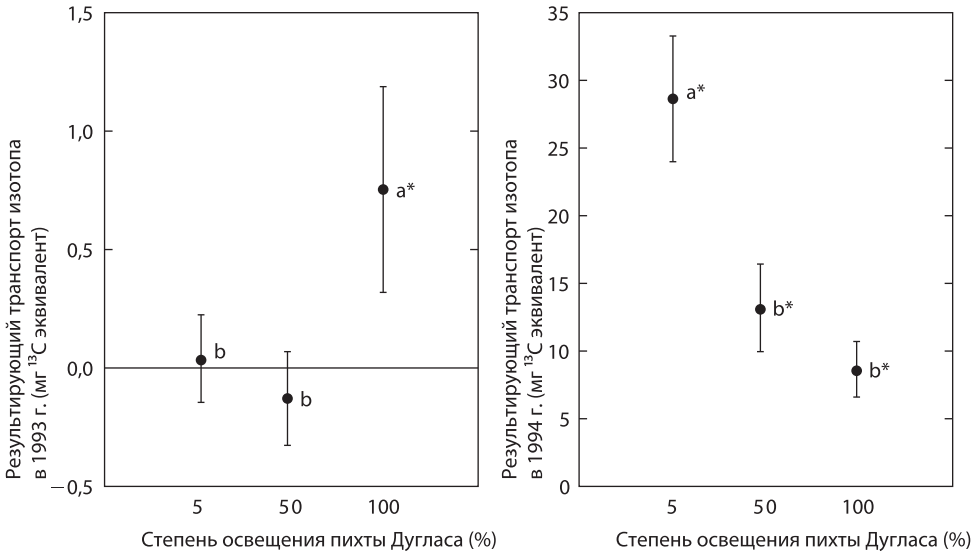


Рисунок 16.9. Результирующий транспорт изотопа между *Betula* и *Pseudotsuga* при полном освещении (100%) или при 50% или 5% освещения. А — 1993 г.; Б — 1994 г. Средние значения, отмеченные одинаковыми буквами, различаются недостоверно (P = 0,01). Пояснения см. в тексте. Данные взяты из Simard, 1995, воспроизведено с разрешения. См. также Simard et al., 1997c.

Роль ОМС более детально была изучена в горшечном эксперименте, в котором те же два вида растений выращивали раздельно в сетчатых мешочках, позволяющих образование обширных мицелиальных соединений между ними (Simard et al., 1997a). Прямой транспорт по мицелию в половине микрокосмов предотвращали путем разрушения мицелиальных связей непосредственно перед применением импульсной метки. Как и в полевых опытах, и *Betula papyrifera* и *Pseudotsuga menziesii* получали изотоп от своих соседей, и опять было обнаружено, что вид *P. menziesii* получает больше С от *B. papyrifera* чем наоборот, хотя различия не были статистически достоверными. Удивительно, что повреждение мицелиальных соединений между растениями не оказало серьезного влияния на транспорт, так что относительная значимость транспорта по мицелиальным связям и через почву осталась невыявленной.

В экспериментах, описанных С. Симард, возможно наличие транспорта С в некоторых комбинациях с N, например, в форме аминокислот. Эта возможность была проверена при изучении транспорта продуктов $^{14}CO_2$ и $^{15}N_2$ ЭМ и актиноризным видом *Alnus glutinosa* к находящемуся вблизи ЭМ *Pinus contorta* в лабораторных микрокосмах (Arnebrant et al., 1993). В двух из трех экспериментов авторы показали, что вещества, меченные обоими изотопами, передвигались между растениями и появлялись не только в ЭМ корнях акцептора *Pinus*, но также и в побегах. Транспорт в обратном направлении не был исследован, поэтому вычислить результирующий перенос не представляется возможным. Растения не были разделены сеткой, немикоризный или АМ контроль отсутствовал, и поэтому сохраняется возможность того, что наблюдаемые транспортные процессы происходили через почву, минуя мицелиальную сеть. Свидетельства действия обоих путей переноса было получе-

но в исследовании в полевых условиях, в котором метка $K^{15}NO_3$ прослеживалась от побегов донорного растения *Pinus sabiniana* (He et al., 2006). Меченый азот быстрее всего появлялся в корнях растущих рядом АМ однолетников (*Cynosurus echinatus*, *Torilis arvensis* и *Trifolium hirsutum*), но спустя 4 недели также оказывался в их побегах и в корнях и надземной части древесных растений, образующих экто- и/или арбускулярные микоризы (*Quercus douglasii*, *Ceanothus cuneatus* и *P. sabiniana*). Эти результаты показывают, что ОМС — не единственная возможность для транспорта N между растениями в природных условиях, и подтверждают, как ранее было показано для АМ систем (McNeill, Wood, 1990), что косвенный путь круговорота N в почве может приводить к перемещению значительных количеств этого элемента.

В общем, данные работ с применением C и N изотопов свидетельствуют о более высокой вероятности результирующего транспорта по ОМС, образованным ЭМ, нежели АМ видами, и что в некоторых местообитаниях не следует игнорировать движение веществ через почву. Еще многое предстоит узнать о биохимических путях, связанных с переносом органических веществ между симбионтами, но в случае, когда одновременно имеются градиенты C и N, весьма вероятно участие органических соединений N, по меньшей мере, в ЭМ системах. Сохраняется значительный разрыв между демонстрацией транспорта питательных веществ между растениями посредством ОМС и выявлением их значимости как для роста растений, так и в межвидовой или внутривидовой конкуренции. Уловить влияние на уровне особи растения в целом и фитоценоза еще сложнее, но эта информация очень важна для понимания динамики растительных сообществ.

Мультитрофные взаимоотношения

Микоризосфера

Выявление стимулирующего действия некоторых групп бактерий на процессы ЭМ колонизации корней углубило представления о сложности микробных взаимоотношений в почве. Чехлы ЭМ корневых окончаний, как известно, являются важным местообитанием для бактерий (Foster, Marks, 1966; Nurmiaho-Lassila et al., 1997) (рис. 16.10), и их сообщества отличаются от ассоциированных с неколонизированными корнями (Rambelli, 1973). Когда были разработаны методы, позволяющие более тщательное исследование, о бактериях, ассоциированных с эктомикоризами, удалось узнать намного больше. Хотя мы еще очень далеки от понимания всего спектра взаимоотношений, сейчас стало ясно, что возможны значительные различия между бактериальными сообществами, на которые оказывает влияние видовая принадлежность растений и ЭМ грибов, а также тип почвы. Взаимодействия ЭМ корневых окончаний и мицелия с сапротрофными грибами не привлекли столь пристального внимания, возможно, отчасти из-за долго бытовавшей точки зрения о том, что влияние на ризосферу оказывает в основном бактериальная активность (de Boer et al., 2006). Тем не менее, в недавних работах было показано, что в ризосферных процессах активно участвуют сапротрофные грибы (Mougel et al., 2006), и, кроме того, не следует пренебрегать их взаимодействиями с микоризными грибными симбионтами.

С применением сканирующей и трансмиссионной электронной микроскопии было выявлено большое количество различных морфотипов бактерий в местообитаниях, связанных с интактными эктомикоризами, образованными *Pinus sylvestris* и *Suillus bovinus* или *Paxillus involutus* в природных лесных почвах (Nurmiaho-Lassila et al., 1997). В случае *S. bovinus* бактерии были найдены не только на поверхности

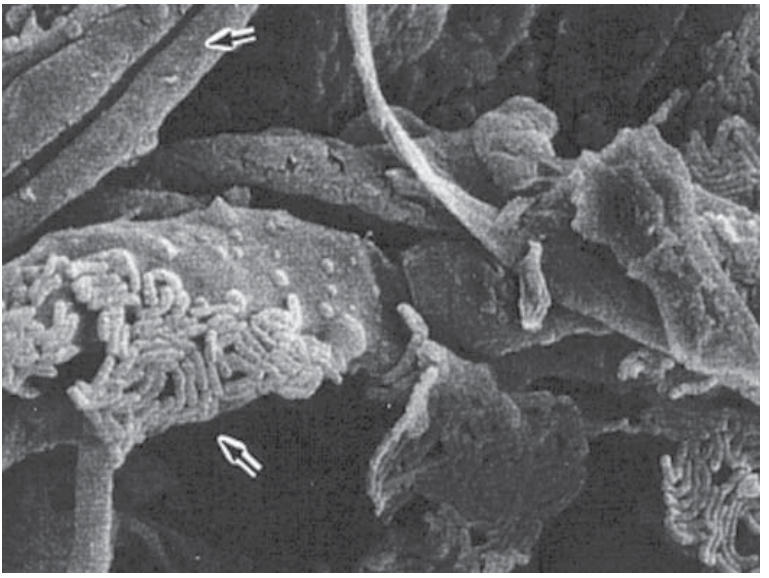


Рисунок 16.10. Монослой палочковидных бактерий на свободном мицелии *Suillus bovinus*. Масштаб 5 мкм. Воспроизведено из Nurmiaho-Lassila et al., 1997, с разрешения.

чехла, но также и во внутриклеточных и межклеточных пространствах чехла и сети Гартига. Мицелиальные тяжи грибов несли относительно скудные популяции бактерий, но при этом обширные бактериальные монослои развивались на тонких ответвлениях гиф. Напротив, ЭМ корневые окончания с *P. involutus* содержали небольшие количества бактерий на поверхности или внутри, но интактный свободный мицелий содержал и бактериальные колонии, и одиночные клетки. В последующей работе были показаны различия в метаболической активности между бактериями, ассоциированными с различными грибными симбионтами, хотя они были и не столь велики, как между почвами разных типов (Timonen et al., 1998). Использование методов ПЦР и ПДРФ (RFLP) позволило обнаружить последовательности, принадлежащие археям, ассоциированным со свободным мицелием ЭМ грибов и неколонизированным гумусом, но в неколонизированных коротких корнях они выявлены не были (Bomberg et al., 2003). Такие различия в составе микробных сообществ влияют и на зависящих от них простейших, численность которых была выше в микоризосфере *S. bovinus*, чем *P. involutus* (рис. 16.11 и 16.12; см. также приложение 16.1) (Timonen et al., 2004).

Роли бактериальных сообществ в связи с ЭМ грибами не было уделено много внимания, но она может сводиться к повышению различными способами доступности питательных веществ. Один из возможных вариантов — увеличение бактериями продукции низкомолекулярных органических кислот, повышающих способность ЭМ мицелия к биовыветриванию минералов (Leyval, Berthelin, 1991). Это приводит к высвобождению ряда элементов питания, таких как P, K и Ca, которые затем могут быть переданы растительному симбионту (Griffiths et al., 1991, 1994; Wallander, 2000; Landeweert et al., 2001; Hoffland et al., 2004; см. гл. 10 и 15). Количественный вклад выветривания минералов в получение питательных веществ может быть довольно низким, но его значение возрастает в условиях, когда антропогенное накопление N смещает равновесие элементов питания в некоторых лесных экосистемах. Также возможно, что бактерии в эктомикоризосфере или более тесно свя-

А Б В

Рисунок 16.11. Корни *Pinus sylvestris*, использованные для изучения сообществ простейших, ассоциированных с (А) немикоризными короткими корнями (НМ), (Б) эктомикоризными короткими корнями (ЭМ) и (В) свободным мицелием (СМ) *Paxillus involutus* (см. рис. 16.12). Воспроизведено из Timonen et al., 2004, с разрешения. См. также приложение 16.1.

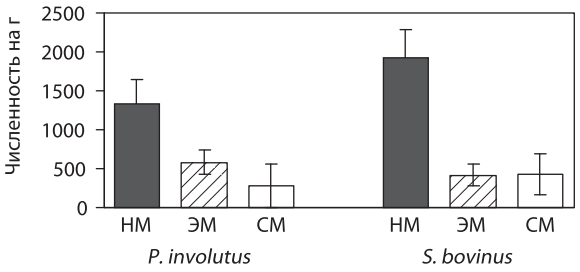


Рисунок 16.12. Численность поддающихся культивированию простейших на неколонизированных коротких корнях (НМ), микоризных корневых окончаниях (ЭМ) и свободном мицелии (СМ) в микоризах *Pinus sylvestris*, образованных *Paxillus involutus* или *Suillus bovinus* (см. рис. 16.11). Воспроизведено из Timonen et al., 2004, с разрешения.

занные с ЭМ чехлами имеют способность к фиксации азота, достаточную для внесения существенного вклада в запасы N в лесной почве, но это, как отмечают некоторые исследователи, нуждается в проверке (Izumi et al., 2006; Timonen et al., 1998).

Было сделано предположение, что бактерии в ЭМ ризосфере могут непосредственно влиять на динамику микоризообразования (Bowen, Theodorou, 1979). В условиях *in vitro* авторы показали, что способность *Rhizopogon luteolus* колонизировать корни *Pinus radiata* в присутствии некоторых бактериальных изолятов повышалась, но ингибировалась другими. Позднее был изучен процесс формирования микоризы тремя грибными симбионтами в различных простерилизованных паром почвах, инокулированных микробными популяциями одной из них (Garbaye, Bowen, 1987). Ответные реакции были различны и зависели от типа почвы и вида гриба, и положительные ответы встречались чаще, чем отрицательные. Последующее выделение бактерий из поверхностно простерилизованных микориз *P. radiata – R. luteolus* показало, что большинство составляли флуоресцентные псевдомонады, и 80% из них обладали положительным действием на образование ЭМ у данного сочетания гриб-растение (Garbaye, Bowen, 1989a, 1989b). Для описания этих микроорганизмов был введен термин «бактерии-помощники микоризации» (МНВ в англоязычной литературе). Популяции флуоресцентных псевдомонад в дальнейшем были охарактеризованы у различных эктомикориз. В одном случае описание функциональных свойств *in vitro*, в том числе, таких как образование HCN и антибиотиков, нали-

чие способности к фиксации азота и растворению фосфата, привело к предположению о том, что эктомикоризосфера регулирует популяции *Pseudomonas fluorescens*, отбирая штаммы, потенциально выгодные для симбиоза (Frey-Klett et al., 2005). В своем обзоре, посвященном данной тематике, Дж. Гарбайе предложил пять гипотез для объяснения благоприятного воздействия МНВ бактерий (Garbaye, 1994). Они включают усиление колонизации путем выделения размягчающих клеточную стенку ферментов или активизации процессов взаимного узнавания симбионтов. Требуются дополнительные исследования в подходящей экспериментальной системе для установления четких взаимосвязей между эффективностью МНВ, образованием ферментов и размягчением клеточной стенки. Также возможно опосредованное бактериями усиление роста грибного симбионта путем улучшения его питания, но, принимая во внимание специфичность эффекта, это должно быть высокоспециализированное воздействие. Детоксификация почвы, осуществляемая МНВ, может косвенно обеспечивать поступление питания и, стоит отметить, что многие ответные реакции на присутствие бактерий наблюдались на искусственных средах или в почвах питомников, подвергавшихся стерилизации. Из них могут выделяться токсины, влияющие на дальнейшие взаимодействия между микроорганизмами. Изменения в ризосфере, возможно, приводящие к образованию хелатирующих агентов, таких как сидерофоры, или веществ, стимулирующих прорастание грибных пропагул, могут также вносить вклад в эффективность действия МНВ-бактерий. Для установления роли этих бактерий необходим тщательный экспериментальный анализ. Новые молекулярные методы могут помочь выявить подробности специфичных взаимоотношений и обусловливающие их механизмы.

Дж. Лик с соавт. в обзорной статье подчеркнули значимость взаимоотношений между ЭМ грибами и быстрорастущими древоразрушающими и разлагающими подстилку сапротрофами, группами, преобладающими в микробных сообществах богатых органическими веществами лесных почв (Leake et al., 2002). Авторы отметили, что, несмотря на потенциально важные последствия взаимодействий между двумя группами грибов для функционирования круговоротов биогенных элементов, в условиях, близких к естественным, было выполнено очень мало работ. Ранние полевые исследования, где была показана интенсификация процессов разложения подстилки сапротрофами при исключении ЭМ грибов путем окапывания (Gadgil, Gadgil, 1971, 1975), оказалось трудно воспроизвести. Недавно было выявлено резкое разграничение между ЭМ монопородным лесным массивом, образованным *Dicymbe corymbosum*, и дождевым лесом с высоким разнообразием и преобладанием АМ растений, что позволяет создать систему для изучения влияния ЭМ на разложение подстилки (Mayor, Henkel, 2006). В ЭМ лесах обычно происходит накопление большего количества подстилки, чем в АМ системах. Окапывание и удаление ЭМ грибов в таких лесах не влияло ни на фракционирование слоя подстилки, накопившегося за 12 месяцев, ни на концентрации основных питательных элементов, N, P и Mg. Тем не менее, было выявлено достоверное влияние на содержание калия и кальция. Сходным образом, не было выявлено значительных различий по разложению образцов подстилки, перенесенных из одного типа леса в другой, хотя концентрация Ca вновь была выше в случае, когда ЭМ грибы не имели доступа к мешочкам с подстилкой. Данные, полученные в этом исследовании, не согласуются с мнением о подавлении сапротрофов грибными симбионтами ЭМ в изучаемом местообитании (см. гл. 15).

Несмотря на эти отрицательные результаты, свидетельства непосредственных взаимодействий были получены в экспериментах с микрокосмами, содержащими природную почву. Вероятно, что пространственное перераспределение элементов питания, например, P, в мицелиальных системах таких сапротрофов как *Hypholoma fasciculare* может приводить к повышению доступности питания для ЭМ грибов

в ходе естественного оборота мицелия или посредством антагонистических взаимодействий в зоне встречи мицелия двух видов (Lindahl et al., 1999, 2001). В обзоре Дж. Лика с соавт. приведена информация о взаимоотношениях между двумя ЭМ грибами и дереворазрушающим видом *Phanaerochaete velutina* (Leake et al., 2002). Используя внесение $^{14}CO_2$ в побеги *Betula pendula* для оценки поступления С в мицелий ассоциированных с растением микобионтов *Paxillus involutus* или *Suillus bovinus* в сочетании с измерением степени развития мицелиальной системы *P. velutina* на блоках древесины, авторы показали, что рост грибов обеих эколого-трофических групп замедлялся в зонах взаимодействия мицелиев. Хотя в этом исследовании не были получены данные о перераспределении N или P, его результаты демонстрируют жесткую конкуренцию между двумя группами грибов, которая, почти наверняка, влияет на изменение доступности питательных веществ и разложении подстилки, что отражено в так называемом «эффекте Гэдгил». В свете того, что образование ЭМ само по себе может вызывать изменения органического вещества в подземной части сообщества, эти эффекты заслуживают повторного изучения (Langley, Hungate, 2003). Качественные и количественные изменения в подстилке будут оказывать влияние на ее разложение, круговорот питательных веществ и, следовательно, развитие растительности и сукцессию (Facelli, Facelli, 1993; см. гл. 15).

Интерес к ризосфере АМ растений недавно возрос (Azcón-Aguilar, Barea, 1992), и стало ясно, что развитие АМ существенно влияет на почвенную микрофлору и фауну, хотя полученные результаты весьма противоречивы (см. Wamberg et al., 2003). Образование арбускулярных микориз оказывает влияние как на состав, так и на количество корневых экссудатов и ризодепозитов (Graham et al., 1981; Marschner et al., 1997; Johnson et al., 2002; Jones et al., 2004). Штамм 2-79RL *Pseudomonas fluorescens* был использован для оценки влияния образования АМ у *Capsicum* на бактериальную активность (Marschner, Crowley, 1996). Этот штамм *P. fluorescens* содержит рибосомный промотор, соединенный с кассетой гена свечения, и потому способен светиться в фазе экспоненциального роста. Полученные данные свидетельствуют о снижении бактериальной активности в ризосфере растений, колонизированных двумя видами *Glomus*. При анализе бактериальных сообществ ризосферы кукурузы методом ПЦР-градиентного гель-электрофореза (PCR- DGGE) был сделан вывод, что АМ колонизация меняет структуру бактериального сообщества как на поверхности корня, так и в почве на некотором расстоянии, где предположительно находится свободный мицелий АМ симбионта (Marschner, Baumann, 2003). Неудивительно, что были выявлены различия между сообществами в ризосфере растений, инокулированных разными видами АМ грибов (Marschner, Timonen, 2005). В двух подобных исследованиях был показан путь передачи эффекта через растение между отдельными отсеками с корнями. Некоторые данные, полученные С.Э. Смит с соавт., предполагают отрицательное влияние микобионтов АМ на рост сапротрофных грибов в ризосфере трех видов растений (Smith SE et al., 2004a), но пока они не были подтверждены. Несмотря на наличие некоторой информации, функциональную значимость бактерий и грибов, населяющих ризосферу, еще предстоит выяснить.

Выедание простейшими, коллемболами и клещами оказывает значительное влияние на численность грибов и бактерий как в пространственном, так и во временном аспекте, поэтому многие различия между бактериальными сообществами в разных экспериментах могут быть обусловлены именно этим. К примеру, у *Pisum sativum* образование микоризы не влияло на численность бактерий в ризосфере (подсчитанную на чашках), но сильно сказывалось на повышении количества простейших, которые выедают бактерии и предположительно регулируют их численность (Rønn et al., 2002). При более детальном изучении с применением подсчета

на чашках и метода гель-электрофореза (DGGE) было показано отсутствие влияния АМ колонизации на численность бактерий, но некоторые специфичные группы бактерий развивались избирательно в ризосфере немикоризных растений *P. sativum* (Wamberg et al., 2003). Эти эффекты был обусловлены изменениями ризодепозитов и выеданием простейшими. Кроме того, питающиеся грибами представители почвенной фауны способны разрушать свободный мицелий, что оказывает влияние на его функционирование, а также на круговорот питательных элементов (см. ниже).

Взаимодействия между микоризами, патогенами и эндофитами

Известно множество данных о взаимосвязи между микоризной колонизацией растений и частотой и тяжестью заболеваний, вызываемых фитопатогенами. Влияние может проявляться в разных формах и зависеть от питания растения, относительной плотности инокулюма патогена и гриба-микоризообразователя, а также наличия либо отсутствия микоризного статуса до момента встречи с пропагулами патогена (Harley, Smith, 1983; Graham, 1988; Linderman, 1992; Fitter, Garbaye, 1994). В основном примеры подавления арбускулярной микоризой развития патогенов связаны с грибами, инфицирующим корни, и нематодами. На паразитов надземной части, как правило, образование АМ не влияет, или их активность у АМ растений повышается. Был предложен ряд механизмов для объяснения уменьшения потерь АМ растений от заболеваний. Они включают конкуренцию за точки колонизации, вследствие чего первичное заселение микоризным грибом снижает шансы внедрения патогенов, мобилизацию защитных механизмов растений в процессе АМ колонизации, которые обсуждались в главах 3 и 6; и улучшение питания, что повышает устойчивость растения, в особенности, к повреждению корневой системы. Кроме того, наблюдалось непосредственное ингибирующее действие АМ гиф на виды рода *Fusarium* в симбиозе с трансформированными корнями моркови (Benhamou et al., 1994). Имеются данные о подавлении развития патогена *Phytophthora parasitica* в результате локальной и системной индуцированной устойчивости в микоризованных и немикоризных частях АМ корневой системы томата (Cordier et al., 1998).

Хотя эти взаимоотношения были наиболее подробно изучены на культивируемых растениях, они вполне соответствуют проявлениям влияния микориз в природных экосистемах, в которых насекомые и патогенные грибы могут значительно влиять на структуру сообщества. Этим может быть объяснено очевидно благотворное влияние АМ колонизации на однолетний злак *Vulpia ciliata* (Newsham et al., 1994, 1995). При использовании беномила для снижения АМ колонизации корневых систем в природных условиях было показано отсутствие зависимости между степенью АМ колонизации и скоростью поглощения P (West et al., 1993a). Однако фунгицид действовал также и на слабопатогенные грибы, такие как космополитный вид *Fusarium oxysporum*, который, как известно, снижает фертильность растений. Преимущества, предоставляемое АМ грибами, как предполагают, заключаются в их способности защищать растение от патогенов (Newsham et al., 1994). Это свойство было исследовано в природных популяциях *V. ciliata* при внесении различных концентраций беномила для контроля колонизации как АМ, так и фитопатогенными грибами (Newsham et al., 1995). Фертильность не претерпела значительных изменений при применении фунгицида, несмотря на то, что беномил статистически достоверно снижал обилие всех грибов в корневых системах. Однако обилие корневых фитопатогенов, в особенности *F. oxysporum*, отрицательно корре-

лировало с фертильностью, даже если симптомы поражения у растений не проявлялись. Слабая зависимость между фертильностью и применением фунгицида разительно контрастирует с влиянием беномила на АМ и патогенные грибы и с отрицательным действием на фертильность корневых патогенов. Эти эффекты можно объяснить взаимодействиями между двумя группами грибов, ведущими к тому, что при снижении их обилия под влиянием фунгицида положительное и отрицательное действие на растение нейтрализуют друг друга, и результирующее влияние на фертильность оказывается слабым.

Впоследствии изучение взаимодействий между АМ грибами и корневыми патогенами исследовали с применением метода трансплантации (Newsham et al., 1995). Сеянцы *Vulpia ciliata* выращивали в ростовой камере в условиях комбинации инокулюма *Fusarium oxysporum* и вида рода *Glomus*, выделенных из *V. ciliata* из природного местообитания. Растения были высажены в природную популяцию злака на лугу. Через 62 дня роста отчетливо проявилось положительное влияние колонизации *Glomus*. Состояние растений, инокулированных *Glomus*, было таким же, как у контрольных, даже если они одновременно были инокулированы *F. oxysporum*, в то время как инокулированные только *F. oxysporum* росли хуже (табл. 16.3). В отсутствие патогена колонизация видом *Glomus* не оказывала влияния на состояние растения. Анализ содержания P в тканях не показал корреляции между концентрацией P в побегах и обилием какого-либо из видов грибов в корневой системе. Кроме того, полученные различия между вариантами опыта скорее являются следствием снижения встречаемости гиф патогена в корнях, вызванного АМ колонизацией. Тем не менее, в настоящее время известно, что на взаимоотношения может влиять поглощение P по АМ пути, приводящее к повышению конкурентного поступления P к АМ растениям, несмотря на то, что результирующая выгода сравнительно с особями, у которых АМ колонизация была подавлена, может не проявляться (см. выше и гл. 5).

Таблица 16.3. Влияние факторного комбинирования *Fusarium oxysporum* (F) и *Glomus* spp. (G) на биомассу побегов и длину корней у растений *Vulpia ciliata*, выращенных в лабораторных условиях, пересаженных в природные местообитания и собранные через 62 дня роста в природе.

Показатель	Вариант				Основное влияние		Взаимодействие
	-G -F	+G -F	-G +F	+G +F	G	F	G × F
Log (ln) биомассы побегов (мг)	2,4a	2,2 a	1,4b	2,2a	F = 3,5	F = 17,3***	F = 4,8*
Длина корней (см)	217a	203a	111b	228a	F = 9,4*	F = 9,0**	F = 9,0**

Данные взяты из Newsham et al., 1995. Средние приведены из 16 повторностей; где они сопровождаются разными буквами, достоверность при $P<0,05$. Достоверность основного влияния и эффекта взаимодействия по дисперсионному анализу (ANOVA) обозначены: * $P<0,05$, ** $P<0,01$, *** $P<0,001$.

Существуют предположения, что подавление АМ грибами других организмов может повышать жизнеспособность растений-хозяев в природных условиях. Питающаяся корнями нематода *Pratelenchus penetrans* играет значительную роль в сокращении численности обитающего на дюнах растения *Ammophila arenaria* в ходе сукцессии. Колонизация корневой системы *A. arenaria* набором видов АМ грибов, выделенных из сообществ дюн, достоверно сокращала численность нематод и ско-

рость их размножения (de la Peña et al., 2006). Эти эффекты не зависели от предварительного поселения мутуалистических симбионтов в корнях и проявлялись локально. Было сделано предположение, что АМ колонизация важна для сохранения вида *A. arenaria* на стабильных участках дюн, где погружение корней в субстрат более не обеспечивает защиту от нематод.

Давно известно влияние ЭМ грибов на снижение поражаемости растений. Показано, что виды *Pisolithus tinctorius* и *Thelephora terrestris* ослабляют действие корневого патогена *Phytophthora cinnamomi* на виды *Pinus* (Marx, 1969, 1973), в то время как инокуляция *Laccaria laccata* снижала поражаемость *Fusarium oxysporum* у *Pseudotsuga menziesii* (Sylvia, Sinclair, 1983a), *Picea abies* (Sampangi, Perrin, 1985) и *Pinus sylvestris* (Chakravarty, Unestam, 1987a, b). Механизмы, предположительно обусловливающие эти эффекты, включают защиту корня посредством создания физического барьера из грибного чехла, образование фенольных соединений в тканях растения, индуцируемое грибным симбионтом ЭМ (Sylvia, Sinclair, 1983b) и продуцирование антибиотиков ЭМ грибами как таковыми. Последнее действие может предварять процесс колонизации, так как есть данные, что инокуляция *Pinus resinosa* микобионтом *Paxillus involutus* снижала патогенность *Fusarium oxysporum*, что увеличивало выживаемость сеянцев и приводило к шестикратному снижению споруляции патогена в ризосфере *Pinus* (Duchesne et al., 1988a, b). Спирторастворимые соединения, токсичные для грибов, появлялись в ризосфере в течение 3 дней с момента ЭМ инокуляции. Подобное подавляющее действие может быть очень важно для выживания сеянцев как в природных сообществах, так и в условиях лесных питомников. О химической подоплеке наблюдаемой антибиотической активности известно мало, хотя было показано, что эффект подавления связан с образованием щавелевой кислоты (Duchesne et al., 1989a), и из культуральной жидкости при выращивании *Pisolithus tinctorius* было выделено два фунгистатичных соединения (бензоилмуравьиная и миндальная кислоты) (Kope et al., 1991). Достойно сожаления, что большинство экспериментов, направленных на выявление подавляющего и антибиотического действия ЭМ грибов, было проведено в условиях, весьма далеких от естественных. Для определения, насколько и на каких стадиях ЭМ колонизация способна снижать поражаемость и потенциально влиять на растительные сообщества, необходимы эпидемиологические исследования в природных условиях.

К взаимоотношениям между микоризными грибами и грибными эндофитами в побегах растений было проявлено значительно меньше внимания. Многие растения, в том числе ряд широко распространенных злаков, содержат передающиеся через семена грибные эндофиты из сем. Clavicipitaceae (напр., *Neotyphodium* и *Epichloë*). Их проживание в растении проходит бессимптомно или вызывает подавление цветения (Clay, Schardl, 2002). Грибы заселяют межклеточные пространства в побегах и получают органический С от своих фотосинтезирующих партнеров; выгода для последних заключается в предотвращении выедания. В некоторых работах показано, что присутствие грибных эндофитов снижает степень АМ колонизации (Chu-Chou et al., 1992; Müller, 2003; Omacini et al., 2006), так что любое действие микоризы на растения опосредовано эндофитами. Механизмы этого влияния не выяснены, но возможно связаны с конкуренцией за органический С или образованием токсичных метаболитов.

Хотя эксперименты проводили только на злаках, широкое распространение эндофитов в побегах и их взаимосвязь с микоризной колонизацией подразумевает, что ими не следует пренебрегать при изучении влияния воздействия грибов на растительные сообщества. Так как беномил снижает численность эндофитов или уничтожает их так же, как и микоризные грибы, применение этого фунгицида для создания безмикоризного контроля будет влиять также и на эту группу симбионтов и их воздействие на растения (Omacini et al., 2006).

Взаимодействия с почвенной фауной и подземными и надземными растительноядными животными

Взаимоотношениям микоризных грибов с различными населяющими почву животными не было уделено значительного внимания, возможно, из-за больших трудностей, связанных с изучением таких сложных взаимодействий. Их влияние возможно выявить только при сочетании чувствительных экспериментальных методов и аккуратного анализа данных. Горшечные опыты, включающие добавление различных организмов, дают чересчур упрощенную картину, а полевые исследования с использованием биоцидов трудно интерпретировать ввиду отсутствия специфичности действия веществ, ингибирующих развитие различных групп биоты. В недавно появившихся обзорных работах рассмотрены некоторые вопросы, касающиеся растительноядных животных (Gehring, Whitham, 2002) и почвенных беспозвоночных (Gange, Brown, 2002).

Хорошо известно, что почвенные животные, такие как коллемболы, клещи и нематоды, играют весьма важные роли в круговороте питательных веществ благодаря своему действию на фрагментацию подстилки и выеданию грибов и бактерий, осуществляющих ее разложение. Выедание также может стимулировать рост и размножение грибов (Lussenhop, 1992). Анализ влияния подземного выедания на эктомикоризы был сосредоточен на грибном компоненте, так как большая часть самой молодой ткани корня окутана мицелием. Проведено изучение влияния обилия коллембол *Onychiurus armatus* на эктомикоризы *Pinus contorta*, образованные *Paxillus involutus* (Ek et al., 1994a). Влияние выедания гиф на поглощение питательных веществ свободным мицелием исследовали путем внесения контейнеров, содержащих $^{15}NH_4$ или фитин, доступ к которым в почве имел только грибной симбионт. Малое обилие коллембол способствовало лучшему развитию ЭМ мицелия и усилению поглощения и транспорта ^{15}N к растениям. Рост мицелия снижался только при высоком обилии *O. armatus*. Популяции коллембол не возрастали в опыте с ЭМ сравнительно с немикоризными вариантами, возможно, из-за наличия альтернативного, более предпочтительного источника питания. В другом исследовании ЭМ особи березы и сосны подвергались воздействию сообщества микрофауны, сложного естественного или сильно упрощенного. Сложное сообщество снижало колонизацию через 57 недель, но усиливало рост побегов и поглощение N и P сравнительно с растениями, находящимися в составе более простого сообщества (Setala, 1995).

В случае АМ грибов был сделан акцент на возможности того, что представители фауны могут повреждать мицелиальные сети и таким образом снижать их способность поставлять питательные вещества к растениям (Fitter, Garbaye, 1994). Возникло предположение, что этим может частично объясняться выраженное отсутствие ответных реакций на АМ колонизацию в природных условиях. Инсектицид широкого спектра действия хлорфенвинфос применяли в разнообразном луговом сообществе северной Британии и наблюдали ответные реакции входящего в его состав злака *Holcus lanatus* (McGonigle, Fitter, 1988a). При наличии инсектицида, сокращавшего обилие коллембол до одной трети от исходного объема популяции, у злака значительно повышались поглощение P и биомасса побегов. Разумеется, отсутствие у инсектицида специфичности затрудняет интерпретацию ответных реакций, но увеличение поглощения P на единицу длины или площади корня сложно объяснить чем-либо помимо усиления активности АМ при подавлении развития насекомых.

В горшечных экспериментах с коллемболами иногда получают результаты, предполагающие, что насекомые повреждают АМ мицелиальные сети и, следовательно, сокращают поступление P к растениям (Warnock et al., 1982). Эти данные были

подтверждены последующими работами (Finlay, 1985), результаты которых, однако, указывают на важность обилия коллембол (как было показано и для эктомикориз). При низком обилии ответные реакции на АМ усиливались, возможно, потому, что повышение мобилизации питательных веществ перевешивало ущерб, нанесенный мицелию. Увеличение численности коллембол приводило к большему повреждению АМ гифальных сетей *Glomus intraradices* в опыте с культурами на агаризованной среде, но авторы также показали, что АМ мицелий не являлся предпочтительным источником питания для *Folsomia candida* (Klironomos, Ursic, 1998). Эта коллембола избирательно питалась мицелием *Alternaria alternata* или *Trichoderma harzianum*, предпочитая их *G. intraradices*, и активнее размножалась при питании конидиальными грибами независимо от обилия. В эксперименте с использованием горшков с отсеками для отделения корневой системы от АМ гиф и коллембол также были получены данные о том, что вид *F. candida*, вероятно, не питается гифами *Glomus caledonium* или *G. intraradices* (Larsen, Jakobsen, 1996). Кроме того, при обилии коллембол, близком к природному, не было отмечено значительного влияния на поступление ^{32}P к растениям *Trifolium subterraneum* по микоризному пути. В последующих работах было подтверждено, что результаты эксперимента могут очень сильно варьировать, и подчеркнута сложность взаимоотношений и обусловливающих их механизмов (Harris, Boerner, 1990; Kaiser, Lussenhop, 1991; Gange, 2000; Lussenhop, Bassiri Rad, 2005). Вновь было продемонстрировано, что мицелий *G. intraradices* представляет собой минорный компонент питания *F. candida*, так как только около 5% содержимого кишечника приходилось на грибные гифы, и не было показано влияние коллембол на обилие свободного мицелия (Lussenhop, Bassiri Rad, 2005). В этом исследовании также было выявлено, что максимальным поглощение N сеянцами *Fraxinus pennsylvanica* было у АМ растений с умеренной численностью коллембол. Возможно, роли коллембол в повреждении АМ мицелия и, таким образом, снижении поглощения питательных веществ, придавалось слишком большое значение, но, тем не менее, необходимо учитывать взаимодействия в реалистичных природных условиях. В недавнем исследовании естественного лугового сообщества было показано, что коллембола *Protaphorura armata* при природной численности снижает объем потока С через почву, измеренный после импульсного мечения дерна $^{13}CO_2$ (Johnson et al., 2005). Другие имеющиеся данные свидетельствуют о разрушении коллемболами АМ мицелия в почве.

Взаимоотношения между АМ растениями и питающейся корнями нематодой *Aphelenchus avenae* представляют интересный материал для сравнения с влиянием коллембол (Bakhtiar et al., 2001). Этот вид также питается грибами, в том числе АМ. При инокуляции *A. avenae* немикоризных растений *Trifolium subterraneum* популяции сокращались, но численность заметно увеличивалась, если растения были колонизированы *Glomus coronatum* или *Gigaspora margarita,* причем в случае *G. coronatum* окончательная численность была выше. Присутствие нематоды в одинаковой степени снижает колонизацию корней обоими видами грибов и сокращает долю спор с содержимым, что особенно заметно у вида *G. coronatum*. Таким образом, получается, что мицелий *G. coronatum* или более питателен, или более доступен для нематоды. Несмотря на наносимый нематодами урон, ростовые ответные реакции микоризных грибов повышались при умеренном обилии этих животных (рис. 16.13). Эти данные предполагают, что благоприятное действие ускорения круговорота гиф благодаря выеданию нематодами компенсирует разрушение мицелия, если численность нематод не исключительно высока. Влияние на два вида грибов вновь было различным, что показывает возможное разнообразие типов взаимодействий в сложных почвенных сообществах.

Взаимоотношения между микоризными грибами и надземными растительноядными животными не менее сложны, чем связи с обитателями почвы, но здесь

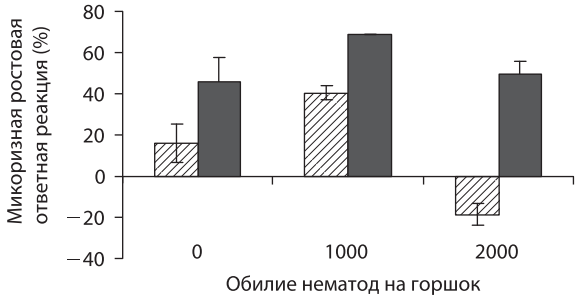


Рисунок 16.13. Микоризные ростовые ответные реакции (%) сравнительно с немикоризным контролем у *Trifolium subterraneum* при колонизации *Gigaspora margarita* (столбцы со штриховкой) или *Glomus coronatum* (столбцы с заливкой). Растения выращены при различном обилии питающейся мицелием нематоды *Aphelenchus avenae*. Приведены средние значения и стандартная ошибка среднего (n = 3). Данные из Bakhtiar et al., 2001.

наши знания еще более отрывочны. Согласно литературным данным (см. в Gehring, Whitham, 1994, 2002), по результатам около двух третей работ, выедание снижает и ЭМ, и АМ колонизацию и не оказывает на нее влияния или изредка повышает по данным остальных исследований. Преобладание отрицательных эффектов было отнесено на счет снижения способности растений снабжать свои грибные симбионты органическим С. Авторы обзорных работ подчеркнули тот факт, что большинство исследований было выполнено на АМ растениях, и изучена преимущественно степень колонизации. Функции симбиоза или их следствия, важные для развития растительных сообществ, затрагивались только изредка.

Также изучалось влияние микоризной колонизации на растительноядных животных, опять же, в основном для АМ симбиозов. Согласно полученным данным, негативное воздействие АМ чаще проявляется в отношении растительноядных генералистов, чем специализированных видов, что объясняется более высокой чувствительностью генералистов к защитным веществам, выделяемым растениями, и возможностью усиления образования этих соединений у микоризных видов.

Гифы арбускулярно–микоризных грибов и структура почвы

Давно известно, что гифы АМ грибов играют важную роль как связующие агенты почвы (Miller, Jastrow, 2002). Это свойство применялось при использовании веса прилипающей почвы для оценки длины свободного мицелия (Graham et al., 1982b), и любой, кому приходилось отмывать корни от почвы, знает, что микоризные растения представляют значительно большие сложности, чем неинокулированные. Агрегация песчинок АМ гифами в дюнах описана многократно (Koske, 1975; Koske et al., 1975; Clough, Sutton, 1976; Forster, 1979; Forster, Nicolson, 1979; Graham et al., 1982b). В таких экосистемах АМ грибы играют особенно важную роль в стабилизации, так как они используют постоянно поступающие продукты фотосинтеза растения и, в отличие от сапротрофов, независимы от легкодоступных почвенных ор-

ганических субстратов, количество которых может быть очень малым. Очевидно, что во многих почвах корни и гифы, вместе с органическими соединениями, играют главную роль в стабилизации почвенных агрегатов.

В обзоре, посвященном вкладу биологических процессов в развитие и стабилизацию почвенной структуры, показано, что он может варьировать в зависимости от состава почвы (Oades, 1993). В почвах с относительно низким содержанием глины формирование агрегатов и стабильность зависят в основном от органического вещества и активности почвенных организмов. Для многих типов почв есть данные об иерархических уровнях агрегатов различных размеров, когда мелкие частицы, объединяясь вместе, формируют более крупные. Такая иерархия охватывает множество порядков размерности (от <2 до >2000 мкм), и мелкие агрегаты удерживаются вместе прочнее, чем более крупные. Корни и грибные гифы несомненно стабилизируют макроагрегаты (>250 мкм), выступая в качестве временных связующих агентов, соединяющих мелкие частицы (Tisdall, Oades, 1979, 1982; Tisdall, 1994, 1995). Гифы также, возможно, играют важную роль в стабилизации микроагрегатов. Частицы глины (<2 мкм) прилипают к слизи на поверхности гиф. Значимость АМ мицелия как части сложной связующей сети была показана в исследовании, где получены данные о том, что эффективность стабилизации агрегатов размера >2000 мкм корнями *Lolium perenne* (райграсс) зависит от длины гиф в этих агрегатах (Tisdall, Oades, 1979). Корни *Trifolium repens* обладали значительно меньшим действием, чем корни *L. perenne*, несмотря на то, что степень АМ колонизации после 14 недель роста составляла 50 и 13% соответственно. Эти данные указывают на важность в данном контексте обилия корней и гиф в почве, а не процента колонизации.

Участие корней и гиф в формировании и стабилизации агрегатов было изучено в процессе восстановления высокотравной прерии (Cook et al., 1988; Miller, Jastrow, 1990; Jastrow et al., 1998). В данном случае развитие микориз было связано с различными размерными классами корней. В ходе анализа было показано, что тонкие корни и гифы оказывали статистически достоверное непосредственное влияние на геометрическое среднее диаметра (ГСД) водостойких агрегатов, в то время как очень тонкие корни не имели прямого воздействия на структуру почвы. Как предполагается, косвенное влияние обоих типов корней связано с длиной их колонизированной части и, следовательно, с формированием свободного мицелия. Из всех видов растений сообщества прерии злаки и представители сем. Compositae, образующие обильные тонкие корни, были лучшими индикаторами высоких значений ГСД, в то время как другие растения были очевидно менее показательны в этом отношении.

Без сомнений, и корни, и гифы играют роль в процессах стабилизации (Miller, Jastrow, 2002). Было показано, что вклад корней *Allium cepa* в эти процессы был более существенным, чем ассоциированных с ними АМ гиф, но, к сожалению, на эти результаты могли повлиять и различия в размерах между АМ и немикоризными корневыми системами (Thomas et al., 1986). В последующей работе было использовано единичное растение *Glycine max* с разделенной корневой системой и разделительные сетки для получения четырех различных вариантов опыта в одном горшке: сапротрофные гифы без корней; только микоризные гифы; корни и гифы (микоризованные корни); и корни с сапротрофными грибами (немикоризные корни). Хотя в конце эксперимента были получены менее водостойкие агрегаты, чем в исходной почве, различия между вариантами были достоверными, в порядке снижения прочности агрегации: микоризные корни и гифы >микоризные гифы = немикоризные корни >контроль.

Вклад корней и гиф в повышение стабильности агрегатов увеличивается по мере возрастания содержания органического вещества в почве при выпасе. Органиче-

ские связующие агенты недолговечны сравнительно с более постоянными, цементирующими мелкие частицы. Следовательно, более крупные агрегаты, которые очень важны для образования дренажных пор, не только относительно непостоянны, но еще и весьма хрупки и могут быть уничтожены при вспашке. Ввиду непродолжительности существования самих связей, стабилизация посредством корней и гиф зависит от постоянства их образования (Miller, Jastrow, 1990). Эти моменты следует учитывать при поддержании популяций микоризных растений для повышения и сохранения структурной стабильности почвы. Как отмечено в главе 5, они могут существенно влиять на водный баланс растений, а также изоляцию органического С в почвах.

Предполагается, что специфичные экссудаты гиф играют важную роль в стабилизации структуры почвы АМ грибами. Увеличивается количество работ, направленных на изучение подобных функций гликопротеинов, образуемых АМ грибами (так называемого гломалина или родственного гломалину почвенного белка — GRSP). Белки мало исследованы биохимически, большие затруднения представляет их высокая стабильность, их выделение из почвы требует таких процедур как автоклавирование в 50 мМ лимоннокислом буфере (Wright, Jawson, 2001). В недавно проведенном исследовании было показано, что «гломалин» почти наверняка является белком теплового шока, который сохраняется в мицелии АМ грибов (Driver et al., 2005; Gadkar, Rillig, 2006; см. гл. 5). Несмотря на то, что раньше предполагали выделение АМ грибами белков GRSP —группы, сейчас считают более вероятным их накопление в почве в результате оборота гиф в силу высокой устойчивости гликопротеина. Для выявления функций белков GRSP у АМ грибов и количественных взаимосвязей между GRSP, обилием гиф и их оборотом, стабильностью почвенной структуры и содержанием органического С требуются дополнительные исследования (Rillig, Mummey, 2006). До тех пор, пока такая работа не будет проведена, представляется разумным принять представления о белках GRSP как о мере АМ активности в почве или как об основных веществах, вносящих вклад в стабилизацию почвы и изоляцию С.

Заключение

Очевидно, что микоризы заметно влияют на взаимодействия растений в природе, но исследование степени их влияния только начинается. В настоящее время внимание экологов в равной мере сфокусировано на значимости подземных процессов для совместного произрастания растений и конкуренции, а также для инвазивности, продуктивности и биоразнобразия. Обусловливающие их механизмы в будущем должны быть проверены экспериментально и, что весьма важно, полученные результаты следует интерпретировать максимально корректно.

Опыты в полевых условиях сопряжены со многими сложностями и, в большинстве случаев, включают применение относительно неспецифичных биоцидов, поэтому интерпретация данных должна быть очень осторожной, а выводы подкрепляться тщательными наблюдениями и контролируемыми экспериментами. Изменения, вносимые фитопатогенами, эндофитами побегов и различными почвенными животными вряд ли возможно охарактеризовать и понять, пока не будут разработаны более эффективные и специфичные методы для создания контроля в эксперименте. Также для выявления механизмов, обусловливающих влияние микориз на продуктивность растений, их сосуществование и разнообразие, необходимы тщательно спланированные опыты, исключающие влияние эффекта выборки. Способы влияния, вероятно, отчасти связаны со степенью зависимости членов раститель-

ных сообществ от их грибных симбионтов в процессах получения питательных веществ. К настоящему времени накоплена информация, достаточная для того, чтобы показать несостоятельность широких обобщений. Микоризы не всегда повышают разнообразие растений, а также увеличение численности грибных симбионтов не обязательно ведет к повышению продуктивности. Аналогично, могут сильно различаться результаты мультитрофных взаимоотношений, и механизмы в данном случае исследованы в еще меньшей степени, хотя, вероятно, они, играют значительную роль в природе.

Специалисты по экологии растений обычно придерживаются фитоцентрического подхода к микоризным симбиозам. Однако важно помнить, что грибы принимают участие во множестве ассоциаций, и результаты таких взаимодействий будут оказывать влияние на состав грибных сообществ и, следовательно, колонизацию совместно встречающихся растений. Согласно современным представлениям, результаты симбиотических взаимоотношений между различными видами грибов и растений необычайно разнообразны, и микоризное состояние нельзя рассматривать как некий «черный ящик». Для будущих исследований необходим более «микоцентрический» взгляд на микоризные симбиозы и их вклад в динамику растительности.

17
Микоризы в сельском хозяйстве, садоводстве и лесоводстве

Введение

Широкое распространение микоризных грибов всех групп у различных трав и деревьев в природных сообществах наряду с их влиянием на минеральное питание и рост растений давно привело к мысли об использовании микоризных симбиозов для повышения урожайности. Большинство садовых и огородных растений, а также некоторые древесные породы, образуют арбускулярные микоризы (АМ), но другие типы микоризных симбиозов также могут играть важную роль в определенных ситуациях. Эктомикоризы (ЭМ) применяются в лесоводстве и при восстановлении лесов, эрикоидные микоризы (ЭрМ) - при культивировании ягодных кустарничков, таких, как черника, и орхидные микоризы - при размножении орхидей для сохранения редких видов. Как компоненты почвенной биоты все типы микориз потенциально значимы для восстановления местообитаний, нарушенных вырубками или добычей руды, поэтому влияние подобных нарушений на сообщества микоризных грибов и на продуктивность заслуживают особенного внимания. Кроме того, разностороннее участие микориз в агрегации и стабилизации почвы, формировании устойчивости растений к болезням и мобилизации питательных веществ важно учитывать в сфере «экологически чистого» земледелия и при поддержании продуктивности сообществ. Активно разрабатываются методики получения плодовых тел съедобных эктомикоризных грибов, многие представители которых имеют высокую пищевую ценность. В этой главе приведены некоторые примеры использования арбускулярных и эктомикориз для поддержания растительных сообществ и обсуждаются возможные направления дальнейшей работы.

Арбускулярные микоризы в сельском хозяйстве и садоводстве

Существует множество примеров влияния АМ симбиозов на продуктивность культурных растений, но пока еще очень редко инокуляция или техники, направленные на повышение АМ колонизации, применяются в качестве элемента обычной коммерческой практики. Наиболее широко распространены попытки создания высокотехнологичных сельскохозяйственных и садоводческих систем. В них зачастую применяется внесение больших количеств удобрений и пестицидов (Abbott, Robson, 1982, 1991; Menge, 1982; Miller et al., 1986; Hall, 1988; Larsen et al., 2007), кото-

рые могут снижать влияние грибных симбионтов на питание и рост растений. Однако усиливающееся внимание к экологически рациональным методам ведения хозяйства может, как минимум, частично снизить эту тенденцию. В последние годы все больший интерес вызывает способность арбускулярных микориз к повышению устойчивости растений к болезням или токсичным элементам (Plenchette et al., 2005; Larsen et al., 2007). Кроме того, потенциальная выгода от продажи инокулюма привлекает внимание биотехнологических компаний (Gianinazzi, Vosátka, 2004). Не стоит недооценивать трудности и затраты на производство высококачественного как в отношении АМ инфекционности, так и отсутствия патогенов инокулюма облигатных симбионтов, и, следовательно, его применение будет сильно ограничено повышающейся стоимостью урожая.

Коммерческое применение инокуляции определенными видами грибов или поддержания их естественных популяций направлено в основном на увеличение биомассы растений, и значительно меньше внимания уделяется установлению или поддержанию систем, рациональных в плане сохранения (или улучшения) почвенных ресурсов (Bethlenfalvay, Linderman, 1992; Gianinazzi, Schüepp, 1994; Ryan, Graham, 2002). В таких системах, а также в условиях менее активного поступления веществ извне (Sieverding, 1987, 1991; Plenchette et al., 2005), природные АМ сообщества могут играть важную роль в питании растений, которую не всегда оценивают адекватно. Конечно, проявления действия АМ пути поглощения P у колонизированных растений в природных условиях, даже при отсутствии результирующего преимущества по показателям биомассы, суммарного поглощения или качества питания (гл. 5), подразумевают, что АМ грибы участвуют в функционировании корневых систем и ими не следует пренебрегать в программах максимального использования питательных веществ почвы.

При условии важности стоимости продукции и применения удобрений, при снижении их внесения или при органическом земледелии вклад биологических процессов и различных организмов (в том числе, АМ грибов) в динамике питательных веществ заслуживает большего внимания (Oberson et al., 1993; Plenchette et al., 2005; Jakobsen et al., 2005). Установленная ограниченность запасов каменного фосфата и возможность того, что производство удобрений закончится уже в текущем столетии, побуждают к поиску приспособлений растений, повышающих усвоение P, накапливающегося в почве. Не связанное с питанием влияние микориз на водный баланс растений (гл. 5), снижающее их поражаемость некоторыми заболеваниями и стабилизация почвенной структуры также потенциально значимы (гл. 16). Эти проявления изучались в меньшей степени сравнительно с повышением продуктивности, возможно, в силу того, что в этих случаях труднее количественно учесть экологические преимущества и экономическую выгоду. Функционирование и активность АМ симбиозов редко принимают во внимание при разработке интегрированных методов борьбы с вредителями, но существуют доводы в пользу того, что ими не следует пренебрегать. Еще более убедительны аргументы в пользу их включения в программы использования запасов питательных веществ и водных ресурсов, особенно если в почвах крепко удерживается P, или сами они непрочны, подвергаются эрозии или оттоку элементов питания. Возможную экономическую выгоду поддержания АМ популяций при ведении сельского хозяйства необходимо тщательно оценивать в контексте экологии систем, а не просто по критериям роста сельскохозяйственных культур (Miller et al., 1994).

Участие микориз в питании и ростовых процессах сельскохозяйственных культур в полевых условиях

Недвусмысленное доказательство того, что АМ колонизация вносит вклад в питание растений, их рост и урожайность, сложно получить в природных условиях, так как корни в норме колонизированы и очень сложно подготовить подходящий немикоризный контроль (см. гл., 4, 5 и 16) (Abbott, Robson, 1982; Fitter, 1985, 1990; Hall, 1988). Химическая или тепловая обработка почвы, уничтожающая АМ грибы, может изменять содержание доступных питательных веществ или способствовать высвобождению токсичных соединений. Подобные процедуры также ведут к исключению других групп почвенной биоты, которые сами по себе могут оказывать прямое положительное или отрицательное влияние на растения или взаимодействовать с АМ грибами.

Несмотря на подобные сложности, известно множество случаев, когда действие обработки почвы на рост растений и их биомассу лучше всего объясняется активностью АМ грибов, так как фумигация снижает рост, а инокуляция его усиливает. Т.П. МакГонигл исследовал 78 природных проб с АМ грибами и выявил, что инокуляция (в стерилизованной или необработанной естественной почве) приводит к увеличению биомассы в среднем на 37% (McGonigle, 1988). Он испытывал сомнения относительно участия АМ пути в поглощении питательных веществ, так как масштаб увеличения не коррелировал с процентом колонизации. В настоящее время известно, что степень колонизации не обязательно является хорошим критерием поглощения питания АМ грибами (см. гл. 5). Однако сохраняется возможность того, что преимущества, хотя бы отчасти, заключаются в устойчивости к заболеваниям или других, не связанных с питанием, проявлениях.

Фумигация почвы или обработка паром часто используется в производстве ценных культур для снижения потерь, вызываемых фитопатогенами. Иногда эти процедуры приводят к низкорослости, малой урожайности и неравномерному росту у многих видов растений, в том числе, *Citrus*, *Persea* (авокадо), *Capsicum*, *Cassava*, *Vitis*, *Allium*, *Malus* (яблоня), *Prunus* (персик), *Tamarillo*, *Liquidambar*, *Liriodendron*, *Elaeis* (масличная пальма), *Manihot* (маниока), *Cacao* и многих древесных пород, применяемых в озеленении. Низкорослость может быть обратимой или сокращаться при внесении удобрений, но многие высоковосприимчивые АМ виды (см. гл. 4) не способны к эффективному использованию P и других малоподвижных питательных веществ, если их корни не колонизированы АМ грибами. Этот эффект наиболее выражен в почвах с фиксированным P и различается у растений разных видов (Yost, Fox, 1979; Haas et al., 1987; Li et al., 2005).

Было исследовано влияние фумигации на рост 22 видов растений, выращенных в полевых условиях в умеренной зоне на почве с относительно высокой доступностью P (Plenchette et al., 1983a, b). Культуры разделились на три основные группы. Шестнадцать видов, в том числе кукуруза (*Zea mays*), морковь (*Daucus carota*), томат (*Solanum esculentum*), картофель (*S. tuberosum*) и ряд бобовых, образовывали арбускулярные микоризы и лучше росли в почве, не подвергавшейся фумигации. Вторая группа, представленная овсом (*Avena sativa*) и пшеницей (*Triticum aestivum*), также образовывала АМ, но на рост растений фумигация не влияла. Третья группа состояла из несовместимых с АМ видов капусты (*Brassica olearacea*) и свеклы (*Beta vulgaris*), которые лучше росли в почве после фумигации. Это разбиение согласуется с уже упомянутыми различиями в восприимчивости к АМ (см. гл. 4 и 5) и подтверждает полученные ранее данные для многих видов в горшечных опытах. Ответные реакции на микоризацию и поглощение P изучали у ряда тропических культурных растений в кислой почве с прочной фиксацией P (Yost, Fox, 1979).

Для достижения содержания P в почвенном растворе в интервале 0,012–1,0 мкг P/мл этот элемент вносили в десяти различных концентрациях. Фумигация оказывала слабое влияние на содержание экстрагируемого бикарбонатом P и вызывала небольшое, статистически недостоверное, повышение концентрации неорганического N. Вид *Brassica chinensis* рос лучше на почве, подвергавшейся фумигации, чем без обработки и в обоих случаях не образовывал микоризу. Все другие культуры формировали арбускулярные микоризы на почве без фумигации и лучше росли в этом варианте опыта, хотя концентрация P в почве, при которой обработка переставала оказывать влияние на содержание P в тканях, различалась. В порядке снижения восприимчивости (а также критической концентрации P в растворе) виды располагались следующим образом: *Manihot esculenta* и *Stylosanthes hamata* (>1,6 мкг/мл), *Leucaena leucocephala* (1,6 мкг/мл), *Allium cepa* (0,8 мкг/мл), *Vigna unguiculata* (0,2 мкг/мл) и *Glycine max* (0,1 мкг/мл). Как было неоднократно отмечено, влияние типа почвы, особенно, поступления P и прочность его фиксации, также играют важную роль в определении типа ответной реакции (Menge, 1982).

Фумигация как метод удаления АМ грибов в экспериментальных целях подвергалась критике, так как она уничтожает и другие почвенные организмы (в том числе, патогенные) и может способствовать высвобождению питательных веществ, что затрудняет интерпретацию данных о функциях АМ (см. гл. 16). Эти трудности обсуждались в контексте влияния на рост нескольких сельскохозяйственных культур умеренной зоны, например, *Pisum* и *Hordeum*. Был сделан вывод, что в изучаемом агроценозе арбускулярные микоризы вносили значительный вклад в поглощение P и рост и были недооценены при использовании техники фумигации (Jakobsen, Neilsen, 1983; Jakobsen, 1987). Стоит заметить, что некоторые сорта ячменя и пшеницы восприимчивы к АМ колонизации, в том числе и те, которые дают ответные реакции на внесение удобрений (Baon et al., 1993; Hetrick et al., 1993a, b; Zhu et al., 2003; Li et al., 2005). Таким образом, не все культурные злаки попадают в группу невосприимчивых растений (Plenchette et al., 1983a), и здесь опять присутствует значительное влияние видовой принадлежности грибного симбионта и условий почвы (Graham, Abbott, 2000).

Применение более избирательных способов обработки биоцидами также может снижать численность АМ грибов, колонизацию корней и, следовательно, вызывать замедление роста растений (Menge, 1982). Хотя это очень редко создает проблемы при получении биомассы, так как обычно одновременно вносят большие количества удобрений, в ситуациях, когда АМ влияет на результирующее поглощение питательных веществ, появляется значительный риск. Системный фунгицид беномил существенно сокращает АМ колонизацию и в горшечных опытах, и в природных условиях (Fitter, 1985; Fitter, Nichols, 1988; Koide et al., 1988b; Sukarno et al., 1993; West et al., 1993b). Вместе с другими фунгицидами беномил применяли в экспериментах для предотвращения или снижения колонизации АМ симбионтами (Schweiger, Jakobsen, 1999b; Schweiger et al., 2001). В заданных условиях и при низком содержании P в почве рост растений в результате обработки сокращается, что может быть напрямую связано с утратой АМ пути поглощения P (Sukarno et al., 1993; Schweiger, Jakobsen, 1999b; Schweiger et al., 2001). Однако в полевых условиях встречаемость грибных патогенов, которые также могут быть уничтожены фунгицидом, затрудняет оценку влияния АМ на питание растений. Тем не менее, этот метод, конечно, выявляет, возможную значимость АМ грибов в снижении воздействия патогенов и, следовательно, их функционирования в качестве агентов биоконтроля (West et al., 1993a; Fitter, Garbaye, 1994; Hooker et al., 1994; Graham, 2001). После постепенного прекращения использования фумиганта метилбромида для уничтожения патогенов стали применять внесение веществ в малых концентрациях. Во Флориде проводили исследования системы полосной вспашки, при которой

томаты были высажены на выгон с *Paspalum notatum* (Sylvia et al., 2001). Эта система была разработана для снижения воздействия патогенов и сохранения почвы, но оказалось, что конкуренция между растениями значительно сократила урожай томатов. В горшечных экспериментах было выявлено, что при малом содержании P и низких значениях pH используемой почвы томат очень восприимчив к АМ колонизации, а восприимчивость злака слабее. АМ колонизация повышала конкурентоспособность томата по отношению к злаку при совместном произрастании. Однако, как показано во втором эксперименте, внесение P снижало относительную конкурентоспособность томата. Авторы подчеркнули, что развитие систем с низким притоком питательных веществ, таких как изучаемая, требует появления у растений стратегий максимального увеличения поглощения питания. Они сделали предположение, что снижение внесения P может позволить томату получить преимущество от своей сравнительно высокой микоризной восприимчивости в данном типе почвы. Про влияние микориз на продуктивность в совмещенных культурах известно очень мало, но этот вопрос заслуживает внимания.

Серьезные нарушения почвы, производимые агротехническими мероприятиями, горными разработками или происходящие по естественным причинам, также могут сокращать поглощение растениями питательных веществ и, следовательно, продуктивность. Основным фактором в данном случае является разрушение сети микоризных гиф в почве, что в свою очередь, снижает колонизацию, поглощение элементов питания и рост. Это было показано для *Zea mays* в полевых условиях, и особенно ярко эффект проявлялся при низкой концентрации P удобрений (Evans, Miller, 1988, 1990; McGonigle, Miller, 1993), а также для ряда видов из нативной растительности на почве, поврежденной при горных разработках (Powell, 1980; Jasper et al., 1989, 1992). Наблюдались различия между видами АМ грибов по чувствительности к подобным нарушениям и вытекающее из них влияние на питание растений (McGonigle et al., 2003).

Иногда для накопления влаги и минерального N в почвенном профиле применяют севооборот, включающий длительные периоды чистого пара (1 год и более). В Квинсленде (Австралия) эта практика привела к значительной низкорослости и дефициту P и Zn у ряда таксономически удаленных культурных растений (Thompson, 1987). Это так называемое «нарушение долгого пара» выражалось в недостатке АМ пропагул в почве, повлекшем за собой снижение скорости и степени АМ колонизации и поглощения питательных веществ (Thompson, 1990, 1994). Проблема была решена путем исключения долгих периодов пара из севооборота и адаптации сельскохозяйственных практик к поддержанию АМ грибных популяций. В этом случае, как и во многих других, данные тестирования почвы для установления необходимых объемов внесения P и Zn были получены в условиях, где грибные симбионты в норме вносят основной вклад в поглощение этих элементов растениями. Снижение по тем или иным причинам АМ колонизации сокращало или исключало вклад грибов в питание, что приводило к уменьшению ответа на удобрение, и данные тестирования почвы уже не могли служить хорошим прогнозом ответных реакций культурных растений на внесение P (Haas et al., 1987; Thompson, 1987). Здесь следует проявить осторожность, так как полевые эксперименты в сходных почвах юго-восточной Австралии показали, что повышение АМ колонизации при севообороте у пшеницы редко приводит к увеличению биомассы или улучшению питания. Противоречие было отнесено на счет различий в схемах внесения P удобрений в двух регионах (Ryan et al., 2002).

Недавно был разработан новый экспериментальный подход к определению потенциального вклада АМ грибов в продукцию томата в полевых условиях (Cavagnaro et al., 2006). АМ и немикоризные варианты были получены без применения фумигации или внесения фунгицидов путем использования мутанта томата со сниженной АМ

колонизацией (*rmc*) и его предшественника дикого типа и высажены на поле, обрабатываемое органическими удобрениями, одновременно с обычным коммерческим посадочным материалом томата. Природные АМ грибы нормально колонизировали томат дикого типа (24% от длины корня), но у мутанта могли внедриться только в ризодермальные клетки на 4% длины корня и не развивались в коре. Такой характер колонизации не способствует поглощению P по АМ пути (Poulsen et al., 2005). К моменту финального сбора данных между двумя генотипами не было достоверных различий по биомассе побегов и плодов, и сходные результаты были получены в нескольких горшечных экспериментах с этими растениями при культивировании в нейтральных или слабощелочных почвах (Cavagnaro et al., 2004a; Poulsen et al., 2005). Однако растения АМ дикого типа имели существенно большую концентрацию P и Zn в побегах и плодах, чем немикоризные мутанты. Эти данные не только указывают на вклад АМ грибных популяций в питание колонизированных растений дикого типа, но и свидетельствуют об их более высокой пищевой ценности для человека по содержанию необходимых веществ. Сходные результаты иногда отмечают для пшеницы с высокой степенью колонизации сравнительно с теми растениями, которые выращены в условиях севооборота, приводящего к снижению АМ колонизации (Ryan et al., 2002). Влияние арбускулярных микориз на пищевую ценность культурных растений заслуживает дальнейшего исследования, особенно в свете проблемы снижения содержания необходимых для человека микроэлементов в растениях в результате применения очищенных удобрений и других современных агротехнических практик (Welch, 2002; Welch, Graham, 2002). В настоящее время активно изучается возможность повышения в растениях концентрации полезных соединений, таких как антиоксиданты, посредством АМ колонизации.

Постоянно наблюдается положительное влияние высокой степени АМ колонизации на прирост биомассы растений. Подавление роста обычно относят на счет C истощения, вызываемого АМ колонизацией, как это было показано для цитрусовых (см. гл. 4). В горшечных экспериментах у пшеницы отмечен широкий спектр ответных реакций, и ослабление роста было связано с быстрой и обширной колонизацией так называемыми «агрессивными» АМ грибами (Graham, Abbott, 2000). В полевых условиях высокая численность *Glomus macrocarpum* была сопряжена с возникновением болезни карликовости табака, и ее проявления сглаживались при фумигации почвы, эффективно удаляющей АМ грибы (Modjo, Hendrix, 1986; Hendrix et al., 1992). Механизм ингибирования роста до конца не изучен, но определенную роль может играть ухудшение роста корневой системы у АМ растений (Jones, Hendrix, 1987). Значительно позднее была поставлена серия экспериментов для выявления влияния последовательности севооборота на АМ колонизацию, P и N питание и биомассу пшеницы (Ryan et al., 2002). Почвы относились к типу щелочных вертизолей, сходных с теми, в которых было показано, что сокращение АМ популяций связано с «нарушением долгого пара». Низкая АМ колонизация после выращивания крестоцветных не влияла на ранние этапы роста злака, поглощение P и Zn или биомассу. Только в одном из экспериментов наблюдалась положительная корреляция между АМ колонизацией и концентрацией P и Zn в зерне (Ryan et al., 2002). Полученные данные привели авторов к заключению, что фермерам необязательно учитывать влияние последовательности севооборота на степень колонизации пшеницы в почвах данного типа. Далее исследователи перешли к более общим вопросам положительного влияния АМ грибов на биомассу культурных растений и сделали предположение, что у некоторых в норме невосприимчивых растений, таких как пшеница, отток C к грибному симбионту может значительно сокращать урожайность. Однако эти предположения нуждаются в пересмотре ввиду наличия данных об участии АМ грибов в питании вне зависимости от результирующих преимуществ в росте (см. гл. 4 и 5).

В описанной работе было оценено возможное влияние АМ по критериям результирующих положительных или отрицательных эффектов на рост и питание растения. В применении к культурным растениям тот факт, что АМ путь поглощения питательных веществ может замещать непосредственное всасывание корнями пока еще не получил заслуженного признания. Тем не менее, в нескольких полевых опытах было показано значительное поступление ^{32}P к пищевым и пастбищным злакам из внесенных в почву гифальных отсеков, прямое поглощение P из которых растительными корнями и корневыми волосками было невозможно. В эксперименте с пшеницей скорость поглощения P на единицу длины АМ гиф была сходна с выявленной в горшечных экспериментах (Schweiger, Jakobsen, 1999b). Применение фунгицида карбендазима в гифальных отсеках в концентрациях, которые, как известно, ингибируют АМ грибной транспорт, прекращали поглощение P по грибному пути. Результаты демонстрируют значительный вклад нативных АМ грибов в общее поглощение P выращенной в полевых условиях озимой пшеницы, даже при обычной плодородности почвы 28 мкг $NaHCO_3$-экстрагируемого P/г. Аналогичный подход был применен для изучения вклада АМ в питание гороха, выращиваемого в относительно плодородной почве (Schweiger et al., 2001). Нативные АМ грибы вновь вносили значительный вклад в поглощение P растениями, и оно снижалось или прекращалось при внесении высоких концентраций коммерческих фунгицидов. Интересно, что при рекомендуемых для применения количествах гифальное поглощение P и транспорт слабо повышались. Этот эффект был отнесен на счет относительно большего отрицательного влияния на других представителей почвенного микробного сообщества. Он демонстрирует важность подбора подходящей схемы агротехнических мероприятий, подразумевающей не только контроль нежелательных патогенов, но и поддержание функционирования потенциально полезных организмов. АМ вклад в питание луговых и пастбищных растений, обитающих на ненарушенных почвах, оценивали с использованием метки $^{32/33}$P, вносимой в гифальные отсеки. Д. Джонсон с соавт. показали значительное перемещение ^{33}P из почвы в гифальном отсеке в растения, находящиеся в основном отсеке, которое значительно снижалось при повреждении свободного мицелия АМ грибов путем вращения почвенных блоков (Johnson et al., 2001). С применением аналогичного подхода было выявлено, что вклад нативных АМ грибов в транспорт P к растениям *Trifolium subterraneum* сильно варьировал и зависел от типа почвы и развития свободного мицелия в меченых почвенных блоках (Jakobsen et al., 2001). Ингибирование активности АМ грибов путем внесения беномила в гифальные отсеки приводило к снижению концентраций P и сокращению в некоторых типах почв поступления ^{32}P в побеги растений. Однако в одной из почв растения характеризовались очень слабым ростом независимо от применения фунгицида. Свободный АМ мицелий не заходил в гифальные отсеки и транспорт ^{32}P к растениям был слабым или отсутствовал. В совокупности эти данные явно показывают роль свободного мицелия в природных сообществах АМ грибов и АМ пути поглощения P целым рядом растений, различных по восприимчивости, обитающих на нескольких типах почв с различным содержанием P.

Весьма вероятно, что АМ грибы также вносят вклад в поглощение P, Zn и, возможно, других элементов питания различными культурными растениями в полевых условиях, даже если результирующая выгода по критериям урожайности или пищевой ценности неочевидна. Можно подумать, что этот «скрытый» вклад не имеет большого значения. Тем не менее, селекция культур в направлении более эффективного поглощения питательных веществ сильно зависит от понимания деталей этих процессов и их генетического контроля. Если растения в норме неизбежно колонизируются в природных условиях, то при исследовании нужно принимать во внимание поглощение P через АМ грибные симбионты. Очевидно, что современ-

ные сорта культурных растений были выведены и поддерживались в культуре без учета АМ симбиозов, и следствием этого может быть отсутствие восприимчивости у многих из них (Smith et al., 1992; Hetrick et al., 1996). Данные по меньшей мере двух работ указывают на наследственный характер АМ восприимчивости у пшеницы и ячменя и ее тесную связь с восприимчивостью к Р (Baon et al., 1993; Hetrick et al., 1996). В целом, селекционеры растений пренебрегали потенциально благотворными АМ симбиозами, но будущие работы по генетике и селекции могут извлечь пользу из накопленных данных. Это важно, так как АМ грибы влияют на функционирование корневой системы и у восприимчивых, и у невосприимчивых видов растений, а степень колонизации и поглощение Р в природных условиях могут быть настолько значительными (Ryan et al., 2002; Li et al., 2005, 2006), что удалить влияние этих факторов возможно только путем жесткой обработки. Необходимо получить исчерпывающие представления о путях и механизмах поглощения, в том числе, координированной регуляции прямого и АМ симбиотического поглощения Р, чтобы манипулировать ими в целях улучшения усвоения этого элемента культурными растениями посредством селекции, генной инженерии или агротехнических мероприятий.

Оценка и поддержание популяций арбускулярно–микоризных грибов

Большинство приведенных выше примеров демонстрируют, что поглощение питательных веществ и, следовательно, продуктивность культурных растений в полевых условиях зависит от природных сообществ АМ грибов. Видовой состав этих сообществ и обилие пропагул не всегда бывают хорошо известны, и каким образом различия по видовому богатству могут влиять на продуктивность растений, не вполне ясно. Свойства грибного симбионта, которые проявляются в форме более высокого вклада в поглощение растением питательных веществ и рост не изучены до конца, поэтому выбор «эффективных» партнеров все еще остается в большей степени эмпирическим. Известно, что необходим обильный свободный мицелий, и что разные виды грибов варьируют по степени развития мицелия (см. гл. 2 и 5). Быстрая ранняя колонизация корней и образование многочисленных арбускул также важны и могут быть следствием одновременно видовых характеристик гриба, плотности пропагул и условий в почве. Картину еще более усложняют различия в функционировании разных комбинаций гриб–растение по критериям транспорта питательных веществ и сложность установления взаимосвязи физиологических явлений (напр., поглощения и ростовых ответов) и процента колонизации корневой системы, который часто измеряют достаточно поздно, в период, когда обилие и активность арбускул может быть сравнительно низка.

В полевых условиях, вероятно, одновременно присутствует множество различных видов АМ грибов, которые будут колонизировать культурные растения в разной степени в зависимости от симбиотической избирательности, а также относительного обилия арбускул (см. гл. 1). В настоящее время известно, что эффективность определенного грибного симбионта может меняться при ассоциации с разными видами растений, но остается непонятным, являются ли наиболее эффективно поглощающие питательные вещества микобионты теми, которые играют главную роль в снижении воздействия патогенных организмов или стабилизации почвы. Существует два основных подхода для получения и поддержания высокой инфекционности АМ грибов в почве, применяемых в сельском хозяйстве и садоводстве. Это инокуляция (и последующее поддержание) отобранных АМ грибов и адаптация агротехник для

повышения инфекционности природных сообществ. Достоинства и недостатки этого подхода в разных случаях многократно обсуждались (Abbott, Robson, 1982, 1991; Menge, 1983, 1984; Hall, 1988; Gianinazzi et al., 1990b; Sieverding, 1991; Bethlenfalvay, 1992b; Bethlenfalvay, Linderman, 1992; Wood, Cummings, 1992; Dodd, Thomson, 1994; Brundrett et al., 1996; Ryan, Graham, 2002; Larsen et al., 2007).

Не вызывает сомнений, что перед применением того или иного метода необходимо оценить влияние основных факторов. В их числе восприимчивость выращиваемых культурных растений, свойства природного сообщества АМ грибов, особенно, их инфекционность и симбиотическая эффективность, возможное влияние обработки почвы (напр., вспашка, внесение P и N) на АМ сообщества и характеристики почвы, так как они влияют на доступность питательных веществ, восприимчивость растений и выживаемость грибов. К этому следует добавить необходимость информации о наличии патогенов и методов, используемых для снижения их воздействия (напр., фумигация, внесение фунгицидов), и оценку значимости влияния АМ мицелия в почве на установление и стабилизацию почвенной структуры (Tisdall, 1994; Miller, Jastrow, 2002; Rillig, Mummey, 2006) (см. гл. 16). Последний показатель может быть очень важен в нестабильных местообитаниях, где хозяйственные мероприятия для получения высоких результатов ведутся более интенсивно (Plenchette et al., 2005). Наконец, для долговременного рационального использования почвенных ресурсов должны быть учтены экономические затраты и выгоды, связанные с любым родом хозяйственной деятельности (Miller et al., 1994).

Влияние агротехнических мероприятий на АМ грибы стало темой нескольких вышедших недавно обзорных работ (Jansa et al., 2006; Larsen et al., 2007). По степени убывания значимости факторы, оказывающие влияние на изменение или сокращение АМ грибных популяций, располагаются следующим образом: севооборот, вспашка почвы, применение фунгицидов и удобрений. Также могут играть роль ирригация, выгорание и выедание, наличие загрязняющих веществ и удаление верхних слоев почвы (табл. 17.1). Наиболее экстремальное снижение численности вызывает стерилизация почвы, фумигация или применение не содержащих почву сред для производства культур высокой ценности. В таких случаях представляются большие возможности для успешной инокуляции АМ грибами, в том числе, и при тканевой культуре растений (Vestberg, Estaún, 1994; Lovato et al., 1995, 1996). Однако инокуляция используется в очень немногих коммерческих производствах из-за трудностей, связанных с получением и применением инокулюма, а также внесением изменений в техники культивирования (Menge, 1984; Wood, Cummings, 1992; Lovato et al., 1995; Gianinazzi, Vosátka, 2004).

Многие ценные тепличные культуры все чаще выращивают на средах без почвы, таких как минеральный войлок. Преимущества этих систем заключаются в том, что в таких средах проще контролировать поступление питательных веществ. Тем не менее, было обнаружено, что атаки патогенов могут причинять значительный ущерб, и некоторые современные исследования направлены на внедрение в такие системы биологических «противовесов» для улучшения здоровья растений. В одной из недавних работ, связанной с выращиванием томатов и огурцов в Дании, было проанализировано влияние применения коммерческого АМ инокулюма на поступление питания к растениям (Ravnskov, Larsen, 2005). Томаты давали положительную реакцию на внесение P удобрений во всех концентрациях, вплоть до 100% рекомендуемой для выращивания нормы. АМ колонизация была относительно низкой, и ни один из видов инокулюма не давал в условиях эксперимента преимуществ по показателю вегетативной биомассы. Напротив, у немикоризных огурцов рост усиливался только при внесении до 50% рекомендуемой концентрации P удобрения, а ответная реакция на инокуляцию была положительной. Никакой выгоды от инокуляции огурцов по критериям роста или биомассы отмечено не было,

Таблица 17.1. Положительное и отрицательное влияние различных агротехнических мероприятий на сообщества арбускулярно-микоризных грибов и последующую колонизацию культурных растений.

Фактор агроценоза	Положительное влияние	Отрицательное влияние
Виды растений	Совместимые виды	Несовместимые виды
	Высокий уровень колонизации	
	Высокая продукция спор	
	Высокая доля микоризованных участков корней	
Длительный пар		Снижение численности
Выпас	Увеличение обилия пропагул	
Ротация нарушение-вспашка	Минимальная вспашка в фазе выпаса	Уплотнение почвы при традиционной вспашке
Тип земледелия	Органическое, биодинамическое	Традиционное
Внесение удобрений	Капельное внесение	Внесение высоких концентраций растворимого P и N
	Медленное высвобождение каменного фосфата	
Фумигация		Сокращение числа пропагул
Фунгициды	Различные эффекты	Различные эффекты
Низкая освещенность (теплица)		Снижение роста и колонизации

но один из протестированных сортов образовал почти на 4% больше плодов первого сорта. Это повышение может показаться несущественным, но оно было статистически достоверным и дало производителю прибыль в 50000 евро (расценки на 2005 г.). Из полученных данных был сделан вывод, что в случае производства огурцов, в отличие от томатов, имеет смысл продолжать изучение влияния внесения АМ инокулюма (Ravnskov, Larsen, 2005). Растения не страдали от заболеваний ни в условиях эксперимента, ни в пробном производстве, поэтому в данном случае невозможно оценить потенциальное преимущество АМ инокуляции в обеспечении устойчивости к болезням, но в будущем оно может сыграть свою роль.

В полевых условиях изучение состава АМ грибных сообществ требует как идентификации присутствующих видов, так и получения количественных данных об инфекционности и обилии пропагул (см. гл. 2). Эти сообщества обычно характеризуют на основе типов и количеств спор, в то время как для оценки инфекционности всех функциональных пропагул, содержащихся в почве, применяют биотесты. К сожалению, выделение спор не может показать, какие грибы активны на корнях и в почве. Эти ограничения общеизвестны, и разработан ряд разных методов для идентификации АМ грибов в отсутствие спор. Применяемые с попеременным успехом и различающиеся по своей чувствительности техники включают методы фингерпринтинга ДНК, изозимный анализ и анализ профилей метилэфиров жирных кислот. Методы, связанные с изучением ДНК, характеризуются достаточно высокой точностью при различении штаммов в пределах одного вида, но для получе-

ния удовлетворительных количественных данных необходимо их дальнейшее совершенствование. Пока не будут разработаны точные и быстрые методы идентификации и оценки АМ грибов, присутствующих в вегетативной стадии, и их вклада в процессы, объединяющие почву и растения, мы не сможем достичь больших успехов в понимании роли грибов в агроценозах и управлении ими. Даже в настоящее время сохраняются значительные пробелы в представлениях о связи между таксономическим положением симбионта или степенью колонизации и его функциями.

Если популяции АМ грибов малочисленны или неэффективны, то рекомендуется инокуляция или применение мер для повышения обилия пропагул. И, наоборот, в поддержании низкой численности АМ грибов могут быть свои преимущества в случае выращивания определенных культур на некоторых типах почв, когда отрицательное влияние на урожайность может значительно влиять на рентабельность хозяйства (Ryan, Graham, 2002). Этот эффект может быть достигнут путем интенсивной вспашки или севооборота с чередованием несовместимых растений, таких как крестоцветные, но получаемые преимущества следует тщательно взвесить и сравнить с выгодами от минимальной разработки почвы, часто применяемой и эффективной для сведения к минимуму почвенной эрозии. Кроме того, до тех пор, пока мы не узнаем больше о путях интеграции и действия процессов поглощения питательных веществ грибами и растениями в полевых условиях, не стоит широко применять подобные практические подходы. Многие разделяют точку зрения, что сохранение биоразнообразия потенциально полезных почвенных микробных популяций, в том числе, АМ грибов, чрезвычайно важно для поддержания нормального состояния почвы.

Инокуляция

Невозможность поддержания грибных симбионтов в культуре, как и было предсказано (Wood, Cummings, 1992), продолжает оставаться помехой для разработки простых и дешевых техник инокуляции. АМ инокулюм до сих пор получают в симбиозе с растениями. Производство дорогостоящее, получаемый продукт часто громоздкий, и необходимо затрачивать значительные усилия на контроль качества, т.е., инфекционности и отсутствия патогенов (Menge, 1984; Gianinazzi, Vosátka, 2004). Тем не менее, по имеющимся данным, свыше 20 компаний по всему миру выпускают АМ инокулюм, ориентируясь на многих производителей-приверженцев «биологических» методов (Gianinazzi, Vosátka, 2004). Симбиотическое производство имеет важное преимущество автоматического мониторинга способности грибов к колонизации корней, по меньшей мере, на стадии выпуска продукции.

Выпускаемые в настоящее время сорта инокулюма, основанные на растительном материале, весьма разнообразны и требуют различных методов внесения. Они производятся разными способами, начиная от площадок-питомников и кончая *in vitro* моноксеничными органными культурами корней (Gianinazzi, Vosátka, 2004). К полученному материалу (спорам, гифам, фрагментам корней и т.п.) добавляются различные носители, что приводит к большому разнообразию состава. Различные технологии имеют свои достоинства и недостатки в отношении простоты использования, качества и стоимости. Пригодность этих сортов инокулюма для различных методов внесения зависит от видовой принадлежности основных АМ пропагул и их способности поддерживать инфекционность при хранении и сохраняться на корнях из года в год, а также от доступных методов внесения. Одним из многообещающих подходов является инкапсуляция АМ корней, содержащих большое количество грибных везикул, в гранулах альгината. Получаемый инокулюм сохраняет ин-

фекционность в течение как минимум 3 лет (Plenchette, Strullu, 2003). Дискутируется вопрос, насколько «обобщенный инокулюм», содержащий несколько АМ грибов и потенциально подходящий для широкого применения, более пригоден для продажи, чем продукт с точно установленным составом АМ грибов, специфично «настроенных» для определенного использования.

Критерии для контроля качества в отношении АМ инокулюма еще не разработаны, но они необходимы для того, чтобы продукт соответствовал разумным стандартам. По меньшей мере, в рекомендуемых дозах инокулюм должен инициировать колонизацию корневой системы тех видов растений, которые способны к микоризообразованию, он не должен содержать патогенные или другие организмы, которые могут ослабить рост растения, и иметь адекватный срок годности при хранении в рекомендуемых условиях. Хотя результат сложно прогнозировать без непосредственной экспериментальной проверки, продукт также должен соответствовать ожиданиям и требованиям покупателей, в том числе, сокращать необходимость внесения удобрений, усиливать рост растений, цветение, прирост биомассы или устойчивость к болезням или загрязняющим веществам. Не все доступные сорта инокулюма отвечают этим требованиям. Без сомнения, активно развивающиеся в настоящее время методы ДНК-фингерпринтинга получат применение как на уровне идентификации нужных и нежелательных организмов в составе инокулюма, так и для оценки его жизнеспособности в корнях и почве после внесения. Более подробное обсуждение сортов коммерческого инокулюма и регуляции его производства приведено в двух недавно опубликованных обзорных работах (Gianinazzi, Vosátka, 2004; Plenchette et al., 2005).

На данном этапе регулярная инокуляция в крупных фермерских хозяйствах нереальна ввиду стоимости продукта и его применения, а также неопределенности относительно конкурентоспособности инокулированного гриба в полевых условиях. Единственный возможный вариант в настоящее время - поддержание естественных популяций АМ грибов. Потенциальная перспективность этого подхода была продемонстрирована при выращивании паприки (*Capsicum annuum* L.) в Австралии (Olsen et al., 1999). На опытном участке поля проводили два цикла культивирования микоризных растений, создающих развитую мицелиальную сеть с высокой плотностью инфекционных пропагул. Популяции АМ грибов удаляли путем фумигации для получения немикоризных контрольных площадок и вносили P в форме молотого суперфосфата в пяти концентрациях (P0–P5), от нуля до 135 кг P/га. Сеянцы *Capsicum* пересаживали на площадки в соответствии с обычными сельскохозяйственными методиками. Внесение фосфата не оказывало влияния на процент колонизации растений. Фосфатное питание оценивали в самых молодых из зрелых листьев, и было показано, что растения в АМ варианте опыта имели адекватное содержание P при всех вносимых концентрациях этого элемента, кроме P0, но немикоризные растения достигали нормального уровня только при P5. Прирост биомассы АМ растений к моменту сбора урожая был выше, чем у контрольных, за исключением варианта P5. Валовая прибыль от реализации немикоризных растений при P5 составила 3440 австралийских долларов/га (расценки 1999 г.). Во всех АМ вариантах, кроме P1, прибыль была сходной. Авторы сделали заключение, что в настоящее время АМ может служить только малоэффективной заменой внесению P, так как удобрение несущественно повышает затраты на производство. Однако эта ситуация может измениться, если стоимость P удобрений значительно возрастет.

При относительно малых производствах ценных культур, например, в питомниках, регулярная колонизация вполне осуществима и, вероятно, дает серьезные преимущества в повышении скорости роста и единообразия получаемых растений. В таких условиях горшечные субстраты часто стерилизуют для уничтожения патогенов, поэтому возможна интродукция АМ грибов, специально подобранных для

определенного метода внесения. В этой области активно продолжается работа, в том числе, направленная на получение высококачественного инокулюма для научных исследований (Gianinazzi et al., 1990a; Lovato et al., 1995; Gianinazzi, Vosátka, 2004).

Инокуляция сеянцев является потенциально хорошим методом для колонизации корней определенными видами грибов перед посадкой в горшки или высаживанием в поле. Он пригоден в тех случаях, когда пересадка представляет собой элемент обычной схемы выращивания. Преимущество заключается в том, что инокулированный грибной симбионт развивается в корневой системе, начиная с самых ранних этапов роста, и может впоследствии успешно конкурировать с грибами в почве. Этот метод был проверен на ряде различных культур в полевых условиях. Инокуляцию *Allium porrum* производили в горшках, и к моменту пересадки корни были почти на 80% колонизированы смесью АМ грибов (Sasa et al., 1987). Сравнительно с неинокулированным контролем, эти растения после пересадки росли в 5,7 и 1, 5 раз лучше в почве после фумигации или без фумигации соответственно. Сходное усиление роста наблюдалось у таких различных видов растений как перец чили (Bagyaraj, Sreeramulu, 1982), яблоня (Plenchette et al., 1981) и гваюла (*Parthenium argentatum*, Bloss, Pfeiffer, 1984). Р. Снеллгроув и Д. Стрибли модифицировали стандартную коммерческую методику в своей работе с *A. cepa*, но столкнулись с трудностями при колонизации в торфяных блоках, использованных для пересадки (Snellgrove, Stribley, 1986). Этот подход заслуживает дальнейшей разработки, и полученные результаты отражают необходимость подбора процедур инокуляции для определенного производства, а также типа почвы и видов растений. Инокуляцию двумя и более видами грибов необходимо тщательно проанализировать, так как она может снизить разнообразие ответных реакций, ожидаемое в разных типах почвы и условиях выращивания и у различных растений в результате инокуляции единственным симбионтом (Sieverding, 1990; Bethlenfalvay, Linderman, 1992).

Другая краевая точка масштабной шкалы, «домашнее» производство инокулюма из сильно колонизированных корней и почвы, которые вносят непосредственно перед посадкой растений. Эта процедура может внести заметный вклад в продуктивность сравнительно маленьких систем с низким поступлением питательных веществ. Не стоит недооценивать потенциал этого «производства» из-за того, что оно не может принести большой прибыли. Во многих случаях эксперименты проводили с однолетними злаками в монокультуре. Однако древесные породы также могут быть важны и, особенно в развивающихся странах, их иногда культивируют на плантациях или в садах со значительным видовым разнообразием. Примерами могут служить кофе и какао, которые выращивают вместе с восприимчивыми к микоризе древесными породами-затенителями (Wibawa et al., 1995), и многие тропические фрукты в смешанных посадках (Janos, 1980). Известно, что кофе и какао, а также лимон, кешью и многие другие тропические древесные породы, восприимчивы к АМ колонизации (Janos, 1987; Alexander, 1988; Sieverding, 1991; Smits, 1992; Smith et al., 1998). И агротехнические мероприятия и монокультура, вероятно, изменяют видовой состав грибных сообществ и снижают их разнообразие, но влияние этих изменений на продуктивность культурных растений не было адекватно оценено (Black, Tinker, 1979; Johnson et al., 1992; Johnson, 1993; Allen et al., 1995; Hendrix et al., 1995; Helgason et al., 1998).

В ситуациях, когда стоимость и доступность фосфатных удобрений очень существенны, АМ грибы могут повышать эффективность относительно дешевых удобрений, таких как каменный фосфат (КФ) при непосредственном внесении в кислые почвы. Также можно предполагать варьирование ответных реакций. В работе, посвященной деревьям-затенителям, используемым на плантациях кофе и какао, было показано, что вид *Sesbania grandiflora* относительно эффективно поглощает

P из бедной почвы и не дает достоверной ответной реакции на внесение тройного суперфосфата (ТСФ) или КФ независимо от АМ инокуляции (Wibawa et al., 1995). Два других вида плохо росли без удобрений и давали ответную реакцию на внесение ТСФ в отсутствие инокуляции. Ответная реакция на КФ проявлялась только при инокуляции *Gigaspora margarita*. Степень колонизации корней не определяли, но на продукцию спор у всех видов достоверно влиял способ обработки. В целом, инокуляция повышала споровую продукцию в значительно большей степени в сочетании с КФ, чем с ТСФ, и эти данные важны для поддержания АМ грибных популяций.

Те же самые техники, которые применяют для поддержания АМ грибов при выращивании культурных растений, могут быть использованы для усиления действия АМ на структуру почвы и ее стабильность. Они могут внести значительный вклад в сохранение почвы в агроценозах, особенно в том случае, если велика опасность эрозии. Также было сделано предположение, что обширная мицелиальная сеть, обеспечивающая эффективное поглощение P из почвы, предотвращает его отток в ручьи, реки и грунтовые воды (напр., Jakobsen et al., 2005b). Эта гипотеза не подвергалась тщательной проверке, но недавно было показано, что основное влияние АМ колонизации на снижение подвижности P в грунтовых колонках было сопряжено с усилением роста растений в почвах с низким содержанием P. Когда доступность почвенного фосфора увеличивалась, утраты P при оттоке были намного выше и не снижались при АМ колонизации растений (Asghari et al., 2005).

Агротехника

Продолжительное (хотя и не постоянное) присутствие растений-хозяев значимо для накопления инокулюма. Ответные реакции растений на колонизацию не очень важны; в большей степени на количество пропагул влияет обилие микоризованных корней в почве и образование свободного мицелия и спор. Пастбища, характеризующиеся высокой продукцией микоризованных корней и малой степенью нарушенности, обладают значительным потенциалом для накопления инокулюма, а также образования водостойких почвенных агрегатов, стабилизированных гифами АМ грибов (см. гл. 16). Агротехнические мероприятия, направленные на поддержание грибных популяций, включают последовательное культивирование, когда каждый год выращивают два или более вида растений, или совмещенное культивирование, когда две культуры выращивают одновременно. В любом случае, если хотя бы одно из растений потенциально микоризообразующее, будет поддерживаться адекватный уровень инокулюма (Andrews, Kassam, 1976; Tisdall, Adem, 1990). И продолжительный пар, и культивирование несовместимых растений рано или поздно приведут к сокращению микоризных популяций или замедлению образования пула инфекционных пропагул (Ocampo, Hayman, 1980; Thompson, 1987; Ryan et al., 2002).

Другой тип нарушений, вспашка и складирование почвы, сокращает численность жизнеспособных пропагул (Jasper et al., 1987, 1989, 1992; Miller, Jastrow, 1992b, 2002) и должен быть сведен к минимуму для поддержания и увеличения АМ популяций, а также для сохранения стабильности почвенной структуры. Уплотнение почвы тоже оказывает неблагоприятное воздействие как на колонизацию, так и на сам процесс роста корней. Имеются данные о снижении процента колонизации при уплотнении почвы вследствие движения сельскохозяйственной техники (Mulligan et al., 1985). Можно ожидать, что сокращение роста корневых систем приведет к снижению обилия микоризных корней в почве, даже если не будет нарушена способность грибов к колонизации растений. На самом деле, имеющие-

ся данные о влиянии уплотнения почвы различаются, и отмечены случаи как повышения, так и понижения степени колонизации (Nadian et al., 1996, 1997; Li et al., 1997; Yano et al., 1998). Вероятно, на результат влияет степень снижения роста корней при уплотнении, а также инфекционность почвы. Также показано уменьшение распространения гиф от колонизированного корня в почве, но эффект проявляется слабее, чем в отношении корней (Nadian et al., 1996). Микоризные растения росли лучше, чем немикоризные при всех уровнях уплотнения, но по мере повышения плотности почвы восприимчивость последовательно снижалась. Показано, что различные АМ грибы дают разные ответные реакции на уплотнение и вариацию размеров пор в почве как в отношении колонизации корня, так и способности распространяться в плотной почве и поглощать Р и колонизировать новые растения (Drew et al., 2003, 2005).

Биодинамическая и органическая агротехника ведет к более высокой степени колонизации корней кормовых и однолетних злаков, чем традиционные методы культивирования (Ryan et al., 1994, 2000; Ryan, Ash, 1999). Эти эффекты, как минимум, частично, обусловлены низким уровнем внесения Р и применением менее доступных источников питательных веществ. Взаимосвязь между внесением Р и N, ростовыми ответными реакциями и количеством пропагул в почве очень важна. Что касается ростовых реакций, то в данном контексте следует принимать во внимание форму и время внесения удобрений, а также чувствительность определенных сочетаний гриб-растение. Для большинства культурных растений внесение Р (часто в форме суперфосфата) производят однократно, перед посевом, и эта процедура может значительное влиять на степень колонизации и ростовые ответные реакции. Фосфор в других формах, таких как КФ, не оказывает столь сильного влияния на колонизацию и может в большей степени соответствовать увеличению до максимума вклада арбускулярных микориз в питание растения. Внесение удобрений с поливной водой при ирригации (фертигация) иногда применяется в интенсивной сельскохозяйственной практике. В одном полевом исследовании с использованием *Capsicum* в почвах с прочной фиксацией Р содержание этого элемента в почвенном растворе поддерживалось на относительно невысоком уровне, что позволяет как обширную микоризную колонизацию, так и поддержание активного роста и урожайности (Haas et al., 1987). Можно ожидать, что внесение медленно действующих удобрений будет оказывать сходное действие. Также был обсужден отбор устойчивых к Р грибов и возможность их использования в инокуляции при условиях внесения значительного количества Р.

Биоконтроль патогенов в настоящее время является общепринятым элементом программ борьбы с вредителями. Прогресс в этой области выражается в сокращении применения пестицидов и фунгицидов, что положительно сказывается на функционировании АМ симбиозов. Ущерб, причиняемый АМ грибам, будет таким образом сведен к минимуму, а их влияние на питание растений, структуру почвы и патогенные грибы максимально увеличится. Потенциал АМ грибов для контроля вредителей изучен не очень хорошо, но некоторая возможность их использования существует. Возможна, особенно в садоводстве, комплексная обработка, при которой АМ грибы (в сочетании с другими полезными микроорганизмами) вносятся с целью повышения эффективности удобрений и снижения ущерба, причиняемого болезнями. Подобные агротехнические мероприятия становятся все более заманчивыми, так как применение химикатов для фумигации и борьбы с вредителями все более активно подвергается критике, а затраты на удобрения составляют достаточно высокую долю от стоимости продукции. При дальнейшем использовании почвенных микробных популяций для максимального увеличения эффективности поглощения Р из различных фракций почвы необходимо принимать во внимание все потенциальные преимущества и взаимодействия (Jakobsen et al., 2005b).

Эктомикоризы и лесное хозяйство

В нативных лесных массивах, где ведется заготовка древесины, эктомикоризы являются частью природного сообщества, и их потенциальная роль в питании древесных растений была выявлена уже в самых ранних исследованиях (Frank, 1885). Арбускулярным микоризам было уделено меньше внимания, несмотря на то, что ряд важных промышленных лесных пород образует микоризу этого типа. Изъятие древесины, особенно, сплошные рубки, оказывает сильное воздействие на лесные экосистемы, не только на виды растений, восстанавливающихся на вырубках, но также и на сообщества ЭМ грибов, которые сохраняются и колонизируют возобновляющиеся или привнесенные сеянцы. Состав и разнообразие этих грибных сообществ привлекают все большее внимание из-за своего потенциального влияния на продуктивность и разработку стратегий сохранения лесов (Jones et al., 2003).

Во многих регионах мира усиливается лесоразведение для получения древесины и целлюлозы, потребности в которых возрастают, а также для повышения площади лесов в связи с необходимостью увеличивать секвестрацию CO_2. Хотя интродуцированные или возобновляющиеся естественным путем сеянцы могут образовывать ЭМ симбиозы на основе любого природного микоризного инокулюма, очевидны потенциальные преимущества микоризации растений из питомников перед их высадкой. Был создан подробный свод правил для разработки успешных мероприятий, максимально повышающих преимущества использования эктомикориз в лесном хозяйстве (Grove, Le Tacon, 1993). Многие коммерческие практики, особенно, направленные на поддержание чистоты в лесных питомниках, вредны для развития ЭМ грибов, за исключением нескольких рудеральных видов. Следовательно, должны быть разработаны специальные технологии, позволяющие определенным видам грибов колонизировать растения перед посадкой. Применение этих методов способствует улучшению состояния древесных пород во многих частях Земного шара, особенно в местах, где недостаточно природных локальных источников инокулюма (см. Marx et al., 2002). В то же время, усиливается интерес к выращиванию плодовых тел съедобных видов ЭМ грибов, которые используются в пищевых целях или в качестве коммерческого инокулюма.

Инокуляция дает преимущества на двух этапах производства лесоматериалов: в питомниках и после высадки в природные условия. Большая часть экспериментальных работ была сосредоточена на улучшении производства хорошо развитых сеянцев, которые вместе со своими грибными симбионтами будут успешно приживаться в природных условиях. Кроме того, быстрый рост сеянцев в питомниках также повышает прибыль, увеличивая пропускную способность. Опыт использования инокулированных сеянцев свидетельствует о том, что наиболее мощные ответные реакции на ЭМ колонизацию проявляются в наиболее суровых условиях, особенно, под воздействием фитопатогенов, засухи и загрязнения металлами. Подобные данные привели к анализу функциональных предпосылок мелиоративного эффекта ЭМ грибов. Помимо хорошо известного влияния на питание и рост растений, была также выявлена роль симбиозов в обеспечении устойчивости растений к стрессам, которые, хотя и присутствуют в ненарушенных сообществах, часто локально усиливаются при проведении хозяйственных мероприятий или при лесовозобновлении как таковом. Конечно, состояние растения в питомнике и в природных условиях после инокуляции может отличаться, что вызвано разнообразными воздействиями почвы и других факторов окружающей среды на индивидуальные микоризные симбиозы, устанавливающиеся после инокуляции. Продуктивность лесных сообществ находится под угрозой ввиду глобальных изменений, таких как накопление азота и серы и сопутствующее снижение pH, что может отрицательно влиять на оба

симбионта. Эти воздействия, как считается, способствуют ухудшению состояния лесов, наблюдаемому в Европе и на северо-востоке США. Также имеются данные, что доступность основных катионов может снижать продуктивность лесных массивов, поэтому любое положительное влияние эктомикориз на поглощение будет представлять значительное преимущество (см. гл. 10).

Производство инокулюма и инокуляция

Применение определенного типа инокулюма, состоящего из ЭМ грибов, физиологически и экологически подходящих именно для данных посадок начали практиковать довольно давно (Moser, 1958 — Австрия; Takacs, 1967 — Аргентина; Theodorou, Bowen, 1973 — Австралия). Предпосылками для широкого применения программ ЭМ инокуляции являются подбор грибных симбионтов и разработка методов крупного производства инокулюма (Grove, Le Tacon, 1993; Brundrett et al., 1996). Эти требования взаимосвязаны, так как помимо свойств функциональной совместимости и улучшения состояния инокулируемой культуры, выбранный грибной симбионт должен быть устойчив к действию физических, химических и биологических факторов стресса. Эти факторы будут влиять на микоризообразующие грибы в процессе производства и хранения инокулюма, также они связаны с почвой в питомниках и окружающей средой в местах посадки (Kropp, Langlois, 1990; Grove, Le Tacon, 1993).

В одной из наиболее широко применяемых и успешных программ ранней инокуляции был использован вид *Pisolithus tinctorius*. Он вызвал интерес своим очевидно широким географическим распространением, большим набором растений-хозяев (Marx, 1977) и фактом выживания в неблагоприятных условиях, в том числе при засухе, высоких температурах или загрязнении (Schramm, 1966). Интересной особенностью технологии производства инокулюма *P. tinctorius* являлось то, что во всех случаях использовался только один вегетативный изолят гриба. Изначально штамм был получен из плодового тела, обнаруженного под *Pinus taeda* в Джорджии, США (Marx, Bryan, 1969). Его агрессивность и способность к стимуляции роста своих растительных партнеров явно увеличивались, что было показано при ежегодном повторном выделении из сеянцев с пробных площадей на протяжении периода свыше 30 лет.

Для удаления других симбиотических грибов, которые могут являться потенциальными конкурентами, сорных растений и патогенов, контейнеры для выращивания и субстрат перед инокулированием обычно подвергают фумигации. Несмотря на это, в течение нескольких дней в обработанную почву обычно попадают встречающиеся в природе ЭМ грибы, в особенности, *Thelephora terrestris*, и необходимо, чтобы вносимый вид грибного симбионта был способен к быстрой колонизации корней. *T. terrestris*, вероятно, преобладает среди ЭМ грибов в почвах лесных питомников по всему миру (Mikola, 1970; Ivory, 1980; Marx et al., 1984a). Присутствие этого вида как потенциального колонизатора корневых систем в результате инвазии после фумигации или по причине естественной встречаемости следует учитывать в большинстве исследований в питомниках. Ввиду повсеместной встречаемости *T. terrestris* эксперименты, поставленные для оценки влияния инокулируемого грибного симбионта, осложняются тем, что большинство неинокулированных контрольных растений, а также некоторые особи в инокулированном варианте опыта, часто колонизируются естественным путем. Могут встречаться также и другие обычные «поселенцы», в том числе, грибы «Е-штамма» (см. гл. 7) и виды рода *Laccaria*. Таким образом, результаты работ представляют собой сравнение состоя-

ния растений, колонизированных *T. terrestris* (или другим видом-контаминантом) и специально вносимым симбионтом. Единственное исключение из этой общей закономерности приведено ниже (Xu et al., 2001). Опыт интродукции *P. tinctorius* подразумевает, что при посадках для лесовозобновления для достижения максимального усиления роста сеянцев на их корнях должно постоянно образовываться большое количество микориз. Было показано, что если менее половины микориз образовано *Pisolithus tinctorius*, то сравнительно с растениями, колонизированными *Thelephora*, усиления роста не происходит (Marx et al., 1976, 1988). Опыт высаживания растений в природу в нескольких регионах мира показывает, что усиление роста в питомниках может не коррелировать с улучшением состояния культуры в полевых условиях. Инокулированные грибные симбионты поддерживаются на корнях только в течение нескольких лет после высадки и впоследствии сменяются природными видами грибов. Тем не менее, весьма вероятно, что на ранних этапах преимущества зависят от поглощения молодыми растениями питательных веществ посредством их ЭМ симбионтов. Позднее, обмен веществами с взрослыми деревьями играет все большую роль, в то время как прямое поглощение снижается (Grove, Le Tacon, 1993).

Для производства сеянцев разработаны сорта коммерческого инокулюма различного состава и разные техники инокуляции (Marx, Bryan, 1975; Marx, 1980, 1991; Marx, Kenney, 1982; Sieverding, 1990; Bethlenfalvay, Linderman, 1992; Brundrett et al., 1996). Инокулюм, основанный на спорах, в том числе, пеллеты или семена с покрытием, пригоден и удобен для видов грибов, которые образуют плодовые тела с множеством спор. Типы мицелиального инокулюма включают суспензии и альгинатные гранулы (Brundrett et al., 1996). Некоторые из наиболее успешных техник включают выращивание вегетативного мицелия на смеси торф-вермикулит, увлажненной жидкой питательной средой (Marx, Kenney, 1982). Вермикулит представляет собой хорошо аэрированный пластинчатый субстрат, в котором мицелий защищен от повреждений, а добавление торфа в различной пропорции обеспечивает необходимый интервал pH, обычно в пределах от 4,8 до 5,5. Питательные растворы обычно имеют соотношение C:N около 50–60, они добавляются в количествах, необходимых для того, чтобы в процессе развития микоризного гриба на среде весь свободный C использовался мицелием. Наличие доступного C в момент инокуляции приводит к конкурентному вытеснению микоризного гриба сапротрофами. Технология производства инокулюма и методы подбора изолятов в подробностях описаны в работе М. Брандретта с соавт. (Brundrett et al., 1996).

Разработка коммерческой технологии инокуляции осложнена рядом проблем. Во-первых, требуется большой объем производства. Уже в 1985 г. на юге США в питомниках выращивали 1,5 млрд. сеянцев *Pinus* spp. в год (Marx, 1985). С тех пор мировой объем выращивания лесных культур, а также программ восстановления растительности по всему миру возрос, и повысилось необходимое количество посадочного материала широколиственных и хвойных древесных пород. В Австралии только в Новом Южном Уэльсе департамент лесного хозяйства в 2006 г. производил 7,5 млн. сеянцев и 2 млн. черенков (S. Sullivan, устное сообщение). Среди проблем, возникающих при использовании твердых субстратов для производства инокулюма, необходимость большого пространства для хранения, сложность поддержания единообразия условий внутри одной партии и между ними, а также невозможность контролировать физико-химические свойства среды в отсутствие воды. Из-за подобных сложностей были предприняты различные попытки использования в качестве среды для выращивания жидкостей и гелей. Основными преимуществами погруженного культивирования на жидкой среде является однородность субстрата и возможность контроля его физических и химических свойств. Сосуды, пригодные для широкомасштабного аксеничного производства грибного

инокулюма, были разработаны для других целей в химической и фармацевтической промышленности. В этих емкостях возможно точно регулировать и оптимизировать условия культивирования определенных организмов, сокращая период выращивания сравнительно с твердыми субстратами (Le Tacon et al., 1985; Boyle et al., 1987). Полученный таким способом инокулюм можно применять непосредственно в форме суспензии (Boyle et al., 1987; Gagnon et al., 1988), для чего требуется фрагментация. К сожалению, эта обработка значительно снижает активность многих ЭМ грибов. Были предприняты попытки сохранения жизнеспособности фрагментированного инокулюма путем помещения его на защитный носитель. Успешно применяется альгинат натрия, вносимый к корням в виде геля (Deacon, Fox, 1988), зерен (Kropacek et al., 1989) или гранул (Le Tacon et al., 1985; Mauperin et al., 1987). Восприимчивость многих грибов к ущербу, причиняемому фрагментацией, даже при наличии подобной защиты, привела к поиску альтернативных методов культивирования. Один из весьма многообещающих подходов заключается в получении инокулюма в капсулах гидрогеля, которые можно применять непосредственно, минуя этап фрагментации (Jeffries, Dodd, 1991; Kuek et al., 1992). Таким способом успешно выращивают инокулюм некоторых ЭМ грибов, в том числе видов из родов *Descolea, Hebeloma, Laccaria* и *Pisolithus*, и было показано, что их жизнеспособность сохраняется до 7 месяцев при хранении при низкой температуре (Kuek et al., 1992).

В США и некоторых других странах был проведен эксперимент по внесению инокулюма из базидиоспор *Pisolithus tinctorius* в виде суспензии для полива почвы или инкапсулированного в глине вместе с семенами. Он может стимулировать ростовые ответные реакции, но редко образует так же много микориз на растение, как вегетативный инокулюм «супер-штамма», и, следовательно, менее эффективен (Marx et al., 1984b, 1991). Задержка в образовании микориз из спор вполне ожидаема, потому что, как указано в главе 6, в норме при посредстве монокариотичного мицелия колонизация не происходит. Только после слияния гиф и получения дикариона может произойти образование эктомикоризы.

Несмотря на наблюдаемое наличие ответных реакций на инокуляцию *Pisolithus tinctorius* в теплом климате и в регионах, подверженных засухе, оказалось, что в более прохладных климатических условиях этот микобионт менее эффективен. В тихоокеанской части северо-запада США, к примеру, «супер-штамм» *P. tinctorius* действовал слабее, чем локальные грибные изоляты (Perry et al., 1987). В этом регионе лесная служба разработала программу споровой инокуляции, основанную на использовании ЭМ грибов, значимых для локальных сообществ, в том числе, видов *Laccaria*, *Hebeloma*, *Rhizopogon* и *Suillus* (Castellano, Molina, 1989). Споры вносили в посевы в питомнике через ирригационную систему или в контейнеры с растениями, и, с такими микобионтами как *Rhizopogon* и виды *Suillus*, была получена слабая колонизация (Perry et al., 1987). Напротив, несколько штаммов *Laccaria* образовывали обильные микоризы у растений, выращенных в контейнерах (Molina, 1982). Один из штаммов, впоследствии названный *L. bicolor* S238, для целей инокуляции был особенно многообещающим. Некоторые штаммы *Laccaria* и *Hebeloma* были использованы для изготовления коммерческого инокулюма, который давал высокий уровень колонизации *Pseudostuga menziesii* в контейнерах и в условиях питомников (Hung, Molina, 1986).

Однако, несмотря на успех, достигнутый при колонизации агрессивными штаммами грибов, оказалось, что после высадки состояние сеянцев улучшалось незначительно (Perry et al., 1987). Некоторый опыт имеется также и для Европы. Описан ряд экспериментов, проведенных во Франции, в Испании и Великобритании, в которых показано, что состояние инокулированных в питомниках растений *Pseudotsuga menziesii* и *Pinus sylvestris* сохранялось в течение нескольких лет после пе-

ресадки (Le Tacon et al., 1988, 1992). Применяемые штаммы грибов в основном относились к родам *Thelephora, Hebeloma* и *Laccaria*, в том числе, был использован агрессивный штамм из Орегона S238 *L. bicolor*, исходно выделенный Р. Молиной. Успешность колонизации тем или иным микобионтом варьировала у разных питомников, и, очевидно, в большой степени определялась активностью вторичной инвазии штаммами исходно присутствовавшего вида *Thelephora*. Даже в случае, если была достигнута высокая степень колонизации инокулируемым грибом, улучшение состояния высаженных растений наблюдалось редко. Инокуляция *P. menziesii* штаммом *L. bicolor* S238 давала достоверное усиление роста в высоту и увеличение объема древесины вдвое на одном из опытных участков в центральной Франции через шесть лет после высадки деревьев, но на других участках между контрольными растениями, колонизированными *T. terrestris*, и инокулированными различия были малы. Сходные данные были получены в шести питомниках в разных районах Великобритании в опытах с выращенными в контейнерах *P. menziesii* и *Picea sitchensis* при инокуляции рядом микобионтов и пересадке после колонизации (Jackson et al., 1995).

Вторым важным моментом является подбор подходящих видов грибов для программ инокуляции, основанный на их симбиотической эффективности в отношении растений, производимых в питомниках, и их вероятной выживаемости и конкурентоспособности в полевых условиях. Высокое разнообразие грибов, в настоящее время выявленных в различных лесных сообществах, делает эту задачу весьма трудной и частично объясняет, почему обширная работа в направлении разработки методов технологии производства инокулюма не всегда дает заметные результаты по критериям продуктивности леса. В результате, несмотря на то, что в теории показаны экономические преимущества использования новых техник инокуляции (Kuek, 1994), перспективы их дальнейшего широкого применения не очень многообещающи.

Однако ряд целевых программ оказался довольно успешным, особенно в отношении восстановления лесов в Юго-Восточной Азии. В Китае были организованы плантации эвкалипта на участках с низким содержанием доступного Р и отсутствием подходящих ЭМ грибов. Было исследовано влияние одновременного внесения Р удобрений и ЭМ инокуляции в условиях питомника на улучшение роста растений после высадки (Xu et al., 2001). Авторы выявили, что применение суперфосфата в целом повышает жизнеспособность сеянцев и объем древостоя через три года после пересадки. Также было проанализировано влияние инокуляции ЭМ грибами в питомнике. Согласно данным, полученным в этих экспериментах, все инокулированные сеянцы образовали эктомикоризу, а неинокулированные контрольные растения оставались немикоризными, поэтому результаты сравнения сеянцев, инокулированных разными видами ЭМ грибов, свидетельствуют о влиянии именно указанных микобионтов, а не «сорных» видов грибов. К моменту пересадки различий по критерию роста между инокулированными и неинокулированными сеянцами отмечено не было. На плантациях инокуляция оказывала различное воздействие в зависимости от внесения Р и видовой принадлежности микобионта. Как показано на рисунке 17.1, через три года роста в полевых условиях у сеянцев *Eucalyptus europhylla*, инокулированных *Hebeloma westraliense*, произошло снижение объема древостоя сравнительно с контролем, в то время как при инокуляции *Laccaria lateritia* или *Pisolithus albus* показано его повышение, по крайней мере, при некотором уровне внесения Р удобрений. Отрицательное влияние *Hebeloma* выражалось в очень низкой выживаемости сеянцев, возможно, ввиду слабой жизнеспособности самого грибного симбионта после высадки. Было сделано заключение, что оптимальный рост на плантациях может быть получен при внесении удобрений в подходящих концентрациях в сочетании с инокуляцией эффективными видами ЭМ грибов.

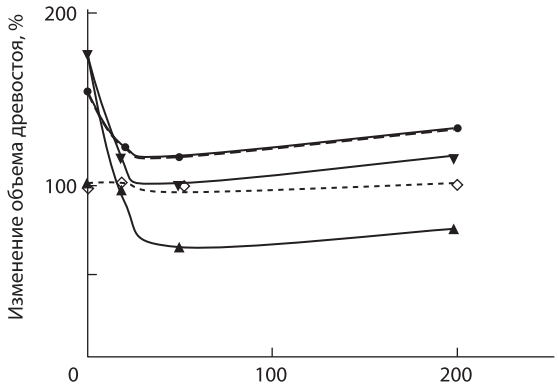


Рисунок 17.1. Влияние инокуляции тремя видами эктомикоризных грибов в питомнике на средний объем древостоя *Eucalyptus europhylla* в течение трех лет после пересадки. Данные приведены в виде процента объема древостоя относительно неинокулированного контроля при каждом уровне внесения P удобрений. ◊ — контроль, ▼ — *Pisolithus*, ● — *Laccaria*, ▲ — *Hebeloma*. Перерисовано из Xu et al., 2001.

Полученные результаты обращают внимание на необходимость тщательной оценки участка для посадки в отношении содержания питательных веществ и потребностей во внесении удобрений, а также тестирования грибных симбионтов для инокуляции на жизнеспособность и совместимость с определенными древесными породами и влияние на продукцию древесины (см. гл. 9 и 10).

К сожалению, весьма вероятно, что многие из грибных симбионтов, отобранных по критерию достижения оптимальной колонизации в условиях питомника, часто малоконкурентоспособны в полевых условиях, особенно, если на участках высадки содержатся природные популяции микоризных грибов. Была проведена предварительная инокуляция сеянцев *Pinus banksiana* видами *Laccaria bicolor*, *Pisolithus tinctorius* и *Rhizopogon rubescens* перед высадкой в безлесный участок, на участок после пожара и в природный сосняк (McAfee, Fortin, 1986). Через два месяца роста в сосняке колонизация *Laccaria laccata* и *P. tinctorius* значительно снизилась, а в случае *Rhizopogon rubescens* произошло умеренное снижение. Вид *P. tinctorius* демонстрировал способность колонизировать новые корни на безлесном участке, где отсутствовала конкуренция со стороны исходного микоризного сообщества. В таких условиях инокуляция данным видом гриба была наиболее успешной. Неспособность *L. bicolor* конкурировать с природными видами микоризных грибов согласуется с данными о том, что близкородственный вид *L. laccata* не сохранялся в корневой системе *Pseudotsuga menziesii* при конкуренции с нативными грибами при высадке на опытные участки в Вашингтоне (Bledsoe et al., 1982).

Для часто наблюдаемого отсутствия благотворного влияния инокуляции после высаживания растений в природные условия существует целый ряд возможных причин. Вероятно, одной из наиболее важных является неспособность внесенного инокулюма сохраняться на корнях растений после пересадки из питомника, как это было показано для *Hebeloma* в работе, описанной выше. Кроме того, что почвы, в которых растения содержались в питомниках, сильно отличаются от природных в большинстве мест высадки, можно ожидать, что выкапывание, хранение и перевозка сеянцев, особенно, с незащищенной корневой системой, снижают жизнеспособность тонких корней и их грибных симбионтов. Такие процедуры, скорее все-

го, благоприятствуют замене интродуцированных грибов исконными обитателями почвы в местах посадки. В этой связи стоит заметить, что наиболее явное положительное влияние инокуляции наблюдалось, когда растения пересаживали в нарушенные или лишенные деревьев местообитания, где, скорее всего, низок потенциал инокулюма аборигенных видов грибов. Здесь, в противоположность ситуации, часто складывающейся на опытных участках с уже сформированным растительным покрытием, ответные реакции на инокуляцию могут быть очень существенными (табл. 17.2), включая повышение жизнеспособности и увеличение биомассы (Marx, 1991). Они наиболее ярко выражены в почвах с загрязнением ионами металлов. Так, например, широко известна способность эктомикоризной древесной породы *Betula* спонтанно заселять отвалы шахт.

Таблица 17.2. Повышение жизнеспособности и увеличение объема сеянцев сосны через 2–4 года после образования эктомикориз с *Pisolithus tinctorius* сравнительно с естественно микоризованным контролем на опытных участках с неблагоприятными условиями.

Вид *Pinus*	Участок	Неблагоприятное воздействие	% повышения у сеянца	
			Жизнеспособность	Объем
P. resinosa	Отвалы угля	pH 3,0	214	60
P. echinata	Отвалы угля	pH 4,1	5	400
P. virginiana	Отвалы угля	pH 3,1	87	444
P. virginiana	Отвалы угля	pH 3,8	480	422
P. rigitaeda	Отвалы угля	pH 3,8	0	420
P. rigida	Отвалы угля	pH 3,4	57	215
P. rigida	Отвалы угля	pH 4,3	8	180
P. taeda	Отвалы угля	pH 3,3	20	415
P. taeda	Отвалы угля	pH 3,4	14	750
P. taeda	Отвалы угля	pH 4,1	41	400
P. taeda	Отвалы угля	pH 3,4	96	800
P. taeda	Отвалы угля	pH 4,3	16	380
P. taeda	Отвалы каолина	Низкая плодородность	0	1100
P. taeda	Отбеливающая глина	Низкая плодородность	0	47
P. taeda	Медный бассейн	Эрозия	0	45
P. virginiana	Медный бассейн	Эрозия	0	88
P. taeda	Котлован	Засуха	17	412

Из Marx, 1975; Marx et al., 1989.

Естественное образование эктомикориз в питомниках подразумевает, что для некоторых лесных сообществ колонизация необязательна или не стоит затрат. Кроме того, в некоторых районах мира допускают естественное восстановление лесов после сплошных рубок, иногда после нарушения почвенного покрова или снятия органических горизонтов. Большой интерес вызывает влияние таких мероприятий на состав и биоразнообразие сообществ ЭМ грибов и возможное воздействие на изме-

нения в развитии ЭМ и состояние возобновляющихся сеянцев. Они могут заключаться в смене типов инокулюма или их количественных отношений или быть сопряжены с изменениями почвенных условий (Jones et al., 2003). Был сделано заключение, что вторая группа изменений, как минимум, не менее важна, чем первая, и, следовательно, грибы, колонизирующие сеянцы, лучше приспособлены к перенесению изменений условий окружающей среды. Авторы, однако, подчеркнули, что данные о разнообразии в настоящее время основываются на таксономических и генетических критериях, и в будущем следует основывать исследования изменений сообщества и влияния на рост древесных пород на физиологических и экологических характеристиках.

Съедобные микоризные грибы

Хотя основной акцент в прикладном изучении эктомикориз делается на повышении продуктивности растений, появляется все больше данных о применении плодовых тел ЭМ грибов в пищевых и медицинских целях. Во многих странах грибы, в том числе, многие эктомикоризообразователи, собирают в природе и используют в пищу, а также как важный источник дохода (рис. 17.2А, Б; приложение 17.1). Интересно, что, в целом, возможностью использования съедобных грибов часто пренебрегают при разработке технологий, возможно, потому что сбор грибов обычно подразумевает только личное использование (Boa, 2004). В Мехико, по неофициальным данным, сотни тонн свежих грибов ежегодно продаются на рынках, в сельской местности, где грибы традиционно знают и используют, до 100% заработка семьи может составлять доход от продажи грибов в сезон сбора (Jesus Perez-Moreno, личное сообщение). Это контрастирует с большим интересом к разработке производства деликатесных ЭМ грибов, таких как трюфели (*Tuber* spp.) и матсутакэ (*Tricholoma matsutake*), а также видов, потенциально применимых в медицине (Hall, Wang, 1998; Boa, 2004). Сбор пользующихся спросом грибов в природе может значительно повысить доход сельских общин, например, 60% импортируемых в Италию плодовых тел белого гриба (*Boletus edulis*) поступает из Китая. Экспорт матсутакэ из Китая, Бутана, Кореи, а также США и Канады помогает удовлетворять высокий спрос на этот деликатес в Японии, где в лесах обилие данного вида гриба значительно снизилось из-за длительного сбора. Потенциальное практическое значение и спрос на плодовые тела ЭМ грибов велики, но существует серьезная угроза нарушения окружающей среды в результате сборов. Кроме того, в некоторых местах исчезновение естественных лесных массивов и замена их плантациями культур (таких, как интродуцированные эвкалипты, колонизированные несъедобными ЭМ грибами) сокращает традиционные грибные «урожаи» и затрудняет их сбор, влияя на благосостояние сборщиков (Boa, 2004).

Возможность коммерческого использования плодовых тел ЭМ грибов, в особенности, трюфелей, изучалась в целом ряде стран. До настоящего времени некоторое количество микоризных видов особенно ценится за хорошие вкусовые качества и, следовательно, обладает высокой стоимостью (табл. 17.3). В 2005 г. цена черных трюфелей (*Tuber melanosporum*) достигала 1100 фунтов стерлингов за килограмм. Съедобные грибы такого типа все еще преимущественно собирают в природных условиях, они составляют только малую долю (около 4%) от общемирового производства съедобных грибов (рис. 17.3), большинство которых представлено сапротрофами, относительно легко выращиваемыми при заданных условиях. Образование плодовых тел ЭМ грибов в природных сообществах явно снижается по причинам, связанным с деятельностью человека и факторов окружающей среды (Wang, Hall,

А Б В

Рисунок 17.2. Сбор съедобных грибов в Мехико. А — девочка, продающая на рынке белые грибы (*Boletus edulis*). Б и В — корзины с ЭМ грибами. Основные виды: *Gomphus flocculosus*, *Lactarius salmonicolor*, *Helvella crispa* и *Amanita aspera* var. *franchetii*. Фотографии любезно предоставлены Х. Перес-Морено. См. также приложение 17.1.

2004). Для повышения количества получаемых плодовых тел ЭМ грибов, спрос на которые в настоящее время превышает предложение, разработаны три подхода. Это расширение сбора в природе за счет нетрадиционных регионов (см. выше), попытки создать условия для увеличения или сохранения продукции в традиционных областях сбора и организация новых посадок древесных пород, специально для выращивания плодовых тел грибов, а не для производства древесины. Многочисленные коммерческие организации принимают участие в закладке плантаций древесных пород, предварительно колонизированных путем инокуляции подходящими видами грибов. Особый акцент был сделан на производстве трюфелей (*Tuber* spp.) ввиду их очень высокой ценности, и наиболее важного вида, *Tuber melanosporum* — черного трюфеля. Этот вид, также как и *T. uncinatum*, один из наиболее успешно культивируемых на коммерческой основе (Wang, Hall, 2004). Среди прочих можно упомянуть пустынные трюфели (сем. Terfeziaceae), *Lactarius deliciosus* и клубни микогетеротрофного представителя орхидных *Gastrodia elata* (гл. 13).

Технологии проращивания аскоспор *Tuber melanosporum* и асептического производства микориз у ряда видов *Tuber*, впервые появившиеся во Франции (Grente

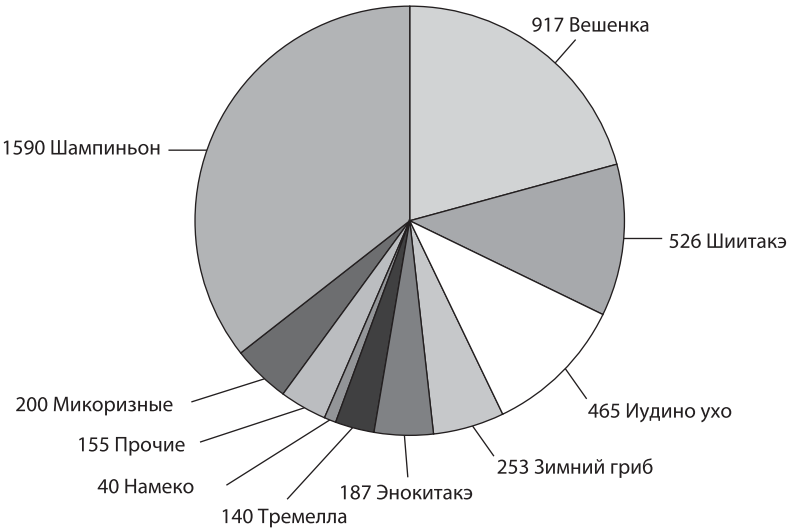


Рисунок 17.3. Доля микоризных видов в мировом производстве съедобных грибов, данные за 1991 г., в тыс.т. Из Hall et al., 1994, с разрешения.

et al., 1972; Chevalier, Desmas, 1975; Chevalier, Grente, 1978) и в Италии (Palenzona, 1969; Fontana, Bonfante-Fasolo, 1971), широко используются и остаются наиболее популярными (Wang, Hall, 2004). У вида *T. melanosporum* широкий круг растений-хозяев, и его возможно выращивать на карбонатных почвах с широколиственными породами *Corylus*, *Quercus*, *Carpinus* и *Castanea*, а также с хвойными (*Pinus*). Коммерческое производство колонизированных сеянцев, особенно *Quercus* и *Corylus*, в настоящее время налажено во многих странах в Северном и Южном полушариях. Только во Франции ежегодно выращивают около 160 000 растений, колонизированных *T. melanosporum*, и часть из них экспортируют в США (Hall et al., 1994).

Питомники трюфелей организуют обычно в смешанных посадках *Quercus* и *Corylus* на потенциально благоприятных для роста участках, часто в отдалении от любых других ЭМ сообществ для снижения конкуренции между аборигенными и интродуцированными грибными симбионтами. Возможная замена трюфелевых грибов «сорными» ЭМ симбионтами послужила причиной разработки молекулярных маркеров для прослеживания микоризации трюфелями и наблюдения этих видов и их конкурентов в корневой системе растений. В 1980-х гг. в США было организовано множество питомников *Tuber melanosporum*, и примерно через 8–10 лет началось образование плодовых тел. В Новой Зеландии производство трюфелей было начато несколько позднее с программы, включающей интродукцию и грибного и растительного симбионтов. Получение плодовых тел в этих питомниках также началось спустя 5 или более лет, и наиболее успешно оно проходило в более теплых районах к северу от Крайстчерча. Вторая попытка культивирования в Южном полушарии была осуществлена в Тасмании, где применяли те же подходы, что и при организации питомников в южной части континента, имеющих общую площадь свыше 90 га (Wang, Hall, 2004). Целью этих предприятий являлось получение прибыли от производства плодовых тел для продажи в Южном полушарии в сезоны, когда традиционный экспорт из Северного полушария прекращается. Коммерческое производство трюфелей расширяется в регионах с подходящими условиями,

Таблица 17.3. Стоимость некоторых ценных видов съедобных грибов.

Русское название	Латинское название	Форма для продажи	Цена за кг, фунты стерлингов	Цена за фунт, американские доллары
Черный трюфель	*Tuber melanosporum*	Свежий	425	900
Белый трюфель	*Tuber albidum*	Свежий	700	
	T. magnatum	Свежий	1700	
Летний трюфель	*T. aestivum*	Свежий	105	
Белый гриб	*Boletus edulis*	Высушенный кусочками	95	
Сморчок	*Morchella elata*	Высушенный измельченный	255	
Лисичка	*Cantharellus cibarius*		15	
Матсутакэ	*Tricholoma matsutake*	Высушенный		76

Источник: различные интернет-сайты, цены на август 2006 г.

есть данные о предприятиях в Израиле и нескольких азиатских странах, в том числе, на Тайване.

Некоторое время назад были предприняты попытки создания коммерческих систем для производства плодовых тел других ценных съедобных видов грибов, таких как *Boletus edulis*, *Cantharellus cibarius*, *Tricholoma matsutake* и *Tuber magnatum*. В стерильных лабораторных условиях сеянцы успешно колонизировались, но высадка на плантации успеха не принесла (Wang, Hall, 2004). Несмотря на прогресс науки и технологии, предоставивший возможности для крупномасштабного производства ряда съедобных ЭМ грибов, коммерческая рентабельность этих предприятий пока еще не вполне обеспечена. В большей степени ценность товара (особенно трюфелей) основывается на его ограниченной доступности, поэтому при достижении массового производства цены неизбежно упадут. Однако, сбор пригодных в пищу плодовых тел в посадках, особенно культур, используемых для получения древесины, может служить дополнительным источником дохода или питания, особенно, в развивающихся странах. Широкое распространение плантаций эвкалипта в Китае, организованных с использованием предварительной инокуляции съедобными грибами, также может быть существенно и в отношении получения дополнительных источников питания (B. Dell, N. Malajczuk, личное сообщение).

Помимо плодовых тел грибов в традиционной медицине Востока уже более 2000 лет применяют симбиотические микоризные клубни орхидных (Xu, Mu, 1990; Kim, Ko, 1995; Xu, Guo, 2000). Эта практика продолжается и в настоящее время, но возрастающий спрос угрожает численности природных популяций некоторых видов. С целью сохранения редких видов активно проводят исследования, направленные на разведение *Gastrodia elata*, орхидеи, микобионтом которой на ранних стадиях развития протокорма является гриб *Mycena osmundicola*, впоследствии сменяющийся *Armillaria mellea*. Последний вид снабжает растение органическим С, получаемым сапротрофным путем из крупномерного древесного валежа. Эта особенность легла в основу современных технологий производства (см. гл. 13).

Заключение

Известно, что биологическая активность в почве играет важнейшую роль в круговоротах питательных веществ и формировании и поддержании почвенной структуры, а также способствует сохранению нормального состояния почвы. Рациональное землепользование, как при высокотехнологичном, так и при натуральном хозяйстве, сводится к снижению разрушительного воздействия на почву, и методы эксплуатации направлены на сохранение и приумножение почвенных ресурсов. Микоризные грибы составляют только одну из функциональных групп организмов, играющих важную роль в почвенных сообществах. Однако создание ими непосредственных связей между корневыми системами растений и почвой подразумевает исполнение ключевых ролей во взаимодействиях почвы и растений, особенно, в поглощении питательных веществ и накоплении органического С. К культурным растениям это относится в той же степени, что и к дикорастущим видам ненарушенных природных сообществ, и сложность экспериментальной демонстрации «выгоды» микориз в полевых условиях в обоих случаях одинакова. Очевидно, что и в агроценозах и в природных сообществах микоризы влияют на поглощение питательных веществ, но получение культурными растениями преимуществ от инокуляции всегда будут зависеть от аборигенной микоризной микрофлоры и содержания питательных веществ в почве.

Были предприняты многочисленные попытки использования потенциальных преимуществ микоризных симбиозов в сельском хозяйстве, садоводстве или лесном хозяйстве при выращивании растений в коммерческих целях. Почти всегда отмечалось потенциально благотворное влияние микориз на продуктивность, за исключением небольшого количества пока еще остающихся не до конца понятными данных о подавлении роста в условиях агроценозов. Накапливается информация о том, что микоризные симбионты вносят вклад в поглощение питательных веществ культурными растениями всех типов, даже если непосредственно показать преимущества инокуляции в полевых условиях трудно. Успешно разработаны различные сорта микоризного инокулюма как АМ, так и ЭМ грибов. Прямая инокуляция АМ грибами в настоящее время ограничена небольшими производствами ценных культур или натуральными фермерскими хозяйствами. Эта картина может измениться, когда начнется производство инокулюма в форме, пригодной для более масштабного применения, содержащего симбионты, одновременно эффективные и долго сохраняющиеся в изменчивых условиях садового или огородного хозяйства. Для лесного хозяйства также имеются данные о слабом влиянии инокулированного вида симбионта, особенно для местообитаний с хорошо развитой аборигенной флорой ЭМ грибов. Получается, что естественный отбор, действовавший на протяжении существования многих поколений, привел к образованию стабильных популяций симбионтов, устойчивых к вторжению чужеродных организмов. Сообщества грибов могут быть изменены посредством агротехники и мероприятий лесного хозяйства, но, тем не менее, они адаптируются к тем условиям, в которых оказываются в результате этих воздействий. На самом деле, это может быть полезным свойством, так как в противном случае вносимые симбионты, искусственно отобранные на основании свойств улучшения состояния растений и интродуцируемые без всяких законодательных ограничений во многих районах мира, становились бы доминантами в природных сообществах. Последствия снижения биоразнообразия, вызванного такого рода вторжением, трудно оценить, но ясно, что до тех пор, пока не будет установлена роль обширного генного пула в искусственных сообществах, будет разумным сохранять и поддерживать все возможное разнообразие видов.

Таким образом, очень важно рассматривать микоризные симбиозы как значимые компоненты сложных почвенных сообществ. Эти системы следует поддерживать для достижения максимального повышения роли микориз в протекающих в почве процессах и в развитии растений. Исследования, направленные на выявление активности микоризных грибов в агроценозах ценны как для определения подходящих стратегий культивирования растений, так и для заложения основ, на которых впоследствии будут разработаны эффективные методы инокуляции. Еще остается обширное пространство для изучения и фундаментальных, и прикладных аспектов микоризных симбиозов. Исследования на уровне клетки, особи и сообщества расширят наши представления о роли микориз в современных экосистемах, как природных, так и созданных человеком. Необходимость получения достоверных данных о влиянии нарушения природных сообществ и изменений климата предполагает скорейший поиск подобной информации.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие .....
Введение .....
Раздел 1. Арбускулярные микоризы .....
Глава 1. Симбионты арбускулярных микориз .....
Глава 2. Колонизация корня и анатомия арбускулярных микориз .....
Глава 3. Генетические, цитологические и молекулярные взаимоотношения при формировании арбускулярных микориз .....
Глава 4. Рост и углеродный обмен между симбионтами арбускулярных микориз .....
Глава 5. Минеральное питание, накопление токсичных элементов и поглощение воды растениями, образующими арбускулярную микоризу .....
Раздел 2. Эктомикоризы .....
Глава 6. Строение и формирование эктомикоризных корневых окончаний .....
Глава 7. Эктэндомикоризы и арбутоидные микоризы .....
Глава 8. Рост и распределение органических соединений между симбионтами эктомикоризы .....
Глава 9. Мобилизация азота и азотное питание эктомикоризных растений .....
Глава 10. Поглощение фосфора, катионный обмен, накопление тяжелых металлов и водный обмен у эктомикоризных растений .....
Раздел 3. Эрикоидные, орхидные и микогетеротрофные микоризы .....
Глава 11. Эрикоидные микоризы .....
Глава 12. Микоризы зеленых орхидных .....
Глава 13. Микоризы бесхлорофилльных (микогетеротрофных) растений .....
Глава 14. Грибные симбиозы несосудистых и споровых растений .....
Раздел 4. Функционирование микоризных симбиозов в сообществах .....
Глава 15. Роль микоризных симбиозов в сукцессионных процессах и в отдельных биомах .....
Глава 16. Биотические связи микоризных симбиозов .....
Глава 17. Микоризы в сельском хозяйстве, садоводстве и лесоводстве .....
Литература .....
Предметный указатель .....
Цветное приложение расположено в конце книги .....

ЛИТЕРАТУРА

Abbott L.K. 1982. Comparative anatomy of vesicular-arbuscular mycorrhizas formed on subterranean clover // Australian Journal of Botany. Vol.30. P.485–499.

Abbott L.K., Robson A.D. 1978. Growth of subterranean clover in relation to the formation of endomycorrhizas by introduced and indigenous fungi in a field soil // New Phytologist. Vol.81. P.575–585.

Abbott L.K., Robson A.D. 1979. A quantitative study of the spores and anatomy of mycorrhizas formed by a species of *Glomus*, with reference to its taxonomy // Australian Journal of Botany. Vol.27. P.363–375.

Abbott L.K., Robson A.D. 1982. The role of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in agriculture and the selection of fungi for inoculation // Australian Journal of Agricultural Research. Vol.33. P.389–408.

Abbott L.K., Robson A.D. 1991. Field management of VA mycorrhizal fungi // D.L. Keister, P.B. Cregan (eds.). The Rhizosphere and Plant Growth. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. P.355–362.

Abbott L.K., Robson A.D., Parker C.A. 1979. Double symbiosis in legumes – the role of mycorrhizas // W.J. Broughton, Z.K. John, J.C. Bajarao, L. Beda (eds.). Soil Microbiology and Plant Nutrition. Kuala Lumpur: Penerbit University Malaya. P.176–181.

Abbott L.K., Robson A.D., De Boer G. 1984. The effect of phosphorus on the formation of hyphae in soil by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus fasciculatum* // New Phytologist. Vol. 97. P.437–446.

Abbott L.K., Robson A.D., Jasper D., Gazey C. 1992. What is the role of VA mycorrhizal hyphae in soil? // D.J. Read, D.H. Lewis, A.H. Fitter, I.J. Alexander (eds.). Mycorrhizas in Ecosystems. Wallington: CAB International. P.37–41.

Abe J.P. 2005. An arbuscular mycorrhizal genus in the Ericaceae // Inoculum. Vol.56. No.6.

Aber J.D., Nadelhoffer K.J., Steudler P., Melillo J.M. 1989. Nitrogen saturation in northern forest systems // Biological Science. Vol.39. P.378–386.

Abras K., Bilger I., Martin F., le Tacon F., Lapeyrie F. 1988. Morphological and physiological changes in ectomycorrhizas of spruce (*Picea excelsa* (Lam.) Link) associated with ageing // New Phytologist. Vol.110. P.535–540.

Abuarghub S.M., Read D.J. 1988a. The biology of mycorrhizas in the Ericaceae. XI. The distribution of nitrogen in the soil of a typical upland Callunetum with special reference to the ‘free’ amino acids // New Phytologist. Vol.108. P.425–431.

Abuarghub S.M., Read D.J. 1988b. The biology of mycorrhiza in the Ericaceae. XII. Quantitative analysis of individual ‘free’ amino acids in relation to time and depth in the soil profile // New Phytologist**.** Vol.108. P.433–441.

Abuzinadah R.A., Read D.J. 1986a. The role of proteins in the nitrogen nutrition of ectomycorrhizal plants. I. Utilization of peptides and proteins by ectomycorrhizal fungi // New Phytologist. Vol.103. P.481–493.

Abuzinadah R.A., Read D.J. 1986b. The role of proteins in the nitrogen nutrition of ectomycorrhizal plants. III. Protein utilisation by *Betula, Picea* and *Pinus* in mycorrhizal association with *Hebeloma crustuliniforme* // New Phytologist. Vol.103. P.507–514.

Abuzinadah R.A., Read D.J. 1988. Amino acids as nitrogen sources for ectomycorrhizal fungi: utilisation of individual amino acids // Transactions of the British Mycological Society. Vol.91. P.473–479.

Abuzinadah R.A., Read D.J. 1989a. Carbon transfer associated with assimilation of organic nitrogen sources by silver birch *Betula pendula* Roth. // Trees. Vol.3. P.17–23.

Abuzinadah R.A., Read D.J. 1989b. The role of proteins in the nitrogen nutrition of ectomycorrhizal plants IV. The utilization of peptides by birch *Betula pendula* L. infected with different mycorrhizal fungi // New Phytologist. Vol.112. P.55–60.

Abuzinadah R.A., Read D.J. 1989c. The role of proteins in the nitrogen nutrition of ectomycorrhizal plants. V. Nitrogen transfer in birch *Betula pendula* grown in association with mycorrhizal and non-mycorrhizal fungi // New Phytologist. Vol.112. P.61–68.

Abuzinadah R.A., Finlay R.D., Read D.J. 1986. The role of proteins in the nitrogen nutrition of ectomycorrhizal plants. II Utilisation of proteins by mycorrhizal plants of *Pinus contorta* // New Phytologist. Vol.103. P.495–506.

Addoms R.M., Mounce F.C. 1931. Notes on the nutrient requirements and histology of the cranberry *V. macrocarpon* with special reference to mycorrhiza // Plant Physiology. Vol.6. P.563–568.

Addy H.D., Schaffer G., Miller M.H., Peterson R.L. 1994. Survival of the external mycelium of a VAM fungus in frozen soil over winter // Mycorrhiza. Vol.5. P.1–5.

Addy H.D., Miller M.H., Peterson R.L. 1997. Infectivity of the propagules associated with extraradical mycelia of two AM fungi following winter freezing // New Phytologist. Vol.135. P.745–753.

Addy H.D., Boswell E.P., Koide R.T. 1998. Low temperature acclimation and freezing resistance of extraradical VA mycorrhizal hyphae. // Mycological Research. Vol.102. P.582–586.

Addy H.D., Piercey M.M., Currah R.S. 2005. Microfungal endophytes in roots // Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique. Vol.83. P.1–13.

Adriaensen K., Vrålstad T., Noben J.P., Vangronsveld J., Colpaert J.V. 2005. Copper-adapted *Suillus luteus*, a symbiotic solution for pines colonizing Cu mine spoils // Applied and Environmental Microbiology. Vol.71. No.11. P.7279–7284.

Aerts R. 1999. Interspecific competition in natural plant communities: mechanisms, trade-offs and plant-soil feedbacks // Journal of Experimental Botany. Vol.50. P.29–37.

Aerts R. 2002. The role of various types of mycorrhizal fungi in nutrient cycling and plant competition // Eds M.G.A. van der Heijden, I. Sanders (eds.). Mycorrhizal Ecology. Berlin: Springer. P.117–133.

Aerts R., Bobbink R. 1999. The impact of atmospheric nitrogen deposition on vegetation processes in terrestrial, non-forest ecosystems // S.J. Langan (ed.). The Impact of Nitrogen Deposition on Natural and Semi-natural Systems. Dordrecht: Kluwer. P.85–122.

Agerer R. 1986. Studies on ectomycorrhizae 3. Mycorrhizae formed by 4 fungi in the genera *Lactarius* and *Russula* on spruce // Mycotaxon**.** Vol.27. P.1–59.

Agerer R. 1987. Studies in ectomycorrhizae 5. Mycorrhizae formed by *Dermocybe cinnamomea* and *Dermocybe sanguinea* on spruce // Nova Hedwigia. Vol.44. P.68–89.

Agerer R. 1987–2002. Colour Atlas of Ectomycorrhizae. Schwäbisch Gmünd: Einhorn-Verlag. D-72525.

Agerer R. 1990. Studies on ectomycorrhizas. XXIV. Ectomycorrhizas of *Chroogomphus helveticus* and *C. rutilus* Gomphidiaceae, Basidiomycetes and their relationship to those of *Suillus* and *Rhizopogon* // Nova Hedwigia. Vol.50. P.1–63.

Agerer R. 1991a. Characterisation of ectomycorrhiza // Methods in Microbiology. Vol.23. P.25–73.

Agerer R. 1991b. Ectomycorrhizas of *Sarcodon imbricatus* on Norway spruce and their chlamydospores // Mycorrhiza. Vol.1. P.21–30.

Agerer R. 1991c. Comparison of the ontogeny of hyphal and rhizoid strands of *Pisolithus tinctorius* and *Polytrichium juniperinum* // Cryptogam Botany. Vol.2/3. P.85–92.

Agerer R. 1992. Ectomycorrhizal rhizomorphs: organs of contact // D.J. Read, D.H. Lewis, A.H. Fitter, I.J. Alexander (eds.). Mycorrhizas in Ecosystems. Wallingford: CAB International. P. 84–90.

Agerer R. 1995. Anatomical characteristics of identified ectomycorrhizas: an attempt towards a natural classification // A.K. Varma, B. Hock (eds.). Mycorrhiza Structure, Function, Molecular Biology and Biotechnology. Berlin: Springer Verlag. P.685–734.

Agerer R. 2001. Exploration types of ectomycorrhizae – A proposal to classify ectomycorrhizal mycelial systems according to their patterns of differentiation and putative ecological importance // Mycorrhiza. Vol.11. P.107–114.

Agerer R. 2006. Fungal relationships and structural identity of their ectomycorrhizae // Mycological Progress. Vol.5. P.67–107.

Ahlich K., Sieber T.N. 1996. The profusion of dark septate endophytic fungi in non-ectomycorrhizal fine roots of forest trees and shrubs // New Phytologist. Vol.132. P.259–270.

Ahmad I., Carleton T.J., Malloch D.W., Hellebust J.A. 1990. Nitrogen metabolism in the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* R. Mre. Orton // New Phytologist. Vol.116. P.431–441.

Ahonen-Jonnarth U., van Hees P.A.W., Lu S., Finlay R.D. 2000. Organic acids produced by mycorrhizal *Pinus sylvestris* exposed to elevated aluminium and heavy metal concentrations // New Phytologist. Vol.146. P.557–567.

Ahonen-Jonnarth U., Goransson A., Finlay R.D. 2003. Growth and nutrient uptake of ectomycorrhizal *Pinus sylvestris* seedlings in a natural substrate treated with elevated Al concentrations // Tree Physiology. Vol.23. P.157–167.

Aitchison P.A., Butt V.S. 1973. The relationship between synthesis of inorganic polyphosphate and phosphate uptake by *Chlorella vulgaris* // Journal of Experimental Botany. Vol.24. P.197–510.

Akiyama K., Matsuoka H., Hayashi H. 2002. Isolation and identification of a phosphate deficiency-induced *C*-glycosylflavonoid that stimulates arbuscular mycorrhiza formation in melon roots. // Molecular Plant-Microbe Interactions. Vol.15. P.334–340.

Akiyama K., Matsuzaki K., Hyashi H. 2005. Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi // Nature.Vol.435. P.824–827.

Albertson O., Kuyper T.W., Gorissen A. 2005. Taking mycocentrism seriously: mycorrhizal fungi and plant responses to elevated CO_2 // New Phytologist. Vol.167. P.859–868.

Albrecht C., Burgess T., Dell B., Lapeyrie F. 1994. Chitinase and peroxidase activities are induced in *Eucalyptus* roots according to aggressiveness of Australian ectomycorrhizal strains of *Pisolithus* sp. // New Phytologist. Vol.127. P.217–222.

Albrecht C., Guerts R., Lapeyrie F., Bisseling T. 1998. Endomycorrhizae and rhizobial Nod factors both require SYM8 to induce the expression of the early nodulin genes *PsENOD5* and *PsENOD12A* // The Plant Journal**.** Vol.15. P.605–614.

Alexander C., Alexander I.J. 1984. Seasonal changes in populations of the orchid *Goodyera repens* Br. and its mycorrhizal development // Transactions of the Botanical Society of Edinburgh. Vol.44. P.219–227.

Alexander C., Hadley G. 1984. The effect of mycorrhizal infection of *Goodyera repens* and its control by fungicide // *New Phytologist*. Vol.97. P.391–400.

Alexander C., Hadley G. 1985. Carbon movement between host and mycorrhizal endophyte during development of the orchid *Goodyera repens* Br. // New Phytologist. Vol.101. P.657–665.

Alexander C., Alexander I.J., Hadley G. 1984. Phosphate uptake by *Goodyera repens* in relation to mycorrhizal infection // New Phytologist. Vol.97. P.401–411.

Alexander I.J. 1981. *Picea sichensis* and *Lactarius rufus* mycorrhizal association and its effects on seedling growth and development // Transactions of the British Mycological Society**.** Vol.76. P.417–423.

Alexander I.J. 1983. The significance of ectomycorrhizas in the nitrogen cycle // J.A. Lee, S. McNeill, I.H. Rorison (eds.). Nitrogen as an Ecological Factor. Oxford: Blackwell. P.69–94.

Alexander I.J. 1988. Mycorrhizas of indigenous tropical forest trees: some research priorities // F.S.P. Ngi (ed.). Proceedings of the Asian Seminar. Kuala Lumpur: Forest Research Institute. P.79–89.

Alexander I.J. 1989a. Mycorrhizas in tropical forest // J. Proctor (ed.). Mineral Nutrients in Tropical Forest and Savannah Ecosystems. Oxford: Blackwell Scientific Publications. P.169–188.

Alexander I.J. 1989b. Systematics and ecology of ectomycorrhizal legumes // Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanic Garden. Vol.29. P.607–624.

Alexander I.J. 2006. Ectomycorrhizas – out of Africa? // New Phytologist. Vol.172**.** P.589–591.

Alexander I.J., Bigg W.L. 1981. Light microscopy of ectomycorrhizas using glycol methacrylate // Transactions of the British Mycological Society. Vol.77. P.425–429.

Alexander I.J., Fairley R.I. 1983. Effects of N fertilisation on populations of fine roots and mycorrhizas in spruce humus // Plant and Soil. Vol.74. P.49–53.

Alexander I.J., Hardy K. 1981. Surface phosphatase activity of Sitka spruce mycorrhizas from a serpentine site // Soil Biology and Biochemistry. Vol.13. P.301–305.

Alexander I.J., Högberg P. 1986. Ectomycorrhizas of tropical angiospermous trees // New Phytologist. Vol.102. P.541–549.

Alexander I.J., Lee S.S. 2005. Mycorrhizas and ecosystem processes in tropical rain forest: implications for diversity // D.F.R.P. Burslem, M.A. Pinard, S.E. Hartley (eds.). Biotic Interactions in the Tropics. Cambridge: Cambridge University Press. P.165–203.

Alexander I.J., Ahmad N., Lee S.S. 1992. The role of mycorrhizae in the regeneration of some Malaysian forest trees // Philosophical Transactions of the Royal Society B. Vol.335. P.379–388.

Alexander T., Meier R., Toth R., Weber H.C. 1988. Dynamics of arbuscule development and degeneration in mycorrhizas of *Triticum aestivum* L. and *Avena sativa* L. with reference to *Zea mays* L. // New Phytologist. Vol.110. P.363–370.

Alexander T., Toth R., Meier R., Weber H.C. 1989. Dynamics of arbuscule development and degeneration in onion, bean and tomato with reference to vesicular-arbuscular mycorrhizae with grasses // Canadian Journal of Botany. Vol.67. P.2505–2513.

Ali N.A., Jackson R.M. 1988. Effects of plant roots and their exudates on germination of spores of ectomycorrhizal fungi // Transactions of the British Mycological Society. Vol.91. P.253–260.

Allaway W.G., Ashford A.E. 1996. Structure of the hair roots in *Lysinema ciliatum* R. Br. and its implications for their water relations // Annals of Botany. Vol.77. P.383–388.

Allaway W.G., Ashford A. 2001. Motile tubular vacuoles in extramatrical mycelium and sheath hyphae of ectomycorrhizal systems // Protoplasma. Vol.215. P.218–225.

Allaway W.G., Carpenter J.L., Ashford A.E. 1985. Amplification of inter-symbiont surface by root epidermal transfer cells in the *Pisonia* mycorrhiza. // Protoplasma. Vol.128. P.227–231.

Allen E.B. 1984. VA mycorrhizae and colonising annuals: implications for growth, competition and succession // S.E. Williams, M.F. Allen (eds.). VA Mycorrhizae and Reclamation of Arid and Semiarid Lands. University of Wyoming Agricultural. Experiment Station, Science Report No.SA1261. Laramie: University of Wyoming. P.41–51.

Allen E.B., Allen M.F. 1984. Competition between plants of different successional stages: mycorrhizae as regulators // Canadian Journal of Botany. Vol.62. P.2625–2629.

Allen E.B., Allen M.F. 1988. Facilitation of succession by the nonmycotrophic coloniser *Salsola kali* Chenopodiaceae on a harsh site: effects of mycorrhizal fungi // American Journal of Botany. Vol.75. P.257–266.

Allen E.B., Allen M.F., Helm D.J., Trappe J.M., Molina R., Rincon E. 1995. Patterns and regulation of mycorrhizal plant and fungal diversity // Plant and Soil. Vol.170. P.47–62.

Allen M.F. 1982. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizae on water movement through *Bouteloua gracilis* H.B.K. Lag ex Steud. // New Phytologist. Vol.91. P.191–196.

Allen M.F. 1988. Re-establishment of VA mycorrhizae following severe disturbance: comparative patch dynamics of a shrub desert and a sub-alpine volcano // Proceedings of the Royal Society of Edinburgh. Vol.94B. P.63–71.

Allen M.F. 1989. Mycorrhizae and rehabilitation of disturbed arid soils: processes and practices // Arid Soil Research and Rehabilitation. Vol.3. P.229–241.

Allen M.F. 1991. The Ecology of Mycorrhizae. Cambridge: Cambridge University Press.

Allen M.F. 1992. Mycorrhizal Functioning. New York: Routledge: Chapman and Hall.

Allen M.F., McMahon J.A. 1988. Direct VA mycorrhizal inoculation of colonising plants by pocket gophers *Thomomys talpoides* on Mount St. Helens // Mycologia. Vol.80. P.754–756.

Allen M.F., Moore T.S., Christensen M. 1980. Phytohormone changes in *Bouteloua gracilis* infected by vesicular-arbuscular mycorrhizae. I. Cytokinin increases in the host plant // Canadian Journal of Botany. Vol.58. P.371–374.

Allen M.F., Smith W.K., Moore T.S., Christensen M. 1981. Comparative water relations and photosynthesis of mycorrhizal and non-mycorrhizal *Bouteloua gracilis* H.B.K. Lag ex Steud. // New Phytologist. Vol.88. P.683–693.

Allen M.F., Moore T.S., Christensen M. 1982. Phytohormone changes in *Bouteloua gracilis* infected by vesicular-arbuscular mycorrhizae. II. Altered levels of gibberellin-like substances and abscisic acid in the host plant // Canadian Journal of Botany. Vol.60. P.468–471.

Allen M.F., Allen E.B., Friese C.F. 1989. Responses of the non-mycotrophic plant *Salsola kali* to invasion by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi // New Phytologist. Vol.111. P.45–49.

Allen T.R., Millar T., Berch S.M., Berbee M.L. 2003. Culturing and direct DNA extraction find different fungi from the same ericoid mycorrhizal roots // New Phytologist. Vol.160. No.1. P.255–272.

Allsopp N., Stock W.D. 1992a. Mycorrhizas, seed size and seedling establishment in a low nutrient environment // D.J. Read, D.H. Lewis, A.H. Fitter, I.J. Alexander (eds.). Mycorrhizas in Ecosystems. Wallingford: CAB International. P.59–64.

Allsopp N., Stock W.D. 1992b. Density dependent interactions between VA mycorrhizal fungi and even-aged seedlings of two perennial Fabaceae species // Oecologia. Vol.91. P.281–287.

Alpert P., Warembourg F.R., Roy J. 1991. Transport of carbon among connected ramets of *Eichhornia crassipes* Pontederiaceae at normal and high levels of CO_2 // American Journal of Botany. Vol.78. P.1459–1466.

Alvarez M.R. 1968. Quantitative changes in nuclear DNA accompanying post-germination embryonic development in *Vanda* Orchidaceae // American Journal of Botany. Vol.55. P.1036–1041.

Amaranthus M.P., Perry D.A. 1989. Interaction effects of vegetation type and Pacific madrone soil inocula on survival, growth, and mycorrhiza formation of Douglas-fir // Canadian Journal of Forest Research. Vol.19. P.550–556.

Amaranthus M.P., Molina R., Perry D.A. 1990. Soil organisms, root growth and forest regeneration // Proceedings of the Society of the American Foresters. P.89–93.

Ames R.N., Reid C.P.P., Porter L., Cambardella C. 1983. Hyphal uptake and transport of nitrogen from two ^{15}N-labelled sources by *Glomus mosseae*, a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus // New Phytologist. Vol.95. P.381–396.

Amijee F., Stribley D.P. 1987. Soluble carbohydrates of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi // The Mycologist. Vol.1. P.20–21.

Amijee F., Tinker P.B., Stribley D.P. 1989. The development of endomycorrhizal root systems. VII. A detailed study of the effects of soil phosphorus on colonization // New Phytologist. Vol.111. P.435–446.

An Z-Q., Hendrix J.W., Hershman D.E., Henson G.T. 1990. Evaluation of the 'Most Probable Number' MPN and wet-sieving methods for determining soil-borne populations of endogonaceous mycorrhizal fungi // Mycologia. Vol.82. P.576–581.

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

Anderson I.C., Chambers S.M., Cairney J.W.G. 1999. Patterns of organic nitrogen utilisation by three Australian *Pisolithus* species. // Mycological Research. Vol.103. P.1579–1587.

Anderson I.C., Chambers S.M., Cairney J.W.G. 2001. ITS-RFLP and ITS sequence diversity in *Pisolithus* from central and eastern Australian sclerophyll forests // Mycological Research. Vol.105. P.1304–1312.

Andersson S., Ek H., Soderstrom B. 1997. Effects of liming on the uptake of organic and inorganic nitrogen by mycorrhizal (*Paxillus involutus*) and non-mycorrhizal *Pinus sylvestris* plants // New Phytologist. Vol.135. P.763–771.

Andrade S.A.L., Abreu C.A., Abreu M.F., Silveira A.P.D. 2003. Interaction between lead, soil base saturation rate, and mycorrhiza on soybean development and mineral nutrition // Revista Brasileira De Ciencia Do Solo. Vol.27. P.945–954.

Andrade S.A.L., Abreu C.A., de Abreu M.F., Silveira A.P.D. 2004. Influence of lead additions on arbuscular mycorrhiza and *Rhizobium* symbioses under soybean plants // Applied Soil Ecology. Vol.26. P.123–131.

Andrews D.J., Kassam A.H. 1976. The importance of multiple cropping in increasing world food supplies // M. Stelly (ed.). Multiple Cropping. Madison: American Society of Agronomy. P. 1–10.

Andrews J.A., Harrison K.G., Matamala R., Schlesinger W.H. 1999. Separation of root respiration from total soil respiration using carbon-13 labeling during Free-Air Carbon Dioxide Enrichment (FACE) // Soil Science Society of America Journal. Vol.63. No.5. P.1429–1435.

Ané J.M., Kiss G.B., Reily B.K. et al. 2004. *Medicago truncatula DMI1* required for bacterial and fungal symbioses in legumes // Science. Vol.303. P.1364–1367.

Antibus R.K., Kroehler C.J., Linkins A.E. 1986. The effects of external pH, temperature, and substrate concentration on acid phosphatase activity of ectomycorrhizal fungi // Canadian Journal of Botany. Vol.64. P.2383–2387.

Antibus R.K., Sinsabaugh R.L., Linkins A.E. 1992. Phosphatase activities and phosphorus uptake from inositol phosphate by ectomycorrhizal fungi // Canadian Journal of Botany. Vol.70. P.794–801.

Antoniolli Z.I. 1999. Arbuscular mycorrhizal community in a permanent pasture and development of species-specific primers for detection and quantification of two AM fungi. PhD thesis. Adelaide: The University of Adelaide.

Antoniolli Z., Schachtman D.P., Ophel-Keller K., Smith S.E. 2000. Variation in rDNA ITS sequences in *Glomus mosseae* and *Gigaspora margarita* spores from a permanent pasture // Mycological Research. Vol.104. P.708–715.

Aono T., Maldonado-Mendoza I.E., Dewbre G.R., Harrison M.J., Saito M. 2004. Expression of alkaline phosphatase genes in arbuscular mycorrhizas // New Phytologist. Vol.162. P.525–534.

Arditti J. 1979. Aspects of the physiology of orchids // Advances in Botanical Research. Vol.7. P.421–655.

Arditti J. 1992. Mycorrhiza // J. Arditti (ed.). Fundamentals of Orchid Biology. New York: John Wiley and Sons. P.419–451.

Arditti J., Ghani A.K.A. 2000. Numerical and physical properties of orchid seeds and their biological implications // New Phytologist. Vol.146. No.3. P.569–569.
Arines J., Palma J.M., Vilarino A. 1993. Comparison of protein patterns in non-mycorrhizal and vesicular-arbuscular mycorrhizal roots of red clover // New Phytologist. Vol.123. P.763–768.
Armstrong L., Peterson R.L. 2002. The interface between the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* and root cells of *Panax quinquefolius*: a *Paris*-type mycorrhizal association // Mycologia. Vol.94. P.587–595.
Arnebrant K. 1994. Nitrogen amendments reduce the growth of extramatrical ectomycorrhizal mycelium // Mycorrhiza. Vol.5. P.7–15.
Arnebrant K., Ek H., Finlay R.D., Söderström B. 1993. Nitrogen translocation between *Alnus glutinosa* L. Gaertn.seedlings inoculated with *Frankia* sp. and *Pinus contorta* Doug. ex Loud seedlings connected by a common ectomycorrhizal mycelium // New Phytologist. Vol.124. P.231–242.
Arnolds E. 1991. Decline of ectomycorrhizal fungi in Europe. // Agriculture Ecosystems and Environment. Vol.35. P.209–244.
Aroca R., Porcel R., Ruiz-Lozano J.M. 2007. How does arbuscular mycorrhizal symbiosis regulate root hydraulic properties and plasma membrane aquaporins in *Phaseolus vulgaris* under drought, cold or salinity stresses? // New Phytologist. Vol.173. P.808–816.
Arocena J.M., Glowa K.R. 2000. Mineral weathering in ectomycorrhizosphere of subalpine fir *Abies lasiocarpa* Hook. Nutt. as revealed by soil solution composition // Forest Ecology and Management. Vol.133. No.1–2. P.61–70.
Arocena J.M., Glowa K.R., Massicotte H.B., Lavkulich L. 1999. Chemical and mineral composition of ectomycorrhizosphere soils of subalpine fir (*Abies lasiocarpa* (Hook.) Nutt.) in the Ae horizon of a Luvisol // Canadian Journal of Soil Science. Vol.79. P.25–35.
Arocena J.M., Glowa K.R., Massicotte H.B. 2001. Calcium-rich hypha encrustations on *Piloderma* // Mycorrhiza. Vol.10. P.209–215.
Asai T. 1944 Über die Mykorrhizenbildung der leguminosen Pflanzen. // Japanese Journal of Botany. Vol.13. P.463–485.
Asghari H.R., Chittleborough D.J., Smith F.A., Smith S.E. 2005. Influence of arbuscular mycorrhizal AM symbiosis on phosphorus leaching through soil cores // Plant and Soil. Vol.275. P.181–193.
Ashford A.E. 1998. Dynamic pleiomorphic vacuole systems: are they endosomes and transport compartments in fungal hyphae? // Advances in Botanical Research. Vol.28. P.119–159.
Ashford A.E., Allaway W.G. 1982. A sheathing mycorrhiza on *Pisonia grandis* R.Br. Nyctaginaceae with development of transfer cells rather than a Hartig net // New Phytologist. Vol.90. P.511–519.
Ashford A.E., Allaway W.G. 2002. The role of the motile tubular vacuole system in mycorrhizal fungi // Plant and Soil. Vol.244. P.177–187.
Ashford A.E., Orlovich D.A. 1994. Vacuole transport, phosphorus, and endosomes in the growing tips of fungal hyphae // A.G. Stephenson, T.H. Kao (eds.). Pollen-Pistil Interactions and Pollen Tube Growth. Rockville: American Society of Plant Physiologists. P.135–149.
Ashford A.E., Ling-Lee M., Chilvers G. 1975. Polyphosphate in eucalypt mycorrhizas: a cytochemical demonstration // New Phytologist. Vol.74. P.447–453.
Ashford A.E., Peterson C.A., Carpenter J.L., Cairney J.W.G., Allaway W.G. 1988. Structure and permeability of the fungal sheath in the *Pisonia* mycorrhiza // Protoplasma. Vol.147. P.149–161.
Ashford A.E., Allaway W.G., Peterson C.A., Cairney J.W.G. 1989. Nutrient transfer and the fungus root interface // Australian Journal of Plant Physiology. Vol.16. P.85–97.
Ashford A.E., Ryde S., Barrow K.D. 1994. Demonstration of a short chain polyphosphate in *Pisolithus tinctorius* and the implications for phosphorus transport // New Phytologist. Vol.126. P.239–247.
Ashford A.E., Allaway W.G., Reed M.L. 1996. A novel role for thick-walled epidermal cells in the mycorrhizal hair roots of *Lysinema ciliatum* R.Br and other Epacridaceae // Annals of Botany. Vol.77. P.375–382.
Ashkannejhad S., Horton T.R. 2006. Ectomycorrhizal ecology under primary succession on coastal sand dunes: interactions involving *Pinus contorta*, suilloid fungi and deer // New Phytologist. Vol.169. P.345–354.
Ashton P.S. 1982. Dipterocarpaceae // C.G.G.J. van Steenis (ed.). Flora Malesiana Series 1, Spermatophyta. The Hague: Martinus-Nijhoff Publications. P.237–552.
Åström H., Giovannetti M., Raudaskoski M. 1994. Cytoskeletal components in the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* // Molecular Plant–Microbe Interactions. Vol.7. P.309–312.
Atkinson M.A. 1975. The fine structure of mycorrhizas. DPhil Thesis. Oxford.

Augé R.M. 2001. Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis // Mycorrhiza. Vol.11. P.3–42.
Augé R.M. 2004. Arbuscular mycorrhizae and soil/plant water relations // Canadian Journal of Soil Science. Vol.84. P.373–381.
Augé R.M., Sylvia D.M., Park S. et al. 2004. Partitioning mycorrhizal influence on water relations of *Phaseolus vulgaris* into soil and plant components // Canadian Journal of Botany. Vol.82. P.503–514.
Avis P.G., McLaughlin D.J., Dentinger B.C., Reich P.B. 2003. Long-term increase in nitrogen supply alters above- and belowground ectomycorrhizal communities and increases the dominance of *Russula* spp. in a temperate oak savanna // New Phytologist. Vol.160. P.239–253.
Avis P.G., Dickie I.A., Mueller G.M. 2006. A 'dirty' business: testing the limitations of terminal restriction fragment length polymorphism (TRFLP) analysis of soil fungi // Molecular Ecology. Vol.15. P.873–882.
Axelrod D.I. 1986. Cenozoic history of some western American pines // Annals of the Missouri Botanical Garden. Vol.73. P.565–641.
Ayling S.M., Smith S.E., Smith F.A. 2000. Transmembrane electric potential difference of germ tubes of arbuscular mycorrhizal fungi responds to external stimuli // New Phytologist. Vol.147. P.631–639.
Azcón R. 1987. Germination and hyphal growth of *Glomus mosseae in vitro*: effects of rhizosphere bacteria and cell-free culture media // Soil Biology and Biochemistry. Vol.19. P.417–419.
Azcón-Aguilar C., Diaz-Rodriguez R.M., Barea J.M. 1986a. Effect of free-living fungi on the germination of *G. mosseae* on soil extract // V. Gianinazzi-Pearson, S. Gianinazzi (eds.). Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae. Paris: INRA. P.515–519.
Azcón-Aguilar C., Diaz-Rodriguez R.M., Barea J.M. 1986b. Effect of soil microorganisms on spore germination and growth of the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* // Transactions of the British Mycological Society. Vol.86. P.337–340.
Azcón-Aguilar C., Barea J.M. 1992. Interactions between mycorrhizal fungi and other rhizosphere microorganisms // M.F. Allen (ed.). Mycorrhizal Functioning. London: Chapman and Hall. P.163–198.
Azcón-Aguilar C., Bago B., Barea J.M. 1999. Saprophytic growth of arbuscular mycorrhizal fungi // A. Varma, B. Hock (eds.). Mycorrhiza; Structure, Function, Molecular Biology and Biotechnology 2nd edn. Berlin: Springer. P.557–569.,
Azul M., Agerer R., Freitas H. 2006. *Quercirhiza dendrohyphidiomorpha* on *Quercus suber* // Descriptions of Ectomycorrhizae. Vol.9/10. P.87–91.
Baar J., Horton T.R., Kretzer A.M., Bruns T.D. 1999. Mycorrhizal colonization of *Pinus muricata* from resistant propagules after a stand-replacing wildfire // New Phytologist. Vol.143. P.409–418.
Baas R., Kuiper D. 1989. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection and phosphate on *Plantago major* ssp. *pleiosperma* in relation to internal cytokinin concentration // Physiologia Plantarum. Vol.76. P.211–215.
Bååth E., Söderström B. 1979. Fungal biomass and fungal immobilisation of plant nutrients in Swedish coniferous forest soils // Revue Ecologie Biologie des Sols. Vol.16. P.477–489.
Bago B., Azcón-Aguilar C. 1997. Changes in the rhizospheric pH induced by arbuscular mycorrhiza formation in onion *Allium Cepa* L. // Zeitschrift fur Pflanzenernahrung und Bodenkunde. Vol.160. P.333–339.
Bago B., Azcón-Aguilar C., Goulet A., Piché Y. 1998a. Branched adsorbing structures BAS: a feature of the extraradical mycelium of symbiotic arbuscular mycorrhizal fungi // New Phytologist. Vol.139. P.375–388.
Bago B., Azcón-Aguilar C., Piché Y. 1998b. Architecture and developmental dynamics of the external mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* grown under monoxenic conditions // Mycologia. Vol.90. P.52–62.
Bago B., Pfeffer P.E., Douds D.D.J., Brouillette J., Bécard G., Shachar-Hill Y. 1999a. Carbon metabolism in spores of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* as revealed by nuclear magnetic resonance spectroscopy // Plant Physiology. Vol.121. P.263–271.
Bago B., Zipfel W., Williams R.M., Piché Y. 1999b. Nuclei of symbiotic arbuscular mycorrhizal fungi as revealed by in vivo two-photon microscopy // Protoplasma. Vol.209. P.77–89.
Bago B., Pfeffer P.E., Shachar-Hill Y. 2000. Carbon metabolism and transport in arbuscular mycorrhizas // Plant Physiology. Vol.124. P.949–958.
Bago B., Pfeffer P.E., Zipfel W., Lammers P.J., Shachar-Hill Y. 2002a. Tracking metabolism and imaging transport in arbuscular mycorrhizal fungi // Plant and Soil. Vol.244. P.189–197.

Bago B., Zipfel W., Williams R.M. et al. 2002b. Translocation and utilization of fungal storage lipid in the arbuscular mycorrhizal symbiosis // Plant Physiology. Vol.128. P.108–124.
Bago B., Pfeffer P.E., Abubaker J. et al. 2003. Carbon export from arbuscular mycorrhizal roots involves the translocation of carbohydrate as well as lipid // Plant Physiology. Vol.131. P.1496–1507.
Bagyaraj D.J., Sreeramulu K.R. 1982. Preinoculation with VA mycorrhiza improves growth and yield of chilli transplanted in the field and saves phosphatic fertiliser // Plant and Soil. Vol.69. P.375–381.
Bagyaraj D.J., Manjunath A., Patil R.B. 1979.Occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhizas in some tropical aquatic plants // Transactions of the British Mycological Society. Vol.72. P.164–167.
Bain H.F. 1937. Production of synthetic mycorrhiza in the cultivated cranberry // Journal of Agricultural Research. Vol.55. P.811–835.
Bajwa R., Read D.J. 1985. The biology of mycorrhiza in the Ericaceae. IX. Peptides as nitrogen sources for the ericoid endophyte and for mycorrhizal and non-mycorrhizal plants // New Phytologist. Vol.101. P.459–467.
Bajwa R., Read D.J. 1986. Utilisation of mineral and amino N sources by the ericoid mycorrhizal endophyte *Hymenoscyphus ericae* and by mycorrhizal and non-mycorrhizal seedlings of *Vaccinium* // Transactions of the British Mycological Society. Vol.87. P.269–277.
Bajwa R., Abuarghub S., Read D.J. 1985. The biology of mycorrhiza in the Ericaceae. X. The utilization of proteins and the production of proteolytic enzymes by the mycorrhizal endophyte and by mycorrhizal plants // New Phytologist. Vol.101. P.469–486.
Bakhtiar Y., Miller D., Cavagnaro T.R., Smith S.E. 2001. Interactions between two arbuscular mycorrhizal fungi and fungivorous nematodes and control of the nematode with fenamifos // Applied Soil Ecology. Vol.17. P.107–117.
Bakken L.R., Olsen R.A. 1983. Buoyant densities and dry matter contents of microorganisms–conversion of a measured biovolume into biomass // Applied and Environmental Microbiology. Vol.45. P.1188–1195.
Balestrini R., Bonfante P. 2005. The interface compartment in arbuscular mycorrhizae: a special type of plant cell wall? // Plant Biosystems. Vol.139. P.8–15.
Balestrini R., Berta G., Bonfante P. 1992. The plant nucleus in mycorrhizal roots: positional and structural modifications // Biology of the Cell. Vol.75. P.235–243.
Baon J.B. 1994. Phosphorus uptake and growth of barley as affected by soil temperature and mycorrhizal infection // Journal of Plant Nutrition. Vol.17. P.2–3.
Baon J.B., Smith S.E., Alston A.M., Wheeler R.D. 1992. Phosphorus efficiency of three cereals as related to indigenous mycorrhizal infection // Australian Journal of Agricultural Research. Vol.43. P.479–491.
Baon J.B., Smith S.E., Alston A.M. 1993. Mycorrhizal responses of barley cultivars differing in P efficiency // Plant and Soil. Vol.157. P.97–105.
Barea J.M., Azcón-Aguilar C. 1983. Mycorrhizas and their significance in nodulating nitrogen-fixing plants. // Advances in Agronomy. Vol.36. P.1–54.
Barea J.M., Azcón R., Hayman D.S. 1975. Possible synergistic interactions between *Endogone* and phosphate solubilising bacteria in low phosphate soils // F.E. Sanders, B. Mosse, P.B. Tinker (eds.). Endomycorrhizas. London: Academic Press. P. 409–417.
Barea J.M., Azcón-Aguilar C., Azcón R. 1987. Vesicular-arbuscular mycorrhiza improve both symbiotic N_2 fixation and N uptake from soil as assessed with a ^{15}N technique under field conditions // New Phytologist. Vol.106. P.717–725.
Barea J.M., Azcón R., Azcón-Aguilar C. 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in nitrogenfixing systems // Methods in Microbiology. Vol.24. P.391–416.
Barker S.J., Stummer B., Gao L., Dispain I., O'Connor P.J., Smith S.E. 1998a. A mutant in *Lycopersicon esculentum* Mill. with highly reduced VA mycorrhizal colonization: isolation and preliminary characterisation // The Plant Journal. Vol.15. P.791–797.
Barker S.J., Tagu D., Delp G. 1998b. Regulation of root and fungal morphogenesis in mycorrhizal symbioses // Plant Physiology. Vol.116. P.1201–1207.
Barker S.J., Duplessis S., Tagu D. 2002. The application of genetic approaches for investigations of mycorrhizal symbioses // Plant and Soil. Vol.244. P.85–95.
Barker S.J., Edmonds-Tibbett T., Forsyth L. et al. 2005. Root infection of the reduced mycorrhizal colonization *rmc* mutant of tomato reveals genetic interaction between symbiosis and disease // Physiogical and Molecular Plant Pathology. Vol.67. P.277–283.

Barkman A., Sverdrup H. 1996. Critical Loads of Acidity and Nutrient Imbalance for Forest Ecosystems in Skene, Report 1. Department of Chemical Technology II. Lund: Lund University.
Barmicheva K.M. 1989. Ultrastructure of *Neottia nidus-avis* mycorrhizas // Agriculture, Ecosystems and Environment. Vol.29. P.23–27.
Barroso J., Pais M.S.S. 1885. Cytochimie-characterisation cytochimique de l'interface hote/endophyte des endomycorhizes d'*Ophrys lutea*. Role de l'hôte dans la synthese des polysaccharides // Annales des Sciences Naturelles. Botanique et Biologie Végétale. Vol.13. P.237–244.
Barrow J.R. 2003. Atypical morphology of dark septate fungal root endophytes of *Bouteloua* in arid southwestern USA rangelands // Mycorrhiza. Vol.13. P.239–247.
Barrow J.R., Aaltonen R.E. 2001. Evaluation of the internal colonization of *Atriplex canescens* (Pursh) Nutt. roots by dark septate fungi and the influence of host physiological activity // Mycorrhiza. Vol.11. P.199–205.
Barrow J.R., Osuna P. 2002. Phosphorus solubilization and uptake by dark septate fungi in fourwing saltbush, *Atriplex canescens* (Pursh) Nutt. // Journal of Arid Environments. Vol.51. P.449–459.
Barrow N.J., Malajczuk N., Shaw T.C. 1977. A direct test of the ability of vesicular-arbuscular mycorrhiza to help plants take up fixed soil phosphate // New Phytologist. Vol.78. P.269–276.
Bartholdy B.A., Berreck M., Haselwandter K. 2001. Hydroxamate siderophore synthesis by *Phialocephala fortinii*, a typical dark septate fungal root endophyte // Biometals. Vol.14. P.33–42.
Bartlett E.M., Lewis D.H. 1973. Surface phosphatase activity of mycorrhizal roots of beech // Soil Biology and Biochemistry. Vol.5. P.249–257.
Baylis G.T.S. 1959. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizas on growth of *Griselinia littoralis* Cornaceae // New Phytologist. Vol.58. P.274–280.
Baylis G.T.S. 1961. The significance of mycorrhizas and root nodules in New Zealand vegetation // Proceedings of the Royal Society of New Zealand. Vol.89. P.45–50.
Baylis G.T.S. 1962. Rhizophagus. The catholic symbiont // Australian Journal of Science. Vol.25. P.95–200.
Baylis G.T.S. 1967. Experiments on the ecological significance of phycomycetous mycorrhizas // New Phytologist. Vol.66. P. 231–243.
Baylis G.T.S. 1972. Fungi, phosphorus and the evolution of root systems // Search. Vol.3. P.257–258.
Bayman P., Lebron L.L., Tremblay R.L., Lodge D.J. 1997. Variation in endophytic fungi from roots and leaves of *Lepanthes* (Orchidaceae) // New Phytologist. Vol.135. P.143–149.
Beau C. 1920. Sur le role trophique des endophytes d'orchidées // Comptes Rendus de l'Academie des Sciences. Vol.171. P.675–677.
Bécard G., Fortin J.A. 1988. Early events of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation in Ri T-DNA transformed roots // New Phytologist. Vol.108. P.211–218.
Bécard G., Pfeffer P.E. 1993. Status of nuclear division in arbuscular mycorrhizal fungi during *in vitro* development // Protoplasma. Vol.174. P.62–68.
Bécard G., Piché Y. 1989a. Fungal growth stimulation by CO_2 and root exudates in vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis // Applied and Environmental Microbiology. Vol.55. P.2320–2325.
Bécard G., Piché Y. 1989b. New aspects on the aquisition of biotrophic status by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita* // New Phytologist. Vol.112. P.77–83.
Bécard G., Doner L.W., Rolin D.B., Douds D.D., Pfeffer P.E. 1991. Identification and quantification of trehalose in vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi by *in vivo* ^{13}C NMR and HPLC analyses // New Phytologist. Vol.118. P.547–552.
Bécard G., Douds D.D., Pfeffer P.E. 1992. Extensive *in vitro* hyphal growth of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in the presence of CO_2 and flavonols // Applied and Environmental Microbiology. Vol.58. P.821–825.
Bécard G., Taylor L.P., Douds D.D.J., Pfeffer P.E., Doner L.W. 1995. Flavonoids are not necessary plant signal compounds in arbuscular mycorrhizal symbioses // Molecular Plant–Microbe Interactions. Vol.8. P.252–258.
Bécard G., Kosuta S., Tamasloukht M., Séjalon-Delmas N., Roux C. 2004. Partner communication in the arbuscular mycorrhizal interaction // Canadian Journal of Botany. Vol.82. P.1186–1197.
Becker W.N., Gerdemann J.W. 1977. Colorimetric quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in onion // New Phytologist. Vol.78. P.289–295.
Beever R.E., Burns D.J.W. 1980. Phosphorus uptake, storage and utilisation by fungi // Advances in Botanical Research. Vol.8. P.128–219.

Beguiristain T.R., Lapeyrie F. 1997. Host plant stimulates hypaphorine accumulation in *Pisolithus tinctorius* hyphae during ectomycorrhizal infection while excreted fungal hypaphorine controls root hair development // New Phytologist. Vol.136. P.525–532.
Beguiristain T., Cote R., Rubini P., Jayallemand C., Lapeyrie F. 1995. Hypaphorine accumulation in hyphae of the ectomycorrhizal fungus, *Pisolithus tinctorius* // Phytochemistry. Vol.40. P.1089–1091.
Beilby J.P. 1980. Fatty acid and sterol composition of ungerminated spores of the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Acaulospora laevis* // Lipids. Vol.15. P.949–952.
Beilby J.P., Kidby D.K. 1980. Biochemistry of ungerminated and germinated spores of the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus caledonium*: changes in neutral and polar lipids // Journal of Lipid Research. Vol.21. P.739–750.
Bell T.L., Adams M.A. 2004. Ecophysiology of ectomycorrhizal fungi associated with *Pinus* spp. in low rainfall areas of Western Australia // Plant Ecology. Vol.171. No.1–2. P.35–52.
Bell T.L., Pate J.S. 1996. Nitrogen and phosphorus nutrition in mycorrhizal Epacridaceae of south-west Australia // Annals of Botany. Vol.77. P.389–397.
Bell T.L., Pate J.S., Dixon K.W. 1996. Relationships between fire response, morphology, root anatomy and starch distribution in south-west Australian Epacridaceae // Annals of Botany 77. P.357–364.
Bellion M., Courbot M., Jacob C., Blaudez D., Chalot M. 2006. Extracellular and cellular mechanisms sustaining metal tolerance in ectomycorrhizal fungi // FEMS Microbiology Letters. Vol.254. P.173–181.
Bending G.D., Read D.J. 1995a. The structure and function of the vegetative mycelium of ectomycorrhizal plants. V. The foraging behaviour of ectomycorrhizal mycelium and the translocation of nutrients from exploited organic matter // New Phytologist. Vol.130. P.401–409.
Bending G.D., Read D.J. 1995b. The structure and function of the vegetative mycelium of ectomycorrhizal plants VI. Activities of nutrient mobilising enzymes in birch litter colonised by *Paxillus involutus* Fr. Fr. // New Phytologist. Vol.130. P.411–417.
Bending G.D., Read D.J. 1996a. Effects of the soluble polyphenol tannic acid on the activities of ericoid and ectomycorrhizal fungi // Soil Biology and Biochemistry. Vol.28. P.1595–1602.
Bending G.D., Read D.J. 1996b. Nitrogen mobilization from protein-polyphenol complex by ericoid and ectomycorrhizal fungi // Soil Biology and Biochemistry. Vol.28. P.1603–1612.
Bending G.D., Read D.J. 1997. Lignin and soluble phenolic degradation by ectomycorrhizal and ericoid mycorrhizal fungi // Mycological Research. Vol.101. P.1348–1354.
Benedetto A., Magurno F., Bonfante P., Lanfranco L. 2005. Expression profiles of a phosphate transporter *GmosPT* from the endomycorrhizal fungaus *Glomus mosseae* // Mycorrhiza. Vol.15. P.620–627.
Benhamou N., Fortin J.A., Hamel C., St-Arnaud M., Shatilla A. 1994. Resistance responses of mycorrhizal Ri T-DNA-transformed carrot roots to infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysanthemi* // Phytopathology. Vol.84. P.958–968.
Benjdia M., Rikirsch E., Muller T. et al. 2006. Peptide uptake in the ectomycorrhizal fungus *Hebeloma cylindrosporum*: characterization of two di- and tripeptide transporters (HcPTR2A and B) // New Phytologist. Vol.170. P.401–410.
Bentivenga S.P., Hetrick B.A.D. 1992. Seasonal and temperature effects on mycorrhizal activity and dependence of cool-season and warm-season tallgrass prairie grasses // Canadian Journal of Botany. Vol.70. P.1596–1602.
Berbee M.L., Taylor J.W. 1993. Dating the evolutionary radiations of the true fungi // Canadian Journal of Botany. Vol.71. P.1114–1127.
Berbee M.L., Taylor J.W. 2001. Fungal molecular evolution; gene trees and geologic time // D.J. McLaughlin, E.G. McLaughlin, P.A. Lemke (eds.). The Mycota: a comprehensive treatise on fungi as experimental systems for basic and applied research in systematics and evolution. Part B. Berlin: Springer-Verlag. P.229–245.
Berch S.M., Allen T.R., Berbee M.L. 2002. Molecular detection, community structure and phylogeny of ericoid mycorrhizal fungi // Plant and Soil. Vol.244. P.55–66.
Berch S.M., Massicotte H.B., Tackaberry L.E. 2005. Re-publication of a translation of The vegetative organs of *Monotropa hypopitys* L. published by F Kamienski in 1882, with an update on *Monotropa* mycorrhizas // Mycorrhiza. Vol.15. P.323–332.
Bereau M., Gazel M., Garbaye J. 1997. Mycorhizal symbiosis in trees of the tropical rainforest of French Guiana // Canadian Journal of Botany. Vol.75. P.711–716.
Berendse F. 1994. Litter decomposability – a neglected component of plant fitness // Journal of Ecology. Vol.82. P.187–190.

Berg B., Staaf H. 1981. Leaching, accumulation and release of nitrogen in decomposing forest litter // F.E. Clark, T. Rosswall (eds.). Terrestrial Nitrogen Cycles // Ecological Bulletins. Vol.33. P.163–178.
Berg B., McClaugherty C.A. 1989. Nitrogen and phosphorus release from decomposing litter in relation to the disappearance of lignin // Canadian Journal of Botany. Vol.67. P.1148–1156.
Berg B., McClaugherty C. 2003. Plant litter – Decomposition, Humus Formation, Carbon Sequestration. Berlin: Springer.
Bergelson J.M., Crawley M.J. 1988. Mycorrhizal infection and plant species diversity // Nature. Vol.334. P.202.
Bergero R., Perotto S., Girlanda M., Vidano G., Luppi A.M. 2000. Ericoid mycorrhizal fungi are common root associates of a Mediterranean ectomycorrhizal plant (*Quercus ilex*) // Molecular Ecology. Vol.9. P.1639–1649.
Bermudes D., Benzing D.H. 1989. Fungi in neotropical epiphyte roots // Biosystems. Vol.23. P.65–73.
Bernard N. 1899. Sur la germination du *Neottia nidus-avis* // Comptes Rendus de l'Academie des Sciences. Vol.128. P.1253–1255.
Bernard N. 1901. Études sur la tuberisation // These presenté a la Faculté des Sciences Paris. 103 pp.
Bernard N. 1904a. Recherches experimentales sur les orchidées I-III. Methodes de culture; champignon endophyte; La germination des orchidées // Revue Générale de Botanique. Vol.16. P.405–451.
Bernard N. 1904b. Récherches experimentales sur les orchidées IV. Les semis horticoles // Revue Générale de Botanique. Vol.16. P.458–476.
Bernard N. 1904c. Le champignon endophyte des orchidés // Comptes Rendus de l'Academie des Sciences. Vol.138. P.828–830.
Bernard N. 1905. Nouvelles especes d'endophytes d'orchidées // Comptes Rendus de l'Academie des Sciences. Vol.140. P.1272–1273.
Bernard N. 1909a. L'evolution dans la symbiose. Les orchidées et leur champignons commenseux // Annales des Sciences Naturelles; Botanique. Vol.9. P.1–196.
Bernard N. 1909b. Remarques sur l'immunité chez les plantes // Bulletin de l'Institut Pasteur. Vol.7. P.369–386.
Bersoult A., Camut S., Perhald A., Kereszt A., Kiss G.B., Cullimore J.V. 2005. Expression of the *Medicago truncatula* DMI2 gene suggests roles of the symbiotic receptor kinase in nodules and during early nodule development // Molecular Plant-Microbe Interactions. Vol.18. P.869–876.
Berta G., Bonfante-Fasolo P. 1983. Apical meristems in mycorrhizal and uninfected roots of *Calluna vulgaris* L. Hull. // Plant and Soil. Vol.71. P.285–291.
Berta G., Gianinazzi-Pearson V., Gay G., Torri G. 198.8 Morphogenetic effects of endomycorrhiza formation on the root system of *Calluna vulgaris* L. Hull. // Symbiosis. Vol.5. P.33–44.
Berta G., Fusconi A., Trotta A., Scannerini S. 1990a. Morphogenetic modifications induced by the mycorrhizal fungus *Glomus* strain E3 in the root system of *Allium porrum* L. // New Phytologist. Vol.114. P.207–215.
Berta G., Sgorbati S., Soler V. et al. 1990b. Variations in chromatin structure in host nuclei of a vesicular arbuscular mycorrhiza // New Phytologist. Vol.114. P.199–205.
Berta G., Tagliasacchi A.M., Fusconi A., Gerlero D., Trotta A., Scannerini S. 1991. The mitotic cycle in root apical meristems of *Allium porrum* L. is controlled by the endomycorrhizal fungus *Glomus* sp. strain E3 // Protoplasma. Vol.161. P.12–16.
Berta G., Fusconi A., Trotta A. 1993. VA mycorrhizal infection and the morphology and function of root systems // Environmental and Experimental Botany. Vol.33. P.159–173.
Berta G., Trotta A. et al. 1995. Arbuscular mycorrhizal induced changes to plant growth and root system morphology in *Prunus cerasifera* // Tree Physiology. Vol.15. P.281–293.
Berta G., Fusconi A., Sampo S., Lingua G., Perticone S., Repetto O. 2000. Polyploidy in tomato roots as affected by arbuscular mycorrhizal colonization // Plant and Soil. Vol.226. P.37–44.
Besserer A., Puech-Pages V., Kiefer P. et al. 2006. Strigolactones stimulate arbuscular mycorrhizal fungi by activating mitochondria // PLoS Biology. Vol.4. P.1239–1247.
Bestel-Corre G., Dumas-Gaudot E., Gianinazzi S. 2004. Proteomics as a tool to monitor plantmicrobe endosymbioses in the rhizosphere // Mycorrhiza. Vol.14. P.1–10.
Bethlenfalvay G.J. 1992a. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in nitrogen-fixing legumes: problems and prospects // Methods in Microbiology. Vol.24. P.375–389.
Bethlenfalvay G.J. 1992b. Mycorrhizae and crop production // G.J. Bethlenfalvay, R.G. Linderman (eds.). Mycorrhizae in Sustainable Agriculture. ASA Special publication No. 54. P. 1–27.

Bethlenfalvay G.J., Linderman R.G. (eds.). 1992. Mycorrhizae in Sustainable Agriculture. ASA special publication No. 54. Madison.
Bethlenfalvay G.J., Newton W.E. 1991. Agro-ecological aspects of the mycorrhizal, nitrogenfixing legume symbiosis // Beltsville Symposia in Agricultural Research. Vol.14. P.349–354.
Bethlenfalvay G.J., Pacovsky R.S. 1983. Light effects in mycorrhizal soybeans // Plant Physiology. Vol.73. P.969–972.
Bethlenfalvay G.J., Pacovsky R.S., Brown M.S. 1982a. Parasitic and mutualistic asssociations between a mycorrhizal fungus and soybean: development of the endophyte // Phytopathology. Vol.72. P.894–897.
Bethlenfalvay G.J., Brown M.S., Pacovsky R.S. 1982b. Parasitic and mutualistic associations between a mycorrhizal fungus and soybean: development of the host plant // Phytopathology. Vol.72. P.889–893.
Bethlenfalvay G.J., Bayne H.C., Pacovsky R.S. 1983. Parasitic and mutualistic association between a mycorrhizal fungus and soybean // Physiologia Plantarum. Vol.57. P.543–549.
Bethlenfalvay G.J., Schreiner R.P., Mihara K.L. 1997. Mycorrhizal fungi effects on nutrient composition and yield of soybean seeds // Journal of Plant Nutrition. Vol.20. P.581–591.
Bevege D.I., Bowen G.D. 1975. Endogone strain and host plant differences in development of vesicular-arbuscular mycorrhizas // F.E. Sanders, B. Mosse, P.B. Tinker (eds.). Endomycorrhizas. London: Academic Press. P.77–86.
Bevege D.I., Bowen G.D., Skinner M.F. 1975. Comparative carbohydrate physiology of ecto- and endo-mycorrhizas. // F.E. Sanders, B. Mosse, P.B. Tinker (eds.). Endomycorrhizas. London: Academic Press. P.149–174.
Bever J.D. 1999. Dynamics within mutualism and the maintenance of diversity: inference from a model of interguild frequency dependence // Ecology Letters. Vol.2. P.52–62.
Bever J.D. 2002a. Host-specificity of AM fungal population growth rates can generate feedback on plant growth // Plant and Soil. Vol.244. P.281–290.
Bever J.D. 2002b. Negative feedback within a mutualism: host-specific growth of mycorrhizal fungi reduces plant benefit // Proceedings of the Royal Society of London, Series B, Biological Sciences. Vol.269. P.2595–2601.
Bever J.D. 2003. Soil community feedback and the coexistence of competitors: conceptual frameworks and empirical tests // New Phytologist. Vol.157. No.3. P.465–473.
Bever J.D., Morton J. 1999. Heritable variation and mechanisms of inheritance of spore shape within a population of *Scutellospora pellucida*, an arbuscular mycorrhizal fungus // American Journal of Botany. Vol.86. P.1209–1216.
Bever J.D., Morton J.B., Antonovics J., Schultz P.A. 1996. Host-dependent sporulation and species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in a mown grassland // Journal of Ecology. Vol.84. P.71–82.
Bever J.D., Westover K.M., Antonovics J. 1997. Incorporating the soil community into plant population dynamics: the utility of the feedback approach // Journal of Ecology. Vol.85. P.561–573.
Bever J.D., Schultz P.A., Pringle A., Morton J.B. 2001. Arbuscular mycorrhizal fungi: more diverse than meets the eye, and the ecological tale of why // Bioscience. Vol.51. P.923–931.
Bever J.D., Pringle A., Schultz P.A. 2002. Dynamics within the plant-arbuscular mycorrhizal fungal mutualism: testing the nature of community feedback // M.G.A. van der Heijden, I.R. Sanders (eds.). Mycorrhizal Ecology. Berlin: Springer Verlag. P.268–292.
Beyrle H., Penningsfeld F., Hock B. 1991. The role of nitrogen concentration in determining the outcome of the interaction between *Dactylorhiza incarnata* L. Soo and *Rhizoctonia* sp. // New Phytologist. Vol.117. P.665–672.
Beyrle H.F., Smith S.E., Peterson R.L., Franco C.M.M. 1995. Colonisation of *Orchis morio* protocorms by a mycorrhizal fungus: effects of nitrogen nutrition and glyphosate in modifying the responses // Canadian Journal of Botany. Vol.73. P.1128–1140.
Bhupinderpal S., Nordgren A., Lofvenius M.O., Högberg M.N., Mellander P.E., Högberg P. 2003. Tree root and soil heterotrophic respiration as revealed by girdling of boreal Scots pine forest: extending observations beyond the first year // Plant Cell and Environment. Vol.26. P.1287–1296.
Bianciotto V., Bonfante P. 1992. Quantification of the nuclear DNA content of two arbuscular mycorrhizal fungi // Mycological Research. Vol.96. P.1071–1076.
Bianciotto V., Bonfante P. 1993. Evidence of DNA replication in an arbuscular mycorrhizal fungus in the absence of the host plant // Protoplasma. Vol.176. P.100–105.

Bianciotto V., Barbiero G., Bonfante P. 1995. Analysis of the cell-cycle in an arbuscular mycorrhizal fungus by flow-cytometry and bromodeoxyuridine labeling // Protoplasma. Vol.188. P.161–169.
Bianciotto V., Bandi C., Minerdi D., Sironi M., Tichy H.V., Bonfante P. 1996. An obligately endosymbiotic mycorrhizal fungus itself harbors obligately intracellular bacteria // Applied and Environmental Microbiology. Vol.62. P.3005–3010.
Bianciotto V., Genre A., Jargeat P., Lumini E., Bécard G., Bonfante P. 2004. Vertical transmission of endobacteria in the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita* through generation of vegetative spores // Applied and Environmental Microbiology. Vol.70. P.3600–3608.
Bidartondo M.I. 2005. The evolutionary ecology of myco-heterotrophy // New Phytologist. Vol.167. No.2. P.335–352.
Bidartondo M.I., Bruns T.D. 2001. Extreme specificity in epiparasitic Monotropoideae Ericaceae: widespread phylogenetic and geographical structure // Molecular Ecology. Vol.10. No.9. P.2285–2295.
Bidartondo M.I., Bruns T.D. 2002. Fine-level mycorrhizal specificity in the Monotropoideae Ericaceae: specificity for fungal species groups // Molecular Ecology. Vol.11. No.3. P.557–569.
Bidartondo M.I., Bruns T.D. 2005. On the origins of extreme mycorrhizal specificity in the Monotropoideae (Ericaceae): performance trade-offs during seed germination and seedling development // Molecular Ecology. Vol.14. P.1549–1560.
Bidartondo M.I., Kretzer A.M., Pine E.M., Bruns T.D. 2000. High root concentration and uneven ectomycorrhizal diversity near *Sarcodes sanguinea* (Ericaceae): a cheater that stimulates its victims? // American Journal of Botany. Vol.87. P.1783–1788.
Bidartondo M.I., Redecker D., Hijri I. et al. 2002. Epiparasitic plants specialized on arbuscular mycorrhizal fungi. // Nature. Vol.419. P.389–392.
Bidartondo M.I., Bruns T.D., Weiss M., Sergio C., Read D.J. 2003. Specialized cheating of the ectomycorrhizal symbiosis by an epiparasitic liverwort // Proceedings of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences. Vol.270. P.835–842.
Bidartondo M.I., Burghardt B., Gebauer G., Bruns T.D., Read D.J. 2004. Changing partners in the dark: isotopic and molecular evidence of ectomycorrhizal liaisons between forest orchids and trees. // Proceedings of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences. Vol.271. P.1799–1806.
Biermann B., Linderman R.G. 1983. Use of vesicular-arbuscular mycorrhizal roots, intraradical vesicles and extraradical vesicles as inoculum // New Phytologist. Vol.95. P.97–105.
Bildusas I.J., Dixon R.K., Pfleger F.L., Stewart E.L. 1986. Growth, nutrition and gas exchange of *Bromus inermis* inoculated with *Glomus fasciculatum* // New Phytologist. Vol.102. P.303–311.
Binder M., Hibbett D.S. 2006. Molecular systematics and biological diversification in Boletales // Mycologia. Vol.98**.** P.917–925.
Birch C.P.D. 1986. Development of VA mycorrhizal infection in seedlings in semi-natural grassland turf // V. Gianinazzi-Pearson, S. Gianinazzi (eds.). Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae. Paris: INRA. P.233–237.
Bjørkman E. 1960. *Monotropa hypopitys* L. an epiparasite on tree roots // Physiologia Plantarum. Vol.13. P.308–327.
Bjørkman E. 1970. Mycorrhiza and tree nutrition in poor forest soils // Studia Forestalia Suecia. Vol.83. P.1–24.
Black R., Tinker P.B. 1979. The development of endomycorrhizal root systems II. Effect of agronomic factors and soil conditions on the development of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in barley and on the endophyte spore density // New Phytologist. Vol.83. P.401–413.
Blair D.A., Peterson R.L., Bowley S.R. 1988. Nuclear DNA content in the root cells of *Lotus* and *Trifolium* colonized by the VAM fungus, *Glomus versiforme* // New Phytologist. Vol.109. P.167–170.
Blakeman J.P., Mokahel M.A., Hadley G. 1976. The effect of mycorrhizal infection on respiration and activity of some oxidase enzymes of orchid protocorms // New Phytologist. Vol.77. P.697–704.
Blancaflor E.B., Zhao L.M., Harrison M.J. 2001. Microtubule organization in root cells of *Medicago truncatula* during development of an arbuscular mycorrhizal symbiosis with *Glomus versiforme* // Protoplasma. Vol.217. P.154–165.
Blaudez D., Chalot M., Dizengremel P., Botton B. 1998. Structure and function of the ectomycorrhizal association between *Paxillus involutus* and *Betula pendula* – II. Metabolic changes during mycorrhiza formation // New Phytologist. Vol.138. P.543–552.
Blaudez D., Jacob C., Turnau K. et al. 2000. Differential responses of ectomycorrhizal fungi toheavy metals *in vitro* // Mycological Research. Vol.104. P.1366–1371.

Blaudez D., Botton B., Dizengremel P., Chalot M. 2001. The fate of C-14 glutamate and C-14 malate in birch roots is strongly modified under inoculation with Paxillus involutus // Plant Cell and Environment. Vol.24. P.449–457.

Bledsoe C.S., Tennyson K., Lopushinsky W. 1982. Survival and growth of outplanted Douglas fir seedlings inoculated with mycorrhizal fungi // Canadian Journal of Forestry Research. Vol.12. P.720–723.

Bledsoe C., Klein P., Bliss L.C. 1990. A survey of mycorrhizal plants on Truelove Lowland, Devon Island, N.W.T. Canada // Canadian Journal of Botany. Vol.68. P.1848–1856.

Blee K.A., Anderson A.J. 1996. Defense-related transcript accumulation in *Phaseolus vulgaris* L. colonized by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* Schenck and Smith // Plant Physiology. Vol.110. P.675–688.

Blee K.A., Anderson A.J. 2002. Transcripts for genes encoding soluble acid invertase and sucrose synthase accumulate in root tip and cortical cells containing mycorrhizal arbuscules // Plant Molecular Biology. Vol.50. P.197–211.

Blilou I., Bueno P., Ocampo J.A., Garcia-Garrido J.M. 2000. Induction of catalase and ascorbate peroxidase activities in tobacco roots inoculated with the arbuscular mycorrhizal *Glomus mosseae* // Mycological Research. Vol.104. P.722–725.

Bloss H.E., Pfeiffer C.M. 1984. Latex content and biomass increase in mycorrhizal guayule *Parthenium argentatum* under field conditions // Annals of Applied Biology. Vol.104. P.175–183.

Boa E. 2004. Wild edible fungi: a global overview of their use and importance to people // FAO Corporate Document Depository: Non-wood Forest Products. Vol.17.

Boddington C.L., Dodd J.C. 2000. The effect of agricultural practices on the development of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi. I. Field studies in an Indonesian ultisol // Plant and Soil. Vol.218. P.137–144.

Bolan N.S. 1991. A critical review on the role of mycorrhizal fungi in the uptake of phosphorus by plants // Plant and Soil. Vol.34. P.189–207.

Bolan N.S., Robson A.D., Barrow N.J. 1983. Plant and soil factors including mycorrhizal infection causing sigmoidal response of plants to applied phosphorus // Plant and Soil. Vol.73. P.187–201.

Bolan N.S., Robson A.D., Barrow N.J. 1984. Increasing phosphorus supply can increase the infection of plant roots by vesicular arbuscular mycorrhizal fungi // Soil Biology and Biochemistry. Vol.16. P.419–420.

Bolan N.S., Robson A.D., Barrow N.J. 1987. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhiza on the availability of iron phosphates to plants // Plant and Soil. Vol.99. P.401–410.

Bomberg M., Jurgens G., Saano A., Sen R., Timonen S. 2003. Nested PCR detection of archaea indefined compartments of pine mycorrhizospheres developed in boreal forest humus microcosms // FEMS Microbiology Ecology. Vol.43. P.163–171.

Bonanomi A., Wiemken A., Boller T., Salzer P. 2001. Local induction of a mycorrhiza-specific class III chitinase gene in cortical root cells of *Medicago truncatula* containing developing or mature arbuscules // Plant Biology. Vol.3. P.194–199.

Bonello P., Bruns T.D., Gardes M. 1998. Genetic structure of a natural population of the ectomycorrhizal fungus *Suillus pungens* // New Phytologist. Vol.138. P.533–542.

Bonfante P., Bergero R., Uribe X., Romera C., Rigau J., Puigdomenech P. 1996. Transcriptional activation of a maize α-tubulin gene in mycorrhizal maize and transgenic tobacco plants // The Plant Journal. Vol.9. P.737–743.

Bonfante P., Genre A., Faccio A. et al. 2000. The *Lotus japonicus LjSym4* gene is required for the successful symbiotic infection of root epidermal cells // Molecular Plant-Microbe Interactions. Vol.13. P.1109–1120.

Bonfante-Fasolo P. 1980. Occurrence of a basidiomycete in living cells of mycorrhizal hair roots of *Calluna vulgaris* // Transactions of the British Mycological Society. Vol.75. P.320–325.

Bonfante-Fasolo P. 1988. The role of the cell wall as a signal in mycorrhizal associations // S. Scannerini (ed.). Cell to Cell Signals in Plant, Animal and Microbial Symbiosis. Berlin: Springer. P.219–235.

Bonfante-Fasolo P., Fontana A. 1985. VAM fungi in *Ginkgo biloba* roots: their interactions at cellular level // Symbiosis. Vol.1. P.53–67.

Bonfante-Fasolo P., Gianinazzi-Pearson V. 1979. Ultrastructural aspects of endomycorrhiza in the Ericaceae. I. Naturally infected hair roots of *Calluna vulgaris* L. Hull. // New Phytologist. Vol.83. P.739–744.

Bonfante-Fasolo P., Gianinazzi-Pearson V. 1982. Ultrastructural aspects of endomycorrhiza in the Ericaceae. III. Morphology of the dissociated symbionts and modifications occurring during their reassociation in axenic culture // New Phytologist. Vol.91. P.691–704.

Bonfante-Fasolo P., Grippiolo R. 1984. Cytochemical and biochemical observations on the cell wall of the spore of *Glomus epigaeum* // Protoplasma. Vol.123. P.140–151.
Bonfante-Fasolo P., Perotto S. 1992. Plants and endomycorrhizal fungi: the cellular and molecular basis of their interaction // D.P.S. Verma (ed.). Molecular Signals in Plant-Microbe Communications. Boca Raton: CRC Press. P.445–470.
Bonfante-Fasolo P., Gianinazzi-Pearson V., Martinengo L. 1984. Ultrastructural aspects of endomycorrhiza in the Ericaceae IV. Comparison of infection by *Pezizella ericae* in host and non-host plants // New Phytologist. Vol.98. P.329–333.
Bonfante-Fasolo P., Berta G., Fusconi A. 1987a. Distribution of nuclei in a VAM fungus during its symbiotic phase // Transactions of the British Mycological Society. Vol.88. P.263–266.
Bonfante-Fasolo P., Perotto S., Testa B., Faccio A. 1987b. Ultrastructural localisation of cell surface sugar residues in ericoid mycorrhizal fungi by gold-labelled lectins // Protoplasma. Vol.139. P.25–35.
Bonfante-Fasolo P., Peretto R., Perotto S. 1992. Cell surface interactions in endomycorrhizal symbiosis // J.A. Callow, J.R. Green (eds.). Perspectives in Plant Cell Recognition. Cambridge: Cambridge University Press. P.239–255.
Borchers S.L., Perry D.A. 1990. Growth and ectomycorrhiza formation of Douglas-fir seedlings grown in soils collected at different distances from pioneering hardwoods in southwest Oregon clear-cuts // Canadian Journal of Forest Research. Vol.20. P.717–721.
Botton B., Chalot M. 1995. Nitrogen assimilation: enzymology in ectomycorrhizas // Eds A Varma, B Hock. Mycorrhizas. Structure, Function, Molecular Biology and Biotechnology. Berlin: Springer-Verlag. P.325–363.
Bougher N.L., Grove T.S., Malajczuk N. 1990. Growth and phosphorus acquisition of karri *Eucalyptus diversicolor* F. Muell. seedlings inoculated with ectomycorrhizal fungi in relation to phosphorus supply // New Phytologist. Vol.114. P.77–85.
Bougoure D.S., Cairney J.W.G. 2005a. Assemblages of ericoid mycorrhizal and other rootassociated fungi from *Epacris pulchella* (Ericaceae) as determined by culturing and direct DNA extraction from roots // Environmental Microbiology. Vol.7. No.6. P.819–827.
Bougoure D.S., Cairney J.W.G. 2005b. Fungi associated with hair roots of *Rhododendron lochiae* (Ericaceae) in an Australian tropical cloud forest revealed by culturing and cultureindependent molecular methods // Environmental Microbiology. Vol.7. No.11. P.1743–1754.
Bougoure J.J., Bougoure D.S., Cairney J.W.G., Dearnaley J.D.W. 2005c. ITS-RFLP and sequence analysis of endophytes from *Acianthus*, *Caladenia* and *Pterostylis* (Orchidaceae) in southeastern Queensland // Mycological Research. Vol.109. P.452–460.
Bougoure J.J., Ludwig M., Brundett M., Grierson P.F. 2006. The fungal endophyte of the mycoheterotrophic *Rhizanthella gardneri* (Orchidaceae) // Proceedings of the 5th International Conference on Mycorrhizae, Granada, Spain.
Boullard B. 1951. Champignons endophytes de quelques Fougères indigènes et observations relatives á *Ophioglossum vulgatum* L. // Le Botaniste. Vol.35. P.257–281.
Boullard B. 1958. La mycotrophie chez les pteridophytes; sa frequence, ses charactères, sa signification // Botaniste. Vol.41. P.1–185.
Boullard B. 1988. Observations on the co-evolution of fungi with hepatics // K.A. Pirozynski, D.L. Hawksworth (eds.). Coevolution of Fungi with Plants and Animals. London: Academic Press. P.107–124.,
Bowen G.D. 1968. Phosphate uptake by mycorrhizas and uninfected roots of *Pinus radiata* in relation to root distribution // Proceedings of 9th International Congress of Soil Science. Vol.2. P.219–228.
Bowen G.D. 1973. Mineral nutrition of mycorrhizas // G.C. Marks, T.T. Kozolowski (eds.). Ectomycorrhizas. New York: Academic Press. P.151–201.
Bowen G.D. 1987. The biology and physiology of infection and its development // G.R. Safir (ed.). Ecophysiology of VA Mycorrhizal Plants. Boca Raton: CRC Press. P.27–70.
Bowen G.D., Smith S.E. 1981. The effects of mycorrhizas on nitrogen uptake by plants // Ecological Bulletins. Vol.33. P.237–247.
Bowen G.D., Theodorou C. 1967. Studies on phosphate uptake by mycorrhizas // 14th IUFRO Congress, Munich. Vol.5. P.116–138.
Bowen G.D., Theodorou C. 1979. Interactions between bacteria and ectomycorrhizal fungi // Soil Biology and Biochemistry. Vol.11. P.119–126.
Bowen G.D., Skinner M.F., Bevege D.I. 1974. Zinc uptake by mycorrhizal and uninfected roots of *Pinus radiata* and *Araucaria cunninghamii* // Soil Biology and Biochemistry. Vol.6. P.141–144.

Boyd R., Furbank R.T., Read D.J. 1986. Ectomycorrhiza and the water relations of trees. Physiological and genetical aspects of mycorrhizae // V. Gianinazzi-Pearson, S. Gianinazzi (eds.). Physiological and genetical aspects of mycorrhizae. Paris: INRA. P.689–693.

Boyle C.D., Robertson W.J., Salonius P.O. 1987. Use of mycelial slurries of ectomycorrhizal fungi as inoculum for commercial tree seedling nurseries // Canadian Journal of Forestry Research. Vol.17. P.1480–1486.

Bradbury S.M., Peterson R.L., Bowley S.R. 1991. Interactions between three alfalfa nodulation genotypes and two *Glomus* species // New Phytologist. Vol.119. P.115–120.

Bradbury S.M., Peterson R.L., Bowley S.R. 1993. Further evidence for a correlation between nodulation genotypes in alfalfa *Medicago sativa* L. and mycorrhiza formation // New Phytologist. Vol.124. P.665–673.

Bradley R., Burt A.J., Read D.J. 1981. Mycorrhizal infection and resistance to heavy metal toxicity in *Calluna vulgaris*. // Nature. Vol.292. P.335–337.

Bradley R., Burt A.J., Read D.J. 1982. The biology of mycorrhiza in the Ericaceae. VIII. The role of mycorrhizal infection in heavy metal resistance // New Phytologist. Vol.91. P.197–209.

Brand F. 1989. Studies on ectomycorrhizae XXI – Beech ectomycorrhizas and rhizomorphs of *Xerocomus chrysenteron* (Boletales) // Nova Hedwigia. Vol.48. P.469–483.

Brand F. 1991. Ektomykorrhizen an *Fagus sylvatica*. Charakterisierung und Identifizierung, ökologische Kennzeichnung und unsterile Kultivierung // Libri Botanici. Vol.2. Eching: IHW-Verlag.

Brand F., Agerer R. 1986. Studies on ectomycorrhizae VIII – Mycorrhizae formed by *Lactarius subdulcis*, *L. vellereus* and *Laccaria amethystina* on beech // Zeitschrift für Mykologie. Vol.52. P.287–320.

Brand F., Gronbach E., Taylor A.F.S. 1992. *Picerhiza bicolorata* // R Agerer (ed.). Colour Atlas of Ectomycorrhizae. Munich: Schwabisch Gmund.

Braunberger P.G., Miller M.H., Peterson R.L. 1991. Effect of phosphorus nutrition on morphological characteristics of vesicular-arbuscular mycorrhizal colonization of maize // New Phytologist. Vol.119. P.107–113.

Braunberger P.G., Abbott L.K., Robson A.D. 1994. The effect of rain in the dry-season on the formation of vesicular-arbuscular mycorrhizas in the growing season of annual cloverbased pastures // New Phytologist. Vol.127. P.107–114.

Brearley F., Press M.C., Scholes J.D. 2003. Nutrients obtained from leaf litter can improve the growth of dipterocarp seedlings // New Phytologist. Vol.160. P.101–110.

Brechenmacher L., Weidmann S., van Tuinen D. et al. 2004. Expression profiling of up-regulated plant and fungal genes in early and late stages of *Medicago truncatula-Glomus mosseae* interactions // Mycorrhiza. Vol.14. P.253–262.

Bret-Harte M.S., Shaver G.R., Zoerner J.P. et al. 2001. Developmental plasticity allows *Betula nana* to dominate tundra subjected to an altered environment // Ecology. Vol.82. P.18–32.

Breuninger M., Requena N. 2004. Recognition events in AM symbiosis: analysis of fungal gene expression at the early appressorium stage // Fungal Genetics and Biology. Vol.41. P.794–804.

Brook J.P. 1952. Mycorrhiza of *Pernettya macrostigma* // New Phytologist. Vol.51. P.388–397.

Brown M.S., Bethlenfalvay G.J. 1988. The Glycine, Glomus, Rhizobium symbiosis. VII. Photosynthetic nutrient use efficiency in nodulated, mycorrhizal soybeans // Plant Physiology. Vol.86. P.1292–1297.

Brown M.T., Wilkins D.A. 1985. Zinc tolerance of mycorrhizal *Betula* // New Phytologist. Vol.99. P.101–106.

Brownlee C., Duddridge J.A., Malibari A., Read D.J. 1983. The structure and function of mycelial systems of ectomycorrhizal roots with special reference to their role in assimilate and water transport // Plant and Soil. Vol.71. P.433–443.

Bruce A., Smith S.E., Tester M. 1994. The development of mycorrhizal infection in cucumber: effects of P supply on root growth, formation of entry points and growth of infection units // New Phytologist. Vol.127. P.507–514.

Brun A., Chalot M., Botton B., Martin F. 1992. Purification and characterisation of glutamine synthetase and NADP-glutamate dehydrogenase from the ectomycorrhizal fungus *Laccaria laccata* // Plant Physiology. Vol.99. P.938–944.

Brundrett M.C. 2002. Coevolution of roots and mycorrhizas of land plants // New Phytologist. Vol.154. P.275–304.

Brundrett M. 2004. Diversity and classification of mycorrhizal associations // Biological Reviews. Vol.79. P.473–495.

Brundrett M.C., Kendrick B. 1988. The mycorrhizal status, root anatomy and phenology of plants in a sugar maple forest // Canadian Journal of Botany. Vol.66. P.1153–1173.
Brundrett M.C., Kendrick B. 1990a. The roots and mycorrhizas of herbaceous woodland plants. I. Quantitative aspects of morphology // New Phytologist. Vol.114. P.457–468.
Brundrett M., Kendrick B. 1990b. The roots and mycorrhizas of herbaceous woodland plants. II. Structural aspects of morphology // New Phytologist. Vol.114. P.469–479.
Brundrett M.C., Piché Y., Peterson R.L. 1984. A new method for observing the morphology of vesicular-arbuscular mycorrhizae // Canadian Journal of Botany. Vol.62. P.2128–2134.
Brundrett M.C., Piché Y., Peterson R.L. 1985. A developmental study of the early stages in vesicular-arbuscular mycorrhiza development // Canadian Journal of Botany. Vol.63. P.184–194.
Brundrett M.C., Murase G., Kendrick B. 1990. Comparative anatomy of roots and mycorrhizae of common Ontario trees // Canadian Journal of Botany. Vol.68. P.551–578.
Brundrett M.C., Melville L., Peterson R.L. 1994. Practical Methods in Mycorrhizal Research. Waterloo: Mycologue Publications.
Brundrett M., Bougher N., Dell B., Grove T., Malajczuk N. 1996. Working with Mycorrhizas in Forestry and Agriculture. Canberra: Australian Centre for International Agricultural Research.
Bruns T.D. 1995. Thoughts on the processes that maintain local species-diversity of ectomycorrhizal fungi // Plant and Soil. Vol.170. P.63–73.
Bruns T.D., Gardes M. 1993. Molecular tools for the identification of ectomycorrhizal fungi –taxon-specific oligonucleotide probes for suilloid fungi // Molecular Ecology. Vol.2. P.233–242.
Bruns T.D., Read D.J. 2000. *In vitro* germination of nonphotosynthetic, myco-heterotrophic plants stimulated by fungi isolated from the adult plants // New Phytologist. Vol.148. P.335–342.
Bruns T.D., Shefferson R.P. 2004. Evolutionary studies of ectomycorrhizal fungi: recent advances and future directions // Canadian Journal of Botany. Vol.82. P.1122–1132.
Bruns T.D., Szaro T.M., Gardes M. et al. 1998. A sequence database for the identification of ectomycorrhizal basidiomycetes by phylogenetic analysis // Molecular Ecology. Vol.7. P.257–272.
Bruns T.D., Bidartondo M.I., Taylor D.L. 2002. Host specificity in ectomycorrhizal communities: what do the exceptions tell us? // Integrative and Comparative Biology. Vol.42. P.352–359.
Bryla D.R., Koide R.T. 1990. Regulation of reproduction in wild and cultivated *Lycopersicon esculentum* Mill. by vesicular-arbuscular mycorrhizal infection // Oecologia. Vol.84. P.74–81.
Bücking H., Heyser W. 1999. Elemental composition and function of polyphosphates in ectomycorrhizal fungi – an X-ray microanalytical study // Mycological Research. Vol.103. P.31–39.
Bücking H., Heyser W. 2000. Subcellular compartmentation of elements in non-mycorrhizal and mycorrhizal roots of *Pinus sylvestris*: an X-ray microanalytical study. I. The distribution of phosphate // New Phytologist. Vol.145. P.311–320.
Bücking H., Kuhn A.J., Schroder W.H., Heyser W. 2002. The fungal sheath of ectomycorrhizal pine roots: an apoplastic barrier for the entry of calcium, magnesium, and potassium into the root cortex? // Journal of Experimental Botany. Vol.53. P.1659–1669.
Bücking H., Shachar-Hill Y. 2005. Phosphate uptake, transport and transfer by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* is stimulated by increased carbohydrate availability // New Phytologist. Vol.165. P.899–912.
Buee M., Rossignol M., Jauneau A., Ranjeva R., Bécard G. 2000. The pre-symbiotic growth of arbuscular mycorrhizal fungi is induced by a branching factor partially purified from plant root exudates // Molecular Plant-Microbe Interactions. Vol.13. P.693–698.
Bultel G. 1926. Les orchidées germinées sans champignons ont des plantes normales // Revue Horticulturale. Vol.**98**. P.125.
Burgeff H. 1909. Die wurzelpiltze der orchideen. Jena: Gustav Fischer.
Burgeff H. 1911. Die ansucht tropischer orchideen aus samen. Jena: Gustav Fischer.
Burgeff H. 1932. Saprophytismus und Symbiose. Jena: Gustav Fischer.
Burgeff H. 1936. Samenkeimung der Orchideen. Jena: Gustav Fischer.
Burgeff H. 1959. Mycorrhiza of orchids // K. Withner (ed.). Orchids. New York: The Ronald Press Company. P.361–395.
Burgeff H. 1961. Mikrobiologie des Hochmores. Stuttgart: Gustav Fischer Verlag.
Burges A. 1939. The defensive mechanism in orchid mycorrhizas // New Phytologist. Vol.38. P.273–283.
Burgess T.I., Malajczuk N., Grove T.S. 1993. The ability of 16 ectomycorrhizal fungi to increase growth and phosphorus uptake of *Eucalyptus globulus* Labill. and *E. diversicolor* F. Muell. // Plant and Soil. Vol.153. P.155–164.

Burgess T., Dell B., Malajczuk N. 1994. Variation in mycorrhizal development and growth stimulation of 20 isolates of *Pisolithus* inoculated onto *Eucalyptus grandis* W. Hill ex Maiden // New Phytologist. Vol.127. P.731–739.

Burgess T., Laurent P., Dell B., Malajczuk N., Martin F. 1995. Effect of fungal-isolate aggressivity on the biosynthesis of symbiosis-related polypeptides in differentiating eucalypt ectomycorrhizas // Planta. Vol.195. P.408–417.

Burke R.M., Cairney J.W.G. 1997a. Carbohydrolase production by the ericoid mycorrhizal fungus *Hymenoscyphus ericae* under solid-state fermentation conditions // Mycological Research. Vol.101. P.1135–1139.

Burke R.M., Cairney J.W.G. 1997b. Purification and characterization of a β-1,4-endoxylanase from the ericoid mycorrhizal fungus *Hymenoscyphus ericae* // New Phytologist. Vol.139. P.637–645.

Burke R.M., Cairney J.W.G. 1998a. Carbohydrate oxidases in ericoid and ectomycorrhizal fungi: a possible source of Fenton radicals during the degradation of lignocellulose // New Phytologist. Vol.139. P.637–645.

Burke R.M., Cairney J.W.G. 1998b. Measuring production and activity of plant cell wall degrading enzymes in ectomycorrhizal fungi // A. Varma (ed.). Laboratory Manual for Mycorrhizal Research. Berlin: Springer-Verlag. P.173–185.

Burke R.M., Cairney J.W.G. 2002. Laccases and other polyphenol oxidases in ecto- and ericoid mycorrhizal fungi // Mycorrhiza. Vol.12. No.3. P.105–116.

Bürkert B., Robson A. 1994. ^{65}Zn uptake in subterranean clover *Trifolium subterraneum* L. by three vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in a root-free sandy soil // Soil Biology and Biochemistry. Vol.26. P.1117–1124.

Burleigh S.H., Harrison M.J. 1999. The down-regulation of *Mt4*-like genes by phosphate fertilization occurs systemically and involves phosphate translocation to the shoots // Plant Physiology. Vol.119. P.241–248.

Burleigh S.H., Cavagnaro T.R., Jakobsen I. 2002. Functional diversity of arbuscular mycorrhizas extends to the expression of plant genes involved in P nutrition // Journal of Experimental Botany. Vol.53. P.1593–1601.

Burleigh S.H., Kristensen B.K., Bechmann I.E. 2003. A plasma membrane zinc transporter from *Medicago truncatula* is up-regulated in roots by Zn fertilization, yet down-regulated by arbuscular mycorrhizal colonization // Plant Molecular Biology. Vol.52. P.1077–1088.

Burns R.G. 1986. Interaction of enzymes with soil mineral and organic colloids // Interactions of Soil Minerals with Natural Organics and Microbes. Soil Science Society of America Special Publication 17. P.429–451.

Burrows R.L., Pfleger F.L. 2002. Arbuscular mycorrhizal fungi respond to increasing plant diversity // Canadian Journal of Botany. Vol.80. P.120–130.

Burt A.J., Hashem A.R., Shaw G., Read D.J. 1986. Comparative analysis of metal tolerance in ericoid and ectomycorrhizal fungi // V. Gianinazzi-Pearson, S. Gianinazzi (eds.). Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae. Paris: INRA. P.683–687.

Busse M.D., Ellis J.R. 1985. Vesicular-arbuscular mycorrhizal *Glomus fasciculatum* influence on soybean drought tolerance in high phosphorus soil. // Canadian Journal of Botany. Vol.63. P.2290–2294.

Bütehorn B., Gianinazzi-Pearson V., Franken P. 1999. Quantification of β-tubulin RNA expression during asymbiotic and symbiotic development of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* // Mycological Research. Vol.103. P.360–364.

Butler E.J. 1939. The occurences and systematic position of the vesicular-arbuscular type of mycorrhizal fungi // Transactions of the British Mycological Society. Vol.22. P.274–301.

Butler G.M. 1958. The development and behaviour of mycelial strands in *Merulius lacrymans* (Wulf.) Fr. II. Hyphal behaviour during strand formation // Annals of Botany. Vol.22. P.219–236.

Buwalda J.G., Goh K.M. 1982. Host-fungus competition for carbon as a cause of growth depressions in vesicular-arbuscular mycorrhizal ryegrass // Soil Biology and Biochemistry. Vol.14. P.103–106.

Buwalda J.G., Stribley D.P., Tinker P.B. 1984. The development of endomycorrhizal root systems. V. The detailed pattern of development of infection and the control of infection level by host in young leek plants // New Phytologist. Vol.96. P.411–427.

Cairney J.W.G. 2002. *Pisolithus* – death of the pan-global super fungus // New Phytologist. Vol.153. No.2. P.199–201.

Cairney J.W.G., Alexander I.J. 1992. A study of spruce (*Picea sitchensis* (Bong.) Carr.) ectomycorrhizas. II. Carbohydrate allocation in ageing *Picea sitchensis*/*Tylospora fibrillosa* (Burt.) Donk ectomycorrhizas // New Phytologist. Vol.122. P.153–158.
Cairney J.W.G., Ashford A.E. 2002. Biology of mycorrhizal associations of epacrids Ericaceae // New Phytologist. Vol.154. P.305–326.
Cairney J.W.G., Burke R.M. 1998. Extracellular enzyme activities of the ericoid mycorrhizal endophyte *Hymenoscyphus ericae* Read Korf and Kernan: their likely roles in decomposition of moribund plant tissue in soil // Plant and Soil. Vol.205. P.181–192.
Cairney J.W.G., Burke R.M. 1994. Fungal enzymes degrading plant cell walls: their possible signifi cance in the ectomycorrhizal symbiosis // Mycological Research. Vol.98. P.1345–1356.
Cairney J.W.G., Meharg A.A. 1999. Influences of anthropogenic pollution on mycorrhizal fungal ommunities // Environmental Pollution. Vol.106. P.169–182.
Cairney J.W.G., Ashford A.E., Allaway W.G. 1989. Distribution of photosynthetically fixed carbon within root systems of *Eucalyptus pilularis* plants ectomycorrhizal with *Pisolithus tinctorius* // New Phytologist. Vol.112. P.495–500.
Cairney J.W.G., Jennings D.H., Agerer R. 1991. The nomenclature of fungal multihyphal linear aggregates // Cryptogamic Botany. Vol.2/3. P.246–251.
Cairney J.W.G., Rees B.J., Allaway W.G., Ashford A.E. 1994. A basidiomycete isolated from a *Pisonia* mycorrhiza forms sheathing mycorrhizas with transfer cells on *Pisonia grandis* // New Phytologist. Vol.126. P.91–98.
Cairney J.W.G., Sawyer N.A., Sharples J.M., Meharg A.A. 2000. Intraspecific variation in nitrogen source utilisation by isolates of the ericoid mycorrhizal fungus *Hymenoscyphus ericae* (Read) Korf and Kernan // Soil Biology and Biochemistry. Vol.32. P.1319–1322.
Cairney J.W.G., Van Leerdam D.M., Chen D.M. 2001. Metal insensitivity in ericoid mycorrhizal endophytes from *Woollsia pungens* (Epacridaceae) // Australian Journal of Botany. Vol.49. P.571–577.
Cairney J.W.G., Taylor A.F.S., Burke R.M. 2003. No evidence for lignin peroxidase genes in ectomycorrhizal fungi // New Phytologist. Vol.160. P.461–462.
Calantzis C., Morandi D., Arnould C., Gianinazzi-Pearson V. 2001. Cellular interactions between *G. mosseae* and a Myc-dmi2 mutant in *Medicago truncatula* // Symbiosis. Vol.30. P.97–108.
Caldwell B.A., Jumpponen A., Trappe J.M. 2000. Utilization of major detrital substrates by darkseptate, root endophytes // Mycologia. Vol.92. P.230–232.
Caldwell M.M., Richards J.H. 1989. Hydraulic lift – water efflux from upper roots improves effectiveness of water uptake by deep roots // Oecologia. Vol.79. No.1. P.1–5.
Caldwell M.M., Dawson T.E., Richards J.H. 1998. Hydraulic lift: Consequences of water efflux from the roots of plants // Oecologia. Vol.113. P.151–161.
Calleja M., Mousain D., Lecouvreur B., D'Auzac J. 1980. Influence de la carence phosphatée sur les activités phosphatases acides de trois champignons mycorhiziens: *Hebeloma edurum* Metrod, *Suillus granulatus* L. and Fr. O. Kuntze et *Pisolithus tinctorius* Pers. Coker and Couch // Physiologie Végetale. Vol.18. P.489–504.
Callow J.A., Capaccio L.C.M., Parish G., Tinker P.B. 1978. Detection and estimation of polyphosphate in vesicular-arbuscular mycorrhizas // New Phytologist. Vol.80. P.125–134.
Camel S.B., Reyes-Solis M.G., Ferrera-Cerrato R., Franson R.L., Brown M.S., Bethlenfalvay G.J. 1991. Growth of vesicular-arbuscular mycorrhizal mycelium through bulk soil // Soil Science Society of America Journal. Vol.55. P.389–393.
Cameron D.D., Leake J.R., Read D.J. 2006. Mutualistic mycorrhiza in orchids: evidence from the plant-fungus carbon and nitrogen transfers in the green-leaved terrestrial orchid *Goodyera repens* // New Phytologist. Vol.171. P.405–416.
Cameron D.D., Johnson I., Leake J.R., Read D.J. 2007. Mycorrhizal acquisition of inorganic phosphorus by the green-leaved terrestrial orchid *Goodyera repens* // Annals of Botany. Vol.99. P.831–834.
Campbell E.O. 1962. The mycorrhiza of *Gastrodia cunninghamii* // Transactions of the Royal Society of New Zealand, Botany. Vol.1. P.289–296.
Campbell E.O. 1971. Notes on the fungal associations to two *Monotropa* sp. in Michigan // Michigan Botany.Vol.10. P.63–67.
Canovas F.M., Dumas-Gaudot E., Recorbet G., Jorrin J., Mock H.P., Rossignol M. 2004. Plant proteome analysis // Proteomics. Vol.4. P.285–298.
Capaccio L.C.M., Callow J.A. 1982. The enzymes of polyphosphate metabolism in vesicular-arbuscular mycorrhizas // New Phytologist. Vol.91. P.81–91.

Carafa A., Duckett J.G., Ligrone R. 2003. Subterranean gametophytic axes in the primitive liverwort *Haplomitrium* harbour a unique type of endophytic association with aseptate fungi // New Phytologist. Vol.160. P.185–197.

Carey E.V., Marler M.J., Callaway R.M. 2004. Mycorrhizae transfer carbon from a native grass to an invasive weed: evidence from stable isotopes and physiology // Plant Ecology. Vol.172. P.133–141.

Carleton T.J., Read D.J. 1991. Ectomycorrhizas and nutrient transfer in conifer-feather moss ecosystems // Canadian Journal of Botany. Vol.69. P.778–785.

Carling D.E. 1996. Grouping in *Rhizoctonia solani* by hyphal anastomosis reaction // B. Sneh, S. Jabaji-Hari, S. Neate, G. Dijst (eds.). *Rhizoctonia* spp: taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and disease control. Dordrecht: Kluwer. P.37–47.

Carr G.R., Hinkley M.A., Le Tacon F., Hepper C.M., Jones M.G.K., Thomas E. 1985. Improved hyphal growth of two species of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in the presence of suspension cultured plant cells // New Phytologist. Vol.101. P.417–426.

Carrodus B.B. 1966. Absorption of nitrogen by mycorrhizal roots of beech. I. Factors affecting assimilation of nitrogen // New Phytologist. Vol.65. P.358–371.

Carrodus B.B. 1967. Absorption of nitrogen by mycorrhizal roots of beech. 2. Ammonium and nitrate as sources of nitrogen // New Phytologist. Vol.66. P.1–4.

Carvalho L.M., Correia P.M., Martins-Loucao M.A. 2004. Arbuscular mycorrhizal fungal propagules in a salt marsh // Mycorrhiza. Vol.14. P.165–170.

Casarin V., Plassard C., Hinsinger P., Arvieu J.C. 2004. Quantification of ectomycorrhizal fungal effects on the bioavailability and mobilization of soil P in the rhizosphere of *Pinus pinaster* // New Phytologist. Vol.163. P.177–185.

Casselton L.A., Kües U. 1994. Mating-type genes in homobasidiomycetes // *T*he Mycota I. Growth, Differentiation and Sexuality. J.G.H. Wessels, F. Meinhardt (eds.). Berlin: Springer-Verlag. P. 307–321.

Castellano M.A., Trappe J.M. 1985. Mycorrhizal associations of five species of Monotropoideae in Oregon // Mycologia. Vol.77. P.499–502.

Castellano M.A., Molina R. 1989. Mycorrhizae // T.D. Landis, R.W. Tinus, S.E. McDonald, J.P. Barnett (eds.). The Container Tree Nursery Manual. Agriculture Handbook 674. Washington: USDA Forest Service. P. 101–167.

Cavagnaro T.R., Gao L-L., Smith F.A., Smith S.E. 2001a. Morphology of arbuscular mycorrhizas is influenced by fungal identity // New Phytologist. Vol.151. P.469–475.

Cavagnaro T.R., Smith F.A., Kolesik P., Ayling S.M., Smith S.E. 2001b. Arbuscular mycorrhizas formed by *Asphodelus fistulosus* and *Glomus coronatum*: three-dimensional analysis of plant nuclear shift using laser scanning confocal microscopy // Symbiosis. Vol.30. P.109–121.

Cavagnaro T.R., Smith F.A., Lorimer M.F., Haskard K.A., Ayling S.M., Smith S.E. 2001c. Quantitative development of *Paris*-type arbuscular mycorrhizas formed between *Asphodelus fistulosus* and *Glomus coronatum* // New Phytologist. Vol.149. P.105–113.

Cavagnaro T.R., Smith F.A., Ayling S.M., Smith S.E. 2003. Growth and phosphorus nutrition of a *Paris*-type arbuscular mycorrhizal symbiosis // New Phytologist. Vol.157. P.127–134.

Cavagnaro T.R., Smith F.A., Hay G., Carne-Cavagnaro V.L., Smith S.E. 2004a. Inoculum type does not affect overall resistance of an arbuscular mycorrhiza-defective tomato mutant to colonisation but inoculation does change competitive interactions with wild-type tomato // New Phytologist. Vol.161. P.485–494.

Cavagnaro T.R., Smith F.A., Smith S.E. 2004b. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and a mycorrhiza-defective mutant tomato: does a non-infective fungus alter the ability of an infective fungus to colonise the roots – and vice versa? // New Phytologist. Vol.164. P.485–491.

Cavagnaro T.R., Smith F.A., Smith S.E., Jakobsen I. 2005. Functional diversity in arbuscular mycorrhizas: exploitation of soil patches with different phosphate enrichment differs among fungal species // Plant Cell and Environment. Vol.28. P.642–650.

Cavagnaro T.R., Jackson L.E., Six J. et al. 2006. Arbuscular mycorrhizas, microbial communities, nutrient availability, and soil aggregates in organic tomato production // Plant and Soil. Vol.282. P.209–225.

Cazares E., Trappe J.M., Jumpponen A. 2005. Mycorrhiza-plant colonization patterns on a subalpine glacier forefront as a model system of primary succession // Mycorrhiza. Vol.15. P.405–416.

Chabaud M., Venard C., Defaux-Petras A., Bécard G., Barker D.G. 2002. Targeted inoculation of *Medicago truncatula in vitro* root cultures reveals *MtENOD11* expression during early stages of infection by arbuscular mycorrhizal fungi // New Phytologist. Vol.156. P.265–273.

Chabot S., Bel-Rhlid R., Chкnevert R., Piché Y. 1992. Hyphal growth promotion *in vitro* of the VA mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita* Becker and Hall, by the activity of structurally specific flavonoid compounds under CO_2-enriched conditions // New Phytologist. Vol.122. P.461–467.

Chakravarty P., Unestam T. 1987a. Differential influence of ectomycorrhizae on plant growth and disease resistance of *Pinus sylvestris* seedlings // Journal of Phytopathology. Vol.120. P.104–120.

Chakravarty P., Unestam T. 1987b. Mycorrhizal fungi prevent disease in stressed pine seedlings // Journal of Phytopathology. Vol.118. P.335–340.

Chalot M., Brun A. 1998. Physiology of organic nitrogen acquisition by ectomycorrhizal fungi and ectomycorrhizas // FEMS Microbiology Reviews. Vol.22. No.1. P.21–44.

Chalot M., Brun A., Botton B. 1990. Occurrence and distribution of the fungal NADP-dependent glutamate dehydrogenase in spruce and beech ectomycorrhizas // D. Werner, P. Muller (eds.). Fast Growing Trees and Nitrogen Fixing Trees. Stuttgart: Gustav Fischer. P.324–327.

Chalot M., Brun A., Khalid A., Dell B., Rohr R., Botton B. 1991. Occurrence and distribution of aspartate aminotransferases in spruce and beech ectomycorrhizas // Canadian Journal of Botany. Vol.68. P.1756–1762.

Chalot M., Brun A., Finlay R.D., Söderström B. 1994a. Metabolism of [^{14}C]glutamate and [^{14}C] glutamine by the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus* // Microbiology. Vol.140. P.1641–1649.

Chalot M., Brun A., Finlay R.D., Söderström B. 1994b. Respiration of [^{14}C]alanine by the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus* // FEMS Microbiology Letters. Vol.121. P.87–92.

Chalot M., Kytövita M.M., Brun A., Finlay R.D., Söderström B. 1995. Factors affecting amino acid uptake by the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus* // Mycological Research. Vol.99. P.1131–1138.

Chalot M., Brun A., Botton B., Söderström B. 1996. Kinetics, energetics and specificity of a general amino acid transporter from the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus* // Microbiology-UK. Vol.142. P.1749–1756.

Chalot M., Javelle A., Blaudez D. et al. 2002. An update on nutrient transport processes in ectomycorrhizas // Plant and Soil. Vol.244. P.165–175.

Chalot M., Blaudez D., Brun A. 2006. Ammonia: a candidate for nitrogen transfer at the mycorrhizal interface // Trends in Plant Science. Vol.11. P.263–266.

Chambers S.M., Sharples J.M., Cairney J.W.G. 1998. Towards a molecular identification of the *Pisonia* mycobiont // Mycorrhiza. Vol.7. P.319–321.

Chambers S.M., Williams P.G., Seppelt R.D., Cairney J.W.G. 1999. Molecular identification of *Hymenoscyphus* sp. from rhizoids of the leafy liverwort *Cephaloziella exiliflora* in Australia and Antarctica // Mycological Research. Vol.103. P.286–288.

Chambers S.M., Liu G., Cairney J.W.G. 2000. ITS rDNA sequence comparison of ericoid mycorrhizal endophytes from *Woollsia pungens* // Mycological Research. Vol.104. P.168–174.

Chapin F.S. III, Moilanen L., Kielland K. 1993. Preferential use of organic nitrogen for growth by a nonmycorrhizal arctic sedge // Nature. Vol.63. P.150–153.

Charvet-Candela V., Hitchin S., Reddy M.S., Cournoyer B., Marmeisse R., Gay G. 2002a. Characterization of a *Pinus pinaster* cDNA encoding an auxin up-regulated putative peroxidase in roots // Tree Physiology. Vol.22. P.231–238.

Charvet-Candela V., Hitchin S., Ernst D., Sandermann H. Jr., Marmeisse R., Gay G. 2002b. Characterization of an Aux/AA cDNA upregulated in *Pinus pinaster* roots in response to colonization by the ectomycorrhizal fungus *Hebeloma cylindrosporum* // New Phytologist. Vol.154. P.769–777.

Chase M.W. 2001. The origin and biogeography of Orchidaceae // A.M. Pridgeon, P.J. Cribb, M.W. Chase, F. Rasmussen (eds.). Genera Orchidacearum Vol 2. Oxford: Oxford University Press. P.1–5.

Chase M.W. 2004. Monocot relationships: an overview // American Journal of Botany. Vol.91. No.10. P.1645–1655.

Chase M.W., Cameron K.M., Barrett R.L., Freudenstein J.V. 2003. DNA data and Orchidaceae systematics: a new phylogenetic classification // K.W. Dixon, S.P. Kell, R.L. Barrett, P.J. Cribb (eds.). Orchid Conservation. P.69–90. Kota Kinabalu: Natural History Publications.

Chase M.W., Fay M.F., Devey D.S. et al. 2006. Multi-gene analysis of monocot relationships // J.T. Columbus, E.A. Friar, C.W. Hamilton, J.M. Porter, L.M. Prince, M.G. Simpson (eds.). Monocots: Comparative Biology and Evolution. Claremont: Rancho Santa Ana Botanical Garden. P.63–75.

Chen A., Chambers S.M., Cairney J.W.G. 1999. Utilisation of organic nitrogen and phosphorus sources by mycorrhizal endophytes of *Woollsia pungens* Cav. F. Muell. Epacridaceae // Mycorrhiza. Vol.8. P.181–187.

Chen B.D., Roos P., Borggaard O.K., Zhu Y.G., Jakobsen I. 2005a. Mycorrhiza and root hairs in barley enhance acquisition of phosphorus and uranium from phosphate rock but mycorrhiza decreases root to shoot uranium transfer // New Phytologist. 165, 591–598.

Chen B.D., Zhu Y.G., Smith F.A. 2005b. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on uranium and arsenic accumulation by Chinese brake fern *Pteris vittata* L. from a uranium miningimpactedsoil // Chemosphere. Vol.62. P.1404–1473.

Chen D.M., Taylor A.F.S., Burke R.M., Cairney J.W.G. 2001. Identification of genes for lignin peroxidases and manganese peroxidases in ectomycorrhizal fungi // New Phytologist. Vol.152. P.151–158.

Chen X., Tang J.J., Fang Z.G., Shimizu K. 2004. Effects of weed communities with various species numbers on soil features in a subtropical orchard ecosystem // Agriculture Ecosystems and Environment. Vol.102. P.377–388.

Chen X-Y., Hampp R. 1993. Sugar uptake by protoplasts of the ectomycorrhizal fungus *Amanita muscaria* // New Phytologist. Vol.125. P. 601–608.

Chevalier G., Desmas C. 1975. Synthése axénique des mycorhizes de *Tuber melanosporum*, *T. uncinatum* et *T. rufum* sur *Pinus sylvestris* a partir de cultures pures du champignon // Annales de Phytopathologie. Vol.7. P.338.

Chevalier G., Grente J. 1978. Application pratique de la symbiose ectomycorrhizienne: production a grande echelle de plantes mycorhizes par la truffe *Tuber melanosporum* Vitt. // Mushroom Science. Vol.10. P.483–505.

Chilvers G.A. 1968a. Some distinctive types of eucalypt mycorrhiza // Australian Journal of Botany. Vol.26. P.49–70.

Chilvers G.A. 1968b. Low power electronmicroscopy of the root cap region of eucalypt mycorrhiza // New Phytologist. Vol.67. P.663–665.

Chilvers G.A., Gust L.W. 1982. The development of mycorrhizal populations on pot-grown seedlings of *Eucalyptus st-johnii* // New Phytologist. Vol.90. P.677–699.

Chilvers G.A., Harley J.L. 1980. Visualisation of phosphate accumulation in beech mycorrhizas // New Phytologist. Vol.84. P.319–326.

Chilvers G.A., Pryor L.D. 1965. The structure of eucalypt mycorrhizas // Australian Journal of Botany. Vol.13. P.245–259.

Chiou T-J., Liu H., Harrison M.J. 2001. The spatial expression patterns of a phosphate transporter MtPT1 from *Medicago truncatula* indicate a role in phosphate transport at the root/soil interface // The Plant Journal. Vol.25. P.281–293.

Christie P., Nicolson T.H. 1983. Are mycorrhizas absent from the Antarctic? // Transactions of the British Mycological Society. Vol.80. P.557–560.

Christie P., Li X.L., Chen B.D. 2004. Arbuscular mycorrhiza can depress translocation of zinc to shoots of host plants in soils moderately polluted with zinc // Plant and Soil. Vol.261. P.209–217.

Christoph H. 1921. Untersuchungen über die mycotrophen Verhältnisse der Ericales und die Keimung von Pyrolaceen // Beihefte Botanisches Centralblatt. Bd.38. S.115–117.

Chu-Chou M., Guo B., An Z-Q. et al. 1992. Suppression of mycorrhizal fungi in fescue by the *Acremonium coenophialum* endophyte // Soil Biology and Biochemistry. Vol.24**.** No**.**7. P.633–637.

Chuyong G.B., Newbery D.M., Songwe N.C. 2002. Litter breakdown and mineralization in a central African rain forest dominated by ectomycorrhizal trees // Biogeochemistry. Vol.61. P.73–94.

Citterio S., Santagostino A., Fumagalli P., Prato N., Ranalli P., Sgorbati S. 2003. Heavy metal tolerance and accumulation of Cd, Cr and Ni by *Cannabis sativa* L. // Plant and Soil. Vol.256. P.243–252.

Claassen N., Barber S.A. 1976. Simulation model for nutrient uptake from soil by a growing plant root system // Agronomy Journal. Vol.68. P.961–964.

Clapp J.P., Young J.P.W., Merryweather J., Fitter A.H. 1995. Diversity of fungal symbionts in arbuscular mycorrhizas from a natural communitiy // New Phytologist. Vol.130. P.259–265.

Clapp J.P., Helgason T., Daniell T., Young J.P.W. 2002. Genetic studies of the structure and diversity of arbuscular mycorrhizal fungal communities // M.G.A. van der Heijden, I.R. Sanders (eds.). Mycorrhizal Ecology. Berlin: Springer-Verlag. P.202–224.

Clarkson D.T. 1985. Factors affecting mineral nutrient acquisition by plants // Annual Review of Plant Physiology. Vol.36. P.77–115.

Clay K., Schardl C.L. 2002. Evolutionary origins and ecological consequences of endophyte symbiosis with grasses // American Naturalist. Vol.160. P.99–127.

Clayton J.S., Bagyaraj D.J. 1984. Vesicular-arbuscular mycorrhizas in submerged aquatic plants in New Zealand // Aquatic Botany. Vol.19. P.251–262.
Clements F.E. 1916. Plant succession: an analysis of the development of vegetation // Carnegie Institute of Washington Publication. No. 242. P.1–512.
Clements M.A. 1981. The germination of Australian orchid seed // Proceedings of the Orchid Symposium. 13th International Botanical Congress Sydney. Orchid Society of New South Wales. P.5–8.
Clements M.A. 1982a. Australian native orchids epiphytic and terrestrial // J. Arditti (ed.). Orchid Biology: Reviews and Perspectives II. New York: Cornell University Press. P.295–303.
Clements M.A. 1982b. Development in the symbiotic germination of Australian terrestrial orchids // J. Stewart, C.N. van der Merwe (eds.). Proceedings of the 10th World Orchid Conference.
Clements M.A. 1988. Orchid mycorrhizal associations // Lindleyana. Vol.3. P.73–86.
Clemmensen K.E., Michelsen A., Jonasson S., Shaver G.R. 2006. Increased ectomycorrhizal fungal abundance after long-term fertilization and warming of two arctic tundra ecosystems // New Phytologist. Vol.171. P.391–404.
Clough K.S., Sutton J.C. 1976. Direct observation of fungal aggregates in sand-dune soil // Canadian Journal of Microbiology. Vol.24. P.326–333.
Clowes F.A.L. 1951. The structure of mycorrhizal roots of *Fagus sylvatica* // New Phytologist. Vol.53. P.525–529.
Codignola A., Verotta L., Spanu P., Maffei M., Scannerini S., Bonfante-Fasolo P. 1989. Cell wall bound phenols in roots of vesicular-arbuscular mycorrhizal plants // New Phytologist. Vol.112. P.221–228.
Coleman M.D., Bledsoe C.S., Lopushinsky W. 1989. Pure culture response of ectomycorrhizal fungi to imposed water stress // Canadian Journal of Botany. Vol.67. P.29–39.
Colpaert J.V., van Assche J.A. 1987. Heavy metal tolerance in some ectomycorrhizal fungi // Functional Ecology. Vol.1. P.415–421.
Colpaert J.V., van Assche J.A. 1992. Zinc toxicity in ectomycorrhizal *Pinus sylvestris* // Plant and Soil. Vol.143. P.201–211.
Colpaert J.V., van Assche J.A. 1993. The effects of cadmium on ectomycorrhizal *Pinus sylvestris* L. // New Phytologist. Vol.123. P.325–333.
Colpaert J.V., van Laere A. 1996. A comparison of the extracellular enzyme activities of two ectomycorrhizal and a leaf-saprotrophic basidiomycete colonizing beech leaf litter // New Phytologist. Vol.134. P.133–141.
Colpaert J.V., van Tichelen K.K. 1996. Decomposition, nitrogen and phosphorus mineralization from beech leaf litter colonized by ectomycorrhizal or litter-decomposing basidiomycetes // New Phytologist. Vol.134. P.123–132.
Colpaert J.V., van Laere A., van Tichelen K.K., van Assche J.A. 1997. The use of inositol hexaphosphate as a phosphorus source by mycorrhizal and non-mycorrhizal Scots Pine (*Pinus sylvestris*) // Functional Ecology. Vol.11. P.407–415.
Colpaert J.V., van Tichelen K.K., van Assche J.A., van Laere A. 1999. Short-term phosphorus uptake rates in mycorrhizal and non-mycorrhizal roots of intact *Pinus sylvestris* seedlings // New Phytologist. Vol.143. P.589–597.
Colpaert J.V., Vandenkoornhuyse P., Adriaensen K., Van Gronsveld J. 2000. Genetic variation and heavy metal tolerance in the ectomycorrhizal basidiomycete *Suillus luteus* // New Phytologist. Vol.147. P.367–379.
Comerford N.B. 1998. Soil phosphorus bioavailabiilty // J.P. Lynch, J. Deikman (eds.). Phosphorus in Plant Biology. Rockville: American Society of Plant Physiologists. P.136–147.
Conjeaud C., Scheromm P., Mousain D. 1996. Effects of phosphorus fertilisation and ectomycorrhizal infection on the carbon balance in maritime pine seedlings *Pinus pinaster* Soland. in Ait // New Phytologist. Vol.133. P.345–351.
Connell J.H., Lowman M.D. 1989. Low-diversity tropical rainforests: some possible mechanisms for their existance // American Naturalist. Vol.134. P.88–119.
Cook B.D., Jastrow J.D., Miller R.M. 1988. Root and mycorrhizal endophyte development in a chronosequence of restored tallgrass prairie // New Phytologist. Vol.110. P.355–362.
Cooke J.C., Gemma J.N., Koske R.E. 1987. Observations of nuclei in vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi // Mycologia. Vol.79. P.331–333.
Cooke M.A., Widden P., O'Halloran I. 1993. Development of vesicular-arbuscular mycorrhizae in sugar maple *Acer saccharum* and effects of base-cation ammendment on vesicle and arbuscule formation // Canadian Journal of Botany. Vol.71. P.1421–1426.

Cooper K.M. 1976. A field survey of mycorrhizas in New Zealand ferns // New Zealand Journal of Botany.Vol.14. P.169–181.
Cooper K.M., Lösel D. 1978. Lipid physiology of vesicular-arbuscular mycorrhiza. I. Composition of lipids in roots of onion, clover and ryegrass infected with *Glomus mosseae* // New Phytologist. Vol.80. P.143–151.
Cooper K.M., Tinker P.B. 1978. Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas. II. Uptake and translocation of phosphorus, zinc and sulphur // New Phytologist. Vol.81. P.43–52.
Cooper K.M., Tinker P.B. 1981. Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas. IV. Effect of environmental variables on movement of phosphorus // New Phytologist. Vol.88. P.327–339.
Cordier C., Pozo M.J., Barea J.M., Gianinazzi S., Gianinazzi-Pearson V. 1998. Cell defence responses associated with localized and systemic resistance to *Phytophthora parasitica* induced in tomato by an arbuscular mycorrhizal fungus // Molecular Plant-Microbe Interactions. Vol.11. P.1017–1028.
Corner E.J.H. 1972 Boletus in Malaysia. Botanic Gardens. Singapore.
Corradi N., Hijri M., Fumagalli L., Sanders I.R. 2004. Arbuscular mycorrhizal fungi Glomeromycota harbour ancient fungal tubulin genes that resemble those of the chytrids Chytridiomycota // Fungal Genetics and Biology. Vol.41. P.1037–1045.
Cosgrove D.J. 1967. Metabolism of organic phosphates in soil // A.D. McLaren, G.H. Peterson (eds.). Soil Biochemistry. Vol.1. New York: M. Decker. P.216–228.
Courbot M., Diez L., Ruotolo R., Chalot M., Leroy P. 2004. Cadmium-responsive thiols in the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus* // Applied and Environmental Microbiology. Vol.70. P.7413–7417.
Coutts M.P., Nicholl B.C. 1990a. Growth and survival of shoots, roots and mycorrhizal mycelium in clonal Sitka spruce during the fi rst growing season after planting // Canadian Journal of Forest Research. Vol.20. P.861–868.
Coutts M.P., Nicholl B.C. 1990b. Waterlogging tolerance of roots of Sitka-spruce clones and of strands from *Thelephora terrestris* mycorrhizas // Canadian Journal of Forest Research. Vol.20. P.1896–1899.
Cox G., Sanders F. 1974. Ultrastructure of the host-fungus interface in a vesicular-arbuscular mycorrhiza // New Phytologist. Vol.73. P.901–912.
Cox G., Tinker P.B. 1976. Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas. I. The arbuscule and phosphorus transfer: a quantitative ultrastructural study // New Phytologist. Vol.77. P.371–378.
Cox G., Sanders F.E., Tinker P.B., Wild J.A. 1975. Ultrastructural evidence relating to hostendophyte transfer in a vesicular-arbuscular mycorrhiza // F.E. Sanders, B. Mosse, P.B. Tinker (eds.). Endomycorrhizas. London: Academic Press. P.297–312.
Cox G., Moran K.J., Sanders F.E., Nockolds C., Tinker P.B. 1980. Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas. III. Polyphosphate granules and phosphorus translocation // New Phytologist. Vol.84. P.649–659.
Cribb P.J., Kell S.P., Dixon K.W., Barrett R.L. 2003. Orchid conservation – a global perspective // K.W. Dixon, S.P. Kell, R.L. Barrett, P.J. Cribb (eds.). Orchid Conservation. Kota Kinabalu: Natural History Publication. P.1–24.
Crocker R.L., Major J. 1955. Soil development in relation to vegetation and surface age at Glacier Bay, Alaska // Journal of Ecology. Vol.43. P.427–448.
Cromack K., Sollins P., Granstein W.C. et al. 1979. Calcium oxalate accumulation and soil weathering in mats of the hypogeous fungus *Hysterangium crassum* // Soil Biology and Biochemistry. Vol.11. P.463–468.
Cromer D.A.N. 1935. The significance of the mycorrhiza of *Pinus radiata* // Bulletin of Forest Bureau of Australia. Vol.16. P.1–19.
Cronquist A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. New York: Columbia University Press.
Crossett R.N., Loughman B.C. 1966. The absorption and translocation of phosphorus by seedlings of *Hordeum vulgare* L. // New Phytologist. Vol.65. P.459–468.
Crush J.R. 1973. Significance of endomycorrhizas in tussock grassland in Otago, New Zealand // New Zealand Journal of Botany. Vol.11. P.645–660.

Cui M., Caldwell M.M. 1996a. Facilitation of plant phosphate acquisition by arbuscular mycorrhizas from enriched soil patches. I. Roots and hyphae exploiting the same soil volume // New Phytologist. Vol.133. P.453–460.
Cui M., Caldwell M.M. 1996b. Facilitation of plant phosphate acquisition by arbuscular mycorrhizas from enriched soil patches. II. Hyphae exploiting root-free soil // New Phytologist. Vol.133. P.461–467.
Cullings K. 1994. Molecular phylogeny of the Monotropoideae Ericaceae with a note on the placement of the Pyroloideae. // Journal of Evolutionary Biology. Vol.**7.** No.4. P.501–516.
Cullings K.W. 1996. Single phylogenetic origin of ericoid mycorrhizae within the Ericaceae // Canadian Journal of Botany. Vol.74. P.1896–1909.
Cullings K.W., Szaro T.M., Bruns T.D. 1996. Evolution of extreme specialisation with a lineage of ectomycorrhizal parasites // Nature. Vol.379. P.63–66.
Cumming J.R., Weinstein L.H. 1990. Aluminum-mycorrhizal interactions in the physiology of pitch pine seedlings // Plant Soil. Vol.125. P.7–18.
Cummings M.P., Welschmeyer N.A. 1998. Pigment composition of putatively achlorophyllous angiosperms // Plant Systematics and Evolution. Vol.210. P.105–111.
Currah R.S., Van Dyke M. 1986. A survey of some perennial vascular plant species native to Alberta for occurrence of mycorrhizal fungi // Canadian Field-Naturalist. Vol.100. P.330–342.
Currah R.S., Siegler L., Hambleton S. 1987. New records and new taxa from the mycorrhizae of terrestial orchids of Alberta // Canadian Journal of Botany. Vol.65. P.2473–2482.
Currah R.S., Hambleton S., Smreciu E.A. 1988. The mycorrhizae and mycorrhizal fungi of *Calypso bulbosa* (Orchidaceae) // American Journal of Botany. Vol.75. P.737–750.
Currah R.S., Smreciu E.A., Hambleton S. 1990. Mycorrhizae and mycorrhizal fungi of boreal species of *Platanthera* and *Coeloglossum* (Orchidaceae) // Canadian Journal of Botany. Vol.68. P.1171–1181.
Currah R.S., Tsuneda A., Murakami S. 1993. Morphology and ecology of *Phialocephala fortinii* in roots of *Rhododendron brachycarpos* // Canadian Journal of Botany. Vol.71. P.1639–1644.
Currah R.S., Zettler L.W., McInnis T.M. 1997. *Epulorhiza inquilina* sp. nov. from *Platanthera* (Orchidaceae) and a key to *Epulorhiza* species // Mycotaxon. Vol.61. P.335–342.
Curtis J.T. 1939. The relation of specifi city of orchid mycorrhizal fungi to the problem of symbiosis // American Journal of Botany. Vol.26. P.390–398.
Daft M.J., El Giahmi A.A. 1978. Effects of arbuscular mycorrhiza on plant growth. VIII. Effects of defoliation and light on selected hosts // New Phytologist. Vol.80. P.365–372.
Daft M.J., Hogarth B.G. 1983. Competitive interactions amongst four species of *Glomus* on maize and onion // Transactions of the British Mycological Society. Vol.80. P.339–345.
Daft M.J., Nicolson T.H. 1966. Effect of *Endogone* mycorrhiza on plant growth // New Phytologist. Vol.65. P.343–350.
Daft M.J., Nicolson T.H. 1969a. Effect of *Endogone* mycorrhiza on plant growth. II. Influence of soluble phosphate on endophyte and host in maize // New Phytologist. Vol.68. P.945–952.
Daft M.J., Nicolson T.H. 1969b. Effect of *Endogone* mycorrhiza on plant growth. III. Influence of inoculum concentration on growth and infection in tomato // New Phytologist. Vol.68. P.953–963.
Daft M.J., Nicolson T.H. 1972. Effect of *Endogone* mycorrhiza on plant growth. IV. Quantitative relationships between the growth of the host and development of the endophyte in tomato and maize // New Phytologist. Vol.71. P.287–295.
Daft M.J., Hacskaylo E., Nicolson T.H. 1975. Arbuscular mycorrhizas in plants colonising coal spoils in Scotland and Pennsylvania // F.E. Sanders, B. Mosse, P.B. Tinker (eds.). Endomycorrhizas. London: Academic Press. P.561–580.
Daft M.J., Chilvers M.T., Nicolson T.H. 1980. Mycorrhizas of the Lilliflorae. I. Morphogenesis of *Endymion non-scriptus* L. Garcke and its mycorrhizas in nature // New Phytologist. Vol.85. P.181–189.
Dahlberg A., Stenlid J. 1990. Population structure and dynamics in *Suillus bovinus* as indicated by spatial distribution of fungal clones // New Phytologist. Vol.115. P.487–493.
Dalal R.C. 1977. Soil organic phosphorus // Advances in Agronomy. Vol.29. P.83–117.
Dalpé Y. 1986. Axenic synthesis of ericoid mycorrhiza in *Vaccinium angustifolium* Ait. by *Oidiodendron* species // New Phytologist. Vol.103. P.391–396.
Dalpé Y., Litten W., Sigler L. 1989. *Scytalidium vaccinii* a new species, an ericoid endophyte of *Vaccinium angustifolium* roots // Mycotaxon. Vol.35. P.371–378.

Daniell T., Husband R., Fitter A.H., Young J.P.W. 2001. Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi colonising arable crops // FEMS Microbiology Ecology. Vol.36. P.203–209.
Daniels B.A., Duff D.M. 1978. Variation in germination and spore morphology among four isolates of *Glomus mosseae* // Mycologia. Vol.70. P.1261–1267.
Daniels B.A., Menge J.A. 1980. Secondary sporocarp formation by *Glomus epigaeus*, a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, in long-term storage // Mycologia. Vol.72. P.1235–1238.
Daniels B.A., Trappe J.M. 1980. Factors affecting spore germination of the vesiculararbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus epigaeus* // Mycologia. Vol.72. P.457–471.
Daniels B.A., McCool P.A., Menge J.A. 1981. Comparative inoculum potential of spores of six vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi // New Phytologist. Vol.89. P.385–391.
Daniels Hetrick B.A. 1984. Ecology of VA mycorrhizal fungi // C.L. Powell, D.J. Bagyaraj (eds.). V.A. Mycorrhiza. Boca Raton: CRC Press. P.35–55.
Daniels Hetrick B.A., Bloom J. 1986. The influence of host plant on production and colonization ability of vesicular-arbuscular mycorrhizal spores // Mycologia. Vol.78. P.32–36.
Daniels Hetrick B.A., Wilson G.W.T. 1989. Supression of mycorrhizal fungus spore germination in non-sterile soil: relationship to mycorrhizal growth response in big bluestem // Mycologia. Vol.81. P.382–390.
Danielson R.M. 1984. Ectomycorrhizal associations in jack pine stands in north-eastern Alberta // Canadian Journal of Botany. Vol.62. P.932–939.
Danielson R.M. 1982. Taxonomic affinities and criteria for identification of the common ectendomycorrhizal symbiont of pines // Canadian Journal of Botany. Vol.60. P.7–18.
Danielson R.M., Pruden M. 1989. The ectomycorrhizal status of urban spruce // Mycologia. Vol.81. P.335–341.
Danielson R.M., Visser S. 1989a. Effects of forest soil acidifi cation on ectomycorrhizal and vesicular-arbuscular mycorrhizal development // New Phytologist. Vol.112. P.41–47.
Danielson R.M., Visser S. 1989b. Host response to inoculation and behaviour of introduced and indigenous ectomycorrhizal fungi of jack pine grown on soil-sand tailings // Canadian Journal of Forest Research. Vol.19. P.1412–1421.
Danneberg G., Latus C., Zimmer W., Hundeshagen B., Schneider-Poetsch H., Bothe H. 1993. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhiza on phytohormone balances in maize *Zea mays* L. // Journal of Plant Physiology. Vol.141. P.33–39.
David-Schwartz R., Badani H., Smadar W., Levy A.A., Galili G., Kapulnik Y. 2001. Identification of a novel genetically controlled step in mycorrhizal colonization: plant resistance to infection by fungal spores but not extra-radical hyphae // The Plant Journal. Vol.27. P.561–569.
David-Schwartz R., Gadkar V., Wininger S. et al. 2003. Isolation of a premycorrhizal infection *pmi2* mutant of tomato, resistant to arbuscular mycorrhizal fungal colonization // Molecular Plant-Microbe Interactions. Vol.16. P.382–388.
Davis E.C. 2004. A molecular phylogeny of leafy liverworts Jungermannidae: Marchantriophyta // B. Goffinet, V. Hollowell, R. Magill (eds.). Molecular Systematics of Bryophytes. St Louis: Missouri Botanical Garden Press. P.61–86.
de Bary A. 1887. Comparative Morphology and Biology of the Fungi, Mycetozoa and Bacteria. English translation. Oxford: Clarendon Press.
de Boer G.A., Kowalchuk G.A., Van Veen J.A. 2006. Root-food and the rhizosphere microbial community composition // New Phytologist. Vol.170. P.3–6.
de la Peca E., Rodriguez Echeverria S., van der Putten W.H., Freitas H., Moens M. 2006. Mechanism of control of root-feeding nematodes by mycorrhizal fungi in the dune grass *Ammophila arenaria* // New Phytologist. Vol.169. P.829–840.
de la Providencia I.E., de Souza F.A., Fernandez G., Delmas N.S., Declerck S. 2005. Arbuscular mycorrhizal fungi reveal distinct patterns of anastomosis formation and hyphal healing mechanisms between different phlogenetic groups // New Phytologist. Vol.165. P.261–271.
de Miranda J.C.C., Harris P.J. 1994. The effect of soil phosphorus on the external mycelium growth of arbuscular mycorrhizal fungi during the early stages of mycorrhiza formation // Plant and Soil. Vol.166. P. 271–280.
de Silva R.L., Wood R.K.S. 1964. Infection of plants by *Corticium solani* and *C. praticola* – effect of plant exudates // Transactions of the British Mycological Society. Vol.47. P.15–24.

Deacon J.W., Fox F.M. 1988. Delivery of microbial inoculants into the root zone of transplant crops // Brighton Crop Protection Conference – Pests and Diseases. Wellesbourne Park: Association of Applied Biologists. P.645–653.
Deacon J.W., Donaldson S.J., Last F.T. 1983. Sequences and interactions of mycorrhizal fungi on birch // Plant and Soil. Vol.71. P.257–262.
Dearnaley J.D.W., McGee P.A. 1996. An intact microtubule cytoskeleton is not necessary for interfacial matrix formation in orchid protocorm mycorrhizas // Mycorrhiza. Vol.6. No.3. P.175–180.
Debaud J.C., Pepin R., Bruchet G. 1981. Etude des ectomycorrhizes de *Dryas octopetala*. Obtention de syntheses mycorhiziennes et de carpophores d'*Hebeloma alpinum* et *H. Marginatum* // Canadian Journal of Botany. Vol.59. P.1014–1020.
Debaud J.C., Gay G., Bruchet G. 1986. Intra-specific variability in an ectomycorrhizal fungus: *Hebeloma cylindrosporum*. 1. Preliminary studies on *in vitro* fruiting, spore germination and sexual comportment // V. Gianinazzi-Pearson, S. Gianinazzi (eds.). Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae. Paris: INRA. P.581–588.
Debaud J.C., Marmeisse R., Gay F. 1995. Intra-specific genetic variation in ectomycorrhizal fungi // A. Varma, B. Hock (eds.). Mycorrhiza: Structure, Function, Molecular Biology and Biotechnology. Berlin: Springer-Verlag. P.79–113.
Declerck S., de Boulois H.D., Bivort C., Delvaux B. 2003. Extraradical mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus lamellosum* can take up, accumulate and translocate radiocaesium under root-organ culture conditions // Environmental Microbiology. Vol.5. P.510–516.
Dell B., Botton B., Martin F., Le Tacon F. 1989. Glutamate dehydrogenases in ectomycorrhizas of spruce *Picea excelsa* L. and beech *Fagus sylvatica* L. // New Phytologist. Vol.111. P.683–692.
Dell B., Malajczuk N., Thomson G. 1990. Ectomycorrhiza formation in *Eucalyptus*. V. A tuberculate ectomycorrhiza of *Eucalyptus pilularis //* New Phytologist. Vol.114. P.633–640.
Dell J., Malajczuk N., Bougher N.L., Thomson G. 1994. Development and function of *Pisolithus* and *Scleroderma* ectomycorrhizas formed *in vivo* with *Allocasuarina, Casuarina* and *Eucalyptus* // Mycorrhiza. Vol.5. P.129–138.
Delp G., Timonen S., Rosewarne G., Barker S.J., Smith S.E. 2003. Differential expression of *Glomus intraradices* genes in external mycelium and mycorrhizal roots of tomato and barley // Mycological Research. Vol.107. P.1083–1093.
Demchenko K., Winzer T., Stougaard J., Parniske M., Pawlowski K. 2004. Distinct roles of *Lotus japonicus* SYMRK and SYM15 in root colonization and arbuscule formation // New Phytologist. Vol.163. P.381–392.
Denny H.J., Wilkins D.A. 1987. Zinc tolerance in *Betula* spp. IV. The mechanism of ectomycorrhizal amelioration of zinc toxicity // New Phytologist. Vol.106. P.545–553.
Dettmann M.E. 1992. Structure and floristic composition of Cretaceous vegetation of southern Gondwana: implications for angiosperm biogeography // Palaeobotanist. Vol.41. P.224–233.
Dexheimer J., Serrigny J. 1983. Étude ultrastruturale des endomycorhizes d'une orchidée tropicale: *Epidendrum ibaguense* H.B.K.I. Localisation des activité phosphatasiques acides et alkalines // Bulletin Société Botanique de France. Vol.130. P.187–194.
Dexheimer J., Gianinazzi S., Gianinazzi-Pearson V. 1979. Ultrastructural cytochemistry of the host-fungus interface in the endomycorrhizal association *Glomus mosseae/Allium cepa* // Zeitschrift für Pflanzenphysiologie. Vol.92. P.191–206.
Dexheimer J., Marx C., Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S. 1985. Ultracytological studies on plasmalemma formations produced by host and fungus in vesicular-arbuscular mycorrhizae // Cytologia. Vol.50**.** P.461–471.
Diaz S. 1996. Effects of elevated [CO_2] at the community level mediated by root symbionts // Plant and Soil. Vol.187. P.309–320.
Dickie I.A., Koide R.T., Steiner K.C. 2002. Influences of established trees on mycorrhizas, nutrition, and growth of *Quercus rubra* seedlings // Ecological Monographs. Vol.72. P.505–521.
Dickson S. 2004. The *Arum-Paris* continuum of mycorrhizal symbioses // New Phytologist. Vol.161. P.187–200.
Dickson S., Kolesik P. 1999. Visualisation of mycorrhizal fungal structures and quantification of their surface area and volume using laser scanning confocal microscopy // Mycorrhiza. Vol.9. P.205–213.
Dickson S., Smith S.E. 2001. Cross walls in arbuscular trunk hyphae form after loss of metabolic activity // New Phytologist. Vol.151. P.735–742.

Dickson S., Schweiger P.F., Smith F.A., Söderström B., Smith S. 2003. Paired arbuscules in the *Arum*-type arbuscular mycorrhizal symbiosis with *Linum usitatissimum* L. // Canadian Journal of Botany. Vol.81. P.457–463.

Dickson S., Smith F.A., Smith S.E. 2007. Structural differences in arbuscular mycorrhizal symbioses: more than 100 years after Gallaud, where next? // Mycorrhiza. Vol.17. P.375–393.

Dighton J.,Mason P.A. 1985. Mycorrhizal dynamics during forest tree development // D. Moore, L.A. Casselton, D.A. Wood, J.C. Frankland (eds.). Development Biology of Higher Fungi. Cambridge: Cambridge University Press. P.117–139.

Dighton J., Poskitt J.M., Howard D.M. 1986. Changes in occurrence of basidiomycete fruit bodies during forest stand development: with specific reference to mycorrhizal species // Transactions of the British Mycological Society. Vol.87. P.163–171.

Dighton J., Thomas E.D., Latter P.M. 1987. Interactions between tree roots, mycorrhizas, a saprophytic fungus and the decomposition of organic substrates in a microcosm // Biology and Fertility of Soils. Vol.4. P.145–150.

Dinkelaker B., Marschner H. 1992. *In vivo* demonstration of acid phosphatase activity in the rhizosphere of soil-grown plants // Plant and Soil. Vol.144. P.199–205.

Dinkelaker B., Hengeler C., Marschner H. 1995. Distribution and function of proteoid roots and other root clusters // Botanica Acta. Vol.108. P.183–200.

Ditengou F.A., Lapeyrie F. 2000. Hypaphorine from the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius* counteracts activities of indole-3-acetic acid and ethylene but not synthetic auxins in eucalypt seedlings // Molecular Plant-Microbe Interactions. Vol.13. No.2. P.151–158.

Ditengou F.A., Beguiristain T., Lapeyrie F. 2000. Root hair elongation is inhibited by hypaphorine, the indole alkaloid from the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius*, and restored by indole-3-acetic acid // Planta. Vol.211. P.722–728.

Dixon K.W., Kell S.P., Barrett R.L., Cribb P.J. 2003. Orchid Conservation. Kota Kinabalu: Natural History Publications.

Dixon R.K., Pallardy S.G., Garrett H.E., Cox G.S. 1983. Comparative water relations of containergrown and bare-root ectomycorrhizal and non-mycorrhizal *Quercus velutina* seedlings // Canadian Journal of Botany. Vol.61. P.1559–1565.

Dixon R.K., Garrett H.E., Cox G.S., Marx D.H., Sander I.L. 1984. Inoculation of three *Quercus* species with eleven isolates of ectomycorrhizal fungi. I. Inoculation success and seedling growth relationships // Forest Science. Vol.30. P.364–372.

Dixon R.K., Garrett H.E., Cox G.S. 1987. Cytokinins in the root pressure exudate of *Citrus jambhiri* Lush. colonised by vesicular-arbuscular mycorrhizae // Tree Physiology. Vol.4. P.9–18.

Doak K.D. 1928. The mycorrhizal fungus of *Vaccinium* // Phytopathology. Vol.18. P.101–108.

Dodd J.C. 1994. Approaches to the study of the extraradical mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi // S. Gianinazzi, H. Schüepp (eds.). Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems. Basel: Birkhauser. P.147–166.

Dodd J.C., Thomson B.D. 1994. The screening and selection of inoculant arbuscular mycorrhizal and ectomycorrhizal fungi // Plant and Soil. Vol.159. P.149–158.

Dodd J., Hedle E.M., Pate J.S., Dixon K.W. 1984. Rooting patterns of sandplain plants and their functional significance // J.S. Pate, J.S. Beard (eds.). Kwongan. Plant life of the sandplain. P.146–177. Nedlands: University of Western Australia Press.

Dodd J.C., Burton C.C., Burns R.G., Jeffries P. 1987. Phosphatase activity associated with the roots and the rhizosphere of plants infected with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi // New Phytologist. Vol.107. P.163–172.

Dominik T. 1969. Key to ectotrophic mycorrhizas // Folia Forestalia Polonica Seria A Lesnictwo. Vol.15. P.309–328.

Dorr I., Kollmann R. 1969. Fine structure of mycorrhiza in *Neottia nidus-avis* // Planta. Vol.89. P.372–375.

Dosskey M.G., Linderman R.G., Boersma L. 1990. Carbon-sink stimulation of photosynthesis in Douglas fir seedlings by some ectomycorrhizas // New Phytologist. Vol.115. P.269–274.

Doudrick R.L., Anderson N.A. 1989. Incompatibility factors and mating competence of two *Laccaria* spp. Agaricales associated with black spruce in northern Minnesota // Phytopathology. Vol.79. P.694–700.

Doudrick R.L., Furnier G.R., Anderson N.A. 1990. The number and distribution of incompatibility alleles in *Laccaria laccata* var. *moelleri* (Agaricales) // Phytopathology. Vol.80. P.869–872.

Douds D.D.J., Schenck N.C. 1990. Increased sporulation of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi by manipulation of nutrient regimens // Applied and Environmental Microbiology. Vol.56. P.413–418.
Douds D.D.J., Galvez L., Bécard G., Kapulnik Y. 1998. Regulation of arbuscular mycorrhizal development by plant host and fungus species in alfalfa // New Phytologist. Vol.138. P.27–35.
Douds D.D.J., Johnson C.R., Koch K.E. 1988. Carbon cost of the fungal symbiont relative to net leaf P accumulation in a split-root VA mycorrhizal symbiosis // Plant Physiology. Vol.86. P.491–496.
Douds D.D.J., Pfeffer P.E., Shachar-Hill Y. 2000. Carbon partitioning, cost and metabolism of arbuscular mycorrhizas // Y. Kapulnik, D.D.J. Douds (eds.). Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. P.107–129.
Douglas A.E. 1998. Host benefit and the evolution of specialisation in symbiosis // Heredity. Vol.81. P.599–603.
Douglas G.C., Heslin M.C., Reid C. 1989. Isolation of *Oidiodendron maius* from *Rhododendron* and ultrastructal characterization of synthesized mycorrhizas // Canadian Journal of Botany. Vol.67. P.2206–2212.
Downes G.M., Alexander I.J., Cairney J.W.G. 1992. A study of spruce *Picea sitchensis* Bong Carr. ectomycorrhizas. I. Morphological and cellular changes in mycorrhizas formed by *Tylospora fibrillosa* Burt Donk and *Paxillus involutus* Batsch ex Fr. Fr. // New Phytologist. Vol.122. P.141–152.
Drew E.A., Murray R.S., Smith S.E., Jakobsen I. 2003. Beyond the rhizosphere: growth and function of arbuscular mycorrhizal external hyphae in sands of varying pore sizes // Plant and Soil. Vol.251. P.105–114.
Drew E.A., Murray R.S., Smith S.E. 2005. Functional diversity of external hyphae of AM fungi: ability to colonise new hosts is influenced by fungal species, distance and soil conditions // Applied Soil Ecology. Vol.32. P.350–365.
Driver J.D., Holben W.E., Rillig M.C. 2005. Characterization of glomalin as a hyphal wall component of arbuscular mycorrhizal fungi // Soil Biology and Biochemistry. Vol.37. P.101–106.
Druge U., Schonbeck F. 1993. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection on transpiration, photosynthesis and growth of flax *Linum usitatissimum* L. in relation to cytokinin levels // Journal of Plant Physiology. Vol.141. P.40–48.
Duc G., Trouvelot A., Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S. 1989. First report of non-mycorrhizal plant mutants Myc$^-$ obtained in pea *Pisum sativum* L. and fababean *Vicia faba* L. // Plant Science. Vol.60. P.215–222.
Duchesne L.C., Peterson R.L., Ellis B.E. 1988a. Interaction between the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus* and *Pinus resinosa* induces resistance to *Fusarium oxysporum //* Canadian Journal of Botany. Vol.66. P.558–562.
Duchesne L.C., Peterson R.L., Ellis B.E. 1988b. Pine root exudate stimulates the synthesis of antifungal compounds by the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus* // New Phytologist. Vol.108. P.471–476.
Duchesne L.C., Ellis B.E., Peterson R.L. 1989a. Disease suppression by the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus*: contribution of oxalic acid // Canadian Journal of Botany. Vol.67. P.2726–2730.
Duchesne L.C., Peterson RL., Ellis B.E. 1989b. The time-course of disease suppression and antibiosis by the ectomycorrhizal fungi *Paxillus involutus* // New Phytologist. Vol.111. P.693–698.
Duckett J., Ligrone R. 1992. A light and electron-microscope study of the fungal endophytes in the sporophyte and gametophyte of *Lycopodium cernuum* with observations on the gametophyte-sporophyte junction // Canadian Journal of Botany. Vol.70. P.58–72.
Duckett J.G., Ligrone R. 2005. A comparative cytological analysis of fungal endophytes in the sporophyte rhizomes and vascularized gametophytes of *Tmesipteris* and *Psilotum* // Canadian Journal of Botany. Vol.83. No.11. P.1443–1456.
Duckett J.G., Russell J., Ligrone R. 2006. Basidiomycetous endophytes in jungermannialean leafy liverworts have novel cytologies and species-specific host ranges: a cytological and experimental study // Canadian Journal of Botany. Vol.84. P.1075–1093.
Duckett J.G., Read D.J. 1995. Ericoid mycorrhizas and rhizoid-ascomycete associations in liverworts share the same mycobiont – isolation of the partners and resynthesis of the associations *in vitro* // New Phytologist. Vol.129. P.439–477.
Duckett J.G., Renzaglia K.S., Pell K. 1991. A light and electron-microscope study of rhizoid ascomycete associations and flagelliform axes in British hepatics with observations on the effects of the fungi on host morphology // New Phytologist. Vol.118. P.233–257.

Duckett J.G., Carafa A., Ligrone R. 2006b. A highly differentiated glomeromycotean association with the mucilage-secreting, primitive antipodean liverwort *Treubia* (Treubiaceae): clues to the origins of mycorrhizas // American Journal of Botany. Vol.93. P.797–813.

Ducousso M., Bena G., Bourgeois C. et al. 2004. The last common ancestor of Sarcolaenaceae and Asian dipterocarp trees was ectomycorrhizal before the India-Madagascar separation, about 88 million years ago // Molecular Ecology. Vol.13. P.231–236.

Duddridge J.A. 1980. A Comparative Ultrastructural Analysis of a Range of Mycorrhizal Associations. PhD thesis. Sheffield: University of Sheffield.

Duddridge J.A. 1986a. The development and ultra-structure of ectomycorrhizas. III. Compatible and incompatible interactions between *Suillus grevillei* (Klotzsch) Sing. and 11 species of ectomycorrhizal hosts *in vitro* in the absence of exogenous carbohydrates // New Phytologist. Vol.103. P.457–464.

Duddridge J.A. 1986b. The development and ultra-structure of ectomycorrhizas. IV. Compatible and incompatible interactions between *Suillus grevillei* (Klotzsch) Sing. and a number of ectomycorrhizal hosts *in vitro* in the presence of exogenous carbohydrates // New Phytologist. Vol.103. P.465–471.

Duddridge JA 1987 Specificity and recognition in ectomycorrhizal associations // G.F. Pegg, P.G. Ayres (eds.). Fungal Infection of Plants. Cambridge: Cambridge University Press. P.25–44.

Duddridge J.A., Read D.J. 1982a. An ultrastructural analysis of the development of mycorrhizas in *Monotropa hypopitys*. L. // New Phytologist. Vol.92. P.203–214.

Duddridge J.A., Read D.J. 1982b. Ultrastructural analysis of the development of mycorrhizas in *Rhododendron ponticum* // Canadian Journal of Botany. Vol.60. P.2345–2356.

Duddridge J.A., Read D.J. 1984a. The development and ultrastructure of ectomycorrhizas. I. Ectomycorrhizal development on pine in the field // New Phytologist. Vol.96. P.565–573.

Duddridge J.A., Read D.J. 1984b. The development and ultra-structure of ectomycorrhizas. II. Ectomycorrhizal development on pine *in vitro* // New Phytologist. Vol.96. P.575–582.

Duddridge J.A., Read D.J. 1984c. Modification of the host-fungus interface in mycorrhizas synthesised between *Suillus bovinus* Fr O. Kuntz and *Pinus sylvestris* L. // New Phytologist. Vol.96. P.583–588.

Duddridge J.A., Malibari A., Read D.J. 1980. Structure and function of mycorrhizal rhizomorphs with special reference to their role in water transport // Nature. Vol.287. P.834–836.

Dueck T.A., Visser P., Ernst W.H.O., Schat H. 1986. Vesicular-arbuscular mycorrhizae decrease zinctoxicity to grasses growing in zinc-polluted soil // Soil Biology and Biochemistry. Vol.18. P.331–333.

Dumas-Gaudot E., Valot B. et al. 2004. Proteomics as a way to identify extra-radicular fungal proteins from *Glomus intraradices*-RiT-DNA carrot root mycorrhizas // FEMS Microbiology Ecology. Vol.48. P.401–411.

Dunham S.M., O'Dell T.E., Molina R. 2003. Analysis of nrDNA sequences and microsatellite allele frequencies reveals a cryptic chanterelle species *Cantharellus cascadensis* sp nov from the American Pacific Northwest // Mycological Research. Vol.107. P.1163–1177.

Dunne M.J., Fitter A.H. 1989. The phosphorus budget of a field-grown strawberry *Fragaria xananassa* cv. Hapil crop: evidence for a mycorrhizal contribution // Annals of Applied Biology. Vol.114. P.185–193.

Duplessis S., Courty P.E., Tagu D., Martin F. 2005. Transcript patterns associated with ectomycorrhiza development in *Eucalyptus globulus* and *Pisolithus microcarpus* // New Phytologist. Vol.165. P.599–611.

Duponnois R., Diedhiou S., Chotte J.L., Sy M.O. 2003. Relative importance of the endomycorrhizal and or ectomycorrhizal associations in *Allocasuarina* and *Casuarina* genera // Canadian Journal of Microbiology. Vol.49. P.281–287.

Durall D.M., Jones M.D., Tinker P.B. 1994. Allocation of C-14 carbon in ectomycorrhizal willow // New Phytologist. Vol.128. P.109–114.

Eason W.R., Newman E.I. 1990. Rapid cycling of nitrogen and phosphorus from dying roots of *Lolium perenne* // Oecologia. Vol.82. P.432–436.

Eason W.R., Newman E.I., Chuba P.N. 1991. Specificity of interplant cycling of phosphorus: the role of mycorrhizas // Plant and Soil. Vol.137. P.267–274.

Egerton-Warburton L.M., Allen E.B. 2000. Shifts in arbuscular mycorrhizal communities along an anthropogenic nitrogen deposition gradient // Ecological Applications. Vol.10. P.484–496.

Egger K.N. 1986. Substrate hydrolysis patterns of postfi re ascomycetes (Pezizales) // Mycologia. Vol.78. P.771–780.

Egger K.N. 1996. Molecular systematics of E-strain mycorrhizal fungi: *Wilcoxina* and its relationship to *Tricharina* Pezizales // Canadian Journal of Botany. Vol.74. P.773–779.
Egger K.N., Fortin J.A. 1990. Identification of taxa of E-strain mycorrhizal fungi by restriction fragment analysis // Canadian Journal of Botany. Vol.68. P.1482–1488.
Egger K.N., Paden J.W. 1986. Biotrophic associations between lodgepole pine seedlings and postfire ascomycetes Pezizales in monoxenic culture // Canadian Journal of Botany. Vol.64. P.2719–2725.
Egger K.N., Sigler L. 1993. Relatedness of the ericoid endophytes *Scytalidium vaccinii* and *Hymenoscyphus ericae* inferred from analysis of ribosomal DNA // Mycologia. Vol.85. P.219–230.
Egger K.N., Danielson R.M., Fortin J.A. 1991. Taxonomy and population structure of E-strain mycorrhizal fungi inferrred from ribosomal and mitochondrial DNA polymorphisms // Mycological Research. Vol.95. P.866–872.
Eissenstat D.M. 1990. A comparison of phosphorus and nitrogen transfer between plants of different phosphorus status // Oecologia. Vol.82. P.342–347.
Eissenstat D.M., Graham J.H., Syvertsen J.P., Drouillard D.L. 1993. Carbon economy of sour orange in relation to mycorrhizal colonization and phosphorus status // Annals of Botany. Vol.71. P.1–10.
Ek H., Andersson S., Arnebrant K., Söderström B. 1994. Growth and assimilation of NH_4^+ and NO_3^- by *Paxillus involutus* in association with *Betula pendula* and *Picea abies* as affected by substrate pH // New Phytologist. Vol.128. P.629–637.
Ekblad A., Wallander H., Carlsson R., HussDanell K. 1995. Fungal biomass in roots and extramatrical mycelium in relation to macronutrients and plant biomass of ectomycorrhizal *Pinus sylvestris* and *Alnus incana* // New Phytologist. Vol.131. P.443–451.
El Abyad M.S.H., Webster J. 1968. Studies on pyrophilous discomycetes, I. Comparative physiological studies // Transactions of the British Mycological Society. Vol.51. P.353–367.
El-Badaoui K., Botton B. 1989. Production and characterisation of exocellular proteases in ectomycorrhizal fungi // Annales des Sciences Forestiéres. Vol.46. P.728–730.
El-Kherbawy M., Angle J.S., Heggo A., Chaney R.L. 1989. Soil pH, rhizobia, and vesicular-arbuscular mycorrhizae inoculation effects on growth and heavy metal uptake of alfalfa *Medicago sativa* L. // Biology and Fertility of Soils. Vol.8. P.61–65.
Elfstrand M., Feddermann N., Ineichen K. et al. 2005. Ectopic expression of the mycorrhizaspecific chitinase gene *Mtchit 3-3* in *Medicago truncatula* root-organ cultures stimulates spore germination of glomalean fungi // New Phytologist. Vol.167. P.557–570.
Elias K.S., Safir G.R. 1987. Hyphal enlongation of *Glomus fasciculatus* in response to root exudates // Applied and Environmental Microbiology. Vol.53. P.1928–1933.
Ellenberg H. 1988. Vegetation Ecology of Central Europe. Cambridge: Cambridge University Press.
Elliott G.C., Lynch J., Lauchli A. 1984. Influx and efflux of P in roots of intact maize plants // Plant Physiology. Vol.76. P.336–341.
Eltrop L., Marschner H. 1996. Growth and mineral nutrition of non-mycorrhizal and mycorrhizal Norway spruce *Picea abies* seedlings grown in semi-hydroponic sand culture. 1. Growth and mineral nutrient uptake in plants supplied with different forms of nitrogen // New Phytologist. Vol.133. No.3. P.469–478.
Emmerton K.S., Callaghan T.V., Jones H.E., Leake J.R., Michelsen A., Read D.J. 2001a. Assimilation and isotopic fractionation of nitrogen by mycorrhizal fungi // New Phytologist. Vol.151. P.503–511.
Emmerton K.S., Callaghan T.V., Jones H.E., Leake J.R., Michelsen A., Read D.J. 2001b. Assimilation and isotopic fractionation of nitrogen by mycorrhizal and nonmycorrhizal subarctic plants // New Phytologist. Vol.151. P.513–524.
Enstone D.E., Peterson C.A., Ma F.S. 2002. Root endodermis and exodermis: structure, function, and responses to the environment // Journal of Plant Growth Regulation. Vol.21. P.335–351.
Entry J.A., Donnelly P.K., Cromack K. Jr. 1991a. Influence of ectomycorrhizal mat soils on lignin and cellulose degradation // Biology and Fertility of Soils. Vol.11. P.75–78.
Entry J.A., Rose C.L., Cromack K. Jr. 1991b. Litter decomposition and nutrient release in ectomycorrhizal mat soils of a Douglas fir ecosystem // Soil Biology and Biochemistry. Vol.23. P.285–290.
Ericsson T. 1995. Growth and shoot-root ratio of seedlings in relation to nutrient availability // Plant and Soil. Vol.169. P.205–214.
Ernst R. 1967. The effect of carbohydrate selection on the growth rate of freshly germinated *Phalaenopsis* and *Dendrobium* seed // American Orchid Society Bulletin. Vol.36. P.1068–1073.
Ernst R., Arditti J., Healey PL 1971 Carbohydrate physiology of orchid seedlings II. Hydrolysis and effects of oligosaccharides // American Journal of Botany. Vol.58. P.827–835.

Esnault A-L., Masuhara G., McGee P.A. 1994. Involvement of exodermal passage cells in mycorrhizal infection of some orchids // Mycological Research. Vol.98. P.672–676.
Evans D.G., Miller M.H. 1988. Vesicular-arbuscular mycorrhizas and the soil-disturbanceinduced reduction of nutrient absorption in maize. I. Causal relations // New Phytologist. Vol.110. P.67–74.
Evans D.G., Miller M.H. 1990. The role of the external mycelial network in the effect of soil disturbance upon vesicular-arbuscular mycorrhizal colonization of maize // New Phytologist. Vol.114. P.65–71.
Ezawa T., Yoshida T. 1994. Acid phosphatase specific to arbuscular mycorrhizal infection in marigold and possible role in symbiosis // Soil Science and Plant Nutrition. Vol.40. P.655–665.
Ezawa T., Kuwahara S-Y., Sakamoto K., Yoshida T., Saito M. 1999. Specific inhibitor and substrate specificity of alkaline phosphatase expressed in the symbiotic phase of the arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus etunicatum* // Mycologia. Vol.91. P.636–641.
Ezawa T., Smith S.E., Smith F.A. 2001. Enzyme activity involved in glucose phosphorylation in two arbuscular mycorrhizal fungi: indication that polyP is not the main phosphagen // Soil Biology and Biochemistry. Vol.33. P.1279–1281.
Ezawa T., Smith S.E., Smith F.A. 2002. P metabolism and transport in AM fungi // Plant and Soil. Vol.244. P.221–230.
Ezawa T., Cavagnaro T.R., Smith S.E., Smith F.A., Ohtomo R. 2004. Rapid accumulation of polyphosphate in extraradical hyphae of an arbuscular mycorrhizal fungus as revealed by histochemistry and a polyphosphate kinase/luciferase system // New Phytologist. Vol.161. P.387–392.
Ezawa T., Hayatsu M., Saito M. 2005. A new hypothesis on the strategy for acquisition of phosphorus in arbuscular mycorrhiza: up-regulation of secreted acid phosphatase gene in the host plant // Molecular Plant-Microbe Interactions. Vol.18. P.1046–1053.
Faber B.A., Zasoski R.J., Burau R.G., Uriu K. 1990. Zinc uptake by corn as affected by vesicular-arbuscular mycorrhizae // Plant and Soil. Vol.129. P.121–130.
Faber B.A., Zasoski R.J., Munns D.N., Shackel K. 1991. A method for measuring hyphal nutrient and water uptake in mycorrhizal plants // Canadian Journal of Botany. Vol.69. P.87–94.
Facelli J.M., Facelli E. 1993. Interactions after death: plant litter controls priority effects in a successional plant community // Oecologia. Vol.95. P.277–282.
Facelli E., Facelli J.M. 2002. Soil phosphorus heterogeneity and mycorrhizal symbiosis regulate plant intra-specific competition and size distribution // Oecologia. Vol.133. P.54–61.
Facelli E., Facelli J.M., Smith S.E., McLaughlin M.J. 1999. Interactive effects of arbuscular mycorrhizal symbiosis, intraspecific competition and resource availability on *Trifolium subterraneum* cv. Mt. Barker // New Phytologist. Vol.141. P.535–547.
Fairchild G.L., Miller M.H. 1988. Vesicular-arbuscular mycorrhizas and the soil-disturbanceinduced reduction of nutrient absorption in maize. II. Development of the effect // New Phytologist. Vol.110. P.75–84.
Fay P., Mitchell D.T., Osborne B.A. 1996. Photosynthesis and nutrient-use efficiency of barley in response to low arbuscular mycorrhizal colonization and addition of phosphorus // New Phytologist. Vol.132. P.425–433.
Federspiel A., Schuler R., Haselwandter K. 1991. Effect of pH, L-ornithine and L-proline on the hydroxamate siderophore production by *Hymenoscyphus ericae*, a typical ericoid mycorrhizal fungus // Plant and Soil. Vol.130. P.259–261.
Fedorova M., van de Mortel J., Matsumoto P.A. et al. 2002 Genome-wide identifi cation of nodule-specific transcripts in the model legume *Medicago truncatula*. // Plant Physiology**.** Vol.130. P.519–537.
Fenner M. 1978. A comparison of the abilities of colonisers and closed turf species to establish from seed in artificial swards // Journal of Ecolgy. Vol.66. P.953–965.
Ferdinandsen C., Winge O. 1925. *Cenococcum* Fr. A monographic study. Kungl Veterinaerog Landbohoskol Aarskrift. P.332–382.
Fernando A.A., Currah R.S. 1995. *Leptodontidium orchidicola–Mycelium radicis atrovirens* complex – aspects of its conidiogenesis and ecology // Mycotaxon. Vol.54. P.287–294.
Fernando A.A., Currah R.S. 1996. A comparative study of the effects of the root endophytes *Leptodontidium orchidicola* and *Phialocephala fortinii* Fungi Imperfecti on the growth of some subalpine plants in culture // Canadian Journal of Botany. Vol.74. No.7. P.1071–1078.
Ferrol N., Barea J.M., Azcón-Aguilar C 2000 The plasma membrane H^+-ATPase gene family in the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* // Current Genetics. Vol.37. P.112–118.
Fester T., Strack D., Hause B. 2001. Reorganization of tobacco root plastids during arbuscule development // Planta. Vol.213. P.864–868.

Fester T., Hause B., Schmidt D. et al. 2002a. Occurrence and localization of apocarotenoids in arbuscular mycorrhizal plant roots // Plant and Cell Physiology. Vol.43. P.256–265.
Fester T., Schmidt D., Lohse S. et al. 2002b. Stimulation of carotenoid metabolism in arbuscular mycorrhizal roots // Planta. Vol.216. P.148–154.
Ficus E.L., Markhart A.H. 1979. Relationships between root system water transport properties and plant size in *Phaseolus* // Plant Physiology. Vol.64. P.770–773.
Finlay R.D. 1985. Interactions between soil micro-arthropods and endomycorrhizal associations of higher plants // A.H. Fitter, D. Atkinson, D.J. Read, M.B. Usher (eds.). Ecological Interactions in Soil. Oxford: Blackwell Scientific Publications. P.319–331.
Finlay R.D. 1989. Functional aspects of phosphorus uptake and carbon translocation in incompatible ectomycorrhizal associations between *Pinus sylvestris* and *Suillus grevillei* and *Boletus cavipes* // New Phytologist. Vol.112. P.185–192.
Finlay R. 1992. Uptake and translocation of nutrients by ectomycorrhizal fungal mycelia // D.J. Read, D.H. Lewis, A.H. Fitter, I.J. Alexander (eds.). Mycorrhizas in Ecosystems. Wallingford: CAB International. P.91–97.
Finlay R.D., Read D.J. 1986a. The structure and function of the vegetative mycelium of ectomycorrhizal plants. I. Translocation of ^{14}C-labelled carbon between plants interconnected by a common mycelium // New Phytologist. Vol.103. P.143–156.
Finlay R.D., Read D.J. 1986b. The structure and function of the vegetative mycelium of ectomycorrhizal plants. II. The uptake and distribution of phosphorus by mycelium interconnecting host plants // New Phytologist. Vol.103. P.157–165.
Finlay R.D., Read D.J. 1986c. The uptake and distribution of phosphorus by ectomycorrhizal mycelium // V. Gianinazzi-Pearson, S. Gianinazzi (eds.). Physiological and Genetical aspects of Mycorrhizae. Paris: INRA. P.351–355.
Finlay R.D., Söderström B. 1989. Mycorrhizal mycelia and their role in soil and plant communities // Developments in Plant and Soil Sciences. Vol 39, Ecology of Arable Land, Perspectives and Challenges. M. Clarholm, L. Bergström (eds.). Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. P.139–148.
Finlay R.D., Söderström B. 1992. Mycorrhiza and carbon flow to the soil // Mycorrhiza Functioning. M. Allen (ed.). London: Chapman and Hall. P.34–160.
Finlay R.D., Ek H., Odham G., Söderström B. 1988. Mycelial uptake, translocation and assimilation of nitrogen from ^{15}N labelled ammonium by *Pinus sylvestris* plants infected with four different ectomycorrhizal fungi // New Phytologist. Vol.110. P.59–66.
Finlay R.D., Ek H., Odham G., Söderström B. 1989. Uptake, translocation and assimilation of nitrogen from ^{15}N-labelled ammonium and nitrate sources by intact ectomycorrhizal systems of *Fagus sylvatica* infected with *Paxillus involutus* // New Phytologist. Vol.113. P.47–55.
Finlay R.D., Frostegerd E., Sonnerfeldt A.-M. 1992. Utilisation of organic and inorganic nitrogen sources by ectomycorrhizal fungi in pure culture and in symbiosis with *Pinus contorta* Dougl. ex Loud // New Phytologist. Vol.120. P.105–115.
Finn R.F. 1942. Mycorrhizal inoculation in soil of low fertility // Black Rock Forest Papers. Vol.1. P.116–117.
Fitter A.H. 1985. Functioning of vesicular-arbuscular mycorrhizas under field conditions // New Phytologist. Vol.99. P.257–265.
Fitter A.H. 1986. Effect of benomyl on leaf phosphorus concentration in alpine grasslands: a test of mycorrhizal benefit // New Phytologist. Vol.103. P.767–776.
Fitter A.H. 1988. Water relations of red clover, *Trifolium pratense* L., as affected by VA mycorrhizal infection and phosphorus supply before and during drought // Journal of Experimental Botany. Vol.39. P.595–604.
Fitter A.H. 1990. The role and ecological signifi cance of vesicular-arbuscular mycorrhizas in temperate ecosystems // Agriculture, Ecosystems and Environment. Vol.29. P.137–151.
Fitter A.H. 1991. Costs and benefits of mycorrhizas: implications for functioning under natural conditions // Experientia. Vol.47. P.350–355.
Fitter A.H. 2001. Specificity, links and networks in the control of diversity in plant and microbial communities // M.C. Press, N.J. Hontley, S. Levin (eds.). Ecology: Achievement and Challenge. Oxford: Blackwell Science. P.95–111.
Fitter A.H. 2005. Darkness visible: reflections on underground ecology // Journal of Ecology. Vol.93. P.231–243.

Fitter A.H., Garbaye J. 1994. Interactions between mycorrhizal fungi and other soil organisms // Plant and Soil. Vol.159. P.123–132.
Fitter A.H., Merryweather J.W. 1992. Why are some plants more mycorrhizal than others? an ecological enquiry // D.J. Read, D.H. Lewis, A.H. Fitter, I. Alexander (eds.). Mycorrhizas in Ecosystems. P.26–36. Wallingford: CAB International.
Fitter A.H., Moyersoen B. 1996. Evolutionary trends in root-microbe symbioses // Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Series B Biological Sciences. Vol.351. P.1367–1375.
Fitter A.H., Nichols R. 1988. The use of benomyl to control fungal infection by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi // New Phytologist. Vol.110. P.201–206.
Fitter A.H., Sanders I.R. 1992. Interactions with soil fauna // M.F. Allen (ed.). Mycorrhizal Functioning: An Integrative Plant-Fungal Process. P.333–354. London: Chapman and Hall.
Fitter A.H., Graves J.D., Watkins N.K., Robinson D., Scrimgeour C. 1998a. Carbon transfer between plants and its control in networks of arbuscular mycorrhizas // Functional Ecology. Vol.12. P.406–412.
Fitter A.H., Wright W.J., Williamson L., Belshaw M., Fairclough J., Meharg A.A. 1998b. The phosphorus nutrition of wild plants and the paradox of arsenic tolerance: does leaf phosphate concentration control flowering? // J.P. Lynch, J. Deikman (eds.). Phosphorus in Plant Biology: Regulatory Roles in Molecular, Cellular, Organismic and Ecosystem Processes. Rockville: American Society of Plant Physiologists. P.39–51.
Fitter A.H., Heinemeyer A., Staddon P. 2000. The impact of elevated CO_2 and global climate change on arbuscular mycorrhizas: a mycocentric approach // New Phytologist. Vol.147. P.179–187.
Fitter A.H., Heinemeyer A., Husband R., Olsen E., Ridgway K.P., Staddon P.L. 2004. Global environmental change and the biology of arbuscular mycorrhizas: gaps and challenges // Canadian Journal of Botany. Vol.82. P.1133–1139.
Fleming L.V. 1983. Succession of mycorrhizal fungi on birch: infection of seedlings planted around mature trees // Plant and Soil. Vol.71. P.263–267.
Fleming L.V. 1984. Effects of soil trenching and coring on formation of ectomycorrhizas on birch seedlings grown around mature trees // New Phytologist. Vol.98. P.143–153.
Fleming L.V. 1985. Experimental study of sequences of ectomycorrhizal fungi on birch *Betula* sp. seedling root systems // Soil Biology and Biochemistry. Vol.17. P.591–600.
Fleming L.V., Deacon J.W., Last F.T., Donaldson S.J. 1984. Influence of propagating soil on the mycorrhizal succession of birch seedlings transplanted to a field site // Transactions of the British Mycological Society. Vol.82. P.707–712.
Fogel R., Trappe J.M. 1978. Fungus consumption (mycophagy) by small animals // North West Science. Vol.52. P.1–31.
Fontana A. 1963 Micorrize ectotriche in una Ciperacea: *Kobresia belliardi* Degl. // Giornale Botanico Italiano**.** T.70. P.639–641.
Fontana A., Bonfante Fasolo P. 1971. Sintesi micorizica di *Tuber brumale* Vitt. con *Pinus nigra* Arnold // Allionia. Vol.17. P.15–18.
Ford L., Forbert L., Burger J.A., Miller O.K. 1985. Comparative effects of four mycorrhizal fungi on loblolly pine seedlings growing in a greenhouse in a Piedmont soil // Plant and Soil. Vol.83. P.215–221.
Forster S.M. 1979. Microbial aggregation of sand in an embryo dune system // Soil Biology and Biochemistry. Vol.11. P.537–543.
Forster S.M., Nicolson T.H. 1979. Microbial aggregation of sand in a maritime dune succession // Soil Biology and Biochemistry. Vol.13. P.205–208.
Fortin J.A., Piché Y., Lalonde M. 1980. Technique for observation of early morphological changes during ectomycorrhiza formation // Canadian Journal of Botany. Vol.58. P.361–365.
Foster R.C., Marks G.C. 1966. The fine structure of the mycorrhizas of *Pinus radiata* D. Don // Australian Journal of Biological Science. Vol.19. P.1027–1038.
Fox F.M. 1986. Groupings of ectomycorrhizal fungi of birch and pine, based on establishment of mycorrhizas on seedlings from spores in unsterile soils // Transactions of the British Mycological Society. Vol.87. P.371–380.
France R.C., Reid C.P.P. 1983. Interactions of nitrogen and carbon in the physiology of ectomycorrhizas // Canadian Journal of Botany. Vol.61. P.964–984.
France R.C., Reid C.P.P. 1984. Pure culture growth of ectomycorrhizal fungi on inorganic nitrogen sources // Microbial Ecology. Vol.10. P.187–195.

Francis R., Read D.J. 1984. Direct transfer of carbon between plants connected by vesicular-arbuscular mycorrhizal mycelium // Nature. Vol.307. P.53–56.
Francis R., Read D.J. 1994. The contributions of mycorrhizal fungi to the determination of plant community structure // Plant and Soil. Vol.159. P.11–25.
Francis R., Read D.J. 1995. Mutualism and antagonism in the mycorrhizal symbiosis, with special reference to impacts on plant community structure // Canadian Journal of Botany. Vol.73. Suppl.1. P.1301–1309.
Francis R., Finlay R.D., Read D.J. 1986 Vesicular-arbuscular mycorrhizas in natural vegetation systems. IV. Transfer of nutrients in inter- and intra-specifi c combinations of host plants // New Phytologist. Vol.102. P.103–111.
Francke H.L. 1934. Beitrage zur Kenntnis der Mykorrhiza von *Monotropa hypopitys* L. Analyse und Synthese der Symbiose. Jena: Flora. Bd.129. S.1–52.
Frank A. 1877. Über die biologishen Verhältnisse des Thalles einiger Krustenflechten // Beitrage zur biologie der Pflanzen. Bd.2. S.123–200.
Frank A.B. 1894. Die bedeutung der Mykorrhizapilze fur die gemeine Kiefer // Forshwissenchaftliche Centralblatt. Bd.16. S.1852–1890.
Frank A.B. 1985. Über die auf Wurzelsymbiose berhende Ernährung gewiser Bäume durch unterirdische Pilze // Berichte der Deutschen Botanishen Gesellschaft. Bd.3. S.128–145.
Franke T. 2002. The myco-heterotrophic *Voyria flavescens* Gentianaceae and its associated fungus // Mycology Progress. Vol.1. P.367–376.
Franke T., Beenker L., Döring M., Kocyan A., Agerer R. 2006. Arbuscular mycorrhizal fungi of the Glomus-group A lineage Glomerales; Glomeromycota detected in mycoheterotrophic plants from tropical Africa // Mycology Progress. Vol.5. P.24–31.
Franken P., Gnädinger F. 1994. Analysis of parsely arbuscular endomycorrhiza: infection development and mRNA levels of defence related genes // Molecular Plant-Microbe Interactions. Vol.7. P.612–620.
Franken P., Lapopin L., Meyer-Gauen G., Gianinazzi-Pearson V. 1997. RNA accumulation and genes expressed in spores of the arbuscular mycorrhizal fungus, *Gigaspora rosea* // Mycologia. Vol.89. P.293–297.
Fredeen A.L., Terry N. 1988 Influence of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection and soil phosphorus level on growth and carbon metabolism of soybean // Canadian Journal of Botany. Vol.66. P.2311–2316.
Freisleben R. 1933. Über experimentelle Mycorrhizabildung bei Ericaceen // Berichte Deustche Botanishe Gesellschaft. Bd.60. S.315–356.
Freisleben R. 1934. Zur Frage der Mykotrophia in der gattung *Vaccinium* L. // Jahrbuch für Wissenschaftliche Botanik. Bd.80. S.421–456.
Freisleben R. 1935. Wietere Untersuchungen über die Mykotrophie der Ericaceen // Jahrbuch für Wissencschlaftliche Botanik. Bd.82. S.413–459.
Freisleben R. 1936. Wieterer Untersunchungen über die Mykotrophie der Ericaceen // Jahrbuch für Wissenschaftliche Botanik. Bd.82. S.413–459.
Frenot Y., Bergstrom D.M., Gloaguen J.C., Tavenard R., Strullu D.G. 2005. The first record of mycorrhizae on sub-Antarctic Heard Island: a preliminary examination // Antarctic Science. Vol.17. P.205–210.
Frey B., Schüepp H. 1993. Acquisition of nitrogen by external hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Zea mays* L. // New Phytologist. Vol.124. P.221–230.
Frey B., Zierold K., Brunner I. 2000. Extracellular complexation of Cd in the Hartig net and cytosolic Zn sequestration in the fungal mantle of *Picea abies-Hebeloma crustuliniforme* ectomycorrhizas // Plant Cell and Environment. Vol.23. P.1257–1265.
Frey-Klett P., Chavatte M., Clausse M.L. et al. 2005. Ectomycorrhizal symbiosis affects functional diversity of rhizosphere fluorescent pseudomonads // New Phytologist. Vol.165. P.317–328.
Fries N. 1983. Spore germination, homing reaction, and intersterility groups in *Laccaria laccata* Agaricales // Mycologia. Vol.75. P.221–227.
Fries N. 1987. Ecological and evolutionary aspects of spore germination in the higher Basidiomycetes // Transactions of the British Mycological Society. Vol.88. P.1–7.
Fries N., Mueller G.M. 1984. Incompatibility systems, cultural features and special circumscriptions in the ectomycorrhizal genus *Laccaria* Agaricales // Mycologia. Vol.76. P.633–642.
Fries N., Newman W. 1990. Sexual incompatibility in *Suillus luteus* and *S. granulatus* // Mycological Research. Vol.94. P.64–70.

Fries N., Sun P. 1992. The mating system of *Suillus bovinus* // Mycological Research. Vol.96. P.237–238.
Friese C.F., Allen M.F. 1991. The spread of VA mycorrhizal fungal hyphae in the soil: inoculum types and external hyphal architecture // Mycologia. Vol.83. P.409–418.
Friese C.F., Allen M.F. 1993. The interaction of harvester ants and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in a patchy semi-arid environment: the effects of mound structure on fungal dispersion and establishment // Functional Ecology. Vol.7. P.13–20.
Fuchs A., Ziegenspeck H. 1924. Aus der Monographie des *Orchis traunsteineri* Saut. III. Entwicklungsgechichte einiger deutscher Orchideen // Botanisches Archiv. Bd.5. S.120–132.
Fuchs A., Ziegenspeck H. 1927. Entwicklungsgechichte der Axen der einheimischen Orchideen und ihre Physiologie und Biologie III // Botanisches Archiv. Bd.18. S.378–475.
Fujimura K.F., Smith J.E., Horton T.R., Weber N.S., Spatafora J.W. 2005. Pezizalean mycorrhizas and sporocarps in ponderosa pine (*Pinus ponderosa*) after prescribed fires in eastern Oregon, USA // Mycorrhiza. Vol.15. P.79–86.
Furlan V., Fortin J.A. 1977. Effects of light intensity on the formation of vesicular-arbuscular endomycorrhizas on *Allium cepa* by *Gigaspora calospora* // New Phytologist. Vol.79. P.335–340.
Furman T.E. 1966. Symbiotic relationship of *Monotropa* // American Journal of Botany. Vol.53. P.627.
Furman T.E., Trappe J.M. 1971. Phylogeny and ecology of mycotrophic achlorophyllous angiosperms // Quarterly Review of Biology. Vol.46. P.214–225.
Fusconi A., Bonfante-Fasolo P. 1984. Ultrastructural aspects of host-endophyte relationships in *Arbutus unedo* mycorrhizas // New Phytologist. Vol.96. P.397–410.
Gadd G.M. 1993. Interactions of fungi with toxic metals // New Phytologist. Vol.124. P.25–60.
Gadd G.M. 1999. Fungal production of citric and oxalic acid: importance in metal speciation, physiology and biogeochemical processes // Advances in Microbial Physiology. Vol.41. P.47–92.
Gadgil R.L., Gadgil P.D. 1971. Mycorrhiza and litter decomposition // Nature. Vol.233. P.133.
Gadgil R.L., Gadgil P.D. 1975. Suppression of litter decomposition by mycorrhizal roots of *Pinus radiata* // New Zealand Journal of Forest Science. Vol.5. P.35–41.
Gadkar V., Rillig M. 2006. The arbuscular mycorrhizal fungal protein glomalin is a putative homolog of heat shock protein 60 // FEMS Microbiological Letters. Vol.263. P.93–101.
Gadkar V., David-Schwartz R., Kunik T., Kapulnik Y. 2001. Arbuscular mycorrhizal fungal colonization. Factors involved in host recognition // Plant Physiology. Vol.127. P.1493–1499.
Gadkar V., David-Schwartz R., Nagahashi G., Douds D.D., Wininger S., Kapulnik Y. 2003. Root exudate of *pmi* tomato mutant M161 reduces AM fungal proliferation in vitro // FEMS Microbiology Letters. Vol.223. P.193–198.
Gagnon J., Langlois C.G., Fortin J.A. 1988. Growth and ectomycorrhiza formation of containerised black spruce seedlings as affected by nitrogen fertilisation, inoculum type and symbiont // Canadian Journal of Forest Research. Vol.18. P.922–929.
Gallaud I. 1905. Études sur les mycorrhizes endotrophes // Revue Générale de Botanique. Vol.17. P.5–48, 66–83, 123–135, 223–239, 313–325, 425–433, 479–500.
Gams W. 1963. Mycelium radicis atrovirens in forest soils, isolation from soil microhabitats and identification // J. Docksen, J. van der Drift (eds.). Soil organisms. Amsterdam: North-Holland. P.176–182.
Gandolfi A., Sanders I.R., Rossi V., Menozzi P. 2003. Evidence of recombination in putative ancient asexuals // Molecular Biology and Evolution. Vol.20. P.754–761.
Gange A.C. 2000. Arbuscular mycorrhizal fungi, collembola and plant growth // Trends in Ecology and Evolution. Vol.15. P.369–372.
Gange A.C., Brown V.K. 2002. Actions and interactions of soil invertebrates and arbuscular mycorrhizal fungi in affecting structure of plant communities // M.G.A. van der Heijden, I. Sanders (eds.). Mycorrhizal Ecology. Berlin: Springer. P.321–344.
Gange A.C., Brown V.K., Sinclair G.S. 1993. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi: a determinant of plant community structure in early succession // Functional Ecology. Vol.7. P.616–622.
Gao L-L., Delp G., Smith S.E. 2001. Colonization patterns in a mycorrhiza-defective mutant tomato vary with different arbuscular-mycorrhizal fungi // New Phytologist. Vol.151. P.477–491.
Gao L-L., Knogge W., Delp G., Smith F.A., Smith S.E. 2004. Expression patterns of defenserelated genes in different types of arbuscular mycorrhizal development in wild-type and mycorrhiza-defective mutant tomato // Molecular Plant-Microbe Interactions. Vol.17. P.1103–1113.

Gao L-L., Smith F.A., Smith S.E. 2006. The *rmc* locus does not affect plant interactions or defencerelated gene expression when tomato *Solanum lycopersicum* is infected with the root fungal parasite, *Rhizoctonia* // Functional Plant Biology. Vol.33. P.289–296.

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

Garbaye J., Bowen G.D. 1987. Effect of different microflora on the success of ectomycorrhizal inoculation of *Pinus radiata* // Canadian Journal of Forest Research. Vol.17. P.941–943.

Garbaye J., Bowen G.D. 1989a. Ectomycorrhizal infection of *Pinus radiata* by *Rhizopogon luteolus* is stimulated by microorganisms naturally present in the mantle of ectomycorrhizas // New Phytologist. Vol.112. P.383–388.

Garbaye J., Bowen G.D. 1989b. Stimulation of ectomycorrhizal infection of *Pinus radiata* by some microorganisms associated with the mantle of ectomycorrhizas // New Phytologist. Vol.112. P.383–388.

García-Garrido J.M., García-Romera I., Ocampo J.A. 1992. Cellulase activity in lettuce and onion plants colonized by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* // Soil Biology and Biochemistry. Vol.25. P.503–504.

García-Garrido J.M., Tribak M., Rejon-Palomares A., Ocampo J.A., García-Romera I. 2000. Hydrolytic enzymes and ability of arbuscular mycorrhizal fungi to colonize roots // Journal of Experimental Botany. Vol.51. P.1443–1448.

García-Romera I., García-Garrido J.M., Martinez-Molina E., Ocampo J.A. 1990. Possible influence of hydrolytic enzymes on vesicular-arbuscular mycorrhizal infections of alfalfa // Soil Biology and Biochemistry. Vol.22. P.149–152.

García-Romera I., García-Garrido J.M., Ocampo J.A. 1991. Pectolytic enzymes in the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* // FEMS Microbiology Letters. Vol.78. P.343–346.

Gardes M., Bruns T.D. 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes – application to the identification of mycorrhizae and rusts // Molecular Ecology. Vol.2. P.113–118.

Gardes M., Bruns T.D. 1996. Community structure of ectomycorrhizal fungi in a *Pinus muricata* forest: above- and below-ground views // Canadian Journal of Botany. Vol.74. P.1572–1583.

Gardes M., Mueller G.M., Fortin J.A., Kropp B.R. 1991a. Mitochondrial DNA polymorphism in *Laccaria bicolor, L. laccata, L. proxima* and *L. amethystina* // Mycological Research. Vol.95. P.206–216.

Gardes M., Mueller G., Fortin J.A., Kropp B.R. 1991b. Restriction fragment length polymorphisms in ribosomal DNA from our species for *Laccaria* // Phytopathology. Vol.80. P.1312–1317.

Gardner I.C. 1986. Mycorrhizae of actinorhizal plants // Mircen Journal. Vol.2. P.147–160.

Garnier A., Berredjem A., Botton B. 1997. Purification and characterization of the NADdependent glutamate dehydrogenase in the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* (Maire) Orton // Fungal Genetics and Biology. Vol.22. P.168–176.

Garrec J.P., Gay G. 1978. Influence des champignons mycorrhiziens sur l'accumulation des elements mineraux dans les racines de pin d'alep. Analyse directe par microsonde electronique // A. Reidacker, M.J. Gagnaire-Michard (eds.). Root Physiology and Symbiosis. Proceedings of the IUFROP Symposium, Nancy, France. P.486–488.

Garrett S.D. 1963. Soil Fungi and Soil Fertility. Oxford: Pergamon Press.

Garriock M.L., Peterson R.L., Ackerley C.A. 1989. Early stages in colonization of *Allium porrum* (leek) roots by the vesicular-arbuscular mycorhizal fungus, *Glomus versiforme* // New Phytologist. Vol.112. P.85–92.

Gaudinski J.B., Trumbore S.E., Davidson E.A., Zheng S.H. 2000. Soil carbon cycling in a temperate forest: radiocarbon-based estimates of residence times, sequestration rates and partitioning of fluxes // Biogeochemistry. Vol.51. P.33–69.

Gaudinski J.B., Trumbore S.E., Davidson E.A., Cook A.C., Markewitz D., Richter D.D. 2001. The age of fine-root carbon in three forests of the eastern United States measured by radiocarbon // Oecologia. Vol.129. P.420–429.

Gavito M.E., Olsson P.A. 2003. Allocation of plant carbon to foraging and storage in arbuscular mycorrhizal fungi // FEMS Microbiology Ecology. Vol.45. P.181–187.

Gavito M.E., Schweiger P., Jakobsen I. 2003. P uptake by arbuscular mycorrhizal hyphae: effect of soil temperature and atmospheric CO_2 enrichment // Global Change Biology. Vol.9. P.106–116.

Gavito M.E., Olsson P.A., Rouhier H. et al. 2005. Temperature constraints on the growth and functioning of root organ cultures with arbuscular mycorrhizal fungi // New Phytologist. Vol.168. P.179–188.

Gay G., Debaud J.C. 1987. Genetic study on indole-3-acetic acid production by ectomycorrhizal *Hebeloma* species: inter- and intraspecific variability in homo- and dikaryotic mycelia // Applied Microbiology and Biotechnology. Vol.26. P.141–146.

Gay G., Marmeisse R., Fouillet P., Buntertreau M., Debaud J.C. 1993. Genotype/nutrition interactions in the ectomycorrhizal fungus *Hebeloma cylindrosporum* Romagnési // New Phytologist. Vol.123. P.335–343.

Gay G., Normand L., Marmeisse R., Sotta B., Debaud J.C. 1994b. Auxin overproducer mutants of *Hebeloma cylindrosporum* Romagnйsi have increased mycorrhizal activity // New Phytologist. Vol.128. P.645–657.

Gazey C., Abbott L.K., Robson A.D. 1992. The rate of development of mycorrhizas affects the onset of sporulation and production of external hyphae by two species of *Acaulospora* // Mycological Research. Vol.96. P.643–650.

Gea L., Normand L., Vian B., Gay G. 1994. Structural aspects of ectomycorrhiza of *Pinus pinaster* (Ait.) Sol. Formed by an IAA-overproducer mutant of *Hebeloma cylindrosporum* Romagnési // New Phytologist. Vol.128. P.659–670.

Gebauer G., Dietrich P. 1993. Nitrogen isotope ratios in different compartments of a mixed stand of spruce, larch and beech trees and of understorey vegetation including fungi // Isotopen Praxus. Vol.29. P.35–44.

Gebauer G., Meyer M. 2003. N-15 and C-13 natural abundance of autotrophic and mycoheterotrophic orchids provides insight into nitrogen and carbon gain from fungal association // New Phytologist. Vol.160. No.1. P.209–223.

Gebauer G., Taylor A.F.S. 1999. N-15 natural abundance in fruit bodies of different functional groups of fungi in relation to substrate utilization // New Phytologist. Vol.142. No.1. P.93–101.

Gehrig H., Schüßler A., Kluge M. 1996. *Geosiphon pyriforme*, a fungus forming endocytobiosis with *Nostoc* cyanobacteria, is an ancestral member of the Glomales: evidence by SSU rRNA analysis // Journal of Molecular Evolution. Vol.43. P.71–81.

Gehring C.A., Whitham T.G. 1994. Interactions between aboveground herbivores and mycorrhizal mutualists of plants // Trends in Ecology and Evolution. Vol.9. P.251–255.

Gehring C.A., Whitham T.G. 2002. Mycorrhizae-herbivore interactions: population and community consequences // M.G.A. van der Heijden, I. Sanders (eds.). Mycorrhizal Ecology. Berlin: Springer. P.295–320.

Gemma J.N., Koske R.E. 1988. Seasonal variation in spore abundance and dormancy of *Gigaspora gigantea* and in mycorrhizal inoculum potential of a dune soil // Mycologia. Vol.80. P.211–216.

Gemma J.N., Koske R.E. 1992. Are mycorrhizal fungi present in early stages of primary succession? // D.J. Read, B.G. Lewis, A.H. Fitter, I.J. Alexander (eds.). Mycorrhizas in Ecosystems. Wallingford: CAB International. P.183–189.

Genetet I., Martin F., Stewart G.R. 1984. Nitrogen assimilation in mycorrhizas. Ammonium assimilation in the N-starved ectomycorrhizal fungus *Cenococcum graniforme* // Plant Physiology.Vol.76. P.395–399.

Genney D.R., Anderson I.C., Alexander I.J. 2006. Fine-scale distribution of pine ectomycorrhizas and their extramatrical mycelium // New Phytologist. Vol.170. P.381–390.

Genre A., Bonfante P. 1997. A mycorrhizal fungus changes microtubule orientation in tobacco root cells // Protoplasma. Vol.199. P.30–38.

Genre A., Bonfante P. 1998. Actin versus tubulin confi guration in arbuscule-containing cells from mycorrhizal tobacco roots // New Phytologist. Vol.140. P.745–752.

Genre A., Bonfante P. 1999. Cytoskeleton-related proteins in tobacco mycorrhizal cells: gamma-tubulin and clathrin localisation // European Journal of Histochemistry. Vol.43. P.105–111.

Genre A., Bonfante P. 2002. Epidermal cells of a symbiosis-defective mutant of *Lotus japonicus* show altered cytoskeleton organisation in the presence of a mycorrhizal fungus // Protoplasma. Vol.219. P.43–50.

Genre A., Bonfante P. 2005. Building a mycorrhizal cell: how to reach compatibility between plants and arbuscular mycorrhizal fungi // Journal of Plant Interactions. Vol.1. P.3–13.

Genre A., Chabaud M., Timmers T., Bonfante P., Barker D.G. 2005. Arbuscular mycorrhizal fungi elicit a novel intracellular apparatus in *Medicago truncatula* root epidermal cells before infection // The Plant Cell. Vol.17. P.3489–3499.

George E., Marschner H. 1996. Nutrient and water uptake by roots of forest trees // Zeitschrift fur Pflanzenernährung und Bodenkunde. Bd.159. S.11–21.

George E., Haussler K-U., Vetterlein D., Gorgus E., Marschner H. 1992. Water and nutrient translocation by hyphae of *Glomus mosseae* // Canadian Journal of Botany. Vol.70. P.2130–2137.
Gerdemann J.W. 1955. Relation of a large soil-borne spore to phycomycetous mycorrhizal infections // Mycologia. Vol.47. P.619–632.
Gerdemann J.W. 1964. The effect of mycorrhiza on the growth of maize // Mycologia. Vol.56. P.342–349.
Gerdemann JW 1965 Vesicular-arbuscular mycorrhizae formed on maize and tuliptree by *Endogone fasciculata* // Mycologia. Vol.57. P.562–575.
Gerdemann J.W. 1968. Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth // Annual Review of Phytopathology. Vol.6. P.397–418.
Gerdemann J.W. 1975. Vesicular-arbuscular mycorrhizae // J.G. Torrey, D.T. Clarkson (eds.). The Development and Function of Roots. London: Academic Press. P.575–591.
Gerdemann J.W., Nicolson T.H. 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting // Transactions of the British Mycological Society. Vol.46. P.235–244.
Gerdemann J.W., Trappe J.M. 1974. The *Endogonaceae* in the Pacific Northwest // Mycologia Memoir. Vol.5. P.1–76.
Gerdemann J.W., Trappe J.M. 1975. Taxonomy of the Endogonaceae // F.E. Sanders, B. Mosse, P.B. Tinker (eds.). Endomycorrhizas. London: Academic Press. P.35–51.
Gerlitz T.G.M., Gerlitz A. 1997. Phosphate uptake and polyphosphate metabolism of mycorrhizal and nonmycorrhizal roots of pine and of *Suillus bovinu*s at varying external pH measured by in vivo ^{31}P-NMR // Mycorrhiza. Vol.7. No.2. P.101–106.
Gianinazzi S. 1991. Vesicular arbuscular endo-mycorrhizas: cellular, biochemical and genetic aspects // Agriculture, Ecosystems and Environment. Vol.35. P.105–119.
Gianinazzi S., Schüepp H. (eds.). 1994. Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems // Advances in Life Sciences., Basel: Birkhaüser.
Gianinazzi S., Vosátka M. 2004. Inoculum of arbuscular mycorrhizal fungi for production systems: science meets business // Canadian Journal of Botany. Vol.82. P.1264–1271.
Gianinazzi S., Gianinazzi-Pearson V., Dexheimer J. 1979. Enzymatic studies on the metabolism of vesicular-arbuscular mycorrhiza. III. Ultrastructural localization of acid and alkaline phosphatase in onion roots infected by *Glomus mosseae* Nicol. and Gerd. // New Phytologist. Vol.82. P.127–132.
Gianinazzi S., Trouvelot A., Gianinazzi-Pearson V. 1990a. Conceptual approaches for the rational use of VA endomycorrhizae in agriculture: possibilities and limitations // Agriculture, Ecosystems and Environment. Vol.29. P.153–161.
Gianinazzi S., Trouvelot A., Gianinazzi-Pearson V. 1990b. Role and use of mycorrhizas in horticultural crop production // *XXIII International Horticultural Congress ISHS – International Society for Horticultural Science* Firenze, Italy. Firenze: Parretti Grafiche. P.25–30.
Gianinazzi-Pearson V. 1984. Host-fungus specifity, recognition and compatibility in mycorrhizae // D.P.S. Verma, T.H. Hohn (eds.). Genes Involved in Microbe–Plant Interactions. Vienna: Springer-Verlag. P.225–253.
Gianinazzi-Pearson V. 1996. Plant cell responses to arbuscular mycorrhizal fungi: getting to the roots of the symbiosis // The Plant Cell. Vol.8. P.1871–1883.
Gianinazzi-Pearson V., Bonfante-Fasolo P. 1986. Variability in wall structure and mycorrhizal behaviour of ericoid fungal isolates // V. Gianinazzi-Pearson, S. Gianinazzi (eds.). Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae. Paris: INRA. P.563–567.
Gianinazzi-Pearson V., Brechenmacher L. 2004. Functional genomics of arbuscular mycorrhiza: decoding the symbiotic cell programme // Canadian Journal of Botany. Vol.82. P.1228–1234.
Gianinazzi-Pearson V., Denarie J. 1997. Red carpet genetic programmes for root endosymbioses // Trends in Plant Science. Vol.2. P.371–372.
Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S. 1978. Enzymatic studies on the metabolism of vesicular-arbuscular mycorrhiza. II. Soluble alkaline phosphatase specific to mycorrhizal infection in onion roots // Physiological Plant Pathology. Vol.12. P.45–53.
Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S. 1983. The physiology of vesicular-arbuscular mycorrhizal roots // Plant and Soil. Vol.71. P.197–209.
Gianinazzi-Pearson V., Fardeau J-C., Asimi S., Gianinazzi S. 1981a. Source of additional phosphorus absorbed from soil by vesicular-arbuscular mycorrhizal soybeans // Physiologie Végétale. Vol.19. P.33–43.

Gianinazzi-Pearson V., Morandi D., Dexheimer J., Gianinazzi S. 1981b. Ultrastructural and ultracytochemical features of a *Glomus tenuis* mycorrhiza // New Phytologist. Vol.88. P.633–639.
Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S., Trouvelot A. 1985. Evaluation of the infectivity and effectiveness of indigenous vesicular-arbuscular fungal populations in some agricultural soils in Burgundy // Canadian Journal of Botany. Vol.63. P.1521–1524.
Gianinazzi-Pearson V., Bonfante-Fasolo P., Dexheimer J. 1986. Ultrastructural studies of surface interactions during adhesion and infection by ericoid endomycorrhizal fungi // B Lugtenberg (ed.). Recognition in Microbe-Plant Symbiotic and Pathogenic Interactions. Nato ASI Series H. Cell Biology 4. P.273–282.
Gianinazzi-Pearson V., Branzanti B., Gianinazzi S. 1989. *In vitro* enhancement of spore germination and early hyphal growth of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus by host root exudates and plant fl avonoids // Symbiosis. Vol.7. P.243–255.
Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S., Brewin N.J. 1990. Immunocytochemical localisation of antigenic sites on the perisymbiotic membrane of vesicular-arbuscular endomycorrhiza using monoclonal antibodies reacting against the peribacteroid membrane of nodules // P. Nardon, V. Gianinazzi-Pearson, A.H. Grenier, L. Margulis, D.C. Smith (eds.). Endocytobiology IV. Paris: INRA. P.127–131.
Gianinazzi-Pearson V., Smith S.E., Gianinazzi S., Smith F.A. 1991a. Enzymatic studies on the metabolism of vesicular-arbuscular mycorrhizas. V. Is H^+-ATPase a component of ATPhydrolysing enzyme activities in plant-fungus interfaces? // New Phytologist. Vol.117. P.61–74.
Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S., Guillemin J.P., Trouvelot A., Duc G. 1991b. Genetic and cellular analysis of resistance to vesicular arbuscular VA mycorrhizal fungi in pea mutants // H. Hennecke, D.P.S. Verma (eds.). Advances in Molecular Genetics of Plant-Microbe Interactions. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. P.336–342.
Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S., Guillemin J.P., Trouvelot A., Duc G. 1994a. Genetic and cellular analysis of resistance to vesicular-arbuscular VA mycorrhizal fungi in pea mutants // Advances in Molecular Genetics of Plant-Microbe Interactions. Vol.1. P.336–342.
Gianinazzi-Pearson V., Lemoine M-C., Arnould C., Gollotte A., Morton J.B. 1994b. Localization of β 1–3 glucans in spore and hyphal walls of fungi in the Glomales // Mycologia. Vol.86. P.478–485.
Gianinazzi-Pearson V., Dumas-Gaudot E., Gollotte A., Tahiri-Alaoui A., Gianinazzi S. 1996. Cellular and molecular defence-related root responses to invasion by arbuscular mycorrhizal fungi // New Phytologist. Vol.133. P.45–57.
Gianinazzi-Pearson V., Arnould C., Oufattole M., Arango M., Gianinazzi S. 2000. Differential activation of H^+-ATPase genes by an arbuscular mycorrhizal fungus in root cells of transgenic tobacco // Planta. Vol.211. P.609–613.
Gibson B.R., Mitchell D.T. 2004. Nutritional influences on the solubilization of metal phosphate by ericoid mycorrhizal fungi // Mycological Research. Vol.108. P.947–954.
Gibson B.R., Mitchell D.T. 2005. Phosphatases of ericoid mycorrhizal fungi: kinetic properties and the effect of copper on activity // Mycological Research. Vol.109. P.478–486.
Gibson F., Deacon J.W. 1988. Experimental study of establishment of ectomycorrhizas in different regions of birch root systems // Transactions of the British Mycological Society. Vol.91. P.239–251.
Gibson F., Deacon J.W. 1990. Establishment of ectomycorrhizas in asceptic culture: effects of glucose, nitrogen and phosphorus in relation to successions // Mycological Research. Vol.94. P.166–172.
Giesler R., Högberg M., Högberg P. 1998. Soil chemistry and plants in Fennoscandian boreal forest as exemplified by a local gradient // Ecology. Vol.79. P.119–137.
Gifford R.M., Evans L.T. 1981. Photosynthesis, carbon partitioning, and yield // Annual Reviews of Plant Physiology. Vol.32. P.485–509.
Gil F., Gay J.L. 1977. Ultrastructural and physiological properties of the host interfacial components of haustoria of *Erisyphe pisi in vivo* and *in vitro* // Physiological Plant Pathology. Vol.10. P.1–12.
Gildon A., Tinker P.B. 1983. Interactions of vesicular-arbuscular mycorrhizal infections and heavy metals in plants. II. The effects of infection on uptake of copper // New Phytologist. Vol.95. P.263–268.
Gill R.A., Jackson R.B. 2000. Global patterns of root turnover for terrestrial ecosystems // New Phytologist. Vol.147. No.1. P.13–31.
Gilmore A.E. 1971. The influence of endotrophic mycorrhizae on the growth of peach seedlings // Journal of the American Society for Horticultural Science. Vol.96. P.35.
Gimingham C.H. 1960. Biological flora of the British Isles. *Calluna vulgaris* L. Hull // Journal of Ecology. Vol.48. P.455–483.

Gimingham C.H. 1972. Ecology of Heathlands. London: Chapman and Hall.
Giollant M., Guillot J., Damez M., Dusser M., Didier P., Didier E. 1993. Characterization of a lectin from *Lactarius deterrimus*: research on the possible involvement of the fungal lectin in recognition between mushroom and spruce during the early stages of mycorrhizae formation // Plant Physiology. Vol.10. P.513–522.
Giovannetti G., Fontana A. 1982. Mycorrhizal synthesis between *Cistaceae* and *Tuberaceae* // New Phytologist. Vol.92. P.533–537.
Giovannetti M. 1985. Seasonal variations of vesicular-arbuscular mycorrhizas and endogonaceous spores in a maritime sand dune // Transactions of the British Mycological Society. Vol.84. P.679–684.
Giovannetti M. 1997. Host signals dictating growth direction, morphogenesis and differentiation in arbuscular mycorrhizal symbionts // H.E.A. Schenk, R. Herrmann, K.W. Jeon, N.E. Müller, W. Schwemmler (eds.). Eukaryotism and Symbiosis: Intertaxonomic Combination versus Symbiotic Adaptation. Berlin: Springer-Verlag.
Giovannetti M. 2000. Spore germination and pre-symbiotic mycelial growth // Y. Kapulnik, D.D. Douds (eds.). Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function. P.47–68. Dordrecht: Kluwer Academic Press.
Giovannetti M., Citernesi A.S. 1993. Time-course of appressorium formation on host plants by arbuscular mycorrhizal fungi // Mycological Research. Vol.97. P.1140–1142.
Giovannetti M., Hepper C.M. 1985. Vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in *Hedysarum coronarium* and *Onobrychis viciifolia*: host-endophyte specificity // Soil Biology and Biochemistry. Vol.17. P.899–900.
Giovannetti M., Lioi L. 1990. The mycorrhizal status of *Arbutus unedo* in relation to compatible and incompatible fungi // Canadian Journal of Botany. Vol.68. P.1239–1244.
Giovannetti M., Mosse B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots // New Phytologist. Vol.84. P.489–500.
Giovannetti M., Sbrana C. 1998. Meeting a non-host: the behaviour of AM fungi // Mycorrhiza. Vol.8. P.123–130.
Giovannetti M., Sbrana C. 2001. Self and non-self responses in hyphal tips of arbuscular mycorrhizal fungi // A. Geitmann (ed.). Cell Biology of Plant and Fungal Tip Growth. Amsterdam: IOS Press. P.221–231.
Giovannetti M., Sbrana C., Avio L., Citernesi A.S., Logi C. 1993a. Differential hyphal morphogenesis in arbuscular mycorrhizal fungi during pre-infection stages // New Phytologist. Vol.125. P.587–593.
Giovannetti M., Avio L., Sbrana C., Citernesi A.S. 1993b. Factors affecting appressorium development in the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* Nicol. and Gerd. Gerd. and Trappe // New Phytologist. Vol.123. P.115–122.
Giovannetti M., Sbrana C., Citernesi A.S. et al. 1994. Recognition and infection process, basis for host specificity of arbuscular mycorrhizal fungi // S. Gianinazzi, H. Schüepp (eds.). Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems. Basel: Birkhäuser Verlag. P.61–72.
Giovannetti M., Azzolini D., Citernesi A.S. 1999. Anastomosis formation and nuclear and protoplasmic exchange in arbuscular mycorrhizal fungi // Applied and Environmental Microbiology. Vol.65. P.5571–5575.
Giovannetti M., Sbrana C., Logi C. 2000. Microchambers and video-enhanced light microscopy for monitoring cellular events in living hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi // Plant and Soil. Vol.226. P.153–159.
Giovannetti M., Fortuna P., Citernesi A.S., Morini S., Nuti M.P. 2001. The occurrence of anastomosis formation and nuclear exchange in intact arbuscular mycorrhizal networks // New Phytologist. Vol.151. P.717–724.
Giovannetti M., Sbrana C., Strani P., Agnolucci M., Rinaudo V., Avio L. 2003. Genetic diversity of isolates of *Glomus mosseae* from different geographic areas detected by vegetative compatibility testing and biochemical and molecular analysis // Applied and Environmental Microbiology. Vol.69. P.616–624.
Giovannetti M., Sbrana C., Avio L., Strani P. 2004. Patterns of below-ground plant interconnections established by means of arbuscular mycorrhizal networks // New Phytologist. Vol.164. P.175–181.
Girlanda M., Selosse M.A., Cafasso D. et al. 2006. Inefficient photosynthesis in the Mediterranean orchid *Limodorum abortivum* is mirrored by specific association to ectomycorrhizal Russulaceae // Molecular Ecology. Vol.15. P.491–504.

Givinish T.J., Renner S.S. 2004. Tropical intercontinetnal disjunctions: Gondwana breakup, immigration from the boreotropics, and transoceanic dispersal // International Journal of Plant Science. Vol.165. P.S1–S6.

Glassop D., Godwin R.M.C., Smith S.E., Smith F.W. 2007. Rice phosphate transporters associated with phosphate uptake in rice roots colonised with arbuscular mycorrhizal fungi // Canadian Journal of Botany. Vol.85. P.644–651.

Glassop D., Smith S.E., Smith F.W. 2005. Cereal phosphate transporters associated with the mycorrhizal pathway of phosphate uptake into roots // Planta. Vol.222. P.688–698.

Glenn M.G., Chew F.S., Williams P.H. 1988. Influence of glucosinolate content of *Brassica* (Cruciferae) on germination of vesicular-arbuscular fungi // New Phytologist. Vol.110. P.217–225.

Glenn M., Tommerup I.C., Bougher N.L., O'Brien P.A. 200.2 Are Sebacinaceae common and widespread ectomycorrhizal associates of *Eucalyptus* species in Australian forests? // Mycorrhiza. Vol.12. P.243–247.

Glerum C., Balatinecz J.J. 1980. Formation and distribution of food reserves during autumn and their subsequent utilisation in jack pine // Canadian Journal of Botany. Vol.58. P.40–54.

Glowa K.R., Arocena J.M., Massicotte H.B. 2003. Extraction of potassium and/or magnesium from selected soil minerals by *Piloderma* // Geomicrobiology Journal. Vol.20. P.99–111.

Gnekow M.A., Marschner H. 1989. Role of VA-mycorrhiza in growth and mineral nutrition of apple *Malus pumila* var. *domestica* rootstock cuttings // Plant and Soil. Vol.119. P.285–293.

Gobert A., Plassard C. 2002. Differential NO_3^- dependent patterns of NO_3^- uptake in *Pinus pinaster*, *Rhizopogon roseolus* and their ectomycorrhizal association // New Phytologist. Vol.154. No.2. P.509–516.

Godbold D.L., Berntson G.M. 1997. Elevated atmospheric CO_2 concentration changes ectomycorrhizal morphotype assemblages in *Betula papyrifera* // Tree Physiology. Vol.17. P.347–350.

Godbold D.L., Berntson G.M., Bazzaz F.A. 1997. Growth and mycorrhizal colonization of three North American tree species under elevated atmospheric CO_2 // New Phytologist. Vol.137. P.433–440.

Godbold D.L., Hoosbeek M.R., Lukac M., Cotrufo F. et al. 2006. Mycorrhizal hyphal turnover as a dominant process for carbon input into soil organic matter // Plant and Soil. Vol.281. P.15–24.

Godbout C., Fortin J.A. 1983. Morphological features of synthesised ectomycorrhizae on *Alnus crispa* and *A. rugosa* // New Phytologist. Vol.94. P.249–262.

Godbout C., Fortin J.A. 1985. Synthesised ectomycorrhizas of aspen: fungal genus level of structural characterisation // Canadian Journal of Botany. Vol.63. P.252–262.

Gogala N. 1991. Regulation of mycorrhizal infection by hormonal factors produced by hosts and fungi // Experientia. Vol.47. P.331–340.

Goh C.J., Sim A.A., Lim G. 1992. Mycorrhizal associations in some tropical orchids // Lindleyana. Vol.7. P.13–17.

Golley F.B. 1965. Structure and function of an old-field broomsedge community // Ecological Monographs. Vol.35. P.113–137.

Gollotte A., Gianinazzi-Pearson V., Giovannetti M., Sbrana C., Avio L., Gianinazzi S. 1993. Cellular localization and cytochemical probing of resistance reactions to arbuscular mycorrhizal fungi in the 'locus *a*' myc$^-$ mutant of *Pisum sativum* L. // Planta. Vol.191. P.112–122.

Gollotte A., Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S. 1994. Etude immunocytochimique des interfaces plante-champignon endomycorhizien a arbuscules chez des pois isogeneiques myc$^+$ ou resistant a endomycorrhization (myc$^-$PB) // Acta Botanica Gallica. Vol.141. P.449–454.

Gonzalez-Chavez C., Harris P.J., Dodd J., Meharg A.A. 2002. Arbuscular mycorrhizal fungi confer enhanced arsenate resistance on *Holcus lanatus* // New Phytologist. Vol.155. P.163–171.

Gonzalez-Guerrero M., Azcón-Aguilar C., Mooney M. et al. 2005. Characterization of a *Glomus intraradices* gene encoding a putative Zn transporter of the cation diffusion facilitator family // Fungal Genetics and Biology. Vol.42. P.130–140.

Goodman D., Durall D., Trofymow T., Berch S. 1998. A manual of concise descriptions of North American ectomycorrhizae // Mycorrhiza. Vol.8. P.57–59.

Goodman D.M., Durall D.M., Trofymow J.A., Berch S.M. (eds.). 1996–2002. A Manual of Concise Descriptions of North American Ectomycorrhizae. Sidney: Mycologue Publications.

Gordon J.C., Larson P.R. 1968. Seasonal course of photosynthesis, respiration and distribution of ^{14}C in young *Pinus resinosa* trees as related to wood formation // Plant Physiology. Vol.43. P.1617–1624.

Gorham E., Vitousek P.M., Reiners W.A. 1979. The regulation of chemical budgets over the course of terrestrial ecosystem succession // Annual Review of Ecological Systems. Vol.10. P.53–84.

Gorissen A., Kuyper T.W. 2000. Fungal species-specific response of ectomycorrhizal Scots pine (*Pinus sylvestris*) to elevated [CO_2] // New Phytologist. Vol.146. P.163–168.
Goss R.W. 1960. Mycorrhiza of ponderosa pine in Nebraska grassland soils // University of Nebraska. Agricultural Experiment Station Research Bulletin. Vol.192. P.47.
Govindarajulu M., Pfeffer P., Jin H. et al. 2005. Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal symbiosis // Nature. Vol.435. P.819–823.
Grace C., Stribley D.P. 1991. A safer procedure for routine staining of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi // Mycological Research. Vol.95. P.1160–1162.
Graham J.H. 1982. Effect of citrus root exudates on germination of chlamydospores of the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus epigaeum* // Mycologia. Vol.74. P.831–835.
Graham J.H. 1986. Citrus mycorrhizae: potential benefits and interactions with pathogens // HortScience. Vol.21. P.1302–1306.
Graham J.H. 1988. Interactions of mycorrhizal fungi with soilborne plant pathogens and other organisms: an introduction // Phytopathology. Vol.78. P.365–366.
Graham J.H. 2001. What do root pathogens see in mycorrhizas? // New Phytologist. Vol.149. P.357–359.
Graham J.H., Abbott L.K. 2000. Wheat responses to aggressive and non-aggressive arbuscular mycorrhizal fungi // Plant and Soil. Vol.220. P.207–218.
Graham J.H., Eissenstat D.M. 1994. Host genotype and the formation and function of VA mycorrhizae // Plant and Soil. Vol.159. P.179–185.
Graham J.H., Syvertsen J.P. 1984. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhiza on the hydraulic conductivity of root of two citrus rootstocks // New Phytologist. Vol.97. P.277–284.
Graham J.H., Syvertsen J.P. 1985. Host determinants of mycorrhizal dependency of citrus rootstock seedlings // New Phytologist. Vol.101. P.667–676.
Graham J.H., Leonard R.T., Menge J.A. 1981. Membrane-mediated decrease in root exudation responsible for inhibition of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation // Plant Physiology. Vol.68. P.548–552.
Graham J.H., Leonard R.T., Menge J.A. 1982a. Interaction of light-intensity and soil-temperature with phosphorus inhibition of vesicular arbuscular mycorrhiza formation // New Phytologist. Vol.91. P.683–690.
Graham J.H., Linderman R.G., Menge J.A. 1982b. Development of external hyphae by different isolates of mycorrhizal *Glomus* spp. in relation to root colonization and growth of Troyer citrange // New Phytologist. Vol.91. P.183–189.
Graham J.H., Syvertsen J.P., Smith M.L. 1987. Water relations of mycorrhizal and phosphorus fertilized non-mycorrhizal citrus under drought stress // New Phytologist. Vol.105. P.411–419.
Graham J.H., Eissenstat D.M., Drouillard D.L. 1991. On the relationship between a plant's mycorrhizal dependency and rate of vesicular-arbuscular mycorrhizal colonization // Functional Ecology. Vol.5. P.773–779.
Graham J.H., Duncan L.W., Eissenstat D.M. 1997. Carbohydrate allocation patterns in citrus genotypes as affected by phosphorus nutrition, mycorrhizal colonization and mycorrhizal dependency // New Phytologist. Vol.135. P.335–343.
Grandmaison J., Benhamou N., Furlan V., Visser S.A. 1988. Ultrastructural localization of *N*-acetylglucosamine residues in the cell wall of *Gigaspora margarita* throughout its life cycle // Biology of the Cell. Vol.63. P.89–100.
Graw D., Moawad M., Rehm S. 1979. Untersuchungen zur wirts und wirkungs spezifitat der VA mykorrhiza // Zeitschrift für Aker und Pflanzenbau. Bd.148. S.85–98.
Green N.E., Graham S.O., Schenk N.C. 1976. The influence of pH on the germination of vesicular-arbuscular mycorrhizal spores // Mycologia. Vol.68. P.929–934.
Green J.J., Newbery D.M. 2002. Reproductive investment and seedling survival of the mastfruiting rainforest tree, *Microberlinia bisulcata*. A. Chev. // Plant Ecology. Vol.162. P.169–183.
Grellet G.A., Meharg A.A., Alexander I.J. 2005. Carbon availability affects nitrogen source utilisation by *Hymenoscyphus ericae* // Mycological Research. Vol.109. P.469–477.
Grente J., Chevalier C., Pollacsek A. 1972. La germination de l'ascospore de *Tuber melanosporum* et la synthese sporale de mycorrhizes // Compte Rendu Hebdomadaire des Sciences de l'Academie des Sciences, Series D. Vol.275. P.743–746.
Grey W.E. 1991. Influence of temperature on colonization of spring barleys by vesicular arbuscular mycorrhizal fungi // Plant and Soil. Vol.137. P.181–190.

Griffith W. 1845. On the root-parasites referred by authors to Rhizantheae; and on various plants related to them // Transactions of the Linnean Society of London. Vol.19. P.303–347.
Griffiths R.P., Caldwell B.A. 1992. Mycorrhizal mat communities in forest soils // D.J. Read, D.H. Lewis, A.H. Fitter, I.J. Alexander (eds.). Mycorrhizas in Ecosystems. Wallingford: CAB International. P.98–105.
Griffiths R.P., Ingham E.R., Caldwell B.A., Castellano M.A., Cromack K.J. 1991. Microbial characteristics of ectomycorrhizal mat communities in Oregon and Californa // Biology and Fertility of Soils. Vol.11. P.196–202.
Griffiths R.P., Baham J.E., Caldwell B.A. 1994. Soil solution chemistry of ectomycorrhizal mats in forest soil // Soil Biology and Biochemistry. Vol.26. P.331–337.
Grime J.P. 1979. Plant Strategies and Vegetation Processes. New York: John Wiley.
Grime J.P., Mackey J.M.L., Hillier S.H., Read D.J. 1987. Floristic diversity in a model system using experimental microcosms // Nature. Vol.328. P.420–422.
Grimoldi A.A., Kavanova M., Lattanzi F.A., Schnyder H. 2005. Phosphorus nutrition-mediated effects of arbuscular mycorrhiza on leaf morphology and carbon allocation in perennial ryegrass // New Phytologist. Vol.168. P.435–444.
Grogan P., Baar J., Bruns T.D. 2000. Below-ground ectomycorrhizal community structure in a recently burned bishop pine forest // Journal of Ecology. Vol.88. P.1051–1062.
Gronbach E., Agerer R. 1986. Charakterisierung und Inventur der Fichtenmykorrhizen im Höglwald und dern Reaktionen auf saure Beregnung // Forstwissenschaftliche Centralblatt. Bd.105. S.329–335.
Groom P. 1895. Contribution to the knowledge of monocotyledonous saprophytes // Journal of the Linnean Society of London. Vol.31. P.149–215.
Groth-Malonek M., Pruchner D., Grewe F., Knoop V. 2004. Ancestors of trans-splicing mitochondrial introns support serial sister relationships of hornworts and mosses with vascular plants // Molecular Biology and Evolution. Vol.22. P.117–125.
Grove T.S., Le Tacon F. 1993. Mycorrhiza in plantation forestry // Advances in Plant Pathology. Vol.9. P.191–228.
Grubb P.J. 1970. Observations on structure and biology of *Haplomitrium* and *Takakia*, hepatics with roots // New Phytologist. Vol.69. No.2. P.303.
Grubb P.J. 1976. A theoretical background to the conservation of ecologically distinct groups of annuals and biennials in the chalk grassland ecosystem // Biological Conservation. Vol.10. P.53–76.
Grubb P.J. 1977. The maintenance of species richness in plant communities: the importance of the regeneration niche // Biological Reviews. Vol.52. P.107–145.
Grubisha L.C., Trappe J.M., Molina R., Spatafora J.W. 2002. Biology of the ectomycorrhizal genus *Rhizopogon*. VI. Re-examination of infrageneric relationships inferred from phylogenetic analyses of ITS sequences // Mycologia. Vol.94. P.607–619.
Grunig C.R., Sieber T.N. 2005. Molecular and phenotypic description of the widespread root symbiont *Acephala applanata* gen. et sp nov., formerly known as dark-septate endophyte Type 1 // Mycologia. Vol.97. No.3. P.628–640.
Grunig C.R., Duo A., Sieber T.N. 2006. Population genetic analysis of *Phialocephala fortinii* s.l. and *Acephala applanata* in two undisturbed forests in Switzerland and evidence for new cryptic species // Fungal Genetics and Biology. Vol.43. P.410–421.
Grunwald U., Nyamsuren O., Tamasloukht M. et al. 2004. Identification of mycorrhiza-regulated genes with arbuscule development-related expression profile // Plant Molecular Biology. Vol.55. P.553–566.
Grunze N., Willmann M., Nehls U. 2004. The impact of ectomycorrhiza formation on monosaccharide transporter gene expression in poplar roots // New Phytologist. Vol.164. P.147–155.
Guaragnella N., Butow R.A. 2003. ATO3 encoding a putative outward ammonium transporter is an RTG-independent retrograde responsive gene regulated by GCN4 and the Ssy1-Ptr3-Ssy5 amino acid sensor system // Journal of Biological Chemistry. Vol.278. No.46. P.45882–45887.
Guerin-Laguette A., Shindo Matsushita N., Suzuki K., Lapeyrie F. 2004. The mycorrhizal fungus *Tricholoma matsutake* stimulates *Pinus densifl ora* seedling growth *in vitro* // Mycorrhiza. Vol.14. P.397–400.
Guidot A., Debaud J.C., Effosse A., Marmeisse R. 2004. Below-ground distribution and persistence of an ectomycorrhizal fungus // New Phytologist. Vol.161. P.539–547.
Güimil S., Chang H.S. et al. 2005. Comparative transcriptomics of rice reveals an ancient pattern of response to microbial colonization // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. Vol.102. P.8066–8070.

Gunning B.E.S., Robards A.W. 1976. Intercellular Communication in Plants. Studies on Plasmodesmata. Berlin: Springer-Verlag.
Güttenberger M. 1995. The protein complement of ectomycorrhizas // A.K. Varma, B. Hock (eds.). Mycorrhiza: Structure, Molecular Biology and Function. Berlin: Springer. P.59–77.
Gütenberger M. 2000. Arbuscules of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi inhabit an acidic compartment within plant roots // Planta. Vol.211. P.299–304.
Güttenberger M., Hampp R. 1992. Ectomycorrhizins-symbiosis-specific or artifactual polypeptides from ectomycorrhizas? // Planta. Vol.188. P.129–136.
Haas J.H., Bar-Yosef B., Krikun J., Barak R., Markovitz T., Kramer S. 1987. Vesicular-arbuscular mycorrhizal-fungus infestation and phosphorus fertigation to overcome pepper stunting after methyl bromide fumigation // Agronomy Journal. Vol.79. P.905–910.
Hadley G. 1969. Cellulose as a carbon source for orchid mycorrhiza // New Phytologist. Vol.68. P.933–939.
Hadley G. 1970. Non-specificity of symbiotic infection in orchid mycorrhiza // New Phytologist. Vol.69. P.1015–1023.
Hadley G. 1975. Organisation and fi ne structure of orchid mycorrhizas // F.E. Sanders, B. Mosse, P.B. Tinker (eds.). Endomycorrhizas. London: Academic Press. P.335–351.
Hadley G. 1982. Orchid mycorrhiza // J. Arditti (ed.). Orchid Biology; Reviews and Perspectives II. New York: Cornell University Press. P.81–118.
Hadley G., Ong S.H. 1978. Nutritional requirements of orchid endophytes // New Phytologist. Vol.81. P.561–569.
Hadley G., Purves S. 1974. Movement of ^{14}carbon from host to fungus in orchid mycorrhiza // New Phytologist. Vol.73. P.475–482.
Hadley G., Williamson B. 1971. Analysis of post infection growth stimulus in orchid mycorrhiza // New Phytologist. Vol.70. P.445–455.
Hadley G., Williamson B. 1972. Features of mycorrhizal infection in some malayan orchids // New Phytologist. Vol.71. P.1111–1118.
Hadley G., Johnson R.P.C., John D.A. 1971. Fine structure of the host-fungus interface in orchid mycorrhiza // Planta. Vol.100. P.191–199.
Hagerberg D., Thelin G., Wallander H. 2003. The production of ectomycorrhizal mycelium in forests: relation between forest nutrient status and local mineral sources // Plant and Soil. Vol.252. P.279–290.
Hahn A., Hock B. 1994. Immunochemical detection of arbuscular mycorrhizae // Experientia. Vol.50. P.913.
Hahn M.G., Buchell P., Gervone F. et al. 1989. Roles of cell wall constituents in plant-pathogen interactions // T. Kosuge, E.W. Nester (eds.). Plant Microbe Interactions: Molecular and Genetic Perspectives. New York: McGraw-Hill. P.131–181.
Hahn A., Gianinazzi-Pearson V., Hock B. 1994 Characterization of arbuscular mycorrhizal fungi by immunochemical methods // S. Gianinazzi, H. Schüepp (eds.). Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems. Basel: Burkhäuser Verlag. P.25–39.
Hahn A., Wright S., Hock B. 2001. Immunochemical characterization of mycorrhizal fungi // B. Hock (ed.). The Mycota – Fungal Associations. Berlin: Springer. P.29–44.
Haines B.L., Best G.R. 1976. *Glomus mosseae*, endomycorrhizal with *Liquidambar styraciflua* L. seedlings retards NO_3, NO_2 and NH_4 nitrogen loss from a temperate forest soil // Plant and Soil. Vol.45. P.257–261.
Hall I.R. 1976. Response of *Coprosma robusta* to different forms of endomycorrhizal inoculum // Transactions of the British Mycological Society. Vol.67. P.409–411.
Hall I.R. 1978. Effects of endomycorrhizas on the competitive ability of white clover // New Zealand Journal of Agricultural Research. Vol.21. P.509–515.
Hall I.R. 1988. Potential for exploiting vesicular-arbuscular mycorrhizas in agriculture // Biotechnology in Agriculture. New York: Alan R. Liss Inc. P.141–174.
Hall I.R., Wang Y. 1998. Methods for cultivating edible ectomycorrhizal mushrooms // A Varma (ed.). Mycorrhiza Manual. Berlin: Springer. P.99–114.
Hall I.R., Brown G., Byars J. 1994. The Black Truffle: its History, Uses and Cultivation. Lincoln: Crop and Food Research.
Hamada M. 1939. Studien uber die Mykorrhiza von *Galeola septentrionalis* Reichb. f.-Ein neuer Fall der Mykorrhiza-Bildung durch intraradicale Rhizomorpha // Japan Journal of Botany. Vol.10. P.151–212.

Hambleton S., Currah R.S. 1997. Fungal endophytes from the roots of alpine and boreal Ericaceae // Canadian Journal of Botany. Vol.75. No.9. P.1570–1581.
Hambleton S., Sigler L. 2005. *Meliniomyces*, a new anamorph genus for root-associated fungi with phylogenetic affinities to *Rhizoscyphus ericae* (*Hymenoscyphus ericae*), Leotiomycetes // Studies in Mycology. Vol.53. P.1–27.
Hambleton S., Egger K.N., Currah R.S. 1998. The genus *Oidiodendron*: species delimitation and phylogenetic relationships based on nuclear ribosomal DNA analysis // Mycologia. Vol.90. P.854–868.
Hambleton S., Huhtinen S., Currah R.S. 1999. *Hymenoscyphus ericae*: a new record from western Canada // Mycological Research. Vol.103. P.1391–1397.
Hamel C., Smith D.L. 1991. Interspecific N-transfer and plant development in a mycorrhizal fi eld-grown mixture // Soil Biology and Biochemistry. Vol.23. P.661–666.
Handley L.L., Daft M.J., Wilson J., Scrimgeour C.M., Ingleby K., Sattar M.A. 1993. Effect of the ectoand VA- mycorrhizal fungi *Hydnagium carneum* and *Glomus clarum* on the $\delta^{15}N$ and $\delta^{13}C$ values of *Eucalytpus globulus* and *Ricinus communis* // Plant, Cell and Environment. Vol.16. P.375–382.
Handley W.R.C. 1954. Mull and Mor Formation in Relation to Forest Soils // Forestry Commission Bulletin. No.23. London: HMSO.
Hans J., Hause B., Strack D., Walter M.H. 2004. Cloning, characterization, and immunolocalization of a mycorrhiza-inducible 1-deoxy-D-xylulose 5-phosphate reductoisomerase in arbusculecontaining cells of maize // Plant Physiology. Vol.134. P.614–624.
Hansen J. et al. 1997. Conifer carbohydrate physiology: updating classical views // H. Rennenberg, W. Eschrich, H. Ziegler (eds.). Ecophysiology of Coniferous Forests. Leiden: Backhuys. P.97–108.
Hardie K. 1985. The effect of removal of extraradical hyphae on water uptake by vesicular-arbuscular mycorrhizal plants // New Phytologist. Vol.101. P.677–684.
Hardie K., Leyton L. 1981. The influence of vesicular-arbuscular mycorrhiza on growth and water relations of red clover I. In phosphate defi cient soil // New Phytologist. Vol.89. P.599–608.
Harley J.L. 1936. Mycorrhiza of *Fagus sylvatica*. DPhil thesis. Oxford: Oxford University.
Harley J.L. 1964. Incorporation of carbon dioxide into excised beech mycorrhizas in the presence and absence of ammonia // New Phytologist. Vol.63. P.203–208.
Harley J.L. 1969. The Biology of Mycorrhiza. London: Leonard Hill.
Harley J.L. 1973. Symbiosis in the ecosystem // Journal of the Natural Science Council Sri Lanka. Vol.1. P.31–48.
Harley J.L. 1978. Mycorrhizas as nutrient absorbing organs // Proceedings of the Royal Society of London Series B. Vol.203. P.1–21.
Harley J.L. 1985. Specificity and penetration of tissues by mycorrhizal fungi // Proceedings of the Indian Academy of Sciences (Plant Sciences). Vol.94. P.99–109.
Harley J.L. 1991. The history of research on mycorrhiza and the part played by Professor Beniamino Peyronel // Fungi, Plants and Soil. A review of forty years' research at the Soil Mycology Centre on the occasion of the centenary of the birth of its founder Beniamino Peyronel. A. Fontana (ed.). Torino: Centro di Studio sulla Micologica del Torreno del CNR. P.31–47.
Harley J.L., Harley E.L. 1987a. A check-list of mycorrhiza in the British Flora // New Phytologist. Vol.105. P.1–102.
Harley J.L., Harley E.L. 1987b. A check list of mycorrhiza in the British Flora – addenda, errata and index // New Phytologist. Vol.107. P.741–749.
Harley J.L., Jennings D.H. 1958 The effect of sugars on the respiratory responses of beech mycorrhiza to salts // Proceedings of the Royal Society of London Series B. Vol.148. P.403–418.
Harley J.L., Loughman B.C. 1963. The uptake of phosphate by excised mycorrhizal roots of the beech. IX. The nature of the phosphate compounds passing to the host // New Phytologist. Vol.62. P.350–359.
Harley J.L., McCready C.C. 1950. Uptake of phosphate by excised mycorrhizas of beech. I // New Phytologist. Vol.49. P.388–397.
Harley J.L., McCready C.C. 1952a. Uptake of phosphate by excised mycorrhiza of the beech. II. Distribution of phosphate between host and fungus // New Phytologist. Vol.51. P.56–64.
Harley J.L., McCready C.C. 1952b. Uptake of phosphate by excised mycorrhizas of the beech. III. The effect of the fungal sheath on the availability of phosphate to the core // New Phytologist. Vol.51. P.343–348.
Harley J.L., McCready C.C. 1981. Phosphate accumulation in *Fagus* mycorrhizas // New Phytologist. Vol.89. P.75–80.

Harley J.L., Smith S.E. 1983. Mycorrhizal Symbiosis. London: Academic Press.
Harley J.L., Waid J.S. 1955. A method of studying active mycelia on living roots and other surfaces in the soil // Transactions of British Mycological Society. Vol.38. P.104–118.
Harley J.L., Wilson J.M. 1959. The absorption of potassium by beech mycorrhizas // New Phytologist. Vol.58. P.281–298.
Harley J.L., McCready C.C., Brierley J.K. 1953. Uptake of phosphate by excised mycorrhizal roots of beech. IV. The effect of oxygen concentrations upon host and fungus // New Phytologist. Vol.52. P.124–132.
Harley J.L., Brierley J.K., McCready C.C. 1954. The uptake of phosphate by excised mycorrhizal roots of the beech. V. The examination of possible sources of misinterpretation of the quantities of phosphorus passing into the host // New Phytologist. Vol.53. P.92–98.
Harley J.L., McCready C.C., Brierley J.K., Jennings D.H. 1956. The salt respiration of excised beechmycorrhizas. II. The relationship between oxygen consumption and phosphate absorption // New Phytologist. Vol.55. P.1–28.
Harley J.L., McCready C.C., Brierley J.K. 1958. The uptake of phosphorus by excised mycorrhizal roots of beech. VII. Translocation of phosphorus in mycorrhizal roots // New Phytologist. Vol.57. P.353–362.
Harold F.M. 1966. Inorganic polyphosphates in biology: structure, metabolism and function // Bacteriological Reviews. Vol.30. P.772–794.
Harrier L.A., Wright F., Hooker J.E. 1998. Isolation of the 3-phosphoglycerate kinase gene of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* Nicol. and Gerd. Gerdemann and Trappe // Current Genetics. Vol.34. P.386–392.
Harrington T.C., McNew D.L. 2003. Phylogenetic analysis places the *Phialophora*-like anamorph genus *Cadophora* in the Helotiales // Mycotaxon. Vol.87. P.141–151.
Harris D., Paul E.A. 1987. Carbon requirements of vesicular-arbuscular mycorrhizae // G.R. Safir (ed.). Ecophysiology of VA mycorrhizae. Boca Raton: CRC Press. P.93–105.
Harris K.K., Boerner R.E.J. 1990. Effects of belowground grazing by collembola on growth, mycorrhizal infection and P uptake of *Geranium robertianum* // Plant and Soil. Vol.129. P.203–210.
Harrison A.F. 1983. Soil Organic Phosphorus – a review of World Literature. Wallingford: CAB International.
Harrison C.R. 1977. Ultrastructural and histochemical changes during germination of *Cattleya aurantica* (Orchidaceae) // Botanical Gazette. Vol.138. P.41–45.
Harrison M.J. 1996. A sugar transporter from *Medicago truncatula*: altered expression pattern in roots during vesicular-arbuscular (VA) mycorrhizal associations // The Plant Journal. Vol.9. P.491–503.
Harrison M.J. 1999. Molecular and cellular aspects of the arbuscular mycorrhizal symbiosis // Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. Vol.50. P.361–389.
Harrison M.J. 2005. Signaling in the arbuscular mycorrhizal symbiosis // Annual Review of Microbiology. Vol.59. P.19–42.
Harrison M.J., van Buuren M.L. 1995. A phosphate transporter from the mycorrhizal fungus *Glomus versiforme* // Nature. Vol.378. P.626–632.
Harrison M.J., Dixon R.A. 1993. Isoflavonoid accumulation and expression of defense gene transcripts during the establishment of vesicular-arbuscular mycorrhizal associations in roots of *Medicago truncatula* // Molecular Plant-Microbe Interactions. Vol.6. P.643–654.
Harrison M.J., Dixon R.A. 1994. Spatial patterns of expression of fl avonoid/isoflavonoid pathway genes during interactions between roots of *Medicago truncatula* and the mycorrhizal fungus *Glomus versiforme* // The Plant Journal. Vol.6. P.9–20.
Harrison M.J., Dewbre G.R., Liu J.Y. 2002. A phosphate transporter from *Medicago truncatula* involved in the acquisition of phosphate released by arbuscular mycorrhizal fungi // The Plant Cell. Vol.14. P.2413–2429.
Hart M.M., Reader R.J. 2002a. Taxonomic basis for variation in the colonization strategy of arbuscular mycorrhizal fungi // New Phytologist. Vol.153. P.335–344.
Hart M.M., Reader R.J. 2002b. Does percent root length colonization and soil hyphal length reflect the extent of colonization for all AMF? // Mycorrhiza. Vol.12. P.297–301.
Hart M.M., Reader R.J. 2002c. Host plant benefit from association with arbuscular mycorrhizal fungi: variation due to differences in size of mycelium // Biology and Fertility of Soils. Vol.36. P.357–366.
Hart T.B., Hart J.A., Murphy P.G. 1989. Monodominant and species-rich forests of the humid tropics – causes for their co-occurrence // American Naturalist. Vol.133. P.613–633.

Hartnett D.C., Wilson G.W.T. 1999. Mycorrhizae influence plant community structure and diversity in tall grass prairie // Ecology. Vol.80. P.1187–1195.
Hartnett D.C., Wilson G.W.T. 2002. The role of mycorrhizas in plant community structure and dynamics: lessons from grasslands // Plant and Soil. Vol.244. P.319–331.
Hartnett D.C., Hetrick B.A.D., Wilson G.W.T., Gibson D.J. 1993. Mycorrhizal influence on intra- and interspecific neighbour interactions among co-occuring prairie grasses // Journal of Ecology. Vol.81. P.787–795.
Harvais G., Hadley G. 1967a. The development of *Orchis purpurella* in asymbiotic and inoculated cultures // New Phytologist. Vol.66. P.217–230.
Harvais G., Hadley G. 1967b. The relation between host and endophyte in orchid mycorrhiza // New Phytologist. Vol.66. P.205–215.
Haselwandter K. 1995. Mycorrhizal fungi – siderophore production // Critical Reviews in Biotechnology. Vol.15. P.287–291.
Haselwandter K., Read D.J. 1980. Fungal association of roots of dominant and sub-dominant plants in high-alpine vegetation systems with special reference to mycorrhiza // Oecologia. Vol.45. P.57–62.
Haselwandter K., Read D.J. 1982. The significance of a root-fungus association in two *Carex* species of high-alpine plant communities // Oecologia. Vol.53. P.352–354.
Haselwandter K., Hoffmann A., Holzmann H.P., Read D.J. 1983. Availability of nitrogen and phosphorus in the nival zone of the Alps // Oecologia. Vol.57. P.266–269.
Haselwandter K., Bobleter O., Read D.J. 1990. Degradation of ^{14}C-labelled lignin and dehydropolymer of coniferyl alcohol by ericoid and ectomycorrhizal fungi // Archives of Microbiology. Vol.153. P.352–354.
Haselwandter K., Dobernigg B., Beck W., Jung G., Cansier A., Winkelmann G. 1992. Isolation and identification of hydroxamate siderophores of ericoid mycorrhizal fungi // BioMetals. Vol.5. P.51–56.
Hatch A.B. 1937. The physical basis of mycotrophy in the genus *Pinus* // Black Rock Forest Bulletin. Vol.6. P.168.
Hatch A.B., Doak K.D. 1933. Mycorrhizal and other features of the root system of *Pinus* // Journal of the Arnold Arboretum. Vol.14. P.85–99.
Hattingh M.J. 1975. Uptake of ^{32}P-labelled phosphate by endomycorrhizal roots in soil chambers // Endomycorrhizas. F.E. Sanders, P.B. Tinker, B. Mosse (eds.). London: Academic Press. P.289–295.
Hattingh M.J., Gray L.E., Gerdemann J.W. 1973. Uptake and translocation of ^{32}P-labelled phosphate to onion roots by endomycorrhizal fungi // Soil Science. Vol.116. P.383–387.
Haug I., Weber R., Oberwinkler F., Tschen J. 1991. Tuberculate mycorrhizas of *Castanopsis borneensis* King and *Engelhardtia roxburghiana* Wall. // New Phytologist. Vol.117. P.25–35.
Haugen L.M., Smith S.E. 1992. The effect of high temperature and fallow period on infection of mung bean and cashew roots by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* // Plant and Soil. Vol.145. P.71–80.
Häussling M., Marschner H. 1989. Organic and inorganic soil phosphates and acid phosphatase activity in the rhizosphere of 80-year-old Norway spruce *Picea abies* L. Karst. trees // Biology and Fertility of Soils. Vol.8. P.128–133.
Hawkins H.J., Johansen A., George E. 2000. Uptake and transport of organic and inorganic nitrogen by arbuscular mycorrhizal fungi // Plant and Soil. P.226. P.275–285.
Hayman D.S. 1970. Endogone spore numbers in soil and vesicular-arbuscular mycorrhiza in wheat as influenced by season and soil treatment // Transactions of the British Mycological Society. Vol.54. P.53–63.
Hayman D.S. 1974. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. VI. Effect of light and temperature // New Phytologist. Vol.73. P.71–80.
Hayman D.S. 1983. The physiology of vesicular-arbuscular endomycorrhizal symbiosis // Canadian Journal of Botany. Vol.61. P.944–963.
Hayman D.S., Mosse B. 1971. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. I. Growth of *Endogone*-inoculated plants in phosphate-deficient soils // New Phytologist. Vol.70. P.19–27.
Hayman D.S., Mosse B. 1972. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. III. Increased uptake of labile P from soil // New Phytologist. Vol.71. P.41–47.
Hayman D.S., Johnson A.M., Ruddlesdin I. 1975. The influence of phosphate and crop species on Endogone spores and vesicular-arbuscular mycorrhiza under field conditions // Plant and Soil. Vol.43. P.489–495.

Haystead A., Malajczuk N., Grove T.S. 1988. Underground transfer of nitrogen between pasture plants infected with VA mycorrhizal fungi // New Phytologist. Vol.108. P.417–423.
He X.H., Bledsoe C., Zasoski R.J., Southworth D., Horwath W.R. 2006. Rapid nitrogen transfer from ectomycorrhizal pines to adjacent ectomycorrhizal and arbuscular mycorrhizal plants in a California oak woodland // New Phytologist. Vol.170. P.143–151.
He-Nygren X., Juslen A., Ahonen I., Glenny D., Piippo S. 2006. Illuminating the evolutionary history of liverworts (Marchantiophyta) – towards a natural classification // Cladistics. Vol.22. P.1–31.
Heal O.W., Bailey A.D., Latter P.M. 1967. Bacteria, fungi and protozoa in Signy Island soils compared with those from a temperate moorland // Philosophical Transactions of the Royal Society B. Vol.252. P.191–197.
Heath M.C. 1981. A generalized concept of host-parasite specificity // Phytopathology. Vol.71. P.1121–1123.
Heath M.C., Heath I.B. 1975. Ultrastructural changes associated with the haustorial mother cell during haustorium formation in *Uromyces phaseoli* var. *vignae* // Protoplasma. Vol.84. P.297–314.
Heckman D.S., Geiser D.M., Eidell B.R., Stauffer R.L., Kardos N.L., Hedges S.B. 2001. Molecular evidence for the early colonization of land by fungi and plants // Science. Vol.293. P.1129–1133.
Hedlund K., Regina I.S. et al. 2003. Plant species diversity, plant biomass and responses of the soil community on abandoned land across Europe: idiosyncracy or above-belowground time lags // Oikos. Vol.103. P.45–58.
Heinemeyer A., Ridgway K.P., Edwards E.J., Benham D.G., Young J.P.W., Fitter A.H. 2004. Impact of soil warming and shading on colonization and community structure of arbuscular mycorrhizal fungi in roots of a native grassland community // Global Change Biology. Vol.10. P.52–64.
Heinemeyer A., Ineson P., Ostle N., Fitter A. 2006. Respiration of the external mycelium in the arbuscular mycorrhizal symbiosis shows strong dependence on recent photosynthesis and acclimation to temperature // New Phytologist. Vol.171. P.159–170.
Heinrich P.A., Patrick J.W. 1986. Phosphorus acquisition in the soil-root system of *Eucalyptus pilularis* Smith seedlings. II. The effect of ectomycorrhiza on seedling phosphorus and dry weight acquisition // Australian Journal of Botany. Vol.34. P.445–454.
Helgason T., Daniell T.J., Husband R., Fitter A.H., Young J.P.W. 1998. Ploughing up the wood-wide web? // Nature. Vol.394. P.431.
Helgason T., Fitter A.H., Young J.P.W. 1999. Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi colonising *Hyacinthoides non-scripta* (bluebell) in a seminatural woodland // Molecular Ecology. Vol.8. P.659–666.
Helgason T., Merryweather J.W., Denison J., Wilson P., Young J.P.W., Fitter A.H. 2002. Selectivity and functional diversity in arbuscular mycorrhizas of co-occurring fungi and plants from a temperate deciduous woodland // Journal of Ecology. Vol.90. P.371–384.
Helgason T., Watson I., Young J.P.W. 2003. Phylogeny of the Glomerales and Diversisporales (Fungi): Glomeromycota from actin and elongation factor 1-alpha sequences // FEMS Microbiology Letters. Vol.229. P.127–132.
Hendricks J.J., Mitchell R.J., Kuehn K.A., Pecot S.D., Sims S.E. 2006. Measuring external mycelia production of ectomycorrhizal fungi in the fi eld: the soil matrix matters // New Phytologist. Vol.171. P.179–186.
Hendrix J.W., Jones K.J., Nesmith W.C. 1992. Control of pathogenic mycorrhizal fungi in maintenance of soil productivity by crop-rotation // Journal of Production Agriculture. Vol.5. P.383–386.
Hendrix J.W., Guo B.Z., An Z.Q. 1995. Divergence of mycorrhizal fungal communities in crop production systems // Plant and Soil. Vol.170. P.131–140.
Henkel T.W. 2003. Monodominance in the ectomycorrhizal *Dicymbe corymbosa* (Caesalpinaceae) from Guyana // Journal of Tropical Ecology. Vol.19. P.417–437.
Henkel T.W., Terborgh J., Vilgalys R.J. 2002. Ectomycorrhizal fungi and their leguminous hosts in the Pakaraima Mountains of Guyana // Mycological Research. Vol.106. P.515–531.
Henkel T.W., Mayor J.R., Woolley L.P. 2005. Mast fruiting and seedling survival of the ectomycorrhizal, monodominant *Dicymbe corymbosa* (Caesalpinaceae) in Guyana // New Phytologist. Vol.167. P.543–556.
Henrion B., Letacon F., Martin F. 1992. Rapid identification of genetic-variation of ectomycorrhizal fungi by amplification of ribosomal-RNA genes // New Phytologist. Vol.122. P.289–298.
Hentschel E., Godbold D.L., Marschner P., Schlegel H., Jentschke G. 1993. The effect of *Paxillus involutus* Fr on aluminum sensitivity of Norway spruce seedlings // Tree Physiology. Vol.12. P.379–390.

Hepper C.M. 1977. A colorimetric method for estimating vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots // Soil Biology and Biochemistry. Vol.9. P.15–18.
Hepper C.M. 1979. Germination and growth of *Glomus caledonius* spores: the effects of inhibitors and nutrients // Soil Biology and Biochemistry. Vol.11. P.269–277.
Hepper C.M. 1981. Techniques for studying the infection of plants by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi under axenic conditions // New Phytologist. Vol.88. P.641–647.
Hepper C.M. 1983a. Effect of phosphate on germination and growth of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi // Transactions of the British Mycological Society. Vol.80. P.487–490.
Hepper C.M. 1983b. Limited independent growth of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *in vitro* // New Phytologist. Vol.93. P.537–542.
Hepper C.M. 1984a. Inorganic sulphur nutrition of the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus caledonium* // Soil Biology and Biochemistry. Vol.16. P.669–671.
Hepper C.M. 1984b. Isolation and culture of VA mycorrhizal (VAM) fungi // VA Mycorrhizae. C.L. Powell, D.J. Bagjaraj (eds.). Boca Raton: CRC Press. P.95–112.
Hepper C.M., Jakobsen I. 1983. Hyphal growth from spores of the mycorrhizal fungus *Glomus caledonius*: effect of amino acids // Soil Biology and Biochemistry. Vol.15. P.55–58.
Hepper C.M., Mosse B. 1975. Techniques used to study the interaction between *Endogone* and plant roots // F.E Sanders, B. Mosse, P.B. Tinker (eds.). Endomycorrhizas. London: Academic Press. P.65–75.
Hepper C.M., Smith G.A. 1976. Observations on the germination of *Endogone* spores // Transactions of the British Mycological Society. Vol.66. P.189–194.
Hepper C.M., Warner A. 1983. Role of organic matter in growth of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus in soil // Transactions of the British Mycological Society. Vol.81. P.155–156.
Herold A. 1980. Regulation of photosynthesis by sink activity – the missing link // New Phytologist. Vol.86. P.131–144.
Hesselman H. 1990. Om mykorrhizabildingar hos arktiska växter // Bilhang Till Vetenskakadamie Handlingar. Bd.26. S.1–46.
Hetrick B.A.D., Wilson G.T., Kitt D.G., Schwab A.P. 1988. Effects of soil microorganisms on mycorrhizal contribution to growth of big bluestem grass in non sterile soil // Soil Biology and Biochemistry. Vol.20. P.501–507.
Hetrick B.A.D., Wilson G.W.T., Hartnett D.C. 1989. Relationship between mycorrhizal dependence and competitive ability of two tallgrass prairie grasses // Canadian Journal of Botany. Vol.67. P.2608–2615.
Hetrick B.A.D., Wilson G.W.T., Todd T.C. 1990. Differential responses of C_3 and C_4 grasses to mycorrhizal symbiosis, phosphorus fertilization, and soil microorganisms // Canadian Journal of Botany. Vol.68. P.461–467.
Hetrick B.A.D., Wilson G.W.T., Leslie J.F. 1991. Root architecture of warm- and cool- season grasses: Relationship to mycorrhizal dependence // Canadian Journal of Botany. Vol.69. P.112–118.
Hetrick B.A.D., Wilson G.W.T., Todd T.C. 1992. Relationships of mycorrhizal symbiosis, rooting strategy, and phenology among tallgrass prairie forbs // Canadian Journal of Botany. Vol.70. P.1521–1528.
Hetrick B.A.D., Wilson G.W.T., Cox T.S. 1993a. Mycorrhizal dependance of modern wheat cultivars and ancestors: a synthesis // Canadian Journal of Botany. Vol.71. P.512–518.
Hetrick B.A.D., Wilson G.W.T., Cox T.S. 1993b. Mycorrhizal dependence of modern wheat varieties and ancestors // Canadian Journal of Botany. Vol.70. P.2032–2040.
Hetrick B.A.D., Hartnett D.C., Wilson G.W.T., Gibson D.J. 1994a Effects of mycorrhizae, phosphorus availability and plant density on yield relationships among competing tallgrass prairie grasses // Canadian Journal of Botany. Vol.72. P.168–176.
Hetrick B.A.D., Wilson G.W.T., Schwab A.P. 1994b. Mycorrhizal activity in warm- and cool-season grasses: variation in nutrient uptake strategies // Canadian Journal of Botany. Vol.72. P.1002–1008.
Hetrick B.A.D., Wilson G.W.T., Todd T.C. 1996. Mycorrhizal response in wheat cultivars: relationship to phosphorus // Canadian Journal of Botany. Vol.74. P.19–25.
Hibbett D.S., Donoghue M.J. 1995. Progress toward a phylogenetic classification of the Polyporaceae through parsimony analysis of mitochondrial ribosomal DNA-sequences // Canadian Journal of Botany. Vol.73. P.S853–S861.
Hibbett D.S., Gilbert L.B., Donoghue M.J. 2000. Evolutionary instability of ectomycorrhizal symbioses in basidiomycetes // Nature. Vol.407. P.506–508.

Hibbett D.S., Nilsson M., Snyder M., Fonseca J., Costanzo J., Schonfeld M. 2005. Automated phylogenetic taxonomy: an example in the Homobasidiomycetes (mushroom forming fungi) // Systematic Biology. Vol.54. P.660–668.

Hietala A.M. 1997. The mode of infection of a pathogenic uninucleate *Rhizoctonia* sp. in conifer seedling roots // Canadian Journal of Forest Research-Revue Canadienne De Recherche Forestiere. Vol.27. P.471–480.

Hietala A.M., Sen R. 1996. *Rhizoctonia* associates with forest trees // R. Sneh et al. (eds.). *Rhizoctonia* spp: Taxonomy, Molecular Biology, Ecology, Pathology and Disease Control. Dordrecht: Kluwer. P.351–358.

Hijri M., Sanders I.R. 2004. The arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* is haploid and has a small genome size in the lower limit of eukaryotes // Fungal Genetics and Biology. Vol.41. P.253–261.

Hijri M., Sanders I.R. 2005. Low gene copy number shows that arbuscular mycorrhizal fungi inherit genetically different nuclei // Nature. Vol.433. P.160–163.

Hilbert J.L., Martin F. 1988. Regulation of gene expression in ectomycorrhizas. I. Protein changes and the presence of ectomycorrhiza specific polypeptides in the *Pisolithus-Eucalyptus* symbiosis // New Phytologist. Vol.110. P.339–346.

Hilbert J.L., Costa G., Martin F. 1991. Ectomycorrhizin synthesis and polypeptide changes during the early stage of eucalypt mycorrhiza development // Plant Physiology. Vol.97. P.977–984.

Hildebrandt U., Schmelzer E., Bothe H. 2002. Expression of nitrate transporter genes in tomato colonized by an arbuscular mycorrhizal fungus // Physiologia Plantarum. Vol.115. P.125–136.

Hildebrandt U., Ouziad F., Marner F-J., Bothe H. 2006. The bacterium *Paenibacillus validus* stimulates growth of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* up to the formation of fertile spores // FEMS Microbiology Letters. Vol.254. P.258–267.

Hingston F.J., Malajczuk N., Grove T.S. 1982. Acetylene reduction (N_2-fixation) by Jarrah forest legumes following fire and phosphate application // Journal of Applied Ecology. Vol.19. P.631–646.

Hirrel M.C., Gerdemann J.W. 1979. Enhanced carbon transfer between onions infected with a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus // New Phytologist.Vol.83. P.731–738.

Ho I., Trappe J.M. 1973. Translocation of ^{14}C from *Festuca* plants to their endomycorrhizal fungi // Nature. Vol.244. P.30–31.

Ho I., Trappe J.M. 1975. Nitrate reducing capacity of two vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi // Mycologia. Vol.67. P.886–888.

Ho I., Trappe J.M. 1987. Enzymes and growth substances of *Rhizopogon* species in relation to mycorrhizal host and infrageneric taxonomy // Mycologia. Vol.9. P.553–558.

Hobbie E.A., Colpaert J.V. 2003. Nitrogen availability and colonization by mycorrhizal fungi correlate with nitrogen isotope patterns in plants // New Phytologist. Vol.157. P.115–126.

Hobbie E.A., Macko S.A., Shugart H.H. 1999. Insights into nitrogen and carbon dynamics of ectomycorrhizal and saprotrophic fungi from isotopic evidence // Oecologia. Vol.118. P.353–360.

Hobbie E.A., Weber N.S., Trappe J.M. 2001. Mycorrhizal *vs* saprotrophic status of fungi: the isotopic evidence // New Phytologist. Vol.150. P.601–610.

Hobbie E.A., Tingey D.T., Rygiewicz P.T., Johnson M.G., Olszyk D.M. 2002. Contributions of current year photosynthate to fi ne roots estimated using a C-13-depleted CO_2 source // Plant and Soil. Vol.247. P.233–242.

Hobbie E.A., Jumpponen A., Trappe J. 2005. Foliar and fungal ^{15}N:^{14}N ratios reflect development of mycorrhizae and nitrogen supply during primary succession: testing analytical models // Oecologia. Vol.146. P.258–268.

Hodge A. 1996. Impact of elevated CO_2 on mycorrhizal associations and implications for plant growth // Biology and Fertility of Soils. Vol.23. P.388–398.

Hodge A. 2001. Arbuscular mycorrhizal fungi influence decomposition of, but not plant nutrient capture from, glycine patches in soil // New Phytologist. Vol.151. P.725–734.

Hodge A., Campbell C.D., Fitter A.H. 2001. An arbuscular mycorrhizal fungus accelerates decomposition and acquires nitrogen directly from organic material // Nature. Vol.413. P.297–299.

Hoffland E., Giesler R., Jongmans T., van Breemen N. 2002. Increasing feldspar tunneling by fungi across a north Sweden podzol chronosequence // Ecosystems. Vol.5. P.11–22.

Hoffland E., Giesler R., Jongmans A.G., van Breemen N. 2003. Feldspar tunneling by fungi along natural productivity gradients // Ecosystems. Vol.6. P.739–746.

Hoffland E., Kuyper T.W., Wallender H. 2004. The role of fungi in weathering // Frontiers in Ecology and the Environment. Vol.2. P.258–264.

Högberg M.N., Högberg P. 2002. Extramatrical ectomycorrhizal mycelium contributes onethird of microbial biomass and produces, together with associated roots, half the dissolved organic carbon in a forest soil // New Phytologist. Vol.154. P.791–795.

Högberg M.N., Beeth E., Nordgren A., Arnebrant K., Högberg P. 2003. Contrasting effects of nitrogen availability on plant carbon supply to mycorrhizal fungi and saprotrophs – a hypothesis based on field observations in boreal forest // New Phytologist. Vol.160. P.225–238.

Högberg M.N., Högberg P., Myrold D.D. 2007. Is microbial community composition in boreal forest soils determined by pH, C-to-N ratio, the trees or all three? // Oecologia. Vol.150. P.590 –601.

Högberg M.N., Myrold D.D., Giesler R., Högberg P. 2006. Contrasting patterns of soil N-cycling in model ecosystems of Fennoscandian boreal forests // Oecologia. Vol.147. P.96–107.

Högberg P. 1982. Mycorrhizal associations in some woodland and forest trees and shrubs in Tanzania // New Phytologist. Vol.92. P.407–415.

Högberg P. 1986. Soil nutrient availability, root symbioses and tree composition in tropical Africa – a review // Journal of Tropical Ecology. Vol.2. P.359–372.

Högberg P. 1989. Root symbioses of trees in savannas // J Proctor (ed.). Mineral Nutrients in Tropical Forest and Savanna Ecosystems. Oxford: Blackwell. P.123–136.

Högberg P. 1992. Root symbioses of trees in African dry tropical forests // Journal of Vegetation Science. Vol.3. P.393–400.

Högberg P., Alexander I.J. 1995. Roles of root symbioses in African woodland and forest: evidence from ^{15}N abundance and foliar analysis // Journal of Ecology. Vol.83. P.217–224.

Högberg P., Pearce G.D. 1986. Mycorrhizas in Zambian trees in relation to taxonomy, vegetation communities and successional patterns // Journal of Ecology. Vol.74. P.775–785.

Högberg P., Read D.J. 2006. Towards a more plant physiological perspective on soil ecology // Trends in Ecology and Evolution. Vol.21. P.544–548.

Högberg P., Nasholm T., Hogbom L., Stahl L. 1994. Use of ^{15}N labelling and ^{15}N natural abundance to quantify the role of mycorrhizas in N uptake by plants: importance of seed N and of changes in the ^{15}N labelling of available N // New Phytologist. Vol.127. P.515–519.

Högberg P., Hogbom L., Schinkel H., Högberg M., Johannisson C., Wallmark H. 1996. N-15 abundance of surface soils, roots and mycorrhizas in profiles of European forest soils // Oecologia. Vol.108. P.207–214.

Högberg P., Högberg M.N., Quist M.E., Ekblad A., Nasholm T. 1999. Nitrogen isotope fractionation during nitrogen uptake by ectomycorrhizal and non-mycorrhizal *Pinus sylvestris* // New Phytologist. Vol.142. P.569–576.

Högberg P., Nordgren A., Buchmann N. et al. 2001. Large-scale forest girdling shows that current photosynthesis drives soil respiration // Nature. Vol.411. P.789–792.

Hohnjec N., Vieweg M.E., Puhler A., Becker A., Kuster H. 2005. Overlaps in the transcriptional profiles of *Medicago truncatula* roots inoculated with two different *Glomus* fungi provide insights into the genetic program activated during arbuscular mycorrhiza // Plant Physiology. Vol.137. P.1283–1301.

Holevas C.D. 1966. The effect of vesicular-arbuscular mycorrhiza on the uptake of soil phosphorus by strawberry *Fragaria* sp. var. Cambridge Favourite // The Journal of Horticultural Science. Vol.41. P.57–64.

Holley J.D., Peterson R.L. 1979. Development of a vesicular-arbuscular mycorrhiza in bean roots // Canadian Journal of Botany. Vol.57. P.1960–1978.

Hooker J.E., Jaizme-Vega M., Atkinson D. 1994. Biocontrol of plant pathogens using arbuscular mycorrhizal fungi // S. Gianinazzi, H. Schüepp (eds.). Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems. Basel: Birkhäuser Verlag. P.191–200.

Horan D.P., Chilvers G.A. 1990. Chemotropism – the key to ectomycorrhizal formation // New Phytologist. Vol.116. P.297–301.

Horan D.P., Chilvers G.A., Lapeyrie F.F. 1988. Time sequence of the infection process in eucalypt ectomycorrhizas // New Phytologist. Vol.109. P.451–458.

Horton T.R., Bruns T.D. 1998. Multiple-host fungi are the most frequent and abundant ectomycorrhizal types in a mixed stand of Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii*) and bishop pine (*Pinus muricata*) // New Phytologist. Vol.139. No.2. P.331–339.

Horton J.L., Hart S.C. 1998. Hydraulic lift: a potentially important ecosystem process // Trends in Ecology and Evolution. Vol.13. No.6. P.232–235.

Horton T.R., Cazares E., Bruns T.D. 1998. Ectomycorrhizal, vesicular-arbuscular and dark septate fungal colonization of bishop pine (*Pinus muricata*) seedlings in the first 5 months of growth after wildfire // Mycorrhiza. Vol.8. P.11–18.

Hosny M., Dulieu H. 1994. Organisation of the genome of *Scutellospora castanea*, an endomycorrhizal fungus // Abstracts of the 4th European Symposium on Mycorrhizas. Granada: Estacion del Zaidin. P.90.

Hosny M., Gianinazzi-Pearson V., Dulieu H. 1998. Nuclear DNA content of 11 fungal species in Glomales // Genome. P.422–428.

Howe R., Evans R.L., Ketteridge S.W. 1997. Copper-binding proteins in ectomycorrhizal fungi // New Phytologist. Vol.135. P.123–131.

Huang R.S., Smith W.K., Yost R.S. 1985. Influence of vesicular-arbuscular mycorrhiza on growth, water relations, and leaf orientation in *Leucaena leucocephala* Lam. De Wit. // New Phytologist. Vol.99. P.229–243.

Humpert A.J., Muench E.L., Giachini A.J., Castellano M.A., Spatafora J.W. 2001. Molecular phylogenetics of *Ramaria* and related genera: evidence from nuclear large subunit and mitochondrial small subunit rDNA sequences // Mycologia. Vol.93. P.465–477.

Hung L-L., Molina R. 1986. Temperature and time in storage infl uence the efficacy of selected isolates of fungi in commercially produced ectomycorrhizal inoculum // Forest Science. Vol.32. P.534–545.

Husband R., Herre E.A., Turner S.L, Gallery R., Young J.P.W. 2002a. Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi and patterns of host association over time and space in a tropical forest // Molecular Ecology. Vol.11. P.2669–2678.

Husband R., Herre E.A., Young J.P.W. 2002b. Temporal variation in the arbuscular mycorrhizal communities colonising seedlings in a tropical forest // FEMS Microbiology Ecology. Vol.42. P.131–136.

Hutchings M.J., Bradbury S.M. 1986. Ecological perspectives on clonal perennial herbs // BioScience. Vol.36. P.178–182.

Hutchinson L. 1990. Studies on the systematics of ectomycorrhizal fungi in axenic culture. II. The enzymatic degradation of selected carbon and nitrogen compounds // Canadian Journal of Botany. Vol.68. P.1522–1530.

Hutton B.J., Dixon K.W., Sivasithamparam K. 1994. Ericoid endophytes of Western Australian heaths (*Epacridaceae*) // New Phytologist. Vol.127. P.557–566.

Imaizumi-Anraku H., Takeda N. et al. *2*005. Plastid proteins crucial for symbiotic fungal and bacterial entry into plant roots // Nature. Vol.433. P.527–531.

Imhof S. 1997. Root anatomy and mycotrophy of the achlorophyllous *Voyria tenella* Hook. (Gentianaceae) // Botanica Acta. Vol.110. P.298–305.

Imhof S. 1998. Subterranean structures and mycotrophy of the achlorophyllous *Triuris hyalina* (Triuridaceae) // Canadian Journal of Botany. Vol.76. P.2011–2019.

Imhof S. 1999a. Anatomy and mycotrophy of the achlorophyllous *Afrothismia winkleri* // New Phytologist. Vol.144. P.533–540.

Imhof S. 1999b. Root morphology, anatomy and mycotrophy of the achlorophyllous *Voyria aphylla* Jacq. Pers. (Gentianaceae) // Mycorrhiza. Vol.9. P.33–39.

Imhof S. 1999c. Subterranean structures and mycorrhiza of the achlorophyllous *Burmannia tenella* (Burmanniaceae) // Canadian Journal of Botany. Vol.77. P.637–643.

Imhof S. 2001. Subterranean structures and mycotrophy of the achlorophyllous *Dictyostega orobanchoides* (Burmanniaceae) // Revista de Biologia Tropical. Vol.49. P.239–247.

Imhof S. 2003. A dorsiventral mycorrhizal root in the achlorophyllous *Sciaphila polygyna* (Triuridaceae) // Mycorrhiza. Vol.13. P.327–332.

Imhof S. 2006. Two distinct fungi colonize roots and rhizomes of the myco-heterotrophic *Afrothismia gesnerioides* (Burmanniaceae) // Canadian Journal of Botany. Vol.84. No.5. P.852–861.

Imhof S., Weber H.C. 1997. Root anatomy and mycotrophy AM of the achlorophyllous *Voyria truncata* (Standley) Standley and Steyermark (Gentianaceae) // Botanica Acta. Vol.110. P.127–134.

Imhof S., Weber H.C. 2000. Root structures and mycorrhiza of the achlorophyllous *Voyria obconica* (Gentianaceae) // Symbiosis. Vol.29. No.3. P.201–211.

Ingestad T., Arveby A., Kähr M. 1986. The influence of ectomycorrhiza on nitrogen nutrition and growth of *Pinus sylvestris* seedlings // Physiologia Plantarum. Vol.68. P.575–582.

Ingleby K., Mason P.A., Last F.T., Fleming L.V. 1990. Identification of ectomycorrhizas // Institute of Terrestrial Ecology Research Publication No.5. London: HMSO.

Ingleby K., Munro R.C., Noor M., Mason P.A., Clearwater M.J. 1998. Ectomycorrhizal populations and growth of *Shorea parvifolia* (Dipterocarpaceae) seedlings regenerating under three different forest canopies following logging // Forest Ecology and Management. Vol.111. P.171–179.

IPCC. 2001. Climate Change 2001, Intergovernmental Panel on Climate Change Third Assessment Report. New York: Cambridge University Press.

Isagi Y., Sugimura K., Sumida A., Ito H. 1997. How does masting happen and synchronize? // Journal of Theoretical Biology. Vol.187. P.231–239.

Isayenkov S., Fester T., Hause B. 2004. Rapid determination of fungal colonization and arbuscule formation in roots of *Medicago truncatula* using real-time RT PCR // Journal of Plant Physiology. Vol.161. P.1379–1383.

Ivory M.H. 1980. Ectomycorrhizal fungi of lowland tropical pines in natural forests and exotic plantations // P Mikola (ed.). Tropical Mycorrhiza Research. P.110–117. Oxford: Clarendon Press.

Izumi H., Anderson I.C., Alexander I.J., Killham K., Moore E.R.B. 2006. Endobacteria in some ectomycorrhiza of Scots pine *(Pinus sylvestris*) // FEMS Microbiological Ecology. Vol.56. P.34–43.

Jackson R.M., Walker C., Luff S., McEvoy C. 1995. Inoculation and field testing of Sitka spruce and Douglas fir with ectomycorrhizal fungi in the United Kingdom // Mycorrhiza. Vol.5. P.165–173.

Jackucs E., Bratek Z., Agerer R. 1998. *Genea verrucosa* Vitt. + *Quercus* spec. // Descriptions of Ectomycorrhizae. Vol.3. P.19.

Jacob C., Courbot M., Brun A. et al. 2001. Molecular cloning, characterization and regulation by cadmium of a superoxide dismutase from the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus* // European Journal of Biochemistry. Vol.268. P.3223–3232.

Jacob C., Courbot M.L., Martin F., Brun A., Chalot M. 2004. Transcriptomic responses to cadmium in the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus* // FEBS Letters. Vol.576. P.423–427.

Jacobs P.E., Peterson R.L., Massicotte H.B. 1989. Altered fungal morphogenesis during early stages of ectomycorrhiza formation in *Eucalyptus pilularis* // Scanning Microscopy. Vol.3. P.249–255.

Jacquelinet-Jeanmougin S., Gianinazzi-Pearson V. 1983. Endomycorrhizas in the Gentianaceae. I. The fungi associated with *Gentiana lutea* L. // New Phytologist. Vol.95. P.663–666.

Jacquelinet-Jeanmougin S., Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S. 1987. Endomycorrhizas in the Gentianaceae. II. Ultrastructural aspects of symbiont relationships in *Gentiana lutea* L. // Symbiosis. Vol.3. P.269–286.

Jakobsen I. 1986. Vesicular-arbuscular mycorrhiza in field grown crops. III. Mycorrhizal infection and rates of phosphorus infl ow in pea plants // New Phytologist. Vol.104. P.573–581.

Jakobsen I. 1987. Effects of V.A. mycorrhiza on yield and harvest index of field-grown pea // Plant and Soil. Vol.98. P.407–415.

Jakobsen I. 1991. Carbon metabolism in mycorrhiza // J.R. Norris, D.J. Read, A. Varma (eds.). Methods in Microbiology. London: Academic Press.

Jakobsen I. 1995. Transport of phosphorus and carbon in VA mycorrhizas // A. Varma, B. Hock (eds.). Mycorrhiza, Structure, Function, Molecular Biology and Biotechnology. Berlin: Springer-Verlag. P.297–324.

Jakobsen I. 2004. Hyphal fusion to plant species connections – giant mycelia and community nutrient flow // New Phytologist. Vol.164. P.4–7.

Jakobsen I., Neilsen N.E. 1983. Vesicular-arbuscular mycorrhiza in field-grown crops. I. Mycorrhizal infection in cereals and peas at various times and soil depths // New Phytologist. Vol.93. P.401–413.

Jakobsen I., Rosendahl L. 1990. Carbon flow into soil and external hyphae from roots of mycorrhizal cucumber plants // New Phytologist. Vol.115. P.77–83.

Jakobsen I., Abbott L.K., Robson A.D. 1992a. External hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Trifolium subterraneum* L. 1. Spread of hyphae and phosphorus inflow into roots // New Phytologist. Vol.120. P.371–380.

Jakobsen I., Abbott L.K., Robson A.D. 1992b. External hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Trifolium subterraneum* L. 2. Hyphal transport of ^{32}P over defined distances // New Phytologist. Vol.120. P.509–516.

Jakobsen I., Gazey C., Abbott I.K. 2001. Phosphate transport by communities of arbuscular mycorrhizal fungi in intact soil cores // New Phytologist. Vol.149. P.95–103.

Jakobsen I., Smith S.E., Smith F.A. 2002. Function and diversity of arbuscular mycorrhizae in carbon and mineral nutrition // M.G.A. van der Heijden, I.R. Sanders (eds.). Mycorrhizal Ecology. Berlin: Springer-Verlag. P.75–92.

Jakobsen I., Chen B.D., Munkvold L., Lundsgaard T., Zhu Y.G. 2005a. Contrasting phosphate acquisition of mycorrhizal fungi with that of root hairs using the non-mycorrhizal root hairless barley mutant // Plant Cell and Environment. Vol.28. P.928–938.

Jakobsen I., Leggett M.E., Richardson A.E. 2005b. Rhizosphere microorganisms and plant phosphorus uptake // Madison: American Society of Agronomists, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America. Phosphorus: Agriculture and the Environment. P.437–494.

Jalal M.A.F., Read D.J. 1983. The organic-acid composition of Calluna heathland soil with special reference to phyto-toxicity and fungitoxicity.1. Isolation and identification of organic-acids // Plant and Soil. Vol.70. No.2. P.257–272.

Jalal M.A.F., Read D.J., Haslam E. 1982. Phenolic composition and its seasonal variation in *Calluna vulgaris* // Phytochemistry. Vol.21. P.1397–1401.

Jambois A., Dauphin A., Kawano T. et al. 2005. Competitive antagonism between IAA and indole alkaloid hypaphorine must contribute to regulate ontogenesis // Physiologia Plantarum. Vol.123. P.120–129.

James T.Y., Kauf F., Schoch C.L. et al. 2006. Reconstructing the early evolution of fungi using a six-gene phylogeny // Nature. Vol.443**.** P.818–822.

Janos D.P. 1980. Vesicular-arbuscular mycorrhizae affect lowland tropical rain forest plant growth // Ecology. Vol.61. P.151–162.

Janos D.P. 1987. VA mycorrhizas in humid tropical ecosystems // G.R. Safir (ed.). Ecophysiology of VA Mycorrhizal Plants. P.107–134. Boca Raton: CRC Press.

Janos D.P. 1996. Mycorrhizas succession and the rehabilitation of deforested land in the humid tropics // Fungi and Environmental Change. J. Frankland, N. Magan, G. Gadd (eds.). Cambridge Cambridge University Press. P.129–162.

Janouskova M., Vosatka M. 2005. Response to cadmium of *Daucus carota* hairy roots dual cultures with *Glomus intraradices* or *Gigaspora margarita* // Mycorrhiza. Vol.15. P.217–224.

Janouskova M., Pavlikova D., Macek T., Vosatka M. 2005. Arbuscular mycorrhiza decreases cadmium phytoextraction by transgenic tobacco with inserted metallothionein // Plant and Soil. Vol.272. P.29–40.

Jansa J., Mozafar A., Anken T., Ruh R., Sanders I.R., Frossard E. 2002a. Diversity and structure of AMF communities as affected by tillage in a temperate soil // Mycorrhiza. Vol.12. P.225–234.

Jansa J., Mozafar A., Banke S., McDonald B.A., Frossard E. 2002b. Intra- and intersporal diversity of ITS rDNA sequences in *Glomus intraradices* assessed by cloning and sequencing, and by SSCP analysis // Mycological Research. Vol.106. P.670–681.

Jansa J., Mozafar A., Frossard E. 2003. Long-distance transport of P and Zn through the hyphae of an arbuscular mycorrhizal fungus in symbiosis with maize // Agronomie. Vol.23. P.481–488.

Jansa J., Weimken A., Frossard E. 2006. The effects of agricultural practices on arbuscular mycorrhizal fungi // E. Frossard, W. Blum, B. Warkentin (eds.). Function of Soils for Human Societies and the Environment. London: Geological Society.

Jansa J., Smith F.A., Smith S.E. 2007. Are there benefits of simultaneous root colonization by different arbuscular mycorrhizal fungi? // New Phytologist. Doi: I0:1111/j.1469-8137.2007.02294.x

Janse J.M. 1897. Les endophytes radicaux de quelques plantes Javanaise // Annales du Jardin Botanique de Buitenzorg. Vol.14. P.53–212.

Jansen A.E., Dighton J. 1990. Effects of air pollutants on ectomycorrhiza. A review // Air Pollution Research Report. Vol.30. P.1–58.

Jany J.L., Martin F., Garbaye J. 2003. Respiration activity of ectomycorrhizas from *Cenococcum geophilum* and *Lactarius* sp. in relation to soil water potential in five beech forests // Plant and Soil. Vol.255. P.487–494.

Janzen D.H. 1974. Tropical backwater rivers, animals and mast fruiting by the Dipterocarpaceae // Biotropica. Vol.6. P.69–103.

Jargeat P., Gay G., Debaud J.C., Marmeisse R. 2000. Transcription of a nitrate reductase gene isolated from the symbiotic basidiomycete fungus *Hebeloma cylindrosporum* does not require induction by nitrate // Molecular and General Genetics. Vol.263. P.948–956.

Jargeat P., Rekangalt D., Verner M.C. et al. 2003. Characterisation and expression analysis of a nitrate transporter and nitrite reductase genes, two members of a gene cluster for nitrate assimilation from the symbiotic basidiomycete *Hebeloma cylindrosporum* // Current Genetics. Vol.43. P.199–205.

Jasper D.A., Robson A.D., Abbott L.K. 1979. Phosphorus and the formation of vesicular-arbuscular mycorrhizas // Soil Biology and Biochemistry. Vol.11. P.501–505.

Jasper D.A., Robson A.D., Abbott L.K. 1987. V.A. mycorrhizal fungi in revegetation after soil disturbance by mining // D.M. Sylvia, L.L. Hung, J.H. Graham (eds.). Mycorrhizae in the Next Decade. P.152., Gainsville: Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.

Jasper D.A., Robson A.D., Abbott L.K. 1988. Revegetation in an iron-ore mine – nutrient requirements for plant growth and the potential role of vesicular-arbuscular (VA) mycorrhizal fungi // Australian Journal of Soil Research. Vol.26. P.497–507.

Jasper D.A., Abbott L.K., Robson A.D. 1989. Soil disturbance reduces the infectivity of external hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi // New Phytologist. Vol.112. P.93–99.

Jasper D.A., Abbott L.K., Robson A.D. 1991. The effect soil disturbance on vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in soils from different vegetation types // New Phytologist. Vol.118. P.471–476.

Jasper D.A., Abbott L.K., Robson A.D. 1992. Soil disturbance in native ecosystems – the decline and recovery of infectivity of VA mycorrhizal fungi // D.J. Read, D.H. Lewis, A.H. Fitter, I.J. Alexander (eds.). Mycorrhizas in Ecosystems. P.151–155. Wallingford: CAB International.

Jasper D.A., Abbott L.K., Robson A.D. 1993. The survival of infective hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in dry soil: an interaction with sporulation // New Phytologist. Vol.124. P.473–479.

Jastrow J.D., Miller R.M., Lussenhop J. 1998. Contributions of interacting biological mechanisms to soil aggregate stabilization in restored prairie // Soil Biology and Biochemistry. Vol.30. P.905–916.

Javelle A., Chalot M., Söderström B., Botton B. 1999. Ammonium and methylamine transport by the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus* and ectomycorrhizas // FEMS Microbiology Ecology. Vol.30. P.355–366.

Javelle A., Rodriguez-Pastrana B.R., Jacob C. et al. 2001. Molecular characterization of two ammonium transporters from the ectomycorrhizal fungus *Hebeloma cylindrosporum* // FEBS Letters. Vol.505. P.393–398.

Javelle A., Andre B., Marini A.M., Chalot M. 2003a. High-affinity ammonium transporters and nitrogen sensing in mycorrhizas // Trends in Microbiology. Vol.11. P.53–55.

Javelle A., Morel M., Rodriguez-Pastrana B.R. et al. 2003b. Molecular characterization, function and regulation of ammonium transporters (Amt) and ammonium-metabolizing enzymes (GS, NADP-GDH) in the ectomycorrhizal fungus *Hebeloma cylindrosporum* // Molecular Microbiology. Vol.47. P.411–430.

Javelle A., Chalot M., Brun A., Botton B. 2004. Nitrogen transport and metabolism in mycorrhizal fungi and mycorrhizas // Plant Surface Microbiology. A. Varma, L. Abbott, D. Werner, R. Hampp (eds.). P.393–429. Berlin: Springer.

Javot H., Penmetsa R.V., Terzaghi N., Cook D.R., Harrison M.J. 2007. A *Medicago truncatula* phosphate transporter indispensable for the arbuscular mycorrhizal symbiosis // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. Vol.104. P.1720–1725.

Javot H., Pumplin N., Harrison M.J. 2007. Phosphate in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: transport properties and regulatory roles // Plant, Cell and Environment. Vol.30. P.310–322.

Jayachandran K., Schwab A.P., Hetrick B.A.D. 1989. Mycorrhizal mediation of phosphorus availability: synthetic iron chelate effects on phosphorus solubilization // Soil Science Society of America Journal. Vol.53. P.1701–1706.

Jayachandran K., Schwab A.P., Hetrick B.A.D. 1992. Mineralization of organic phosphorus by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi // Soil Biology and Biochemistry. Vol.24. P.897–903.

Jeffries P., Dodd J.C. 1991. The use of mycorrhizal inoculants in forestry and agriculture // D.K. Arora, B. Rai, K.G. Mukerji, G.R. Knudsen (eds.). Handbook of Applied Mycology Volume 1: Soil and Plants. New York: Marcel Dekker. P.155–185.

Jennings D.H. 1995. The Physiology of Fungal Nutrition. Cambridge: Cambridge University Press.

Jentschke G., Fritz E., Godbold D.L. 1991. Distribution of lead in mycorrhizal and nonmycorrhizal Norway spruce seedlings // Physiologia Plantarum. Vol.81. P.417–422.

Jentschke G., Marschner P., Vodnik D. et al. 1998. Lead uptake by *Picea abies* seedlings: effects of nitrogen source and mycorrhizas // Journal of Plant Physiology. Vol.153. P.97–104.

Jentschke G., Winter S., Godbold D.L. 1999. Ectomycorrhizas and cadmium toxicity in Norway spruce seedlings // Tree Physiology. Vol.19. P.23–30.

Jentschke G., Brandes B., Kuhn A.J., Schroder W.H., Becker J.S., Godbold D.L. 2000. The mycorrhizal fungus *Paxillus involutus* transports magnesium to Norway spruce seedlings. Evidence from stable isotope labeling // Plant and Soil. Vol.220. P.243–246.

Jentschke G., Brandes B., Kuhn A.J., Schroder W.H., Godbold D.L. 2001a. Interdependence of phosphorus, nitrogen, potassium and magnesium translocation by the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus* // New Phytologist. Vol.149. P.327–337.

Jentschke G., Godbold D.L., Brandes B. 2001b. Nitrogen limitation in mycorrhizal Norway spruce (*Picea abies*) seedlings induced mycelial foraging for ammonium: implications for Ca and Mg uptake // Plant and Soil. Vol.234. 109–117.

Jifon J.L., Graham J.H., Drouillard D.L., Syvertsen J.P. 2002. Growth depression of mycorrhizal Citrus seedlings grown at high phosphorus supply is mitigated by elevated CO_2 // New Phytologist. Vol.153. P.133–142.

Jin H., Pfeffer P., Douds D., Piotrowski E., Lammers P., Shachar Hill Y. 2005. The uptake, metabolism, transport and transfer of nitrogen in an arbuscular mycorrhizal symbiosis // New Phytologist. Vol.168. P.687–696.

Johansen A. 1999. Depletion of soil mineral N by roots of *Cucumis sativus* L. colonized or not by arbuscular mycorrhizal fungi // Plant and Soil. Vol.209. P.119–127.

Johansen A., Jensen E.S. 1996. Transfer of N and P from intact or decomposing roots of pea to barley interconnected by an arbuscular mycorrhizal fungus // Soil Biology and Biochemistry. Vol.28. P.73–81.

Johansen A., Jakobsen I., Jensen E.S. 1992. Hyphal transport of ^{15}N-labelled nitrogen by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus and its effect on depletion of inorganic soil N // New Phytologist. Vol.122. P.281–288.

Johansen A., Jakobsen I., Jensen E.S. 1993a. External hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Trifolium subterraneum* L.3. Hyphal transport of ^{32}P and ^{15}N // New Phytologist. Vol.124. P.61–68.

Johansen A., Jakobsen I., Jensen E.S. 1993b. Hyphal transport by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus of N applied to the soil as ammonium or nitrate // Biology and Fertility of Soils. Vol.16. P.66–70.

Johansen A., Jakobsen I., Jensen E.S. 1994. Hyphal N transport by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus associated with cucumber grown at three nitrogen levels // Plant and Soil. Vol.160. P.1–9.

Johansen A., Finlay R.D., Olsson P.A. 1996. Nitrogen metabolism of external hyphae of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* // New Phytologist. Vol.133. P.705–712.

Johansson T., Le Quere A., Ahren D. et al. 2004. Transcriptional responses of *Paxillus involutus* and *Betula pendula* during formation of ectomycorrhizal root tissue // Molecular Plant-Microbe Interactions. Vol.17. P.202–215.

Johnson C.N. 1996. Interactions between mammals and ectomycorrhizal fungi // Trends in Ecology and Evolution. Vol.11. P.503–507.

Johnson D., Leake J.R., Read D.J. 2001. Novel in-growth core system enables functional studies of grassland mycorrhizal mycelial networks // New Phytologist. Vol.152. P.555–562.

Johnson D., Leake J.R., Ostle N., Ineson P., Read D.J. 2002a. *In situ* $^{13}CO_2$ pulse-labelling of upland grassland demonstrates a rapid pathway of carbon flux from arbuscular mycorrhizal mycelia to the soil // New Phytologist. Vol.153. P.327–334.

Johnson D., Leake J.R., Read D.J. 2002b. Transfer of recent photosynthate into mycorrhizal mycelium of an upland grassland: short-term respiratory losses and accumulation of C-14 // Soil Biology and Biochemistry. Vol.34. P.1521–1524.

Johnson D., Vandenkoornhuyse P.J., Leake J.R. et al. 2004. Plant communities affect arbuscular mycorrhizal fungal diversity and community composition in grassland microcosms // New Phytologist. Vol.161. P.503–515.

Johnson D., Ijdo M., Genney D.R., Anderson I.C., Alexander I.J. 2005. How do plants regulate the function, community structure, and diversity of mycorrhizal fungi? // Journal of Experimental Botany. Vol.56. P.1751–1760.

Johnson D., Krsek M., Wellington E.M.H. et al. 2005. Soil invertebrates disrupt carbon flow through fungal networks // Science. Vol.309. P.1047.

Johnson N.C. 1993. Can fertilization of soil select less mutualistic mycorrhizae? // Ecological Applications. Vol.3. P.749–757.

Johnson N.C. 1996. Interactions between mammals and ectomycorrhizal fungi // Trends in Ecology and Evolution. Vol.11. No.12. P.503–507.

Johnson N.C., Zak D.R., Tilman D., Pfleger F.L. 1991. Dynamics of vesicular-arbuscular mycorrhizae during old field succession // Oecologia. Vol.86. P.349–358.

Johnson N.C., Tilman D., Wedin D. 1992. Plant and soil controls on mycorrhizal fungal communities // Ecology. Vol.73. P.2034–2042.

Johnson N.C., Graham J.H., Smith F.A. 1997. Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism-parasitism continuum // New Phytologist. Vol.135. P.575–586.

Jolicoeur M., Germette S., Gaudette M., Perrier M., Bécard G. 1998. Intracellular pH in arbuscular mycorrhizal fungi – a symbiotic physiological marker // Plant Physiology. Vol.116. P.1279–1288.
Joner E.J. 1994. Arbuscular mycorrhiza and plant utilization of organic phosphorus in soil. Doctor Scientiarum thesis. Agricultural University of Norway.
Joner E.J., Jakobsen I. 1994. Contribution by two arbuscular mycorrhizal fungi to P uptake by cucumber *Cucumis sativus* L. from ^{32}P-labelled organic matter during mineralization in soil // Plant and Soil. Vol.163. P.203–209.
Joner E.J., Johansen A. 2000. Phosphatase activity of external hyphae of two arbuscular mycorrhizal fungi // Mycological Research. Vol.104. P.81–86.
Joner E.J., Leyval C. 1997. Uptake of ^{109}Cd by roots and hyphae of a *Glomus mosseae*/*Trifolium subterraneum* mycorrhiza from soil amended with high and low concentrations of cadmium // New Phytologist. Vol.135. P.353–360.
Joner E.J., Leyval C. 2001. Time-course of heavy metal uptake in maize and clover as affected by root density and different mycorrhizal inoculation regimes // Biology and Fertility of Soils. Vol.33. P.351–357.
Joner E.J., Briones R., Leyval C. 2000. Metal-binding capacity of arbuscular mycorrhizal mycelium // Plant and Soil. Vol.226. P.227–234.
Jones D.L., Hodge A., Kuzyakov Y. 2004. Plant and mycorrhizal regulation of rhizodeposition // New Phytologist. Vol.163. P.459–480.
Jones K., Hendrix J.W. 1987. Inhibition of root extension in tobacco by the mycorrhizal fungus *Glomus macrocarpus* and its prevention by benomyl // Soil Biology and Biochemistry. Vol.19. P.297–299.
Jones M.D., Hutchinson T.C. 1986. The effect of mycorrhizal infection on the response of *Betula papyrifera* to nickel and copper // New Phytologist. Vol.102. P.429–442.
Jones M.D., Hutchinson T.C. 1988a. Nickel toxicity in mycorrhizal birch seedlings infected with *Lactarius rufus* or *Scleroderma flavidum*. Effects on growth, photosynthesis, respiration and transpiration // New Phytologist. Vol.108. P.451–459.
Jones M.D., Hutchinson T.C. 1988b. Nickel toxicity in mycorrhizal birch seedlings infected with *Lactarius rufus* or *Scleroderma flavidum*. 2 Uptake of nickel, calcium, magnesium, phosphorus and iron // New Phytologist. Vol.108. P.461–470.
Jones M.D., Smith S.E. 2004. Exploring functional definitions of mycorrhizas: are mycorrhizas always mutualisms? // Canadian Journal of Botany. Vol.82. P.1089–1109.
Jones M.D., Durall D.M., Tinker P.B. 1990. Phosphorus relationships and production of extramatrical hyphae by two types of willow ectomycorrhizas at different soil phosphorus levels // New Phytologist. Vol.115. P.259–267.
Jones M.D., Durall D.M., Tinker P.B. 1991. Fluxes of carbon and phosphorus between symbionts in willow ectomycorrhizas and their changes with time // New Phytologist. Vol.119. P.99–106.
Jones M.D., Durall D.M., Tinker P.B. 1998. A comparison of arbuscular and ectomycorrhizal *Eucalyptus coccifera*: growth response, phosphorus uptake efficiency and external hyphal production // New Phytologist. Vol.140. P.125–134.
Jones M.D., Durall D.M., Cairney J.W.G. 2003. Ectomycorrhizal fungal communities in young forest stands regenerating after clearcut logging // New Phytologist. Vol.157. P.399–422.
Jongmans A.G., van Breemen N., Lundstrom U. et al. 1997. Rock-eating fungi // Nature. Vol.389. P.682–683.
Jonsson L.M., Nilsson M.C., Wardle D.A., Zackrisson O. 2001. Context dependent effects of ectomycorrhizal species richness on seedling productivity // Oikos. Vol.93. P.353–364.
Jonsson U., Rosengren U., Thelin G., Nihlgard B. 2003. Acidification-induced chemical changes in coniferous forest soils in southern Sweden 1988–1999 // Environmental Pollution. Vol.123. P.75–83.
Journet E.P., Carreau V., Gouzy J. et al. 2001. The model legume *Medicago truncatula*: recent advances and perspectives in genomics // OCL-Oleagineux Corps Gras Lipides. Vol.8. P.478–484.
Journet E.P., van Tuinen D., Gouzy J. et al. 2002. Exploring root symbiotic programs in the model legume *Medicago truncatula* using EST analysis // Nucleic Acids Research. Vol.30. P.5579–5592.
Judson O.P., Normark B.B. 1996. Ancient asexual scandals // Trends in Ecology and Evolution. Vol.11. P.41–46.
Julou T., Burghardt B., Gebauer G., Berveiller D., Damesin C., Selosse M.A. 2005. Mixotrophy in orchids: insights from a comparative study of green individuals and nonphotosynthetic individuals of *Cephalanthera damasonium* // New Phytologist. Vol.166. P.639–653.

Jumpponen A. 2001. Dark septate endophytes – are they mycorrhizal? // Mycorrhiza. Vol.11. No.4. P.207–211.
Jumpponen A., Trappe J.M. 1998. Dark septate endophytes: a review of facultative biotrophic root-colonizing fungi // New Phytologist. Vol.140. No.2. P.295–310.
Jumpponen A., Mattson K.G., Trappe J.M. 1998. Mycorrhizal functioning of *Phialocephala fortinii* with *Pinus contorta* on glacier forefront soil: interactions with soil nitrogen and organic matter // Mycorrhiza. Vol.7. P.261–265.
Jun J., Abubaker J., Rehrer C., Pfeffer P.E., Shachar-Hill Y., Lammers P.J. 2002. Expression in an arbuscular mycorrhizal fungus of genes putatively involved in metabolism, transport, the cytoskeleton and the cell cycle // Plant and Soil. Vol.244. P.141–148.
Jungk A., Asher C.J., Edwards D.G., Meyer D. 1990. Influence of phosphate status on phosphate uptake kinetics of maize *Zea mays* and soybean *Glycine max* // Plant and Soil. Vol.124. P.175–182.
Juniper S., Abbott L.K. 1993. Vesicular-arbuscular mycorrhizas and soil salinity // Mycorrhiza. Vol.4. P.45–57.
Juniper S., Abbott L.K. 2004. A change in the concentration of NaCl in soil alters the rate of hyphal extension of some arbuscular mycorrhizal fungi // Canadian Journal of Botany. Vol.82. P.1235–1242.
Kaiser P.A, Lussenhop J. 1991. Collembolan effects on establishment of vesicular-arbuscular mycorrhizae in soybean *Glycine max* // Soil Biology and Biochemistry. Vol.23. P.307–308.
Kaldorf M., Zimmer W., Bothe H. 1994. Genetic evidence for the occurrence of assimilatory nitrate reductase in arbuscular mycorrhizal and other fungi // Mycorrhiza. Vol.5. P.23–28.
Kaldorf M., Schmelzer E., Bothe H. 1998. Expression of maize and fungal nitrate reductase genes in arbuscular mycorrhiza // Molecular Plant-Microbe Interactions. Vol.11. P.439–448.
Kaldorf M., Renker C., Fladung M., Buscot F. 2004. Characterization and spatial distribution of ectomycorrhizas colonizing aspen clones released in an experimental field // Mycorrhiza. Vol.14. P.295–306.
Kamienski F. 1881. Die Vegetationsorgane der *Monotropa hypopitys* L. // Botanische Zeitung. Bd.29. P.458.
Kamienski F. 1882. Les organs végétatifs du *Monotropa hypopitys* L. // Mémoires de la Sociéte national des Sciences Naturelles et Mathématiques de Cherbourg. Vol.26. P.1–40.
Kapulnik Y., Kushnir U. 1992. Growth dependency of wild primitive and modern cultivated wheat lines on vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi // Euphytica. Vol.56. P.27–36.
Kapulnik Y., Volpin H. et al. 1996. Suppression of defence responses in mycorrhizal alfalfa and tobacco roots // New Phytologist. Vol.133. P.59–64.
Karagiannidis N., Hadjisavva-Zinoviadi S. 1998. The mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* enhances growth, yield and chemical composition of a durum wheat variety in 10 different soils // Nutrient Cycling in Agroecosystem. Vol.52. P.1–7.
Karandashov V., Bucher M. 2005. Symbiotic phosphate transport in arbuscular mycorrhizas // Trends in Plant Science. Vol.10. P.22–29.
Karandashov V., Nagy R., Wegmüller S., Amrhein N., Bucher M. 2004. Evolutionary conservation of a phosphate transporter in the arbuscular mycorrhizal symbiosis // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. Vol.101. P.6285–6290.
Karen O., Högberg N., Dahlberg A., Jonsson L., Nylund J.E. 1997. Inter- and intraspecific variation in the ITS region of rDNA of ectomycorrhizal fungi in Fennoscandia as detected by endonuclease analysis // New Phytologist. Vol.136. P.313–325.
Kasuya M.C.M., Masaka K., Igarashi T. 1995. Mycorrhizae of *Monotropastrum globosum* growing in a *Fagus crenata* forest // Mycoscience. Vol.36. P.461–464.
Keller G. 1996. Utilization of inorganic and organic nitrogen sources by high-subalpine ectomycorrhizal fungi of *Pinus cembra* in pure culture // Mycological Research. Vol.100. P.989–998.
Kelly D., Sork V.L. 2002. Mast seeding in perennial plants: Why, how, where? // Annual Review of Ecology and Systematics. Vol.33. P.427–447.
Kenrick P., Crane P.R. 1997. The origin and early evolution of plants on land // Nature. Vol.389. P.33–39.
Kerley S.J., Read D.J. 1995. The biology of mycorrhiza in the Ericaceae 18. Chitin degradation by *Hymenoscyphus ericae* and transfer of chitin-nitrogen to the host plant // New Phytologist. Vol.131. P.369–375.
Kerley S.J., Read D.J. 1997. The biology of mycorrhiza in the Ericaceae 19. Fungal mycelium as a nitrogen source for the ericoid mycorrhizal fungus *Hymenoscyphus ericae* and its host plants // New Phytologist. Vol.136. P.691–701.

Kerley S.J., Read D.J. 1998. The biology of mycorrhiza in the Ericaceae 20. Plant and mycorrhizal necromass as nitrogenous substrates for the ericoid mycorrhizal fungus *Hymenoscyphus ericae* and its host // New Phytologist. Vol.139. P.353–360.

Kernan M.J., Finocchio A.F. 1983. A new Discomycete associated with the roots of *Monotropa uniflora* Ericaceae // Mycologia. Vol.75. P.916–920.

Kerner A. 1894. The Natural History of Plants. Vol.1. English edn translated by F.W. Oliver. London: Blackie and Sons.

Khan A.G., Belik M. 1995. Occurrence and ecological significance of mycorrhizal symbiosis in aquatic plants // A. Varma, B. Hock (eds.). Mycorrhiza, Structure, Function, Molecular Biology and Biotechnology. Berlin: Springer-Verlag. P.627–666.

Kidston R., Lang W.H. 1921. On the old red sandstone plants showing structure from the Rhynie chert bed, Aberdeenshire. Part 5. The thallophyta occurring in the peat bed; the succession of the plants through a vertical section of the bed, and the conditions of accumulation and preservation of the deposit // Transactions of the Royal Society of Edinburgh. Vol.52. P.855–902.

Kielland K. 1994. Amino acid absorption by arctic plants: implications for plant nutrition and nitrogen cycling // Ecology. Vol.75. P.2373–2383.

Kielland K. 1997. Role of free amino acids in the nitrogen economy of arctic cryptogams // Ecoscience. Vol.4. No.1. P.75–79.

Kiers E.T., van der Heijden M.G.A. 2006. Mutualistic stability in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: exploring hypotheses of evolutionary cooperation // Ecology. Vol.87. P.1627–1636.

Killham K., Firestone M.K. 1983. Vesicular-arbuscular mycorrhizal mediation of grass response to acidic and heavy-metal depositions // Plant and Soil. Vol.72. P.39–48.

Kim H.J., Ko M.K. 1995. Mycelial running method for *Armillaria mushroom* logs in *Gastrodia elata* cultivation // Forest Research Instititute Korea Journal of Forest Science. Vol.51. P.89–95.

Kinden D.A., Brown M.F. 1975a. Electron microscopy of vesicular-arbuscular mycorrhizae of yellow poplar. I. Characterization of endophytic structures by scanning electron stereoscopy // Canadian Journal of Microbiology. Vol.21. P.989–993.

Kinden D.A., Brown M.F. 1975b. Electron microscopy of vesicular-arbuscular mycorrhizae of yellow poplar. II. Intracellular hyphae and vesicles // Canadian Journal of Microbiology. Vol.21. P.1768–1780.

Kishino H., Hasegawa M. 1989. Evaluation of the maximum likelihood estimate of the evolutionary tree topologies from DNA sequence data, and the branching order in Hominoidea // Journal of Molecular Evolution. Vol.29. P.170–179.

Kistner C., Parniske M. 2002. Evolution of signal transduction in intracellular symbiosis // Trends in Plant Science. Vol.7. P.511–518.

Kistner C., Winzer T. et al. 2005. Seven *Lotus japonicus* genes required for transcriptional reprogramming of the root during fungal and bacterial symbiosis // Plant Cell. Vol.17. P.2217–2229.

Kjøller R. 2006. Disproportionate abundance between ectomycorrhizal root tips and their associated mycelia // FEMS Microbiology and Ecology. Vol.58. P.214–224.

Kjøller R., Bruns T.D. 2003. Rhizopogon spore bank communities within and among California pine forests // Mycologia. Vol.95. No.4. P.603–613.

Kling M., Gianinazzi-Pearson V., Lherminier J., Jakobsen I. 1996. The development and functioning of mycorrhizas in pea mutants // First International Conference on Mycorrhizas ICOM 1. Berkeley, California. P.71.

Klironomos J.N. 2003. Variation in plant response to native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi // Ecology. Vol.84. P.2292–2301.

Klironomos J.N., Hart M.M. 2001. Food-web dynamics – animal nitrogen swap for plant carbon // Nature. Vol.410. No.6829. P.651–652.

Klironomos J.N., Hart M.M. 2002. Colonization of roots by arbuscular mycorrhizal fungi using different sources of inoculum // Mycorrhiza. Vol.12. P.181–184.

Klironomos J.N., Ursic M. 1998. Density-dependent grazing on the extraradical hyphal network of the arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus intraradices*, by the collembolan, *Folsomia candida* // Biology and Fertility of Soils. Vol.26. P.250–253.

Klironomos J.N., Allen M.F., Rillig M.C. et al. 2005. Abrupt rise in atmospheric CO_2 overestimates community response in a model plant-soil system // Nature. Vol.433. P.621–624.

Knöbel M., Weber H.C. 1988. Vergleichende Untersuchungen zur Mycotrophie bei *Gentiana verna* L. und *Voyria truncata* (Stand.) Stand. and Stey. (Gentianaceae) // Beitrage Biologie der Pflanzen. Bd.63. S.463–477.

Knudson L. 1929. Seed germination and growth of *Calluna vulgaris* // New Phytologist. Vol.32. P.127–155.
Knudson L. 1930. Flower production by orchid grown non-symbiotically // Botanical Gazette. Vol.89. P.192–199.
Koch A.M., Kuhn G., Fontanillas P., Fumagalli L., Goudet J., Sanders I.R. 2004. High genetic variability and low local diversity in a population of arbuscular mycorrhizal fungi // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. Vol.101. P.2369–2374.
Koch K.E., Johnson C.R. 1984. Photosynthate partitioning in split-root citrus seedlings with mycorrhizal and nonmycorrhizal root systems // Plant Physiology. Vol.75. P.26–30.
Koch R. 1912. Complete Works. Vol.1. P.650–660. Leipzig: George Thieme.
Kohn L.M., Stasovski E. 1990. The mycorrhizal status of plants at Alexandra Fiord, Ellesmere island. Canada, a high arctic site // Mycologia. Vol.82. P.23–35.
Kohzu A., Yoshioka T., Ando T., Takahashi M., Koba K., Wada E. 1999. Natural ^{13}C and ^{15}N abundance of field-collected fungi and their ecological implications // New Phytologist. Vol.144. P.323–330.
Koide R. 1985a. The nature of growth depressions in sunflower caused by vesicular-arbuscular mycorrhizal infection // New Phytologist. Vol.99. P.449–462.
Koide R. 1985b. The effect of VA mycorrhizal infection and phosphorus status on sunflower hydraulic and stomata properties // Journal of Experimental Botany. Vol.36. P.1087–1098.
Koide R.T. 1991a. Nutrient supply, nutrient demand and plant response to mycorrhizal infection // New Phytologist. Vol.117. P.365–386.
Koide R.T. 1991b. Density-dependent response to mycorrhizal infection in *Abutilon theophrasti* Medic // Oecologia. Vol.85. P.389–395.
Koide R.T. 1993. Physiology of the mycorrhizal plant // D.S. Ingram, P.H. Williams (eds.). Advances in Plant Pathology. P.33–54. London: Academic Press.
Koide R.T. 2000. Functional complementarity in the arbuscular mycorrhizal symbiosis // New Phytologist. Vol.147. P.233–235.
Koide R.T., Elliott G. 1989. Cost, benefit and efficiency of vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis // Functional Ecology. Vol.3. P.4–7.
Koide R.T., Kabir Z. 2000. Extraradical hyphae of the mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* can hydrolyse organic phosphate // New Phytologist. Vol.148. P.511–517.
Koide R.T., Lu X. 1992. Mycorrhizal infection of wild oats: maternal effects on offspring growth and reproduction // Oecologia. Vol.90. P.218–226.
Koide R., Mooney H.A. 1987. Spatial variation in inoculum potential of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi caused by formation of gopher mounds // New Phytologist. Vol.107. P.173–182.
Koide R.T., Mosse B. 2004. A history of research on arbuscular mycorrhiza // Mycorrhiza. Vol.14. P.145–163.
Koide R.T., Schreiner R.P. 1992. Regulation of the vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis // Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. Vol.43. P.557–581.
Koide R.T., Wu T. 2003. Ectomycorrhizas and retarded decomposition in a *Pinus resinosa* plantation // New Phytologist. Vol.158. P.401–407.
Koide R.T., Li M., Lewis J., Irby C. 1988a. Role of mycorrhizal infection in the growth and reproduction of wild vs cultivated plants. 1. Wild vs. cultivated oats // Oecologia. Vol.77. P.537–542.
Koide R., Huenneke L.F., Hamberg S.P., Mooney H.A. 1988b. Effects of applications of fungicide, phosphorus and nitrogen on the structure and productivity of an annual serpentine plant community // Functional Ecology. Vol.2. P.335–344.
Koide R.T., Dickie I.A., Goff M.D. 1999. Phosphorus deficiency, plant growth and the phosphorus efficiency index // Functional Ecology. Vol.13. P.733–736.
Koide R.T., Goff M.D., Dickie I.A. 2000. Component growth efficiencies of mycorrhizal and nonmycorrhizal plants // New Phytologist. Vol.148. P.163–168.
Koide R.T., Xu B., Sharda J., Lekberg Y., Ostiguy N. 2005. Evidence of species interactions within an ectomycorrhizal fungal community // New Phytologist. Vol.165. P.305–316.
Koljalg U. 1995. *Tomentella* (Basiodiomycota) and related genera in temperate Eurasia // Synopsis Fungorum 9. Oslo: Fungiflora.
Koljalg U., Dahlberg A., Taylor A.F.S. et al. 2000. Diversity and abundance of resupinate thelephoroid fungi as ectomycorrhizal symbionts in Swedish boreal forests // MolecularEcology. Vol.9. P.1985–1996.
Koljalg U., Larsson K.H., Abarenkov K. et al. 2005. UNITE: a database providing web-based methods for the molecular identification of ectomycorrhizal fungi // New Phytologist. Vol.166. P.1063–1068.

Kope H.H., Tsantrizos Y.S., Fortin J.A., Ogilvie K.K. 1991. *p*-Hydroxybenzoylformic acid and (R)-(-)-*p*-hydroxymandelic acid, two antifungal compounds isolated from the liquid culture of the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus arhizus* // Canadian Journal of Microbiology. Vol.37. P.258–264.

Koske R.E. 1975. Endogone spores in Australian sand dunes // Canadian Journal of Botany. Vol.53. P.668–672.

Koske R.E. 1981. Multiple germination by spores of *Gigaspora gigantea* // Transactions of the British Mycological Society. Vol.76. P.328–330.

Koske R.E., Gemma J.N. 1990. VA mycorrhizae in strand vegetation of Hawaii: evidence for long-distance codispersal of plants and fungi // American Journal of Botany. Vol.77. P.466–474.

Koske R., Gemma J.N. 1992. Fungal reactions to plants prior to mycorrhizal formation // M.F. Allen (ed.). Mycorrhizal Functioning: An Integrative Plant-Fungal Process. P.3–36. London: Chapman and Hall.

Koske R.E., Sutton J.C., Sheppard B.R. 1975. Ecology of *Endogone* in Lake Huron sand dunes // Canadian Journal of Botany. Vol.53. P.87–93.

Kosuta S., Chabaud M., Lougnon G. et al. 2003. A diffusible factor from arbuscular mycorrhizal fungi induces symbiosis-specific MtENOD11 expression in roots of *Medicago truncatula* // Plant Physiology. Vol.131. P.952–962.

Kothari S.K., Marschner H., George E. 1990. Effect of VA mycorrhizal fungi and rhizosphere microorganisms on root and shoot morphology, growth and water relations in maize .// New Phytologist. Vol.116. P.303–311.

Kothari S.K., Marschner H., Römheld V. 1991. Contribution of the VA mycorrhizal hyphae in acquisition of phosphorus and zinc by maize grown in a calcareous soil // Plant and Soil. Vol.131. P.177–185.

Kottke I., Nebel M. 2005. The evolution of mycorrhiza-like associations in liverworts: an update // New Phytologist. Vol.167. P.330–334.

Kottke I., Oberwinkler F. 1987. The cellular structure of the Hartig net: coenocytic and transfer cell-like organisation // Nordic Journal of Botany. Vol.7. P.85–95.

Kottke I., Beiter A., Weiss M., Haug I., Oberwinkler F., Nebel M. 2003. Heterobasidiomycetes form symbiotic associations with hepatics: Jungermanniales have sebacinoid mycobionts while *Aneura pinguis* (Metzgeriales) is associated with a *Tulasnella* species // Mycological Research. Vol.107. P.957–968.

Kramer P.J., Wilbur K.M. 1949. Absorption of radioactive phosphorus by mycorrhizal roots of pine // Science. Vol.110. P.8–9.

Kretzer A.M, Bruns T.D. 1999. Use of atp6 in fungal phylogenetics: an example from the Boletales // Molecular Phylogenetics and Evolution. Vol.13. P.483–492.

Kretzer A., Li Y.N., Szaro T., Bruns T.D. 1996. Internal transcribed spacer sequences from 38 recognized species of *Suillus sensu* lato: phylogenetic and taxonomic implications // Mycologia. Vol.88. P.776–785.

Kretzer A., Li Y., Szaro T., Bruns T.D. 1998. Internal transcribed spacer sequences from 38 recognized species of *Suillus* sensu lato: Phylogenetic and taxonomic implications // Mycologia. Vol.90. P.464–464.

Kretzer A.M., Bidartondo M.I., Grubisha L.C., Spatafora J.W., Szaro T.M., Bruns T.D. 2000. Regional specialization of *Sarcodes sanguinea* (Ericaceae) on a single fungal symbiont from the *Rhizopogon ellenae* (Rhizopogonaceae) species complex // American Journal of Botany. Vol.87. P.1778–1782.

Kretzer A.M., Dunham S., Molina R., Spatafora J.W. 2004. Microsatellite markers reveal the below ground distribution of genets in two species of *Rhizopogon* forming tuberculate ectomycorrhizas on Douglas fir // New Phytologist. Vol.161. P.313–320.

Kristiansen K.A., Taylor D.L., Kjøller R., Rasmussen H.N., Rosendahl S. 2001. Identification of mycorrhizal fungi from single pelotons of *Dactylorhiza majalis* (Orchidaceae) using singlestrand conformation polymorphism and mitochondrial ribosomal large subunit DNA sequences // Molecular Ecology. Vol.10. P.2089–2093.

Kristiansen K.A., Freudenstein J.V., Rasmussen F.N., Rasmussen H.N. 2004. Molecular identification of mycorrhizal fungi in *Neuwiedia veratrifolia* (Orchidaceae) // Molecular Phylogenetics and Evolution. Vol.33. P.251–258.

Kron K.A., Judd W.S., Stevens P.F. et al. 2002. Phylogenetic classification of Ericaceae: molecular and morphological evidence // Botanical Review. Vol.68. P.335–423.

Kropacek K., Budlin P., Majstrik V. 1989. The use of granulated ectomycorrhizal inoculum for reforestation of deteriorated regions // Agriculture, Ecosystems and Environment. Vol.28. P.263–269.

Kropp B.R. 1990. Variation in acid phosphatase activity among progeny from controlled crosses in the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* // Canadian Journal of Botany. Vol.68. P.864–866.
Kropp B.R., Castellano M.A., Trappe J.M. 1985. Performance of outplanted western hemlock *Tsuga heterophylla* Raf. Sarg. seedlings inoculated with *Cenococcum geophilum* // Tree Plant Not. Vol.36. P.13–16.
Kropp B.R., Fortin J.A. 1988. The incompatibility system and relative ectomycorrhizal performance of monokaryons and reconstituted dikaryons of *Laccaria bicolor* // Canadian Journal of Botany. Vol.66. P.289–294.
Kropp B.R., Langlois C.G. 1990. Ectomycorrhizae in reforestation // Canadian Journal of Forest Research. Vol.20. P.432–451.
Kropp B.R., McAfee B.J., Fortin J.A. 1987. Variable loss of ectomycorrhizal ability in monokaryotic and dikaryotic cultures of *Laccaria bicolor* // Canadian Journal of Botany. Vol.65. P.500–504.
Kropp B.R., Trappe J.M. 1982. Ectomycorrhizal fungi of *Tsuga heterophylla* // Mycologia. Vol.74. P.479–488.
Kubota M., McGonigle T.P., Hyakumachi M. 2001. *Clethra barbinervis*, a member of the order Ericales, forms arbuscular mycorrhizae // Canadian Journal of Botany. Vol.79. P.300–306.
Kucey R.M.N. 1987. Increased phosphorus uptake by wheat and field beans inoculated with a phosphorus-solubilizing *Penicillium bilaji* strain and with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi // Applied and Environmental Microbiology. Vol.53. P.2699–2703.
Kucey R.M.N., Janzen H.H. 1987. Effects of VAM and reduced nutrient availability on growth and phosphorus and micronutrient uptake of wheat and field beans under greenhouse conditions // Plant and Soil. Vol.104. P.71–78.
Kucey R.M.N., Paul E.A. 1982. Biomass of mycorrhizal fungi associated with bean roots // Soil Biology and Biochemistry. Vol.14. P.413–414.
Kuek C. 1994. Issues concerning the production and use of inocula of ectomycorrhizal fungi in increasing the economic productivity of plantations // Plant and Soil. Vol.159. P.221–230.
Kuek C., Tommerup I.C., Malajczuk N. 1992. Hydrogel bead inocula for the production of ectomycorrhizal eucalypts for plantations // Mycological Research. Vol.96. P.273–277.
Kües U., Cassleton L. 1992. Fungal mating-type genes – regulators of sexual development // Mycological Research. Vol.96. P.993–1006.
Kuhn A.J., Schroder W.H., Bauch J. 2000. The kinetics of calcium and magnesium entry into mycorrhizal spruce roots // Planta. Vol.210. P.488–496.
Kuhn G., Hijri M., Sanders I.R. 2001. Evidence for the evolution of multiple genomes in arbuscular mycorrhizal fungi // Nature. Vol.414. P.745–748.
Kuiters A.T., Denneman C.A.J. 1987. Water-soluble phenolic substances in soils under several coniferous and deciduous tree species // Soil Biology and Biochemistry. Vol.19. No.6. P.765–769.
Kusano S. 1911a. Preliminary note on *Gastrodia elata* and its mycorrhiza // Annals of Botany. Vol.25. P.521–523.
Kusano S. 1911b. *Gastrodia elata* and its symbiotic association with *Armillaria mellea* // Journal of the College of Agriculture, University of Tokyo. Vol.4. P.1–66.
Lagrange H., Jay-Allgmand C., Lapeyrie F. 2001. Rutin, the phenolglycoside from eucalyptus root exudates, stimulates Pisolithus hyphal growth at picomolar concentration // New Phytologist. Vol.149. P.349–355.
Laiho O. 1965. Further studies on the ectendotrophic mycorrhiza // Acta Forestalia Fennica. Vol.79. P.1–35.
Laiho O. 1970. *Paxillus involutus* as a mycorrhizal symbiont of forest trees // Acta Forestalia Fennica. Vol.106. P.1–65.
Laiho O., Mikola P. 1964. Studies on the effects of some eradicants on mycorrhizal development in forest nurseries // Acta Forestalia Fennica. Vol.77. P.1–34.
Lambais M.R., Mehdy M.C. 1993. Suppression of endochitinase, β-1,3-endoglucanase, and chalcone isomerase expression in bean vesicular-arbuscular mycorrhizal roots under different soil phosphate conditions // Molecular Plant-Microbe Interactions. Vol.6. P.75–83.
Lambers H., Chapin F.S.I., Pons T.L. 1998. Plant Physiological Ecology. Berlin: Springer-Verlag.
Lambers H., Shane M.W., Cramer M.D., Pearse S.J., Veneklaas E.J. 2006. Root structure and functioning for efficient acquisition of phosphorus: matching morphological and physiological traits // Annals of Botany. Vol.98. P.693–713.

Lambert D.H., Baker D.E., Cole H. Jr. 1979. The role of mycorrhizae in the interactions of phosphorus with zinc, copper, and other elements // Soil Science Society of America Journal. Vol.43. P.976–980.
Lamhamedi M.S., Fortin J.A. 1991. Genetic variations of ectomycorrhizal fungi: extramatrical phase of *Pisolithus* sp. // Canadian Journal of Botany. Vol.69. P.1927–1934.
Lamhamedi M.S., Fortin J.A., Kope H.H., Kropp B.R. 1990. Genetic variation in ectomycorrhiza formation by *Pisolithus arhizus* on *Pinus pinaster* and *Pinus banksiana* // New Phytologist. Vol.115. P.689–697.
Lamhamedi M.S., Bernier P.Y., Fortin J.A. 1992. Hydraulic conductance and soil water potential at the soil root interface in *Pinus pinaster* seedlings inoculated with different dikaryons of *Pisolithus* sp. // Tree Physiology. Vol.10. P.231–244.
Lamhamedi M.S., Godbout C., Fortin J.A. 1994. Dependence of *Laccaria bicolor* basidiome development on current photosynthesis of *Pinus strobus* seedlings // Canadian Journal of Forest Research. Vol.14. P.412–415.
Lammers P.J., Jun J. et al. 2001. The glyoxylate cycle in arbuscular mycorrhizal fungi. Carbon flux and gene expression // Plant Physiology. Vol.127. P.1–12.
Lamont B.B. 1981. Specialised roots of non-symbiotic origin in heathlands // R.L. Specht (ed.). Heathlands and Related Shrublands of the World.B. Analytical Studies. Amsterdam: Elsevier. P.183–195.
Lamont B.B. 1982. Mechanisms for enhancing nutrient uptake in plants, with particular reference to mediterranean, South Africa and Western Australia // Botanical Reviews. Vol.48. P.597–689.
Lamont B.B. 1984. Specialised modes of nutrition // J.S. Pate, J.S. Beard (eds.). Kwongan. Plant Life in the Sandplain. Nedlands: University of Western Australia Press. P.326–245.
Lan J., Xu J.T., Li J.S. 1994. Study on symbiotic relation between *Gastrodia elata* and *Armillariella mellea* by autoradiography // Acta Mycologica Sinica. Vol.13. P.219–222.
Landeweert R., Hoffland E., Finlay R., Kuyper T.W., van Breemen N. 2001. Linking plants to rocks: ectomycorrhizal fungi mobilise nutrients from minerals // Trends in Ecology and Evolution. Vol.16. P.248–254.
Landis F.C., Gargas A., Givnish T.J. 2004. Relationships among arbuscular mycorrhizal fungi, vascular plants and environmental conditions in oak savannas // New Phytologist. Vol.164. P.493–504.
Lanfranco L., Delpero M., Bonfante P. 1999. Intrasporal variability of ribosomal sequences in the endomycorrhizal fungus *Gigaspora margarita* // Molecular Ecology. Vol.8. P.37–45.
Lanfranco L., Novero M., Bonfante P. 2005. The mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita* possesses a CuZn superoxide dismutase that is up-regulated during symbiosis with legume hosts // Plant Physiology. Vol.137. P.1319–1330.
Langley J.A., Hungate B.A. 2003. Mycorrhizal controls on belowground litter quality // Ecology. Vol.84. P.2302–2312.
Langley J.A., Chapman S.K., Hungate B.A. 2006. Ectomycorrhizal colonisation slows root decomposition: the post-mortem fungal legacy // Ecology Letters. Vol.9. P.955–959.
Langlois C.G., Fortin J.A. 1984. Seasonal variations in the uptake of [^{32}P]phosphate ions by excised ectomycorrhizae and laternal roots of *Abies balsamea* // Canadian Journal of Forest Research. Vol.14. P.412–415.
Lapeyrie F.F., Chilvers G.A. 1985. An endomycorrhiza-ectomycorrhizal succession associated with enhanced growth by *Eucalyptus dumosa* seedlings planted in a calcarious soil // New Phytologist. Vol.100. P.93–104.
Lapeyrie F., Mengden K. 1993. Quantitative estimation of surface carbohydrates of ectomycorrhizal fungi in pure culture and during *Eucalyptus* root infection // Mycological Research. Vol.97. P.603–609.
Lapeyrie F., Ranger J., Vairelles D. 1991. Phosphate-solubilizing activity of ectomycorrhizal fungi in vitro // Canadian Journal of Botany. Vol.69. P.342–346.
Lapopin L., Franken P. 2000. Modification of plant gene expression // Y. Kapulnik, D.D. Douds (eds.). Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function. P.69–84. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
Largent D.L., Sugihara N., Wishner G. 1980. Occurrence of mycorrhizae on ericaceous and pyrolaceous plants in Northern California // Canadian Journal of Botany. Vol.58. P.2274–2279.
Larsen J., Jakobsen I. 1996. Interactions between a mycophagous collembola, dry yeast and the external mycelium of an arbuscular mycorrhizal fungus // Mycorrhiza. Vol.6. P.259–264.

Larsen J., Thingstrup I., Jakobsen I., Rosendahl S. 1996. Benomyl inhibits phosphorus transport but not fungal alkaline phosphatase activity in a *Glomus*-cucumber symbiosis // New Phytologist. Vol.132. P.127–133.

Larsen J., Ravnskov S., Sorensen J. 2007. Capturing the benefits of arbuscular mycorrhiza in horticulture // C. Hamel, C. Plenchette (eds.). Mycorrhizae and Crop Production. P.123–150. Binghamton: The Haworth Press, Inc.

Last F.T., Mason P.A., Wilson J., Deacon J.W. 1983. Fine roots and sheathing mycorrhizas: their formation, function and dynamics // Plant and Soil. Vol.71. P.9–21.

Last F.T., Dighton J., Mason P.A. 1987. Successions of sheathing mycorrhizal fungi // Trends in Ecology and Evolution. Vol.2. P.157–161.

Laurent P., Voiblet C., Tagu D. et al. 1999. A novel class of ectomycorrhiza-regulated cell wall polypeptides in *Pisolithus tinctorius* // Molecular Plant-Microbe Interactions. Vol.12. P.862–871.

Laursen G.A., Treu R., Seppelt R.D., Stephenson S.L. 1997. Mycorrhizal assessment of vascular plants from subantarctic Macquarie Island // Arctic and Alpine Research. Vol.29. P.483–491.

Law R., Lewis D.H. 1983. Biotic environments and the maintenance of sex – some evidence from mutualistic symbioses // Biological Journal of the Linnean Society. Vol.20. P.249–276.

Le Quere A., Wright D.P., Söderström B., Tunlid A., Johansson T. 2005. Global patterns of gene regulation associated with the development of ectomycorrhiza between birch (*Betula pendula* Roth.) and *Paxillus involutus* (Batsch) Fr. // Molecular Plant-Microbe Interactions. Vol.18. P.659–673.

Le Page B.A., Currah R.S., Stockey R.A., Rothwell G.W. 1997. Fossil ectomycorrhizae from the Middle Eocene // American Journal of Botany. Vol.84**.** P.410–412.

Le Tacon F., Skinner F.A., Mosse B. 1983. Spore germination and hyphal growth of a vesiculararbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus mosseae* Gerdemann and Trappe, under decreased oxygen and increased carbon dioxide concentrations // Canadian Journal of Microbiology. Vol.29. P.1280–1285.

Le Tacon F., Jung G., Mugnier J., Michelot P., Mauperin C. 1985. Efficiency in a forest nursery of an ectomycorrhizal fungus inoculum produced in a fermentor and entrapped in polymeric gels // Canadian Journal of Botany. Vol.63. P.1664–1668.

Le Tacon F,. Garbaye J., Bouchard D. et al. 1988. Field results from ectomycorrhizal inoculation in France // M. Lalonde, Y. Piché (eds.). Canadian Workshop on Mycorrhizae in Forestry. P.51–74. Ste-Foy: CRBF Faculté de Foresterie et de Géodésie Université Laval.

Le Tacon F., Alvarez I., Bouchard D. et al. 1992. Variations in field response of forest trees of nursery ectomycorrhizal inoculation in Europe // D.J. Read, D.H. Lewis, A.H. Fitter, I.J. Alexander (eds.). Mycorrhizas in Ecosystems. P.119–134. Wallingford: CAB International.

Leake J.R. 1994. The biology of myco-heterotrophic ‘saprophytic’ plants // New Phytologist. Vol.127. P.171–216.

Leake J.R. 2004. Myco-heterotroph/epiparasitic plant interactions with ectomycorrhizal and arbuscular mycorrhizal fungi // Current Opinion in Plant Biology. Vol.7. P.422–428.

Leake J.R. 2005. Plants parasitic on fungi: unearthing the fungi in myco-heterotrophs and debunking the ‘saprophytic’ plant myth // Mycologist. Vol.19. P.113–122.

Leake J.R., Miles W. 1996. Phosphodiesters as mycorrhizal P sources. I. Phosphodiesterase production and the utilisation of DNA as a phosphorus source by the ericoid mycorrhizal fungus *Hymenoscyphus ericae* // New Phytologist. Vol.132. P.435–444.

Leake J.R., Read D.J. 1989a. The biology of the Ericaceae. XIII. Some characteristics of the extracellular proteinase activity of the ericoid endophyte *Hymenoscyphus ericae* // New Phytologist. Vol.112. P.69–76.

Leake J.R., Read D.J. 1989b. The effects of phenolic compounds on nitrogen mobilisation by ericoid mycorrhizal systems // Agriculture, Ecosystems and Environment. Vol.29. P.225–236.

Leake J.R., Read D.J. 1990a. Proteinase activity in mycorrhizal fungi. I. The effect of extracellular pH on the production and activity of proteinase by ericoid endophytes from soils of contrasted pH // New Phytologist. Vol.115. P.243–250.

Leake J.R., Read D.J. 1990b. Proteinase activity in mycorrhizal fungi. II. The effects of mineral and organic nitrogen sources on induction of extracellular proteinase in *Hymenoscyphus ericae* (Read) Korf and Kernan // New Phytologist. Vol.116. P.123–128.

Leake J.R., Read D.J. 1990c. Chitin as a nitrogen source for mycorrhizal fungi // Mycological Research. Vol.94. P.993–995.

Leake J.R., Read D.J. 1990d. The effects of phenolic compounds on nitrogen mobilisation by ericoid mycorrhizal systems // Agriculture, Ecosystems and Environment. Vol.29. P.225–236.

Leake J.R., Read D.J. 1991. Proteinase activity in mycorrhizal fungi. 3. Effects of protein, protein hydrolysate, glucose and ammonium on production of extracellular proteinase by *Hymenoscyphus ericae* (Read) Korf and Kernan // New Phytologist. Vol.117. No.2. P.309–317.

Leake J.R., Read D.J. 1997. Mycorrhizal fungi in terrestrial habitats // D.T. Wicklow, B. Söderström (eds.). The Mycota IV. Environmental and Microbial Relationships. Berlin: Springer. P.281–301.

Leake J.R., Shaw G., Read D.J. 1990a. The biology of mycorrhiza in the Ericaceae. XVI. mycorrhiza and iron uptake in *Calluna vulgaris* (L.) Hull in the presence of two calcium salts // New Phytologist. Vol.114. P.651–657.

Leake J.R., Shaw G., Read D.J. 1990b. The role of ericoid mycorrhiza in the ecology of ericaceous plants // Agriculture, Ecosystems and Environment. Vol.29. P.237–251.

Leake J.R., Donnelly D.P., Boddy L. 2002. Interactions between ectomycorrhizal and saprotrophic fungi // M.G.A. van der Heijden, I.R. Sanders (eds.). Mycorrhizal Ecology. Berlin: Springer-Verlag. P.346–372.

Leake J.R., Johnson D., Donnelly D.P., Muckle G.E., Boddy L., Read D.J. 2004a. Networks of power and influence: the role of mycorrhizal mycelium in controlling plant communities and agroecosystem functioning // Canadian Journal of Botany. Vol.82. P.1016–1045.

Leake J.R., McKendrick S.L., Bidartondo M., Read D.J. 2004b. Symbiotic germination and development of the myco-heterotroph *Monotropa hypopitys* in nature and its requirement for locally distributed *Tricholoma* spp. // New Phytologist. Vol.163. P.405–423.

Leake J.R., Ostle N.J., Rangel-Castro J.I., Johnson D. 2006. Carbon fluxes from plants through soil organisms determined by field (CO_2)-C-13 pulse-labelling in an upland grassland // Applied Soil Ecology. Vol.33. P.152–175.

Lee S.S., Alexander I.J. 1994. The response of seedlings of two dipterocarp species to nutrient additions and ectomycorrhizal infection // Plant and Soil. Vol.163. P.299–306.

Lee S.S., Alexander I.J., Moura-Costa P., Yap S.W. 1996. Mycorrhizal infection of dipterocarp seedlings in logged and undisturbed forests // S. Appaneh, E.C. Khoo (eds.). Proc 5th Round Table Conference on Dipterocarps. Kuala Lumpur: Forest Research Institute of Malaysia.

Lee S.S., Watling R., Turnbull E. 2003. Diversity of putative ectomycorrhizal fungi in Pasoh Forest Reserve // T. Okuda, N. Manokaran, Y. Matsumoto, K. Niiyama, S.C. Thomas, P.S. Ashton (eds.). Pasoh: Ecology of a Lowland Rain Forest in Southeast Asia. Tokyo: Springer. P.149–159.

Lee Y-J., George E. 2005. Contribution of mycorrhizal hyphae to uptake of metal cations by cucumber plants at two levels of phosphorus supply // Plant and Soil. Vol.278. P.361–370.

Lefebvre D.D., Glass A.D.M. 1982. Regulation of phosphate influx in barley roots: effects of phosphate deprivation and reduction of influx with provision of orthophosphate // Physiologia Plantarum. Vol.54. P.199–206.

Lefevre C., Müller W. 1998. *Tricholoma nagnivelare* Peck Redhead // D.M. Goodman, D.M. Durall, J.A. Trofymow, S.M. Berch (eds.). A Manual of Concise Descriptions of North American Ectomycorrhizae. Victoria: Mycologue Publications.

Lei J., Dexheimer J. 1988. Ultrastructural localisation of ATPase activity in *Pinus sylvestris*/*Laccaria laccata* mycorrhizal association // New Phytologist. Vol.108. P.329–334.

Lei J., Ding H., Lapeyrie F., Piché Y., Malajczuk N., Dexheimer J. 1990a. Ectomycorrhiza formation on the roots of *Eucalyptus globulus* and *Pinus caribaea* with two isolates of *Pisolithus tinctorius*: structural and cytochemical observations // P. Nardon (ed.). Endocytobiology. Vol.4. Paris: INRA. P.123–126.

Lei J., Lapeyrie F., Malajczuk N., Dexheimer J. 1990. Infectivity of pine and eucalypt isolates of *Pisolithus tinctorius* Pers. Coker and Couch on roots of *Eucalyptus urophylla* S.T. Blake *in vitro* // New Phytologist. Vol.116. P.115–122.

Lei J., Bécard G., Catford J.G., Piché Y. 1991. Root factors stimulate ^{32}P uptake and plasmalemma ATPase activity in vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita* // New Phytologist. Vol.118. P.289–294.

Lemmon A.R., Milinkovitch M.C. 2002. The metapopulation genetic algorithm: an efficient solution for the problem of large phylogeny estimation // Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA. Vol.99. P.10516–10521.

Lemoine M.C., Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S., Straker C.J. 1992. Occurence and expression of acid phosphatase of *Hymenoscyphus ericae* (Read) Korf and Kernan, in isolation or associated with plant roots // Mycorrhiza. Vol.1. P.137–146.

Lemoine M.C., Gollotte A., Gianinazzi-Pearson V. 1995. β 1-3 glucan localization in walls of the endomycorrhizal fungi *Glomus mosseae* and *Acaulospora laevis* during colonization of host roots // New Phytologist. Vol.129. P.97–105.

Lerat S., Gauci R., Catford J.G., Vierheilig H., Piché Y., Lapointe L. 2002. C-14 transfer between the spring ephemeral *Erythronium americanum* and sugar maple saplings via arbuscular mycorrhizal fungi in natural stands // Oecologia. Vol.132. P.181–187.

Lerat S., Lapointe L., Gutjahr S., Piché Y., Vierheilig H. 2003a. Carbon partitioning in a splitroot system of arbuscular mycorrhizal plants is fungal and plant species dependent // New Phytologist. Vol.157. P.589–595.

Lerat S., Lapointe L., Piché Y., Vierheilig H. 2003b. Variable carbon-sink strength of different *Glomus mosseae* strains colonizing barley roots // Canadian Journal of Botany. Vol.81. P.886–889.

Lesica P., Antibus R.K. 1986. Mycorrhizae of alpine fell-field communities on soils derived from chrystalline and calcareous parent materials // Canadian Journal of Botany. Vol.64. P.1691–1697.

Lesica P., Antibus R.K. 1990. The occurrence of mycorrhizae in vascular epiphytes of two Costa Rican rain forests // Biotropica. P.250–258.

Levy J., Bres C. et al. 2004. A putative Ca^{2+} and calmodulin-dependent protein kinase required for bacterial and fungal symbioses // Science. Vol.303. P.1361–1364.

Levy Y., Krikun J. 1980. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhiza on *Citrus jambhiri* water relations // New Phytologist. Vol.85. P.25–31.

Levy Y., Syvertsen J.P., Nemec S. 1983. Effect of drought stress and vesicular-arbuscular mycorrhiza on citrus transpiration and hydraulic conductivity of roots // New Phytologist. Vol.93. P.61–66.

Lewis D.H. 1963. Uptake and utilisation of substances by beech mycorrhiza. DPhil thesis. Oxford University.

Lewis D.H. 1973. Concepts in fungal nutrition and the origin of biotrophy // Biological Reviews. Vol.48. P.261–278.

Lewis D.H. 1976. Interchange of metabolites in biotrophic symbioses between angiosperms and fungi // N. Sutherland (ed.). Perspectives in Experimental Biology. Vol.2. Botany. pp. 207–219. Oxford: Pergamon Press.

Lewis D.H., Harley J.L. 1965a. Carbohydrate physiology of mycorrhizal roots of beech. I. Identity of endogenous sugars and utilisation of exogenous sugars // New Phytologist. Vol.64. P.224–237.

Lewis D.H., Harley J.L. 1965b. Carbohydrate physiology of mycorrhizal roots of beech. II. Utilisation of exogenous sugars by uninfected and mycorrhizal roots // New Phytologist. Vol.64. P.238–256.

Lewis D.H., Harley J.L. 1965c. Carbohydrate physiology of mycorrhizal roots of beech. III. Movement of sugars between host and fungus // New Phytologist. Vol.64. P.256–269.

Leyval C., Berthelin J. 1989. Interactions between *Laccaria laccata*, *Agrobacterium radiobacter* and beech roots: influence on P, K, Mg, and Fe mobilization from minerals and plant growth // Plant and Soil. Vol.117. P.103–110.

Leyval C., Berthelin J. 1991. Weathering of a mica by roots and rhizospheric microorganisms of pine // Soil Science Society of America Journal. Vol.55. P.1009–1016.

Li H.Y., Zhu Y.G., Marschner P., Smith F.A., Smith S.E. 2005. Wheat responses to arbuscular mycorrhizal fungi in a highly calcareous soil differ from those of clover, and change with plant development and P supply // Plant and Soil. Vol.277. P.221–232.

Li H.Y., Smith S.E., Holloway R.E., Zhu Y.G., Smith F.A. 2006. Arbuscular mycorrhizal AM fungi contribute to phosphorus uptake by wheat grown in a phosphorus-fixing soil even in the absence of positive growth responses // New Phytologist. Vol.172. P.536–543.

Li X.L., Christie P. 2001. Changes in soil solution Zn and pH and uptake of Zn by arbuscular mycorrhizal red clover in Zn-contaminated soil // Chemosphere. Vol.42. P.201–207.

Li X.L., George E., Marschner H. 1991a. Extension of the phosphorus depletion zone in VAmycorrhizal white clover in a calcareous soil // Plant and Soil. Vol.136. P.41–48.

Li X.L., George E., Marschner H. 1991b. Phosphorus depletion and pH decrease at the root-soil and hyphae-soil interfaces of VA mycorrhizal white clover fertilized with ammonium // New Phytologist. Vol.119. P.307–404.

Li X.L., Marschner H., George E. 1991c. Acquisition of phosphorus and copper by VAmycorrhizal hyphae and root-to-shoot transport in white clover // Plant and Soil. Vol.136. P.49–57.

Li X.L., George E., Marschner H., Zhang J.L. 1997. Phosphorus acquisition from compacted soil by hyphae of a mycorrhizal fungus associated with red clover (*Trifolium pratense*) // Canadian Journal of Botany. Vol.75. P.723–729.

Lian C.L., Narimatsu M., Nara K., Hogetsu T. 2006. *Tricholoma matsutake* in a natural *Pinus densiflora* forest: correspondence between above- and below-ground genets, association with multiple host trees and alteration of existing ectomycorrhizal communities // New Phytologist. Vol.171. P.825–836.

Ligrone R. 1988. Ultrastructure of a fungal endophyte in *Phaeoceros laevis* (L) Prosk (Anthocerotophyta) // Botanical Gazette. Vol.149. P.92–100.

Ligrone R., Lopes C. 1989. Cytology and development of a mycorrhiza-like infection in the gametophyte of *Conocephalum conicum* (L) Dum. (Marchantiales, Hepatophyta) // New Phytologist. Vol.111. P.423–433.

Ligrone R., Pocock K., Duckett J.G. 1993. A comparative ultrastructural study of endophytic basidiomycetes in the parasitic achlorophyllous hepatic Cryptothallus mirabilis and the closely allied photosynthetic species Aneura pinguis (Metzgeriales) // Canadian Journal of Botany. Vol.71. P.666–679.

Ligrone R., Carafa A., Lumini E., Bianciotti V., Bonfante P., Dockett J.G. 2007. Glomeromycotean associations in liverworts: a molecular, cellular and taxonomic analysis // American Journal of Botany. Vol.94. P.1756–1777.

Lihnell D. 1942. *Cenococcum graniforme* aus Mykorrizabildner von Walkdbäumen // Symbolae Botanicae Upsaliensis. Vol.5. P.1–8.

Lilleskov E.A., Bruns T.D. 2003. Root colonization of two ectomycorrhizal fungi of contrasting life history strategies are mediated by addition of organic nutrient patches // New Phytologist. Vol.159. P.141–151.

Lilleskov E.A., Bruns T.D. 2005. Spore dispersal of a resupinate ectomycorrhizal fungus, *Tomentella sublilacina*, via soil food webs // Mycologia. Vol.97. P.762–769.

Lilleskov E.A., Fahey T.J., Lovett G.M. 2001. Ectomycorrhizal fungal aboveground community change over an atmospheric nitrogen deposition gradient // Ecological Applications. Vol.11. P.397–410.

Lilleskov E.A., Fahey T., Horton T.R., Lovett G.M. 2002a. Belowground ectomycorrhizal fungal community change over a nitrogen deposition gradient in Alaska // Ecology. Vol.83. P.104–115.

Lilleskov E.A., Hobbie E.A., Fahey T.J. 2002b. Ectomycorrhizal fungal taxa differing in response to nitrogen deposition also differ in pure culture organic nitrogen use and natural abundance of nitrogen isotopes // New Phytologist. Vol.154. P.219–231.

Lim L.L., Fineran B.A., Cole A.L.J. 1983. Ultrastructure of intrahyphal hyphae of *Glomus fasiculatum* (Thaxter) Gerdemann and Trappe in roots of white clover *(Trifolium repens* L.) // New Phytologist. Vol.95. P.231–239.

Lindahl B., Stenlid J., Olsson S., Finlay R. 1999. Translocation of ^{32}P between interacting mycelia of a wood-decomposing fungus and ectomycorrhizal fungi in microcosm systems // New Phytologist. Vol.144. P.183–193.

Lindahl B., Finlay R., Olsson S. 2001. Simultaneous, bidirectional translocation of ^{32}P and ^{33}P between wood blocks connected by mycelial cords of *Hypholoma fasciculare* // New Phytologist. Vol.150. P.189–194.

Lindahl B., Taylor A.F.S., Finlay R.D. 2002. Defining nutritional constraints on carbon cycling in boreal forests – towards a less 'phytocentric' perspective // Plant and Soil. Vol.242. P.123–135.

Lindahl B., Ihrmark K., Boberg J. et al. 2007 Spatial separation of litter decomposition and mycorrhizal nitrogen uptake in boreal forest // New Phytologist. Vol.173. P.611–620.

Lindeberg G., Lindeberg M. 1977. Pectinolytic ability of some mycorrhizal and saprophytic Hymenomycetes // Archives of Microbiology. Vol.115. P.9–12.

Linder S., Axelsson B. 1982. Changes in carbon uptake and allocation patterns as a result of irrigation and fertilisation in a young *Pinus sylvestris* stand // R.H. Waring (ed.). Carbon Uptake and Allocation in Subalpine Ecosystems as a Key to Management. Forest Research Laboratory, Oregon State University. P.38–44.

Linderman R.G. 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and soil microbial interactions // G.J. Bethlenfalvay, R.G. Linderman (eds.). Mycorrhizae in Sustainable Agriculture. ASA Special Publication 54. Madison. P.45–70.

Ling-Lee M., Chilvers G.A., Ashford A.E. 1975. Polyphosphate granules in three different kinds of tree mycorrhiza // New Phytologist. Vol.75. P.551–554.

Linkins A.E., Antibus R.K. 1981. Mycorrhizae of *Salix rotundifolia* in coastal arctic tundra // G.A. Laursen, F.F. Ammirati (eds.). Arctic and Alpine Mycology: Proceedings of the First International Symposium on Arctic-Alpine Mycology, Fairbanks, Alaska. Seattle: University of Washington Press. P.509–531.

Littke W.R., Bledsoe C.S., Edmonds R.L. 1984. Nitrogen uptake and growth *in vitro* by *Hebeloma crustuliniforme* and other Pacific Northwest mycorrhizal fungi // Canadian Journal of Botany. Vol.62. P.647–652.

Liu J.Y., Blaylock L.A., Endre G. et al. 2003. Transcript profiling coupled with spatial expression analyses reveals genes involved in distinct developmental stages of an arbuscular mycorrhizal symbiosis // The Plant Cell. Vol.15. P.2106–2123.

Liu J.Y., Blaylock L.A., Harrison M.J. 2004. cDNA arrays as a tool to identify mycorrhiza-regulated genes: identification of mycorrhiza-induced genes that encode or generate signaling molecules implicated in the control of root growth // Canadian Journal of Botany. Vol.82. P.1177–1185.

Liu Y., Zhu Y.G., Chen B.D., Christie P., Li X.L. 2005a. Influence of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* on uptake of arsenate by the As hyperaccumulator fern *Pteris vittata* L. // Mycorrhiza. Vol.15. P.187–192.

Liu Y., Zhu Y.G., Chen B.D., Christie P., Li X.L. 2005b. Yield and arsenate uptake of arbuscular mycorrhizal tomato colonized by *Glomus mosseae* BEG167 in As spiked soil under glasshouse conditions // Environment International. Vol.31. P.867–873.

Lloyd-MacGilp S.A., Chambers S.M., Dodd J.C., Fitter A.H., Walker C., Young J.P.W. 1996. Diversity of the ribosomal internal transcribed spacers within and among isolates of *Glomus mosseae* and related mycorrhizal fungi // New Phytologist. Vol.33. P.103–111.

LoBuglio K.F., Taylor J.W. 2002. Recombination and genetic differentiation in the mycorrhizal fungus *Cenococcum geophilum* Fr. // Mycologia. Vol.94. P.772–780.

LoBuglio K.F., Berbee M.L., Taylor J.W. 1996. Phylogenetic origins of the asexual mycorrhizal symbiont *Cenococcum geophilum* Fr. and other mycorrhizal fungi among the ascomycetes // Molecular Phylogenetics and Evolution. Vol.6. P.287–294.

Lodge D.J., Wentworth T.R. 1990. Negative associations among VA-mycorrhizal fungi and some ectomycorrhizal fungi inhabiting the same root-system // Oikos. Vol.57. P.347–356.

Lodge D.J., McDowell W.H., Swiney C.P. 1994. The importance of nutrient pulses in tropical forests // Tree. Vol.9. P.384–387.

Loewe A., Einig W., Shi L., Dizengremel P., Hampp R. 2000. Mycorrhiza formation and elevated CO_2 both increase the capacity for sucrose synthesis in source leaves of spruce and aspen // New Phytologist. Vol.145. P.565–574.

Loftus B.J., Fung E., Roncaglia P. et al. 2005. The genome of the basidiomycetous yeast and human pathogen *Cryptococcus neoformans* // Science. Vol.307. P.1321–1324.

Logi C., Sbrana C., Giovannetti M. 1998. Cellular events involved in survival of individual arbuscular mycorrhizal symbionts growing in the absence of the host // Applied and Environmental Microbiology. Vol.64. P.3473–3479.

Lorillou S., Botton B., Martin F. 1996. Nitrogen source regulates the biosynthesis of NADPglutamate dehydrogenase in the ectomycorrhizal basidiomycete *Laccaria bicolor* // New Phytologist. Vol.132. P.289–296.

Louis I., Lim G. 1987. Spore density and root colonization of vesicular-arbuscular mycorrhizas in tropical soil // Transactions of the British Mycological Society. Vol.88. P.207–212.

Louis I., Lim G. 1988. Effect of storage of inoculum on spore germination of a tropical isolate of *Glomus clarum* // Mycologia. Vol.80. P.157–161.

Lovato P.E., Schüepp H., Trouvelot A., Gianinazzi S. 1995. Application of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in orchard and ornamental plants // A. Varma, B. Hock (eds.). Mycorrhiza, Structure, Function, Molecular Biology and Biotechnology. Berlin: Springer-Verlag. P.443–467.

Lovato P.E., Gianinazzi Pearson V., Trouvelot A., Gianinazzi S. 1996. The state of art of mycorrhizas and micropropagation // Advances in Horticultural Science. Vol.10. P.46–52.

Lu S., Miller M.H. 1989. The role of VA mycorrhizae in the absorption of P and Zn by maize in fi eld and growth chamber experiments // Canadian Journal of Soil Science. Vol.69. P.97–109.

Lück R. 1940. Zur Biologie der heimischen *Pyrola* arten // *P*hysikalish-Ökonomische Gesellschaft zu Königsberg Schriften. Bd.71. S.300–334.

Lundeberg G. 1970. Utilisation of various nitrogen sources, in particular bound soil nitrogen, by mycorrhizal fungi // Studia Forestalia Suecica. Vol.79. P.1–95.

Lussenhop J. 1992. Mechanisms of microarthropod-microbial interactions in soil // Advances in Ecological Research. Vol.23. P.1–33.

Lussenhop J., BassiriRad H. 2005. Collembola effects on plant mass and nitrogen acquisition by ash seedlings *Fraxinus pennsylvanica* // Soil Biology and Biochemistry. Vol.37. P.645–650.

Lutz R.W., Sjolund R.D. 1973. *Monotropa uniflora*: ultrastructural details of its mycorrhizal habit // American Journal of Botany. Vol.60. P.339–345.
Lux H.B., Cumming J.R. 1999. Effect of aluminum on the growth and nutrition of tulippoplar seedlings // Canadian Journal of Forest Research. Vol.29. No.12. P.2003–2007.
Lux H.B., Cumming H.R. 2001. Mycorrhizae confer aluminium resistance to tulip-poplar seedlings // Canadian Journal of Forest Research. Vol.31. P.694–702.
Lyr H., Hoffman G. 1967. Growth rates and growth periodicity of tree roots // International Review of Forest Research. Vol.2. P.81.
Ma M., Tan T.K., Wong S.M. 2003. Identification and molecular phylogeny of *Epulorhiza* isolates from tropical orchids // Mycological Research. Vol.107. P.1041–1049.
Maas P.J.M., Ruyters P. 1986. *Voyria* and *Voyriella* saprophytic Gentianaceae // Flora Neotropica 41. New York: New York Botanical Gardens.
Mabberley D.J. 1997. The Plant Book. 2nd edn. Cambridge: Cambridge University Press.
MacDougal D.T. 1899. Symbiotic saprophytism // Annals of Botany. Vol.13. P.1–47.
Mack M.C., Schuur E.A.G., Bret-Harte M.S., Shaver G.R., Chapin F.S. 2004. Ecosystem carbon storage in arctic tundra reduced by long-term nutrient fertilization // Nature. Vol.431. P.440–443.
MacMahon J.A. 1981. Successional processes: comparisons among biomes with special reference to probable roles of and influences on animals // D. West, H. Shugart, D. Botkin (eds.). Forest Succession: Concept and Application. New York: Springer-Verlag. P.277–304.
Madan R., Pankhurst C., Hawke B., Smith S. 2002. Use of fatty acids for identification of AM fungi and estimation of the biomass of AM spores in soil // Soil Biology and Biochemistry. Vol.34. P.125–128.
Mader P., Vierheilig H., Streitwolf-Engel R. et al. 2000. Transport of ^{15}N from a soil compartment separated by a polytetrafl uoroethylene membrane to plant roots via the hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi // New Phytologist. Vol.146. P.155–161.
Madhani H.D., Fink G.R. 1998. The control of filamentous differentiation and virulence in fungi // Trends in Cell Biology**.** Vol.8**.** No.9. P.348–353.
Maeda D., Ashida K., Iguchi K. et al. 2006. Knockdown of an arbuscular mycorrhiza-inducible phosphate transporter gene of *Lotus japonicus* supresses mutualistic symbiosis // Plant and Cell Physiology. Vol.47. P.807–817.
Mago P., Agnes C.A., Mukerji K.J. 1992. VA mycorrhizal status of some Indian bryophytes // Phytomorphology. Vol.42. P.231–239.
Magrou M.J. 1925. La symbiose chez les Hepatiques. Le *Pellia epiphylla* et son champignon commensal // Annales des Sciences Naturelles; Botanique. Vol.7. P.725–780.
Magrou M.J. 1936. Culture et inoculation du champignon symbiotique d'*Arum maculatum* // Comptes Rendues hebd Seanc Acad. Sci. Vol.203. P.887–888.
Magrou M.J. 1946. Sur la culture de quelques champignons de mycorhizes a arbuscules et a vesicules // Revue Generale de Botanique. Vol.53. P.49–77.
Mahmood S., Finlay R.D., Wallander H., Erland S. 2002. Ectomycorrhizal colonisation of roots and ash granules in a spruce forest treated with granulated wood ash // Forest Ecology and Management. Vol.160. P.65–74.
Maia L.C., Yano A.M., Kimbrough J.W. 1996. Species of Ascomycota forming ectomycorrhizae // Mycotaxon. Vol.57. P.371–390.
Maijala P., Fagerstedt K., Raudaskoski M. 1991. Detection of extracellular cellulolytic and proteolytic activity in ectomycorrhizal fungi and *Heterobasidium annosum* Fr. Bref. // New Phytologist. Vol.117. P.643–648.
Malajczuk N., Molina R., Trappe J.M. 1984. Ectomycorrhiza formation in *Eucalyptus*. II. The ultrastructure of compatible and incompatible mycorrhizal fungi and associated roots // New Phytologist. Vol.96. P.43–53.
Malajczuk N., Lapeyrie F., Garbaye J. 1990. Infectivity of pine and eucalypt isolates of *Pisolithus tinctorius* on the roots of *Eucalyptus urophylla in vitro* // New Phytologist. Vol.114. P.627–631.
Maldonado-Mendoza I.E., Dewbre G.R., Harrison M.J. 2001. A phosphate transporter gene from the extraradical mycelium of an arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* is regulated in response to phosphate in the environment // Molecular Plant Microbe Interactions. Vol.14. P.1140–1148.
Maldonado-Mendoza I.E., Dewbre G.R., van Buuren M.L., Versaw W., Harrison M.J. 2002. Methods to estimate the proportion of plant and fungal RNA in an arbuscular mycorrhizal fungus // Mycorrhiza. Vol.12. P.67–74.

Mandyam K., Jumpponen A. 2005. Seeking the elusive function of the root-colonising dark septate endophytic fungi // Studies in Mycology. Vol.53. P.173–189.
Mangin L. 1910. Introduction a l'Etude des Mycorrhizes des Arbres Forestiéres. Nouvelles Archives Museum National d'Histoire Naturelle, Paris.
Manjarrez-Martinez M. 2007. Characterization of the life cycle and cellular interactions of AM fungi with the reduced mycorrhizal colonization (*rmc*) mutant of tomato (*Solanum lycopersicum* L.). PhD thesis. Adelaide: The University of Adelaide.
Manjunath A., Habte M. 1988. Development of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection and uptake of immobile nutrients in *Leucena leucocephala* // Plant and Soil. Vol.106. P.97–103.
Manning J.C., Van Standen J. 1987. The development and mobilisation of seed reserves in some African orchids // Australian Journal of Botany. Vol.35. P.343–353.
Manske C.G.B. 1989. Genetical analysis of the efficiency of VA mycorrhiza with spring wheat // Agriculture, Ecosystems and Environment. Vol.29. P.273–280.
Marjanovic Z., Uehlein N., Kaldenhoff R. et al. 2005a. Aquaporins in poplar: what a difference a symbiont makes! // Planta. Vol.222. P.258–268.
Marjanovic Z., Uwe N., Hampp R. 2005b. Mycorrhiza formation enhances adaptive response of hybrid poplar to drought // Biophysics from Molecules to Brain: In Memory of Radoslav K. Andjus. Vol.1048. P.496–499.
Marks G.C., Foster R.C. 1967. Succession of mycorrhizal associations on individual roots of radiata pine // Australian Forestry. Vol.31. P.194–201.
Marler M.J., Zabinski C.A., Callaway R.M. 1999. Mycorrhizae indirectly enhance competitive effects of an invasive forb on a native bunchgrass // Ecology. Vol.80. P.1180–1186.
Marmeisse R., Debaud J.C., Casselton L.A. 1992a. DNA probes for species and strain identification in ectomycorrhizal fungus *Hebeloma* // Mycological Research. Vol.96. P.161–165.
Marmeisse R., Gay G., Debaud J.C., Casselton L.A. 1992b. Genetic transformation of the symbiotic basidiomycete fungus *Hebeloma cylindrosporum* // Current Genetics. Vol.22. P.41–45.
Marmeisse R., Jargeat P., Wagner F., Gay G., Debaud J.C. 1998. Isolation and characterization of nitrate reductase defi cient mutants of the ectomycorrhizal fungus *Hebeloma cylindrosporum* // New Phytologist. Vol.140. P.311–318.
Marschner H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. London: Academic Press.
Marschner H., Dell B. 1994. Nutrient uptake in mycorrhizal symbiosis // Plant and Soil. Vol.159. P.89–102.
Marschner H., Römheld V., Horst W.J., Martin P. 1986. Root induced changes in the rhizosphere: Importance for the mineral nutrition of plants // Zeitschrift für Pflanzenernahrung und Bodenkunde. Bd.149. S.441–456.
Marschner P., Baumann K. 2003. Changes in bacterial community structure induced by mycorrhizal colonisation in split-root maize // Plant and Soil. Vol.251. P.279–289.
Marschner P., Crowley D.E. 1996. Root colonization of mycorrhizal and non-mycorrhizal pepper (*Capsicum annuum*) by *Pseudomonas fluorescens* 2–79RL // New Phytologist. Vol.134. P.115–122.
Marschner P., Timonen S. 2005. Interactions between plant species and mycorrhizal colonization on the bacterial community composition in the rhizosphere // Applied Soil Ecology. Vol.28. P.23–36.
Marschner P., Godbold D.L., Jentschke G. 1996 .Dynamics of lead accumulation in mycorrhizal and non-mycorrhizal Norway spruce (*Picea abies* (L) Karst) // Plant and Soil. Vol.178. P.239–245.
Marschner P., Crowley D.E., Higashi R.M. 1997. Root exudation and physiological status of a root-colonizing fluorescent pseudomonad in mycorrhizal and non-mycorrhizal pepper (*Capsicum annuum* L.) // Plant and Soil. Vol.189. P.11–20.
Marsh J.F., Schultze M. 2001. Analysis of arbuscular mycorrhizas using symbiosis-defective plant mutants // New Phytologist. Vol.150. P.525–532.
Martin C.A., Stutz J.C. 2004. Interactive effects of temperature and arbuscular mycorrhizal fungi on growth, P uptake and root respiration of *Capsicum annuum* L. // Mycorrhiza. Vol.14. P.241–244.
Martin F. 1985. Nitrogen-^{15}NMR studies on nitrogen assimilation and amino acid biosynthesis in the ectomycorrhizal fungus *Cenococcum graniforme* // FEBS Letters. Vol.182. P.350–354.
Martin F. 2007. Fair trade in the Underworld: the Ectomycorrhizal Symbiosis // R.T. Howard, N.A.R. Gow (eds.). The Mycota VIII Biology of the Fungal Cell. Edn. 2. P.291–308.
Martin F., Botton B. 1993. Nitrogen metabolism of ectomycorrhizal fungi and ectomycorrhiza // Advances in Plant Pathology. Vol.9. P.83–102.

Martin F., Canet D. 1986. Biosynthesis of amino acids during 13C glucose utilisation by the ectomycorrhizal ascomycete *Cenococcum geophilum* monitored by ^{13}C nuclear magnetic resonance // Physiology Végétale. Vol.24. P.209–218.

Martin F., Tagu D. 1995. Ectomycorrhiza development: a molecular perspective // A. Varma, B. Hock (eds.). Mycorrhiza: Structure, Function, Molecular Biology and Biotechnology. Berlin: Springer-Verlag. P.29–58.

Martin F., Marchal J.P., Timinska A., Canet D. 1985. The metabolism and physical state of polyphosphates in ectomycorrhizal fungi. A ^{31}P nuclear magnetic resonance study // New Phytologist. Vol.101. P.275–290.

Martin F., Stewart G., Genetet I., Le Tacon F. 1986. Assimilation of $^{15}NH_4^+$ by beech (*Fagus sylvatica*) ectomycorrhizas // New Phytologist. Vol.102. P.85–94.

Martin F., Ramstedt M., Söderhäll K., Canet D. 1988a. Carbohydrate and aminoacid metabolism in the ectomycorrhizal ascomycete *Sphaerosporella brunnea* during glucose utilization // Plant Physiology. Vol.86. P.935–940.

Martin F., Stewart G.R., Genetet I., Mourot B. 1988b. The involvement of glutamate dehydrogenase and glutamine synthetase in ammonia assimilation by the rapidly growing ectomycorrhizal ascomycete, *Cenococcum geophilum* Fr. // New Phytologist. Vol.110. P.541–550.

Martin F., Chalot M., Brun A., Lorillou S., Botton B., Dell B. 1992. Spatial distribution of nitrogen assimilation pathways in ectomycorrhizas // D.J. Read, D.H. Lewis, A.H. Fitter, I.J. Alexander (eds.). Mycorrhizas in Ecosystems. P.311–315. Wallingford: CAB International.

Martin F., Coté R., Canet D. 1994. NH_4^+ assimilation in the ectomycorrhizal basidiomycete *Laccaria bicolor* Maire Orton, a ^{15}N-NMR study // New Phytologist. Vol.128. P.479–485.

Martin F., Diez J., Dell B., Delaruelle C. 2002. Phylogeography of the ectomycorrhizal *Pisolithus* species as inferred from nuclear ribosomal DNA ITS sequences // New Phytologist. Vol.153. P.345–357.

Martin F., Tuskan G.A., DiFazio S.P., Lammers P., Newcombe G., Podila G.K. 2004. Symbiotic sequencing for the *Populus* mesocosm // New Phytologist. Vol.161. P.330–335.

Martin J.F. 1986. Mycorhization de *Monotropa uniflora* L. par des Russulaceae // Bulletin de la SociétéMycologique de France. Vol.102. P.155–159.

Martinez D., Larrondo L.F., Putnam N. et al. 2004. Genome sequence of the lignocellulose degrading fungus *Phanerochaete chrysosporium* strain RP78 // Nature Biotechnology. Vol.22. P.695–700.

Martino E., Coisson J.D., Lacourt I., Favaron F., Bonfante P., Perotto S. 2000. Influence of heavy metals on production and activity of pectinolytic enzymes in ericoid mycorrhizal fungi // Mycological Research. Vol.104. P.825–833.

Martino E., Perotto S., Parsons R., Gadd G.M. 2003. Solubilization of insoluble inorganic zinc compounds by ericoid mycorrhizal fungi derived from heavy metal polluted sites // Soil Biology and Biochemistry. Vol.35. P.133–141.

Marulanda A., Azcón R., Ruiz-Lozano J.M. 2003. Contribution of six arbuscular mycorrhizal fungal isolates to water uptake by *Lactuca sativa* plants under drought stress // Physiologia Plantarum. Vol.119. P.526–533.

Marx C., Dexheimer J., Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S. 1982. Enzymatic studies on the metabolism of vesicular-arbuscular mycorrhizas. IV. Ultracytoenzymological evidence ATPase for active transfer processes in the host-arbuscular interface // New Phytologist. Vol.90. P.37–43.

Marx D.H. 1969. The influence of ectotrophic mycorrhizal fungi on the resistance of pine roots to pathogenic infections. I. Antagonism of mycorrhizal fungi to root pathogenic fungi and soil bacteria // Phytopathology. Vol.59. P.153–163.

Marx D.H. 1973. Mycorrhizae and feeder root diseases // G.C. Marks, T.T. Kozlowski (eds.). Ectomycorrhizae. New York: Academic Press. P.351–382.

Marx D.H. 1975. Mycorrhizas and establishment of trees on strip-mined land // Ohio Journal of Science. Vol.75. P.288–297.

Marx D.H. 1977. Tree host range and world distribution of the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius* // Canadian Journal of Microbiology. Vol.23. P.217–223.

Marx D.H. 1979a. Synthesis of *Pisolithus* ectomycorrhizae on White Oak seedlings in fumigated nursery soil. Forest Service Research Note, USDA, SE 280.

Marx D.H. 1979b. Synthesis of ectomycorrhizae by different fungi in Northern Red Oak seedlings. Forest Service Research Note, USDA, SE 282.

Marx D.H. 1980. Role of mycorrhizae in forestation of surface mines // Proceedings of Symposium on Trees for Reclamation. Lexington: Compact Commission and USDA Forest Service. P.109–116.

Marx D.H. 1985. Trials and tribulations of an ectomycorrhizal fungus inoculation program // R. Molina (ed.). Proceedings of the 6th North American Conference on Mycorrhizae. Corvallis: Forest Research Laboratory. P.62–63.

Marx D.H. 1991. The practical significance of ectomycorrhizae in forest establishment // The Marcus Wallenberg Foundation Symposia 7: Ecophysiology of Ectomycorrhizae of Forest Trees. Stockholm: The Marcus Wallenberg Foundation. P.54–83.

Marx D.H., Bryan W.C. 1969.Studies on ectomycorrhizae of pine in an electronically air-filtered, air-conditioned, plant growth room // Canadian Journal of Botany. Vol.47. P.1903–1909.

Marx D.H., Bryan W.C. 1971. Formation of ectomycorrhizae on half-sib progenies of slash pine in aseptic culture // Forest Science. Vol.17. P.488–492.

Marx D.H., Bryan W.C. 1975. Growth and ectomycorrhizal development of loblolly pine seedlings in fumigated soil infected with the fungal symbiont *Pisolithus tinctorius* // Forest Science. Vol.21. P.245–254.

Marx D.H., Kenney D.S. 1982. Production of ectomycorrhizal fungus inoculum // N.C. Schenck (ed.). Methods and Principles of Mycorrhizal Research. P.131–146. St Paul: American Phytopathological Society.

Marx D.H., Zak B. 1965. Effect of pH on mycorrhizal formation of slash pine in aseptic culture // Forest Science. Vol.11. P.66–75.

Marx D.H., Bryan W.C., Cordell C.E. 1976. Growth and ectomycorrhizal development of pine seedlings in nursery soils infested with the fungal symbiont *Pisolithus tinctorius* // Forest Science. Vol.22. P.91–100.

Marx D.H., Hatch A.B., Mendicino J.F. 1977. High fertility decreases sucrose content and susceptibility of Loblolly pine roots to ectomycorrhizal infection by *Pisolithus tinctorius* // Canadian Journal of Botany. Vol.55. P.1569–1574.

Marx D.H., Morris W.G., Mexal J.G. 1978. Growth and ectomycorrhizal development of loblolly pine seedlings in fumigated and nonfumigated nursery soil infested with different fungal symbionts // Forest Science. Vol.24. P.193–203.

Marx D.H., Cordell C.E., Kenney D.S. et al. 1984a. Commercial vegetative inoculum of *Pisolithus tinctorius* and inoculation techniques for development of ectomycorrhizae on bare-root tree seedlings // Forest Science. Vol.30. P.1–101.

Marx D.H., Jarl K., Ruehle J.L., Bell W. 1984b. Development of *Pisolithus tinctorius* ectomycorrhizae on pine seedlings using basidiospore encapsulated seeds // Forest Science. Vol.30. P.897–907.

Marx D.H., Cordell C.E., Clark A.I. 1988. Eight-year performance of loblolly pine with *Pisolithus* ectomycorrhizae on a good-quality forest site // Southern Journal of Applied Forestry. Vol.12. P.275–280.

Marx D.H., Maul S.B., Cordell C.E. 1989. Application of specific ectomycorrhizal fungi in world forestry // Frontiers in Industrial Mycology. P.78–98. Chapman Hall: American Mycological Society.

Marx D.H., Ruehle J.L., Cordell C.E. 1991. Methods for studying nursery and field responses of trees to specific ectomycorrhiza // Methods in Microbiology. Vol.23. P.383–412.

Marx D.H., Marrs L.F., Cordell C.E. 2002. Practical use of mycorrhizal fungal technology in forestry, reclamation, arboriculture, agriculture and horticulture // Dendrobiology 47. P.29–42.

Mason P.A., Last F.T., Pelham J., Ingleby K. 1982. Ecology of some fungi associated with an ageing stand of birches (*Betula pendula* and *B. pubescens*) // Forest Ecology and Management. Vol.4. P.19–39.

Mason P.A., Wilson J., Last F.T. 1983. The concept of succession in relation to the spread of sheathing mycorrhizal fungi in inoculated tree seedlings growing in unsterile soils // Plant and Soil. Vol.71. P.247–256.

Massicotte H.B., Peterson R.L., Ackerley C.A., Piché Y. 1986. Structure and ontogeny of *Alnus crispa* - *Alpova diplophloeus* ectomycorrhizae // Canadian Journal of Botany. Vol.64. P.177–192.

Massicotte H.B., Melville L.H., Peterson R.L. 1987a. Scanning electron microscopy of ectomycorrhizae, potential and limitations // Scanning Microscopy. Vol.1. P.1439–1454.

Massicotte H.B., Peterson R.L., Ackerley C.A., Ashford A.E. 1987b. Ontogeny of *Eucalyptus pilularis – Pisolithus tinctorius* ectomycorrhizae. II. Transmission electron microscopy // Canadian Journal of Botany. Vol.65. P.1940–1947.

Massicotte H.B., Peterson R.L., Ashford A.E. 1987c. Ontogeny of *Eucalyptus pilularis – Pisolithus tinctorius* ectomycorrhizae. I. Light microscopy and scanning electron microscopy // Canadian Journal of Botany. Vol.65. P.1927–1939.

Massicotte H.B., Peterson R.L., Melville L.H. 1989. Ontogeny of *Alnus diplophloeus* ectomycorrhizae I. Light microscopy and scanning electron microscopy // Canadian Journal of Botany. Vol.67. P.191–200.

Massicotte H.B., Peterson R.L., Ackerley C.A., Melville L.H. 1990. Structure and ontogeny of *Betula alleghaniensis-Pisolithus tinctorius* ectomycorrhizae // Canadian Journal of Botany. Vol.68. P.579–593.

Massicotte H.B., Melville L.H., Li C.Y., Peterson R.L.1992. Structural aspects of Douglas-fir (*Pseudotsuga menziesii* (Mirb) Franco) tuberculate ectomycorrhizae // Trees. Vol.6. P.137–146.

Massicotte H.B., Melville L.H., Molina R., Peterson R.L. 1993. Structure and histochemistry of mycorrhizae synthesized between *Arbutus menziesii* (Ericaceae) and two basidiomycetes, *Pisolithus tinctorius* Pisolithaceae and *Piloderma bicolor* Corticiaceae // Mycorrhiza. Vol.3. P.1–11.

Massicotte H.B., Melville L.H., Peterson R.L., Molina R. 1999. Biology of the ectomycorrhizal fungal genus, Rhizopogon - IV. Comparative morphology and anatomy of ectomycorrhizas synthesized between several *Rhizopogon* species on Ponderosa pine (*Pinus ponderosa*) // New Phytologist. Vol.142. P.355–370.

Masuhara G., Katsuya K. 1991. Fungal coil formation of *Rhizoctonia repens* in seedlings of *Galeola septentrionalis* (Orchidaceae) // The Botanical Magazine of Tokyo. Vol.104. P.275–281.

Masuhara G., Katsuya K. 1992. Mycorrhizal differences between genuine roots and tuberous roos of adult plants of *Sprianthes sinensis* var *amoena* (Orchidaceae) // Botanical Magazine, Tokyo. Vol.105. P.453–460.

Masuhara G., Katsuya K. 1994. *In situ* and *in vitro* specificity between *Rhizoctonia* spp. and *Spiranthes sinensis* (Persoon) Ames. var *amoena* (M. Bieberstein) Hara (Orchidaceae) // New Phytologist. Vol.127. P.711–718.

Masuhara G., Kimura S., Katsuya K. 1988. Seasonal changes in the mycorrhizae of *Bletilla striata* (Orchidaceae) // Transactions of the Mycological Society of Japan. Vol.29. P.25–31.

Masuhara G., Katsuya K., Yamaguchi K. 1993. Potential for symbiosis of *Rhizoctonia solani* and binucleate *Rhizoctonia* with seeds of *Spiranthes sinensis* var *amoena in vitro* // Mycological Research. Vol.97. P.746–752.

Matamala R., Gonzalez-Meler M.A., Jastrow J.D., Norby R.J., Schlesinger W.H. 2003. Impacts of fine root turnover on forest NPP and soil C sequestration potential // Science. Vol.302. P.1385–1387.

Mauperin C.H., Mortier F., Garbaye J., Le Tacon F., Garr G. 1987. Viability of an ectomycorrhizal inoculum produced in a liquid medium and entrapped in a calcium alginate gel // Canadian Journal of Botany. Vol.65. P.2326–2329.

Maurel C., Chrispeels M.J. 2001. Aquaporins. A molecular entry into plant water relations // Plant Physiology. Vol.125. No.1. P.135–138.

May R.M. 1981. Patterns in multi-species communities // R.M. May (ed.). Theoretical Ecology. Principles and Applications. Oxford: Blackwell Scientific. P.197–227.

Mayo K., Davis R.E., Motta J. 1986. Stimulation of germination of spores of *Glomus versiforme* by spore associated bacteria // Mycologia. Vol.78. P.426–431.

Mayor J.R., Henkel T.W. 2006. Do ectomycorrhizas alter leaf-litter decomposition in monodominant tropical forests of Guyana? // New Phytologist. Vol.169. P.579–588.

Mazzola M., Wong O.T., Cook R.J. 1996. Virulence of *Rhizoctonia oryzae* and *R. solani* AG-8 on wheat and detection of *R. oryzae* in plant tissue by PCR // Phytopathology. Vol.86. P.354–360.

McAfee B.J., Fortin A. 1986. Competitive interactions of ectomycorrhizal mycobionts under fi eld conditions // Canadian Journal of Botany. Vol.64. P.848–852.

McAfee B.J., Fortin J.A. 1988. Comparative effects of the soil microflora on ectomycorrhizal inoculation of conifer seedlings // New Phytologist. Vol.108. P.443–449.

McComb A.L. 1938. The relation between mycorrhizae and the development and nutrient absorption of pine seedlings in a prairie nursery // Journal of Forestry. Vol.36. P.1148–1154.

McComb A.L., Griffith J.E. 1946. Growth stimulation and phosphorus absorption of mycorrhizal and non-mycorrhizal White Pine and Douglas Fir seedlings in relation to fertiliser treatment // Plant Physiology. Vol.21. P.11–17.

McCormick M.K., Whigham D.F., O'Neill J. 2004. Mycorrhizal diversity in photosynthetic terrestrial orchids // New Phytologist. Vol.163. P.425–438.

McGee P.A. 1985. Lack of spread of endomycorrhizas of *Centaurium* (Gentianaceae) // New Phytologist. Vol.101. P.451–458.

McGee P.A. 1986. Mycorrhizal associations of plant species in a semiarid community // Australian Journal of Botany. Vol.34. P.585–593.

McGee P.A. 1989. Variation in propagule numbers of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in a semi-arid soil // Mycological Research. Vol.92. P.28–33.
McGee P.A., Baczocha N. 1994. Sporocarpic Endogonales and Glomales in the scats of *Rattus* and *Perameles* // Mycological Research. Vol.98. P.246–249.
McGonigle T.P. 1988. A numerical analysis of published field trials with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi // Functional Ecology. Vol.2. P.473–478.
McGonigle T.P., Fitter A.H. 1988a. Ecological consequences of arthropod grazing on VA mycorrhizal fungi // Proceedings of the Royal Society of Edinburgh. Vol.94B. P.25–32.
McGonigle T.P., Fitter A.H. 1988b. Growth and phosphorus infl ows of *Trifolium repens* L. with a range of indigenous vesicular-arbuscular mycorrhizal infection levels under field conditions // New Phytologist. Vol.108. P.59–65.
McGonigle T.P., Fitter A.H. 1990. Ecological specificity of vesicular-arbuscular mycorrhizal associations // Mycological Research. Vol.94. P.120–122.
McGonigle T.P., Miller M.H. 1993. Responses of mycorrhizae and shoot phosphorus of maize to the frequency and timing of soil disturbance // Mycorrhiza. Vol.4. P.63–68.
McGonigle T.P., Miller M.H. 2000. The inconsistent effect of soil disturbance on colonization of roots by arbuscular mycorrhizal fungi: a test of the inoculum density hypothesis // Applied Soil Ecology. Vol.14. P.147–155.
McGonigle T.P., Miller M.H., Evans D.G., Fairchild G.L., Swan J.A. 1990. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi // New Phytologist. Vol.115. P.495–501.
McGonigle T.P., Yano K., Shinhama T. 2003. Mycorrhizal phosphorus enhancement of plants in undisturbed soil differs from phosphorus uptake stimulation by arbuscular mycorrhizae over non-mycorrhizal controls // Biology and Fertility of Soils. Vol.37. P.268–273.
McHugh T.A., Ghering C.A. 2006. Below-ground interactions with arbuscular mycorrhizal shrubs decrease the performance of pinyon pine and the abundance of its ectomycorrhizas // New Phytologist. Vol.171. P.171–178.
McIlveen W.D., Cole H. 1976. Spore dispersal of Endogonaceae by worms, ants, wasps and birds // Canadian Journal of Botany. Vol.54. P.1486–1489.
McKendrick S.L., Leake J.R., Read D.J. 2000a. Symbiotic germination and development of mycoheterotrophic plants in nature: transfer of carbon from ectomycorrhizal *Salix repens* and *Betula pendula* to the orchid *Corallorhiza trifida* through shared hyphal connections // New Phytologist. Vol.145. P.539–548.
McKendrick S.L., Leake J.R., Taylor D.L., Read D.J. 2000b. Symbiotic germination and development of myco-heterotrophic plants in nature: ontogeny of *Corallorhiza trifida* and characterization of its mycorrhizal fungi // New Phytologist. Vol.145. P.523–537.
McKendrick S.L., Leake J.R., Taylor D.L., Read D.J. 2002. Symbiotic germination and development of the myco-heterotrophic orchid *Neottia nidus-avis* in nature and its requirement for locally distributed *Sebacina* spp. // New Phytologist. Vol.154. P.233–247.
McKercher R.B., Anderson G. 1986. Characterisation of the inositol penta- and hexaphosphate fractions of a number of Canadian and Scottish soils // Journal of Soil Science. Vol.19. P.302–310.
McLean C.B., Cunnington J.H., Lawrie A.C. 1999. Molecular diversity within and between ericoid endophytes from the Ericaceae and Epacridaceae // New Phytologist. Vol.144. P.351–358.
McNabb R.F.R. 1961. Mycorrhiza in New Zealand Ericales // Australian Journal of Botany. Vol.9. P.57–61.
McNaughton S.J., Oesterheld M. 1990. Extramatrical mycorrhizal abundance and grass nutrition in a tropical grazing ecosystem, the Serengeti National Park, Tanzania // Oikos. Vol.59. P.92–96.
McNeill A., Unkovich M. 2006. The nitrogen cycle in terrestrial ecosystems // P. Marschner, Z. Rengel (eds.). Nutrient Cycling in Terrestrial Ecosystems. P.37–64. Berlin: Springer-Verlag.
McNeill A., Wood M. 1990. Fixation and transfer of nitrogen by white clover to ryegrass // Soil Use and Management. Vol.6. P.84–86.
Meharg A.A. 1994. Integrated tolerance mechanisms: constitutive and adaptive plant responses to elevated metal concentrations in the environonment // Plant, Cell and Environment. Vol.17. P.989–993.
Meharg A.A. 2003. The mechanistic basis of interactions between mycorrhizal associations and toxic metal cations // Mycological Research. Vol.107. P.1253–1265.

Meharg A.A. 2004. Arsenic in rice – understanding a new disaster for South-East Asia // Trends in Plant Science. Vol.9. P.415–417.
Meharg A.A., Cairney J.W.G. 1999. Co-evolution of mycorrhizal symbionts and their hosts to metal contaminated environments // Advances in Ecological Research. Vol.30. P.70–112.
Meharg A.A., Hartley-Whitaker J. 2002. Arsenic uptake and metabolism in arsenic resistant and nonresistant plant species // New Phytologist. Vol.154. P.29–43.
Meharg A.A., MacNair M.R. 1992. Supression of the high-affinity phosphate-uptake system – a mechanism of arsenate tolerance in *Holcus lanatus* L. // Journal of Experimental Botany. Vol.43. P.519–524.
Meharg A.A., Bailey K., Breadmore K., MacNair M.R. 1994. Biomass allocation, phosphorus nutrition and vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in clones of Yorkshire Fog, *Holcus lanatus* L. (Poaceae) that differ in their phosphate uptake kinetics and tolerance to arsenate // Plant and Soil. Vol.160. P.11–20.
Meixner C., Ludwig-Muller J., Miersch O., Greshoff P., Staehelin C., Vierheilig H. 2005. Lack of mycorrhizal autoregulation and phytohormonal changes in the supernodulating soybean mutant *nts1007* // Planta. Vol.222. P.709–715.
Mejstrik V. 1970. The anatomy of roots and mycorrhizae of the orchid *Dendrobium cunnighamii* Lindl. // Biologia Plantarum Praha. Vol.12. P.105–109.
Mejstrik V.K., Krause H.H. 1973. Uptake of ^{32}P by *Pinus radiata* roots inoculated with *Suillus luteus* and *Cenococcum graniforme* from different sources of available phosphate // New Phytologist. Vol.72. P.137–140.
Melin E. 1917. Studier över de Norrlandska Myrmarkernas Vegetation med Särskildhänsyn till deras Skogsvegetation efter torrläggning // Norrlands Handbibliotek. Bd.7. Uppsala.
Melin E. 1923. Experimentelle Untersuchungen über die Konstitution and Ökologie der Mykorrhizen von *Pinus sylvestris* und *Picea abies* L *Karst*. // Mykologische Untersuchungen und Berichte. Bd.2. S.72–331.
Melin E. 1925. Untersuchungen über die Bedeutung der Baummykorriza. Jena: Gustav Fischer.
Melin E. 1927. Studier över barrträdsplatans utveckling i rahumus. II. Mykorrhizans utbildning hos tallplantan i olika rahumus former // Meddelanden fran Statens Skogsforskningsinstitut. Bd.23. S.433–494.
Melin E., Nilsson H. 1950. Transfer of radioactive phosphorus to pine seedlings by means of mycorrhizal hyphae // Physiologia Plantarum. Vol.3. P.88–92.
Melin E., Nilsson H. 1953a. Transfer of labelled nitrogen from glutamic acid to pine seedlings through the mycelium of *Boletus variegatus* S.W. Fr. // Nature, London. Vol.171. P.434.
Melin E., Nilsson H. 1953b. Transport of labelled phosphorus to pine seedlings through the mycelium of *Cortinarius glaucopus* Shaeff ex. Fr. Fr. // Svensk Botanisk Tidskrift. Vol.48. P.555–558.
Melin E., Nilsson H. 1955. ^{45}Ca used as indicator of transport of cations to pine seedlings by means of mycorrhizal mycelium // Svensk Botanisk Tidskrift. Vol.49. P.119–121.
Melin E., Nilsson H. 1957. Transport of C^{14}-labelled photosynthate to the fungal associate of pine mycorrhiza // Svensk Botanisk Tidskrift. Vol.51. P.166–186.
Mellersh D., Parniske M. 2006. Common symbiosis genes of *Lotus japonicus* are not required for intracellular accommodation of the rust fungus *Uromyces loti* // New Phytologist. Vol.170. P.641–644.
Menge J.A. 1982. Effects of soil fumigants and fungicides on vesicular-arbuscular fungi // Phytopathology. Vol.72. P.1125–1132.
Menge J.A. 1983. Utilization of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in agriculture // Canadian Journal of Botany. Vol.61. P.1015–1024.
Menge J.A. 1984. Inoculum production // C.L. Powell, D.J. Bagyaraj (eds.). VA Mycorrhizae. Boca Raton: CRC Press. P.187–201.
Menge J.A., Jarrell W.M., Labanauskas C.K. et al. 1982. Predicting mycorrhizal dependency of Troyer Citrange on *Glomus fasciculatus* in California citrus soils and nursery mixes // Soil Science Society America Journal. Vol.46. P.762–768.
Menkis A., Allmer J., Vasiliauskas R., Lygis V., Stenlid J., Finlay R. 2004. Ecology and molecular characterization of dark septate fungi from roots, living stems, coarse and fine woody debris // Mycological Research. Vol.108. P.965–973.
Merryweather J.W., Fitter A.H. 1991. A modified method for elucidating the structure of the fungal partner in a vesicular-arbuscular mycorrhiza // Mycological Research. Vol.95. P.1435–1437.

Merryweather J., Fitter A. 1995a. Phosphorus and carbon budgets: mycorrhizal contribution in *Hyacinthoides non-scripta* (L.) Chouard ex Rothm. under natural conditions // New Phytologist. Vol.129. P.619–627.
Merryweather J., Fitter A. 1995b. Arbuscular mycorrhiza and phosphorus as controlling factors in the life history of *Hyacinthoides non-scripta* (L.) Chouard ex Rothm // New Phytologist. Vol.129. P.629–636.
Merryweather J., Fitter A. 1996. Phosphorus nutrition of an obligately mycorrhizal plant treated with the fungicide benomyl in the field // New Phytologist. Vol.132. P.307–311.
Merryweather J., Fitter A. 1998a. The arbuscular mycorrhizal fungi of *Hyacinthoides nonscripta* I. Diversity of fungal taxa // New Phytologist. Vol.138. P.117–129.
Merryweather J., Fitter A. 1998b. The arbuscular mycorrhizal fungi of *Hyacinthoides non-scripta* II. Seasonal and spatial patterns of fungal populations // New Phytologist. Vol.138. P.131–142.
Merryweather J.W., Fitter A.H. 1998c. Patterns of arbuscular mycorrhizal colonisation of the roots of *Hyacinthoides non-scripta* after disruption of soil mycelium // Mycorrhiza. Vol.8. P.87–92.
Mexal J., Reid C.P.P. 1973. Growth of selected mycorrhizal fungi in response to induced water stress // Canadian Journal of Botany. Vol.51. No.9. P.1579–1588.
Meyer F.H. 1973. Distribution of ectomycorrhizae in native and man-made forests // G.C. Marks , T.T. Kozlowski (eds.). Ectomycorrhizae. P.79–105. New York: Academic Press.
Meysselle J.P., Gay G., Debaud J.C. 1991. Intraspecific genetic variation in acid phosphatase activity in monokaryotic and dikaryotic population of the ectomycorrhizal fungus *Hebeloma cylindrosporum* // Canadian Journal of Botany. Vol.69. P.808–813.
Michalenko G.O., Hohl H.R., Rast D. 1976. Chemistry and architecture of mycelial wall of *Agaricus bisporus* // Journal of General Microbiology. Vol.92. P.251–262.
Michelsen A., Schmidt I.K., Jonasson S., Quarmby C., Sleep D. 1996. Leaf ^{15}N abundance of subarctic plants provides field evidence that ericoid, ectomycorrhizal and non- and arbuscular mycorrhizal species access different sources of soil nitrogen // Oecologia. Vol.105. P.53–63.
Midgley D.J., Chambers S.M., Cairney J.W.G. 2002. Spatial distribution of fungal endophyte genotypes in a *Woollsia pungens* (Ericaceae) root system // Australian Journal of Botany. Vol.50. P.559–565.
Midgley D.J., Chambers S.M., Cairney J.W.G. 2004a Distribution of ericoid mycorrhizal endophytes and root-associated fungi in neighbouring Ericaceae plants in the field // Plant and Soil. Vol.259. P.137–151.
Midgley D.J., Chambers S.M., Cairney J.W.G. 2004b. Inorganic and organic substrates as sources of nitrogen and phosphorus for multiple genotypes of two ericoid mycorrhizal fungal taxa from *Woollsia pungens* and *Leucopogon parviflorus* (Ericaceae) // Australian Journal of Botany. Vol.52. P.63–71.
Midgley D.J., Chambers S.M., Cairney J.W.G. 2004c. Utilisation of carbon substrates by multiple genotypes of ericoid mycorrhizal fungal endophytes from eastern Australian Ericaceae // Mycorrhiza. Vol.14. P.245–251.
Miflin B.J., Lea P.J. 1976. The path of ammonia assimilation on the plant kingdom // Trends in Biochemical Sciences. Vol.1. P.103–106.
Mikola P. 1948. On the physiology and ecology of *Cenococcum graniforme* // Communicationes Instituti Forestalis Fenniae. Vol.36. P.1–104.
Mikola P. 1965. Studies on ectendotrophic mycorrhiza of pine // Acta Forestalia Fennica 79. P.1–56.
Mikola P. 1970. Mycorrhizal inoculation in afforestation // International Review of Forest Research. Vol.3. P.123–196.
Mikola P. 1998. Ectendomycorrhiza of conifers // Silva Fennica. Vol.22. P.19–27.
Miller J.C., Rajapakse S., Garber R.K. 1986. Vesicular-arbuscular mycorrhizae in vegetable crops // HortScience. Vol.21. P.974–984.
Miller M., McGonigle T., Addy H. 1994. An economic approach to evaluate the role of mycorrhizas in managed ecosystems // Plant and Soil. Vol.159. P.27–35.
Miller R.M., Jastrow J.D. 1990. Hierarchy of root and mycorrhizal fungal interactions with soil aggregation // Soil Biology and Biochemistry. Vol.22. P.579–584.
Miller R.M., Jastrow J.D. 1992a. The application of VA mycorrhizae to ecosystem restoration and reclamation // M.F. Allen (ed.). Mycorrhizal Functioning. P.438–467. London: Chapman and Hall.
Miller R.M., Jastrow J.D. 1992b. The role of mycorrhizal fungi in soil conservation // G.J. Bethlenfalvay, R.G. Linderman (eds.). Proceedings of a Symposium on Mycorrhizae in Sustainable Agriculture. ASA Special Publication No. 54. Madison. P.29–44.
Miller R.M., Jastrow J.D. 2002. Mycorrhizal influence on soil structure // Y. Kapulnik, D.D. Douds (eds.). Arbuscular Mycorrhizae: Molecular Biology and Physiology. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. P.3–18.

Miller R.M., Lodge D.J. 1997. Fungal responses to disturbance: agriculture and forestry // Wicklow, B. Söderström (eds.). Mycota IV Environmental and Microbial Relationships. Berlin: Springer-Verlag. P.65–84.
Miller S.L., Allen E.B. 1992. Mycorrhizae, nutrient translocation and interactions between plants // M.F. Allen (ed.). Mycorrhizal Functioning. P.301–332. London: Chapman and Hall.
Miller S.L., Koo C.D., Molina R. 1991. Characterization of red alder ectomycorrhizae – a preface to monitoring belowground ecological responses // Canadian Journal of Botany. Vol.69. P.516–531.
Minerdi D., Bianciotto V., Bonfante P. 2002. Endosymbiotic bacteria in mycorrhizal fungi: from their morphology to genomic sequences // Plant and Soil. Vol.244. P.211–219.
Mirmanto E., Proctor J., Green J., Nagy L., Suriantata. 1999. Effects of nitrogen and phosphorus fertilization in a lowland evergreen rainforest // Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences. Vol.354. P.1825–1829.
Mitchell D.T., Read D.J. 1981. Utilisation of inorganic and organic phosphates by the mycorrhizal endophytes of *Vaccinium macrocarpon* and *Rhododendron ponticum* // Transactions of the British Mycological Society. Vol.76. P.255–260.
Mitchell D.T., Sweeney M., Kennedy A. 1992. Chitin degradation by *Hymenoscyphus ericae* and the influence of *H. ericae* on the growth of ectomycorrhizal fungi // D.J. Read, D.H. Lewis, A.H. Fitter, I.J. Alexander (eds.). Mycorrhizas in Ecosystems. P.246–251. Wallingford: CAB International.
Mitchell H.L., Finn R.F., Rosendahl R.O. 1937. The growth and nutrition of white pine (*Pinus strobus* L.) seedlings in culture // Black Rock Forest Papers. Vol.1. P.58–73.
Mitchell R.J., Garrett H.E., Cox G.S., Atalay A. 1986. Boron and ectomycorrhizal influences on indole-3-acetic acid levels and indole-3-acetic acid oxidase and peroxidase activities of *Pinus echinata* roots // Tree Physiology. Vol.1. P.1–8.
Modjo H.S., Hendrix J.W. 1986. The mycorrhizal fungus *Glomus macrocarpum* as a cause of tobacco stunt disease // Phytopathology. Vol.76. P.668–691.
Modjo H.S., Hendrix J.W., Nesmith W.C. 1987. Mycorrhizal fungi in relation to control of tobacco stunt disease with soil fumigants // Soil Biology and Biochemistry. Vol.19. P.289–295.
Molina R. 1979. Pure culture synthesis and host specificity of red alder mycorrhizae // Canadian Journal of Botany. Vol.57. P.1223–1228.
Molina R. 1981. Ectomycorrhizal specificity in the genus *Alnus* // Canadian Journal of Botany. Vol.59. P.325–334.
Molina R. 1982. Use of the ectomycorrhizal fungus *Laccaria laccata* in forestry. 1. Consistency between isolates in effective colonisation of containerised conifer seedlings // Canadian Journal of Botany. Vol.12. P.469–473.
Molina R., Chamard J. 1983. Use of the ectomycorrhizal fungus *Laccaria laccata* in forestry. II. Effects of fertiliser forms and levels on ectomycorrhizal development and growth of container-grown Douglas-fir and Ponderosa pine // Canadian Journal of Forest Research. Vol.13. P.89–95.
Molina R., Trappe J.M. 1982a. Lack of mycorrhizal specificity in the ericaceous hosts *Arbutus menziesii* and *Arctostaphylos uva-ursi* // New Phytologist. Vol.90. P.495–509.
Molina R., Trappe J.M. 1982b. Patterns of ectomycorrhizal host specificity and potential among Pacific Northwest conifers and fungi // Forest Science. Vol.28. P.423–458.
Molina R., Massicotte H., Trappe J.M. 1992. Specificity phenomena in mycorrhizal symbiosis: community ecological consequences and practical application // M.F. Allen (ed.). Mycorrhizal Functioning. New York: Chapman and Hall. P.357–423.
Molina R., Massicotte H.B., Grubisha L.C., Spatafora J.W. 1999. *Rhizopogon* // J.W.G. Cairney, S.M. Chambers (eds.). Ectomycorrhizal Fungi: Key Genera in Profile. Heidelberg: Springer-Verlag. P.129–161.
Mollison J.E. 1943. *Goodyera repens* and its endophyte // Transactions of the Botanical Society of Edinburgh. Vol.33. P.391–403.
Moncalvo J.M., Vilgalys R., Redhead S.A. et al. 2002. One hundred and seventeen clades of euagarics // Molecular Phylogenetics and Evolution. Vol.23. P.357–400.
Monreal M., Berch S.M., Berbee M. 1999. Molecular diversity of ericoid mycorrhizal fungi // Canadian Journal of Botany. Vol.77. P.1580–1594.
Montanini B., Moretto N., Soragni E., Percudani R., Ottonello S. 2002. A high-affinity ammonium transporter from the mycorrhizal ascomycete *Tuber borchii* // Fungal Genetics and Biology. Vol.36. P.22–34.

Moora M., Zobel M. 1997. Can arbuscular mycorrhiza change the effect of root competition between conspecific plants of different ages? // Canadian Journal of Botany. Vol.76. P.613–619.
Moora M., Opik M., Sen R., Zobel M. 2004. Native arbuscular mycorrhizal fungal communities differentially influence the seedling performance of rare and common *Pulsatilla* spp. // Functional Ecology. Vol.18. P.554–562.
Moore-Parkhurst S., Englander L. 1982. Mycorrhizal status of *Rhododendron* spp. in commercial nurseries in Rhode Island. // Canadian Journal of Botany. Vol.60. P.2342–2344.
Moore R.T. 1987. The genera of Rhizoctonia-like fungi – *Ascorhizoctonia*, *Ceratorhiza* Gen-Nov, *Epulorhiza* Gen-Nov, *Moniliopsis*, and *Rhizoctonia* // Mycotaxon. Vol.29. P.91–99.
Morandi D., Bailey J.A., Gianinazzi-Pearson V. 1984. Isoflavonoid accumulation in soybean roots infected with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi // Physiological Plant Pathology. Vol.24. P.357–364.
Morandi D., Gollotte A., Camporota P. 2002. Influence of an arbuscular mycorrhizal fungus in the interaction of a binucleate *Rhizoctonia* species with Myc^+ and Myc^- pea roots // Mycorrhiza. Vol.12. P.97–102.
Morandi D., Prado E., Sagan M., Duc G. 2005. Characterisation of new symbiotic *Medicago truncatula* Gaertn. mutants, and phenotypic or genetic complementary information on previously described mutants // Mycorrhiza. Vol.15. P.283–289.
Morel M., Jacob C., Kohler A. et al. 2005. Identification of genes differentially expressed in extraradical mycelium and ectomycorrhizal roots during *Paxillus involutus-Betula pendula* ectomycorrhizal symbiosis // Applied and Environmental Microbiology. Vol.71. P.382–391.
Morrison T.M. 1957a. Mycorrhiza and phosphorus uptake // Nature. Vol.179. P.907.
Morrison T.M. 1957b. Host-endophyte relationship in mycorrhiza of *Pernettya macrostigma* // New Phytologist. Vol.56. P.247–257.
Morrison T.M. 1962a. Absorption of phosphorus from soils by mycorrhizal plants // New Phytologist. Vol.61. P.10–20.
Morrison T.M. 1962b. Uptake of sulphur by mycorrhizal plants // New Phytologist. Vol.61. P.21–27.
Morte A., Diaz G., Rodriguez P., Alarcon J.J., Sanchez-Blanco M.J. 2001. Growth and water relations in mycorrhizal and nonmycorrhizal *Pinus halepensis* plants in response to drought // Biologia Plantarum. Vol.44. P.263–267.
Morton J., Franke M., Cloud G. 1992. The nature of fungal species in Glomales (Zygomycetes) // D.J. Read, D.H. Lewis, A.H. Fitter, I.J. Alexander (eds.). Mycorrhizas in Ecosystems. Wallingford: CAB International. P.65–73.
Morton J.B. 1990a. Evolutionary relationships among arbuscular mycorrhizal fungi in the Endogonaceae // Mycologia. Vol.82. P.192–207.
Morton J.B. 1990b. Species and clones of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales, Zygomycetes): their role in macro- and microevolutionary processes // Mycotaxon. Vol.37. P.493–515.
Morton J.B., Benny G.L. 1990. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): a new order, Glomales, two new suborders, Glominae and Gigasporineae, and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae // Mycotaxon. Vol.37. P.471–491.
Mosca A.M.L., Fontana A. 1975. Sull utilizzazione dell azoto proteico da paste del micelio di *Boletus luteus* L. // Allionia. Vol.20. P.47–52.
Moser M. 1958. Die künstliche Mykorrhizaimpfung an Forstpflanzen. I. Erfahrungen bei der Reinkultur von Mykorrhizapilzen // Forstwissenschaftlich Centralblatt. Bd.77. S.32–40.
Mosse B. 1953. Fructifications associated with mycorrhizal strawberry roots // Nature. Vol.171. P.974.
Mosse B. 1957. Growth and chemical composition of mycorrhizal and non-mycorrhizal apples // Nature. Vol.179. P.922–924.
Mosse B. 1959. The regular germination of resting spores and some observations on the growth requirements of an *Endogone* sp. causing vesicular-arbuscular mycorrhiza // Transactions of the British Mycological Society. Vol.42. P.273–286.
Mosse B. 1973. Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza // Annual Review of Phytopathology. Vol.11. P.171–196.
Mosse B., Hayman D.S. 1971. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. II. In unsterilized field soils // New Phytologist. Vol.70. P.29–34.
Mosse B., Hepper C. 1975. Vesicular-arbuscular mycorrhizal infections in root organ cultures // Physiological Plant Pathology. Vol.5. P.215–223.

Mosse B., Phillips J.M. 1971. The influence of phosphate and other nutrients on the development of vesicular-arbuscular mycorrhiza in culture // Journal of General Microbiology. Vol.69. P.157–166.
Mosse B., Hayman D.S., Arnold D.J. 1973. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. V. Phosphate uptake by three plant species from P-deficient soils labelled with ^{32}P // New Phytologist. Vol.72. P.809–815.
Motta J.J. 1969. Cytology and morphogenesis in the rhizomorph of *Armillaria mellea* // American Journal of Botany. Vol.56. P.610–619.
Mougel C, Offre P, Ranjard L *et al.* 2006 Dynamic of the genetic structure of bacterial and fungal communities at different developmental stages of *Medicago truncatula* Gaertn. cv. Jemalong line J5 // New Phytologist. Vol.170. P.165–175.
Moyersoen B. 1993. Ectomicorrizas and micorrhizas del sur de Venezuela // Scientia Guaianae. T.3. Caracas.
Moyersoen B. 2006. *Pakaraimaea dipterocarpaceae* is ectomycorrhizal, indicating an ancient Gondwanaland origin of the ectomycorrhizal habit in Dipterocarpaceae // New Phytologist. Vol.172. P.753–762.
Moyersoen B., Fitter A.H., Alexander I.J. 1998a. Spatial distribution of ectomycorrhizas and arbuscular mycorrhizas in Korup National Park rain forest, Cameroon, in relation to edaphic parameters // New Phytologist. Vol.139. P.311–320.
Moyersoen B., Alexander I.J., Fitter A.H. 1998b. Phosphorus nutrition of ectomycorrhizal and arbuscular mycorrhizal tree seedlings from a lowland tropical rain forest in Korup National Park, Cameroon // Journal of Tropical Ecology. Vol.14. P.47–61.
Moyersoen B., Becker P., Alexander I.J. 2001. Are ectomycorrhizas more abundant than arbuscular mycorrhizas in tropical heath forests? // New Phytologist. Vol.150. P.591–599.
Mueller W.C., Tessier B.J., Englander L. 1986. Immunocytochemical detection of fungi in the roots of *Rhododendron* // Canadian Journal of Botany. Vol.64. P.718–723.
Mueller G.M. 1991 *Laccaria laccata* complex in North America and Sweden – intercollection pairing and morphometric analyses // Mycologia. Vol.83. P.578–594.
Muhsin T.M., Zwiazek J.J. 2002. Ectomycorrhizas increase apoplastic water transport and root hydraulic conductivity in *Ulmus americana* seedlings // New Phytologist. Vol.153. No.1. P.153–158.
Mullen R.B., Schmidt S.K. 1993. Mycorrhizal infection, phosphorus uptake, and phenology in *Ranunculus adoneus:* implications for the functioning of mycorrhizae in alpine systems // Oecologia. Vol.94. P.229–234.
Muller J. 2003. Artificial infection by endophytes affects growth and mycorrhizal colonisation of *Lolium perenne* // Functional Plant Biology. Vol.30. No.4. P.419–424.
Muller W.H., Stalpers J.A., van Aelst A.C., van der Krift T.P., Boekhout T. 1998. Field emission gun-scanning electron microscopy of septal pore caps of selected species in the *Rhizoctonia* s.l. complex // Mycologia. Vol.90. P.170–179.
Mulligan M.F., Smucker A.J.M., Safir G.S. 1985. Tillage modifications of dry edible bean root colonization by VAM fungi // Agronomy Journal. Vol.77. P.140–142.
Munkvold L., Kjøller R., Vestberg M., Rosendahl S., Jakobsen I. 2004. High functional diversity within species of arbuscular mycorrhizal fungi // New Phytologist. Vol.164. P.357–364.
Münzenberger B. 1991. Lösliche und Zellwandgebundense Phenole in Mykorrhizen und nicht mykorrhizierten Wurzeln der Fichte (*Picea abies* L. Karst) und des Erdbeerbaumes (*Arbutus unedo* L.) und ihre Bedeutung in der Pilz-Wurzel-Interaktion. Dissertation. University of Tübingen, Germany.
Münzenberger B., Kottke I., Oberwinkler F. 1992. Ultrastructural investigations of *Arbutus unedo-Laccaria amethystea* mycorrhiza synthesised *in vitro* // Trees. Vol.7. P.40–47.
Murdoch C.L., Jackobs J.A., Gerdemann J.W. 1967. Utilization of phosphorus sources of different availability by mycorrhizal and non-mycorrhizal maize // Plant and Soil. Vol.27. P.329–334.
Murphy P.J., Langridge P., Smith S.E. 1997. Cloning plant genes differentially expressed during colonization of roots of *Hordeum vulgare* by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* // New Phytologist. Vol.135. P.291–301.
Myers M.D., Leake J.R. 1996. Phosphodiesters as mycorrhizal P sources II. Ericoid mycorrhiza and the utilisation of nuclei as a phosphorus source by *Vaccinium macrocarpon* // New Phytologist. Vol.132. P.445–451.
Nadelhoffer K.J., Fry B. 1994. Nitrogen isotope studies in forest ecosystems // K. Lajtha, R. Michener (eds.). Stable Isotopes in Ecology and Environmental Science. London: Blackwell. P.22–44.

Nadian H., Smith S.E., Alston A.M., Murray R.S. 1996. The effect of soil compaction on growth and P uptake by *Trifolium subterraneum*: interactions with mycorrhizal colonisation // Plant and Soil. Vol.182. P.39–49.

Nadian H., Smith S.E., Alston A.M., Murray R.S. 1997. Effects of soil compaction on plant growth, phosphorus uptake and morphological characteristics of vesicular-arbuscular mycorrhizal colonization of *Trifolium subterraneum* // New Phytologist. Vol.135. P.303–311.

Nadian H., Smith S.E., Alston A.M., Murray R.S., Siebert B.D. 1998. Effects of soil compaction on phosphorus uptake and growth of *Trifolium subterraneum* colonized by four species of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi // New Phytologist. Vol.139. P.155–165.

Nagahashi G., Douds D.D. 1997. Appressorium formation by AM fungi on isolated cell walls of carrot roots // New Phytologist. Vol.136. P.299–304.

Nagy R., Karandashov V., Chague W. et al. 2005a. The characterization of novel mycorrhizaspecific phosphate transporters from *Lycopersicon esculentum* and *Solanum tuberosum* uncovers functional redundancy in symbiotic phosphate transport in solanaceous species // The Plant Journal. Vol.42. P.236–250.

Nagy R., Vasconcelos M.J.V., Zhao S. et al. 2005b. Differential regulation of five Pht1 phosphate transporters from maize *Zea mays* L. // Plant Biology. Vol.8. P.186–197.

Nair M.G., Safir G.R., Siqueira J.O. 1991. Isolation and identification of vesicular-arbuscular mycorrhiza-stimulatory compounds from clover (*Trifolium repens*) roots // Applied and Environmental Microbiology. Vol.57. P.434–439.

Nakamura S.J. 1982. Nutritional conditions required for non-symbiotic culture of an achlorophyllous orchid, *Galeola septentrionalis* // New Phytologist. Vol.90. P.701–715.

Nara K. 2006a. Ectomycorrhizal networks and seedling establishment during early primary succession // New Phytologist. Vol.169. P.169–178.

Nara K. 2006b. Pioneer dwarf willow may facilitate tree succession by providing late colonizers with compatible ectomycorrhizal fungi in a primary successional volcanic desert // New Phytologist. Vol.171. No.1. P.187–198.

Nara K., Hogetsu T. 2004. Ectomycorrhizal fungi on established shrubs facilitate subsequent seedling establishment of successional plant species // Ecology. Vol.85. No.6. P.1700–1707.

Nara K., Nakaya H., Hogetsu T. 2003a. Ectomycorrhizal sporocarp succession and production during early primary succession on Mount Fuji // New Phytologist. Vol.158. P.193–206.

Nara K., Nakaya H., Wu B.Y., Zhou Z.H., Hogetsu T. 2003b. Underground primary succession of ectomycorrhizal fungi in a volcanic desert on Mount Fuji // New Phytologist. Vol.159. P.743–756.

Nascimento M.T., Proctor J. 1997. Soil and plant changes across a monodominant rain forest boundary on Maraca Island, Brazil // Global Ecology and Biogeography Letters. Vol.6. P.387–395.

Nasholm T., Persson J. 2001. Plant acquisition of organic nitrogen in boreal forests // Physiologia Plantarum. Vol.111. No.4. P.419–426.

Nasholm T., Ekblad A., Nordin A., Giesler R., Högberg M., Högberg P. 1998. Boreal forest plants take up organic nitrogen // Nature. Vol.392. P.914–916.

Nebel M., Kreier H-P., Preussung M., Weiss M. 2004. Symbiotic fungal associations of liverworts are the possible ancestors of mycorrhizae // R. Agerer, M. Piepenbring, P. Blanz (eds.). Frontiers in Basidiomycote Mycology. Ecking: HIW Verlag. P.339–360.

Nehls U., Wiese J., Guttenberger M., Hampp R. 1998. Carbon allocation in ectomycorrhizas: identification and expression analysis of an *Amanita muscaria* monosaccharide transporter // Molecular Plant-Microbe Interactions. Vol.11. P.167–176.

Nehls U., Kleber R., Wiese J., Hampp R. 1999. Isolation and characterization of a general amino acid permease from the ectomycorrhizal fungus *Amanita muscaria* // New Phytologist. Vol.144. P.343–349.

Nehls U., Mikolajewski S., Magel E., Hampp R. 2001a. Carbohydrate metabolism in ectomycorrhizas: gene expression, monosaccharide transport and metabolic control // New Phytologist. Vol.150. P.533–541.

Nehls U., Bock A., Ecke M., Hampp R. 2001b. Differential expression of the hexose-regulated fungal genes *AmPAL* and *AmMst1* within *Amanita/Populus* ectomycorrhizas // New Phytologist. Vol.150. P.583–589.

Nehls U., Bock A., Einig W., Hampp R. 2001c. Excretion of two proteases by the ectomycorrhizal fungus *Amanita muscaria* // Plant Cell and Environment. Vol.24. P.741–747.

Nelsen C.E. 1987. The water relations of vesicular-arbuscular mycorrhizal systems // G.R. Safir (ed.). Ecophysiology of VA Mycorrhizal Plants. Boca Raton: CRC Press. P.71–91.

Nelsen C.E., Safir G.R. 1982. The water relations of well watered, mycorrhizal and nonmycorrhizal onion plants // Journal of the American Society for Horticultural Science. Vol.107. P.271–274.
Nemeth K., Bartels H., Vogel M., Mengel K. 1987. Organic compounds extracted from arable and forest soils by electro-ultrafiltration and recovery rates of amino acids // Biology and Fertility of Soils. Vol.5. P.271–275.
Neninger A., Heyser W. 1998. The pH conditions in the interface of pine ectomycorrhizae // E. Beifluss, H. Bucking, A. Mathews, W. Heyser (eds.). Botanikertagung. Bremen: Deutsche Botanische Gesellschaft.
Neumann E., George E. 2004. Colonisation with the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* Nicol. and Gerd. enhanced phosphorus uptake from dry soil in *Sorghum bicolor* L. // Plant and Soil. Vol.261. P.245–255.
Newbery D.M. 2005. Ectomycorrhizas and mast fruiting in trees: linked by climate-driven tree resources? // New Phytologist. Vol.167. No.2. P.324–326.
Newbery D.M., Alexander I.J., Thomas D.W., Gartlan J.S. 1988. Ectomycorrhizal rain-forest legumes and soil phosphorus in Korup National Park, Cameroon // New Phytologist. Vol.109. P.433–450.
Newbery D.M., Alexander I.J., Rother J.A. 1997. Phosphorus dynamics in a lowland African rainforest: the influence of ectomycorrhizal trees // Ecological Monographs. Vol.67. P.367–409.
Newbery D.M., Alexander I.J., Rother J.A. 2000. Does proximity to conspecific adults influence the establishment of ectomycorrhizal trees in rain forest? // New Phytologist. Vol.147. P.401–409.
Newbery D.M., Chuyong G.B., Green J.J., Songwe N.C., Tchuenteu F., Zimmermann L. 2002. Does low phosphorus supply limit seedling establishment and tree growth in groves of ectomycorrhizal trees in a central African rainforest? // New Phytologist. Vol.156. P.297–311.
Newbery D.M., Chuyong G.B., Zimmermann L. 2006. Mast fruiting of large ectomycorrhizal African rain forest trees: importance of dry season intensity, and the resource-limitation hypothesis // New Phytologist. Vol.170. P.561–579.
Newman E.I. 1966. A method of estimating the total length of root in a sample // Journal of Applied Ecology. Vol.3. P.139–145.
Newman E.I. 1988. Mycorrhizal links between plants: their functioning and ecologial significance // Advances in Ecological Research. Vol.18. P.243–270.
Newman E.I., Reddell P. 1987. The distribution of mycorrhizas among families of vascular plants // New Phytologist. Vol.106. P.745–751.
Newman E.I., Ritz K. 1986. Evidence on the pathways of phosphorus transfer between vesicular-arbuscular mycorrhizal plants // New Phytologist. Vol.104. P.77–87.
Newman E.I., Child R.D., Patrick C.M. 1986. Mycorrhizal infection in grasses of Kenyan savanna // Journal of Ecology. Vol.74. P.1179–1183.
Newman E.I., Reddell P. 1987. The distribution of mycorrhizas among families of vascular plants // New Phytologist. Vol.106. P.745–751.
Newman E.I., Devoy C.L.N., Easen N.J., Fowles K.J. 1994. Plant species that can be linked by VA mycorrhizal fungi // New Phytologist. Vol.126. P.691–693.
Newsham K.K. 1999. *Phialophora graminicola*, a dark septate fungus, is a beneficial associate of the grass Vulpia ciliata ssp ambigua // New Phytologist. Vol.144. No.3. P.517–524.
Newsham K.K., Fitter A.H., Watkinson A.K. 1994. Root pathogenic and arbuscular mycorrhizal fungi determine fecundity of asymptomatic plants in the field // Journal of Ecology. Vol.82. P.805–814.
Newsham K.K., Fitter A.H., Watkinson A.R. 1995. Arbuscular mycorrhiza protect an annual grass from root pathogenic fungi in the field // Journal of Ecology. Vol.83. P.991–1000.
Newton A.C. 1991. Mineral nutrition and mycorrhizal infection of seedling oak and birch. III. Epidemiological aspects of ectomycorrhizal information, and the relationship to seedling growth // New Phytologist. Vol.117. P.53–60.
Newton A.C. 1992. Towards a functional classification of ectomycorrhizal fungi // Mycorrhiza. Vol.2. P.75–79.
Nicolson T.H. 1959. Mycorrhiza in the Graminae I. Vesicular-arbuscular endophytes, with special reference to the external phase // Transactions of the British Mycological Society. Vol.42. P.421–438.
Nicolson T.H. 1967. Vesicular-arbuscular mycorrhiza – a universal plant symbiosis // Science Progress. Vol.55. P.561–581.
Nicolson T.H. 1975. Evolution of vesicular-arbuscular mycorrhizas // F.E. Sanders, B. Mosse, P.B. Tinker (eds.). Endomycorrhizas. London: Academic Press. P.25–34.

Nielsen J.S., Joner E.J., Declerck S., Olsson S., Jakobsen I. 2002. Phospho-imaging as a tool for visualization and noninvasive measurements of P transport dynamics in arbuscular mycorrhizas // New Phytologist. Vol.154. P.809–819.
Nieuwdorp P.J. 1969. Some investigations on the mycorrhiza of *Calluna*, *Erica* and *Vaccinium* // Acta Botanica Neerlandica. Vol.18. P.180–196.
Nilsen P., Borja I., Knutsen H., Brean R. 1998. Nitrogen and drought effects on ectomycorrhizae of Norway spruce (*Picea abies* L. (Karst.)) // Plant and Soil. Vol.198. P.179–184.
Nilsson L.O., Wallander H. 2003. Production of external mycelium by ectomycorrhizal fungi in a Norway spruce forest was reduced in response to nitrogen fertilization // New Phytologist. Vol.158. No.2. P.409–416.
Norkrans B. 1950. Studies in growth and cellulolytic enzymes of *Tricholoma* // Symbolae Botanicae Upsaliensis. Vol.11. P.126.
Norris J.R., Read D., Varma A.K. (eds.). 1994 Mycorrhizal Research. Methods in Microbiology. London: Academic Press.
Northup R.R., Yu Z.S., Dahlgren R.A., Vogt K.A. 1995. Polyphenol control of nitrogen release from pine litter // Nature. Vol.377. P.227–229.
Novero M., Faccio A., Genre A. et al. 2002. Dual requirement of the *LjSym4* gene for mycorrhizal development in epidermal and cortical cells of *Lotus japonicus* roots // New Phytologist. Vol.154. P.741–749.
Nuesch J. 1963. Defense reactions in orchid bulbs // Symposium of the Society for General Microbiology. Vol.13. P.335–343.
Nuortila C., Kytoviita M.M., Tuomi J. 2004. Mycorrhizal symbiosis has contrasting effects on fitness components in *Campanula rotundifolia* // New Phytologist. Vol.164. P.543–553.
Nurmiaho-Lassila E.L., Timonen S., Haahtela K., Sen R. 1997. Bacterial colonization patterns of intact *Pinus sylvestris* mycorrhizospheres in dry pine forest soil: an electron microscopy study // Canadian Journal of Microbiology. Vol.43. P.1017–1035.
Nylund J-E. 1981. The formation of ectomycorrhiza in conifers: structural and physiological studies with special reference to the microbiont *Piloderma croceum* Erikss. and Agorts J. PhD thesis. Uppsala: Faculty of Science, University of Uppsala.
Nylund J-E. 1987. The ectomycorrhizal information zone and its relation to acid polysaccharides of cortical cell walls // New Phytologist. Vol.106. P.505–516.
Nylund J-E. 1988. The regulation of mycorrhiza formation – carbohydrate and hormone theories reviewed // Scandinavian Journal of Forest Research. Vol.3. P.465–479.
Nylund J-E., Unestam T. 1982. Structure and physiology of ectomycorrhizae I. The process of mycorrhiza formation in Norway spruce *in vitro* // New Phytologist. Vol.91. P.63–79.
Nylund J-E., Wallander H. 1989. Effects of ectomycorrhiza on host growth and carbon balance in a semi-hydroponic cultivation system // New Phytologist. Vol.112. P.389–398.
Nylund J.E., Wallander H. 1992. Ergosterol analysis as a means of quantifying mycorrhizal biomass // Methods in Microbiology. Vol.24. P.77–88.
Nylund J.E., Kasimir A., Strandberg-Arveby A. 1982a. Cell wall penetration and papilla formation in senescent cortical cells during ectomycorrhiza synthesis *in vitro* // Physiological Plant Pathology. Vol.21. P.71–73.
Nylund J.E., Kasimir A., Strandberg-Arveby A., Unestam T. 1982b. Simple diagnosis of ectomycorrhiza formation and demonstration of the architecture of the Hartig net by means of a clearing technique // European Journal of Forest Pathology. Vol.12. P.103–107.
O'Connor P. 1994. A comparison of the development and symbiotic efficiency of two isolates of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus. BSc (Hons) Soil Science Thesis. Adelaide: University of Adelaide.
O'Connor P.J., Smith S.E., Smith F.A. 2001. Arbuscular mycorrhizal associations in the southern Simpson Desert // Australian Journal of Botany. Vol.49. P.493–499.
O'Connor P.J., Smith S.E., Smith E.A. 2002. Arbuscular mycorrhizas influence plant diversity and community structure in a semiarid herbland // New Phytologist. Vol.154. P.209–218.
O'Dell T.E., Massicotte H.B., Trappe J.M. 1993. Root colonisation of *Lupinus latifolius* Agardh. and *Pinus contorta* Dougl. by *Phialocephala fortinii* Wang and Wilcox // New Phytologist. Vol.124. P.93–100.
Oades J.M. 1993. The role of biology in the formation, stabilization and degradation of soil structure // Geoderma. Vol.56. P.377–400.

Oaks A. 1994. Primary N assimilation in higher plants and its regulation // Canadian Journal of Botany. Vol.72. P.739–750.
Oberson A., Fardeau J.C., Besson J.M., Sticher H. 1993. Soil phosphorus dynamics in cropping systems managed according to conventional and biological agricultural methods // Biology and Fertility of Soils. Vol.16. P.111–117.
Ocampo J.A. 1986. Vesicular-arbuscular mycorrhizal infection of 'host' and 'non-host' plants: effect on the growth responses of the plants and competition between them // Soil Biology and Biochemistry. Vol.18. P.607–610.
Ocampo J.A., Hayman D.S. 1980. Influence of plant interactions on vesicular-arbuscular mycorrhizal infections. II. Crop rotations and residual effects of non-host plants // New Phytologist. Vol.84. P.27–35.
Odum E.P. 1960. Organic matter production and turnover in old field succession // Ecology. Vol.41. P.34–49.
Odum E.P. 1971. Fundamentals of Ecology. Philadelphia: W.B. Saunders.
Ogawa M. 1985. Ecological characters of ectomycorrhizal fungi and their mycorrhizae // Japanese Annual Research Quarterly. Vol.18. P.305–314.
Ogura-Tsujita Y., Yukawa T. 2008. High mycorrhizal specificity in a widespread mycoheterotrophic plant, *Eulophia zollingeri* (Orchidaceae) // American Journal of Botany. Vol.95. P.1–6.
Ohtomo R., Sekiguchi Y., Mimura T., Saito M., Ezawa T. 2004. Quantification of polyphosphate: different sensitivities to short-chain polyphosphate using enzymatic and colorimetric methods as revealed by ion chromatography // Analytical Biochemistry. Vol.328. P.139–146.
Oldroyd G.E.D., Harrison M.J., Udvardi M. 2005. Peace talks and trade deals. Keys to long-term harmony in legume-microbe symbioses // Plant Physiology. Vol.137. P.1205–1210.
Oliver A.J., Smith S.E., Nicholas D.J.D., Wallace W., Smith F.A. 1983. Activity of nitrate reductase in *Trifolium subterraneum*: effects of mycorrhizal infection and phosphate nutrition // New Phytologist. Vol.94. P.63–79.
Olsen J.K., Schaefer J.T., Edwards D.G., Hunter M.N., Galea V.J., Muller L.M. 1999. Effects of a network of mycorrhizae on capsicum (*Capsicum annuum* L.) grown in the field with five rates of applied phosphorus // Australian Journal of Agricultural Research. Vol.50. P.239–252.
Olsrud M., Melillo J.M., Christensen T.R., Michelsen A., Wallander H., Olsson P.A. 2004, Response of ericoid mycorrhizal colonization and functioning to global change factors // New Phytologist. Vol.162. P.459–469.
Olsson P.A. 1999. Signature fatty acids provide tools for determination of the distribution and interactions of mycorrhizal fungi in soil // FEMS Microbiology Ecology. Vol.29. P.303–310.
Olsson P.A., Wilhelmsson P. 2000. The growth of external AM fungal mycelium in sand dunes and in experimental systems // Plant and Soil. Vol.226. P.161–169.
Olsson P.A., Thingstrup I., Jakobsen I., Beeth E. 1999. Estimation of biomass of arbuscular mycorrhizal fungi in a linseed field // Soil Biology and Biochemistry. Vol.31. P.1879–1887.
Olsson P.A., Jakobsen I., Wallander H. 2002. Foraging and resource allocation strategies of mycorrhizal fungi in a patchy environment // M.G.A. van derHeijden, I.R. Sanders (eds.). Mycorrhizal Ecology. P.93–115. Berlin: Springer-Verlag.
Olsson P.A., Larsson L., Bago B., Wallander H., van Aarle I. 2003. Ergosterol and fatty acids for biomass estimation of mycorrhizal fungi // New Phytologist. Vol.159. P.7–9.
Olsson P.A., Burleigh S.H., van Aarle I. 2005. The influence of external nitrogen on carbon allocation to *Glomus intraradices* in monoxenic arbuscular mycorrhiza // New Phytologist. Vol.168. P.677–686.
Omacini M., Eggers T., Bonowski M., Gange A., Jones T.H. 2006. Leaf endophytes affect mycorrhizal status and growth of co-infected and neighboring plants // Functional Ecology. Vol.20. P.226–232.
Onguene N.A., Kuyper T.W. 2002. Importance of the ectomycorrhizal network for seedling survival and ectomycorrhiza formation in rain forests of south Cameroon // Mycorrhiza. Vol.12. No.1. P.13–17.
Opik M., Moora M., Liira J., Koljalg U., Zobel M., Sen R. 2003. Divergent arbuscular mycorrhizal fungal communities colonize roots of *Pulsatilla* spp. in boreal Scots pine forests and grassland soils // New Phytologist. Vol.160. P.581–593.
Orlov A. 1957. Observations on absorbing roots of spruce (*Picea excelsa* Link.) in natural conditions // Botanicheskii Zhurnal SSSR. Vol.42. P.1172–1180.
Orlov A.Y. 1960. Further observations on the growth of absorbing roots of spruce (*Picea excelsa* Link.) in natural conditions // Botanicheskii Zhurnal SSSR. Vol.45. P.888–896.
Orlovich D.A., Ashford A.E. 1993. Polyphosphate granules are an artefact of specimen preparation in the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius* // Protoplasma. Vol.173. P.91–102.

Otero J.T., Ackerman J.D., Bayman P. 2002. Diversity and host specificity of endophytic *Rhizoctonia*-like fungi from tropical orchids // American Journal of Botany. Vol.89. P.1852–1858.
Ott T., Fritz E., Polle A., Schutzendubel A. 2002. Characterisation of antioxidative systems in the ectomycorrhiza-building basidiomycete *Paxillus involutus* (Bartsch) Fr. and its reaction to cadmium // FEMS Microbiology Ecology. Vol.42. P.359–366.
Owusu-Bennoah E., Wild A. 1979. Autoradiography of the depletion zone of phosphate around onion roots in the presence of vesicular-arbuscular mycorrhiza // New Phytologist. Vol.82. P.133–140.
Pacioni G., Comandini O. 1999. *Tuber* // J.W.G. Cairney, S.M. Chambers (eds.). Ectomycorrhizal Fungi: Key Genera in Profile. Berlin: Springer. P.163–186.
Pacovsky R.S. 1989. Carbohydrate, protein and amino acid status of *Glycine-Glomus-Bradyrhizobium* symbioses // Physiologia Plantarum. Vol.75. P.346–354.
Pairunan A.K., Robson A.D., Abbott L.K. 1980. The effectiveness of vesicular-arbuscular mycorrhizas in increasing growth and phosphorus uptake of subterranean clover from phosphorus sources of different solubilities // New Phytologist. Vol.84. P.327–338.
Pais M.S.S., Barroso J. 1983. Localisation of polyphenol oxidase during the establishment of *Ophrys lutea* endomycorrhizas // New Phytologist. Vol.95. P.219–222.
Palenzona A. 1969. Sintesi micorrizica tra *Tuber aestivum* Vitt. e semenzali di *Corylus avellana* L. // Allionia. Vol.15. P.121–131.
Paris F., Botton B., Lapeyrie F. 1996. In vitro weathering of phlogopite by ectomycorrhizal fungi .2. Effect of K^+ and Mg^{2+} deficiency and N sources on accumulation of oxalate and H^+ // Plant and Soil. Vol.179. P.141–150.
Parke J.L., Linderman R.G. 1980. Association of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi with the moss *Funaria hygrometrica* // Canadian Journal of Botany. Vol.58. P.1898–1904.
Paszkowski U. 2006. Mutualism and parasitism: the yin and yang of plant symbioses // Current Opinion in Plant Biology. Vol.9. P.1–7.
Paszkowski U., Boller T. 2002. The growth defect of *Irt1*, a maize mutant lacking lateral roots, can be complemented by symbiotic fungi or high phosphate nutrition // Planta. Vol.214. P.584–590.
Paszkowski U., Kroken S., Roux C., Briggs S.P. 2002. Rice phosphate transporters include an evolutionarily divergent gene specifi cally activated in arbuscular mycorrhizal symbiosis // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. Vol.99. P.13324–13329.
Paszkowski U., Jakovleva L., Boller T. 2006. Maize mutants affected at distinct stages of the arbuscular mycorrhizal symbiosis // Plant Journal. Vol.47. P.165–173.
Pate J.S. 1994. The mycorrhizal association: just one of many nutrient acquiring specializations in natural ecosystems // Plant and Soil. Vol.159. P.1–10.
Pate J.S., Hopper S.D. 1993. Rare and common plants in ecosystems, with special reference to the south-west Australian flora // E.D. Schultze, H.A. Mooney (eds.). Biodiversity and Ecosystem Function. Ecological Studies. Vol.99. P.293–325. Heidelberg: Springer-Verlag.
Pate J.S., Stewart G.R., Unkovich M. 1993. ^{15}N natural abundance of plant and soil components of a *Banksia* woodland ecosystem in relation to nitrate utilisation, life form, mycorrhizal status and N_2-fixing abilities of component species // Plant, Cell and Environment. Vol.16. P.365–373.
Patrick J.W. 1989. Solute efflux from the host at plant-microorganism interfaces // Australian Journal of Plant Physiology. Vol.16. P.53–67.
Pattinson G.S., Smith S.E., Doube B.M. 1997. Earthworm *Apporectodea trapezoides* had no effect on dispersal of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus intraradices* // Soil Biology and Biochemistry. Vol.29. P.1079–1088.
Paul L.R., Chapman B.K., Chanway C.P. 2007. Nitrogen fixation associated with *Suillus tomentosus* tuberculate ectomycorrhizae on *Pinus contorta* var. *latifolia* // Annals of Botany. Vol.99. P.1101–1109.
Pawlowska T.E., Taylor J.W. 2004. Organization of genetic variation in individuals of arbuscular mycorrhizal fungi // Nature. Vol.427. P.733–737.
Pearson J.N., Jakobsen I. 1993a. Symbiotic exchange of carbon and phosphorus between cucumber and three arbuscular mycorrhizal fungi // New Phytologist. Vol.124. P.481–488.
Pearson J.N., Jakobsen I. 1993b. The relative contribution of hyphae and roots to phosphorus uptake by arbuscular mycorrhizal plants measured by dual labelling with ^{32}P and ^{33}P // New Phytologist. Vol.124. P.489–494.
Pearson J.N., Abbott L.K., Jasper D.A. 1994. Phosphorus, soluble carbohydrates and the competition between two arbuscular mycorrhizal fungi colonizing subterranean clover // New Phytologist. Vol.127. P.101–106.

Pearson V., Read D.J. 1973a. The biology of mycorrhiza in the Ericaceae. I. The isolation of the endophyte and synthesis of mycorrhizas in aseptic culture // New Phytologist. Vol.72. P.371–379.
Pearson V., Read D.J. 1973b. The biology of mycorrhiza in the Ericaceae. II The transport of carbon and phosphorus by the endophyte and the mycorrhiza // New Phytologist. Vol.72. P.1325–1331.
Pearson V., Read D.J. 1975. The physiology of the mycorrhizal endophyte of *Calluna vulgaris* // Transactions of the British Mycological Society. Vol.64. P.1–7.
Pearson V., Tinker P.B. 1975. Measurement of phosphorus fluxes in the external hyphae of endomycorrhizas // F.E. Sanders, B. Mosse, P.B. Tinker (eds.). Endomycorrhizas. London: Academic Press. P.277–287.
Pedersen C.T., Sylvia D.M., Shilling D.G. 1999. *Pisolithus arhizus* ectomycorrhiza affects plant competition for phosphorus between *Pinus elliottii* and *Panicum chamaelonche* // Mycorrhiza. Vol.9. P.199–204.
Peng S., Eissenstat D.M., Graham J.H., Williams K., Hodge N.C. 1993. Growth depression in mycorrhizal citrus at high-phosphorus supply: analysis of carbon costs // Plant Physiology. Vol.101. P.1063–1071.
Pennington R.T., Cronk Q.C.B., Richardson J.A. 2004. Introduction and synthesis: plant phylogeny and the origins of major biomes // Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences. Vol.359**.** P.1455–1464.
Percudani R., Trevisi A., Zambonelli A., Ottonello S. 1999. Molecular phylogeny of truffles (Pezizales: Terfeziaceae, Tuberaceae) derived from nuclear rDNA sequence analysis // Molecular Phylogenetics and Evolution. Vol.13. P.169–180.
Perez-Moreno J., Read D.J. 2000. Mobilization and transfer of nutrients from litter to tree seedlings via the vegetative mycelium of ectomycorrhizal plants // New Phytologist. Vol.145. No.2. P.301–309.
Perez-Moreno J., Read D.J. 2001a. Exploitation of pollen by mycorrhizal mycelial systems with special reference to nutrient recycling in boreal forests // Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences. Vol.268. No.1474. P.1329–1335.
Perez-Moreno J., Read D.J. 2001b. Nutrient transfer from soil nematodes to plants: a direct pathway provided by the mycorrhizal mycelial network // Plant Cell and Environment. Vol.24. No.11. P.1219–1226.
Perkins A.J., McGee P.A. 1995. Distribution of the orchid mycorrhizal fungus, *Rhizoctonia solani*, in relation to its host, *Pterostylis acuminata*, in the field // Australian Journal of Botany. Vol.43. No.6. P.565–575.
Perkins A.J., Masuhara G., Mcgee P.A. 1995. Specificity of the associations between *Microtis parviflora* (Orchidaceae) and its mycorrhizal fungi // Australian Journal of Botany. Vol.43. P.85–91.
Perombelon M., Hadley G. 1965. Production of pectic enzymes by pathogenic and symbiotic *Rhizoctonia* strains // New Phytologist. Vol.64. P.144–151.
Perotto R., Perotto S., Faccio A., Bonfante P. 1990. Cell surface in *Calluna vulgaris* L. hair roots *in situ* localization of polysaccharide components // Protoplasma. Vol.155. P.1–18.
Perotto R., Bettini V., Bonfante P. 1993. Evidence of two polygalacturonases produced by a mycorrhizal ericoid fungus during its saprotrophic growth // FEMS Microbiology Letters. Vol.114. P.85–92.
Perotto S., Peretto R., Faccio A., Schubert A., Varma A., Bonfante P. 1995. Ericoid mycorrhizal fungi: cellular and molecular bases of their interactions with the host plant // Canadian Journal of Botany. Vol.73. Suppl.1. P.557–568.
Perotto S., Coisson J.D., Perugini I., Cometti V., Bonfante P. 1997. Production of pectin degrading enzymes by ericoid mycorrhizal fungi // New Phytologist. Vol.135. P.151–162.
Perry D.A., Molina R., Amaranthus M.P. 1987. Mycorrhizae, mycorrhizospheres, and reforestation: current knowledge and research needs // Canadian Journal of Forest Research. Vol.17. P.929–940.
Perry D.A., Amaranthus M.P., Borchers J.C., Borchers S.L., Brainerd R.E. 1989a. Bootstrapping in ecosystems // BioScience. Vol.39. P.230–237.
Perry D.A., Margolis H., Choquette C., Molina R., Trappe J.M. 1989b. Ectomycorrhizal mediation of competition between coniferous tree species // New Phytologist. Vol.112. P.501–511.
Persson H. 1978. Root dynamics in a young Scots pine stand in central Sweden // Oikos. Vol.30. P.508–519.
Persson H. 1979. Fine root production, mortality and decomposition in forest ecosystems // Vegetatio. Vol.4. P.101–109.
Persson H. 1980. Spatial distribution of fine-root growth, mortality, and decomposition in a young Scots Pine stand // Oikos. Vol.34. P.77–87.

Persson H.A. 1983. The status and function of fi ne roots in boreal forests // Plant and Soil. Vol.71. P.87–101.
Persson H., van Oene H., Harrison A.F. et al. 2000. Experimental sites in the NIPHYS/CANIF project // E-D. Schulze (ed.). Carbon and Nitrogen cycling in European Forest Ecosystems. Ecological Studies. Vol.142. Berlin: Springer. P.14–46.
Peters N.K., Verma D.P.S. 1990. Phenolic compounds as regulators of gene expression in plant-microbe interactions // Molecular Plant-Microbe Interactions.Vol.3. P.4–8.
Peterson C.A. 1988. Exodermal Casparian bands: their significance for ion uptake by roots // Physiologia Plantarum. Vol.72. P.204–208.
Peterson R.L., Bonfante P. 1994. Comparative structure of vesicular-arbuscular mycorrhizas and ectomycorrhizas // Plant and Soil. Vol.159. P.79–88.
Peterson R.L., Bradbury S.M. 1995. Use of plant mutants, intraspecific variants and nonhosts in studying mycorrhiza formation and function // A. Varma, B. Hock (eds.). Mycorrhiza, Structure, Function, Molecular Biology and Biotechnology. Berlin: Springer-Verlag. P.157–180.
Peterson R.L., Currah R.S. 1990. Synthesis of mycorrhizae between protocorms of *Goodyera repens* (Orchidaceae) and *Ceratobasidium cereale* // Canadian Journal of Botany. Vol.68. P.1117–1125.
Peterson R.L., Guinel F.C. 2000. The use of plant mutants to study regulation of colonisation by AM fungi // Y. Kapulnik, D.D.J. Douds (eds.). Arbuscular Mycorrhizas: Physiology and Function. P.147–171. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
Peterson R.L., Massicotte H.B. 2004. Exploring structural definitions of mycorrhizas, with emphasis on nutrient-exchange interfaces // Canadian Journal of Botany. Vol.82. P.1074–1088.
Peterson R.L., Howarth M.J., Whittier D.P. 1981. Interactions between a fungal endophyte and gametophyte cells in *Psilotum nudum* // Canadian Journal of Botany. Vol.59. P.711–720.
Peterson R.L., Bonfante P., Faccio A., Uetake Y. 1996. The interface between fungal hyphae and orchid protocorm cells // Canadian Journal of Botany. Vol.74. P.1861–1870.
Peterson R.L., Massicotte H.B., Melville L. 2004. Mycorrhizas: anatomy and cell biology. Ottawa. Wallingford: NRC Research Press and CABI Publishing.
Peterson T.A., Mueller W.C., Englander R.L. 1980. Anatomy and ultrastructure of a *Rhododendron* root-fungus association // Canadian Journal of Botany. Vol.58. P.2421–2433.
Peyronel B. 1923. Fructification de l'endophyte a arbuscules et a vesicules des mycorhizes endotrophes // Bulletin de la Societie Mycologique. Vol.39. P.119–126.
Peyronel B. 1924. Prime ricerche sulle micorize endotrofiche e sulla micoflora radicicola normal delle fanerogame // Rivista di Biologia. Vol.6. P.17–53.
Pfeffer P.E., Douds D.D., Bécard G., Shachar-Hill Y. 1999. Carbon uptake and the metabolism and transport of lipids in an arbuscular mycorrhiza // Plant Physiology. Vol.120. P.587–598.
Pfeffer P.E., Bago B., Shachar-Hill Y. 2001. Exploring mycorrhizal function with NMR spectroscopy // New Phytologist. Vol.150. P.543–553.
Pfeffer P.E., Douds D.D., Bücking H., Schwartz D.P., Shachar-Hill Y. 2004. The fungus does not transfer carbon to or between roots in an arbuscular mycorrhizal symbiosis // New Phytologist. Vol.163. P.617–627.
Phillips J.M., Hayman D.S. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection // Transactions of the British Mycological Society. Vol.55. P.158–161.
Phipps C.J., Taylor T.N. 1996. Mixed arbuscular mycorrhizae from the Triassic of Antarctica // Mycologia. Vol.88. P.707–714.
Piché Y., Fortin J.A., Peterson R.L., Posluszny U. 1982. Ontogeny of dichotomizing apices in mycorrhizal short roots of *Pinus strobus* // Canadian Journal of Botany. Vol.60. P.1523–1528.
Piché Y., Peterson R.L., Ackerley C.A. 1983a. Early development of ectomycorrhizal short roots of pine // Scanning Electron Microscopy. P.1467–1474.
Piché Y., Peterson R.L., Howarth M.J., Fortin J.A. 1983b. A structural study of the interaction between the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius* and *Pinus strobus* roots // Canadian Journal of Botany. Vol.61. P.1185–1193.
Piché Y., Ackerley C.A., Peterson R.L. 1986. Structural characteristics of ectendomycorrhizas synthesized between roots of *Pinus resinosa* and the E-strain fungus, *Wilcoxina mikolae* var *mikolae* // New Phytologist. Vol.104. P.447.

Pichot J., Binh T. 1976. Actions des endomyocorhizes sur la croissance et la nutrition phosphatйe de *l'Agrostis* en vase de vegetation et sur le phosphore isotopiqument diluable du sol // Agronomie Tropicale. Vol.4. P.375–378.
Piercey M.M., Graham S.W., Currah R.S. 2004. Patterns of genetic variation in *Phialocephala fortinii* across a broad latitudinal transect in Canada // Mycological Research. Vol.108. P.955–964.
Pigott C.D. 1982. Survival of mycorrhiza formed by *Cenococcum geophilum* Fr. in dry soils // New Phytologist. Vol.92. P.513–517.
Pijl L. Van der. 1934. Die Mykorrhiza von *Burmannia* und *Epirrhizanthes* und die Fortflanzung ihres Endophyten // Recueil des Travaux Botaniques Néerlandais. Vol.31. P.761–779.
Pirazzi R., Di Gregoria A. 1987. Accrescimento di conifere micorrizate con specie diverse di *Tuber* spp. // Micologia Italica. Vol.16. P.49–62.
Pirozynski C.A., Malloch D.W. 1975. The origin of land plants: a matter of mycotrophism // Biosystems. Vol.6. P.153–164.
Pirozynski K.A., Dalpé Y. 1989. Geological history of the Glomaceae with particular reference to mycorrhizal symbiosis // Symbiosis. Vol.7. P.1–36.
Plassard C., Scheromm P., Llamas H. 1986. Nitrate assimilation by maritime pine and ectomycorrhizal fungi in pure culture // E.V. Gianinazzi-Pearson, S. Gianinazzi (eds.). Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae. Paris: INRA editions. P.383–388.
Plassard C., Scheromm P., Mousain D., Salsac L. 1991. Assimilation of mineral nitrogen and ion balance in the two partners of ectomycorrhizal symbiosis: Data and hypothesis // Experientia. Vol.47. P.340–349.
Plassard C., Barry D., Eltrop L., Mousain D. 1994. Nitrate uptake in maritime Pine (*Pinus pinaster*) and the ectomycorrhizal fungus *Hebeloma cylindrosporum* – effect of ectomycorrhizal symbiosis // Canadian Journal of Botany. Vol.72. P.189–197.
Plassard C., Guerin-Laguette A., Very A.A., Casarin V., Thibaud J.B. 2002. Local measurements of nitrate and potassium fluxes along roots of maritime pine. Effects of ectomycorrhizal symbiosis // Plant Cell and Environment. Vol.25. P.75–84.
Plenchette C., Strullu D.G. 2003. Long-term viability and infectivity of intraradical forms of *Glomus intraradices* vesicles encapsulated in alginate beads // Mycological Research. Vol.107. P.614–616.
Plenchette C., Furlan V., Fortin J.A. 1981. Growth stimulation of apple trees in unsterilised soil under fi eld conditions with VA mycorrhizal inoculation // Canadian Journal of Botany. Vol.59. P.2003–2008.
Plenchette C., Fortin J.A., Furlan V. 1983a. Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility. I. Mycorrhizal dependency under field conditions // Plant and Soil. Vol.70. P.199–209.
Plenchette C., Fortin J.A., Furlan V. 1983b. Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility. II. Soil fumigation induced stunting of plants corrected by reinoculation of the wild endomycorrhiza flora // Plant and Soil. Vol.70. P.211–217.
Plenchette C., Clermont-Dauphin C., Meynard J.M., Fortin J.A. 2005. Managing arbuscular mycorrhizal fungi in cropping systems // Canadian Journal of Plant Science. Vol.85. P.31–40.
Pocock K., Duckett J.G. 1984. A comparative ultrastructural analysis of the fungal endophytes in *Cryptothallus mirabilis* Hulm. and other British thalloid hepatics // Journal of Bryology. Vol.13. P.227–233.
Pocock K., Duckett J.G. 1995. On the occurrence of branched and swollen rhizoids in British hepatics: their relationship with the substratum and association with fungi // New Phytologist. Vol.99. P.281–304.
Podila G.K., Zheng J., Balasubramanian S. et al. 2002. Fungal gene expression in early symbiotic interactions between *Laccaria bicolor* and red pine // Plant and Soil. Vol.244. P.117–128.
Polidori E., Agostini D., Zeppa S. et al. 2002. Identification of differentially expressed Cdna clones in *Tilia platyphyllos-Tuber borchii* ectomycorrhizae using a differential screening approach // Molecular Genetics and Genomics. Vol.266. P.858–864.
Ponge J.F. 1990. Ecological study of a forest humus by observing a small volume. I. Penetration of pine litter by mycorrhizal fungi // European Journal of Forest Pathology. Vol.20. P.290–303.
Pons F., Gianinazzi-Pearson V. 1984. Influence du phosphore, du potassium, de l'azote et du pH sur le comportement *in vitro* de champignons endomyorhizogenes a vésicules et arbuscules // Cryptogamie. Vol.5. P.87–100.
Porcel R., Aroca R., Azcón R., Ruiz-Lozano J.M. 2006. PIP aquaporin gene expression in arbuscular mycorrhizal *Glycine max* and *Lactuca sativa* plants in relation to drought stress tolerance // Plant Molecular Biology. Vol.60. P.389–404.

Porter W.M. 1979. The 'Most Probable Number' method for enumerating infective propagules of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in soil // Australian Journal of Soil Research. Vol.17. P.515–519.
Porter W.M, Abbott L.K., Robson A.D. 1978. Effect of rate of application of superphosphate on populations of vesicular arbscular endophytes // Australian Journal of Experimental Agriculture and Animal Husbandry. Vol.18. P.573–578.
Posada D., Crandall K.A. 1998. MODELTEST: testing the model of DNA substitution // Bioinformatics, Oxford. Vol.14. P.817–818.
Possingham J.V., Groot Obbink J. 1971. Endotrophic mycorrhiza and the nutrition of grape vines // Vitis. Vol.10. P.120–130.
Poulsen K.H., Nagy R., Gao L-L. et al. 2005. Physiological and molecular evidence for Pi uptake via the symbiotic pathway in a reduced mycorrhizal colonisation mutation in tomato associated with a compatible fungus // New Phytologist. Vol.168. P.445–453.
Poulton J.L., Koide R.T., Stephenson A.G. 2001. Effects of mycorrhizal infection, soil phosphorus availability and fruit production on the male function in two cultivars of *Lycopersicon esculentum* // Plant, Cell and Environment. Vol.24. P.841–849.
Poulton J.L., Bryla D., Koide R.T., Stephenson A.G. 2002. Mycorrhizal infection and high soil phosphorus improve vegetative growth and the female and male functions in tomato // New Phytologist. Vol.154. P.255–264.
Powell C.L. 1975. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. VIII. Uptake of P by onion and clover infected with different *Endogone* spore types in ^{32}P labelled soil // New Phytologist. Vol.75. P.563–566.
Powell C.L. 1976. Development of mycorrhizal infections from *Endogone* spores and infected root segments // Transactions of the British Mycological Society. Vol.66. P.439–445.
Powell C.L. 1977. Mycorrhizas in hill country soils. I. Spore bearing mycorrhizal fungi in thirty seven soils // New Zealand Journal of Agricultural Research. Vol.20. P.53–57.
Powell C.L. 1979. Spread of mycorrhizal fungi through soil // New Zealand Journal of Agricultural Research. Vol.22. P.335–339.
Powell C.L. 1980. Mycorrhizal infectivity of eroded soils // Soil Biology and Biochemistry. Vol.12. P.247–250.
Preston C.D., Pearman D.A., Dines T.D. 2002. New Atlas of the British Flora. Oxford: Oxford University Press.
Pringle A., Moncalvo J.M., Vilgalys R. 2000. High levels of variation in ribosomal DNA sequences within and among spores of a natural population of the arbuscular mycorrhizal fungus *Acaulospora colossica* // Mycologia. Vol.92. P.259–268.
Purves S., Hadley G. 1975. Movement of carbon compounds between the partners in orchid mycorrhizas // F.E. Sanders, B. Mosse, P.B. Tinker (eds.). Endomycorrhizas. London: Academic Press. P.173–194.
Queloz V., Grunig C.R., Sieber T.N., Holdenrieder O. 2005. Monitoring the spatial and temporal dynamics of a community of the tree-root endophyte *Phialocephala fortinii* s.l. // New Phytologist. Vol.168. P.651–660.
Querejeta J.I., Egerton-Warburton L.M., Allen M.F. 2003. Direct nocturnal water transfer from oaks to their mycorrhizal symbionts during severe soil drying // Oecologia. Vol.134. P.55–64.
Quick W.P., Schaffer A.A. 1996. Sucrose metabolism in sources and sinks // E. Zamski, A. Schaffer (eds.). Photoassimilate distribution in plants and crops. New York: Marcel Dekker. P.115–156.
Quoreshi A.M., Ahmad I., Malloch D., Hellebust J.A. 1995. Nitrogen metabolism in the ectomycorrhizal fungus *Hebeloma crustuliniforme* // New Phytologist. Vol.131. P.263–271.
Rabatin S.C. 1980. The occurrence of the vesicular-arbuscular mycorrhiza fungus *Glomus tenuis* with moss // Mycologia. Vol.72. P.191–194.
Raghothama K.G. 1999. Phosphate acquisition // Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. Vol.50. P.665–693.
Rains K.C., Nadkarni N.M., Bledsoe C.S. 2003. Epiphytic and terrestrial mycorrhizas in a lower montane Costa Rica cloud forest // Mycorrhiza. Vol.13. P.257–264.
Rambelli A. 1973. The rhizosphere of mycorrhizae // G.L. Marks, T.T. Koslowski (eds.). Ectomycorrhizae. P.299–343. New York: Academic Press.
Ramsay R.R., Dixon K.W., Sivasithamparam K. 1986. Patterns of infection and endophytes associated with Western Australian orchids // Lindleyana. Vol.1. P.203–214.

Ramsay R.R., Sivasithamparam K., Dixon K.W. 1987. Anastomosis groups among Rhizoctonia-like endophytic fungi in South-western Australian *Pterostylis* species (Orchidaceae) // Lindleyana. Vol.2. P.161–166.
Randall B.L., Grand L.F. 1986. Morphology and possible mycobiont (*Suillus pictus*) of a tuberculate ectomycorrhiza on *Pinus strobus* // Canadian Journal of Botany. Vol.64. P.2182–2191.
Rasmussen H.N. 1995. Terrestrial Orchids: from seed to mycotrophic plant. Cambridge: Cambridge University Press.
Rasmussen H.N., Whigham D.F. 1994. Seed ecology of dust seeds *in situ*: a new study technique and its application in terrestrial orchids // American Journal of Botany. Vol.80. P.1374–1378.
Rasmussen H.N., Whigham D.F. 1998. The underground phase: a special challenge in studies of terrestrial orchid populations // Botanical Journal of the Linnean Society. Vol.126. P.49–64.
Rasmussen N., Lloyd D.C., Ratcliffe R.G., Hansen P.E., Jakobsen I. 2000. ^{31}P NMR for the study of P metabolism and translocation in arbuscular mycorrhizal fungi // Plant and Soil. Vol.226. P.245–253.
Rausch C., Daram P., Brunner S. et al. 2001. A phosphate transporter expressed in arbusculecontaining cells in potato // Nature. Vol.414. P.462–466.
Raven J.A., Smith F.A. 1976. Nitrogen assimilation and transport in vascular land plants in relation to intracellular pH regulation // New Phytologist. Vol.76. P.415–431.
Ravnskov S. , Jakobsen I. 1995. Functional compatibility in arbuscular mycorrhizas measured as hyphal P transport to the plant // New Phytologist. Vol.129. P.611–618.
Ravnskov S., Larsen J. 2005. Implementation of arbuscular mycorrhizas in greenhousegrown vegetables // Implementation of Biocontrol in Practice in Temperate Regions – Present and Near Future. Research Centre Flakkebjerg, Denmark. P.193–198.
Ravnskov S., Larsen J., Olsson P.A., Jakobsen I. 1999. Effects of various organic compounds on growth and phosphorus uptake of an arbuscular mycorrhizal fungus // New Phytologist. Vol.141. P.517–524.
Ravnskov S., Wu Y., Graham J.H. 2003. Arbuscular mycorrhizal fungi differentially affect expression of genes coding for sucrose synthases in maize roots // New Phytologist. Vol.157. P.539–545.
Rawald W. 1963. Untersuchungen zur Stickstoffernährung der höheren Pilze // W. Rawald, H. Lyr (eds.). Mykorrhiza. Internal Mykorrhiza Symposium Weimar, 1960. Jena: Gustav Fisher. P.67–83.
Rayner M.C. 1915. Obligate symbiosis in *Calluna vulgaris* // Annals of Botany, London. Vol.29. P.97–133.
Rayner M.C. 1927. Mycorrhiza // New Phytologist. Reprint. Vol.15.
Rayner A.D.M., Powell K.A., Thompson W., Jennings D.H. 1985. Morphogensis of vegetative organs // D. Moore, L.A. Casselton, D.A. Wood, J.C. Frankland (eds.). Developmental Biology of the Higher Fungi. P.249–279. Cambridge: Cambridge University Press.
Read D.J. 1974. *Pezizella ericae* sp.nov. the perfect state of a typical mycorrhizal endophyte of Ericaceae // Transactions of the British Mycological Society. Vol.63. P.381–383.
Read D.J. 1983. The biology of mycorrhiza in the Ericales // Canadian Journal of Botany. Vol.61. P.985–1004.
Read D.J. 1984. The structure and function of the vegetative mycelium of mycorrhizal roots // D.H. Jennings, A.D.M. Rayner (eds.). The Ecology and Physiology of the Fungal Mycelium. Cambridge: Cambridge University Press. P.215–240.
Read D.J. 1989. Mycorrhizas and nutrient cycling in sand dune ecosystems // Proceedings of the Royal Society, Edinburgh. Vol.96b. P.80–110.
Read D.J. 1990. Ecological integration by mycorrhizal fungi // Endocytobiology. Vol.4. P.99–107.
Read D.J. 1991a. Mycorrhizas in ecosystems // Experientia. Vol.47. P.376–391.
Read D.J. 1991b. Mycorrhizas in ecosystems – nature's response to the 'Law of the Minimum' // D.L. Hawksworth (ed.). Frontiers in Mycology. P.101–130. Wallingford: CAB International.
Read D.J. 1991c. Mycorrhizal fungi in natural and semi-natural plant communities // Ecophysiology of Ectomycorrhizae of Forest Trees // Wallenberg Foundation Symposium Proceedings. Vol.7. P.27–53.
Read D.J. 1992. The mycorrhizal mycelium // M.F. Allen (ed.). Mycorrhizal Functioning. London: Chapman and Hall. P.102–133.
Read D.J. 1993. Mycorrhiza in plant communities // Advances in Plant Pathology. Vol.9. P.1–31.
Read D.J. 1996. The structure and function of the ericoid mycorrhizal root // Annals of Botany. Vol.77. P.365–374.
Read D.J. 1997. The ties that bind // Nature. Vol.388. P.517–518.
Read D.J., Boyd R. 1986. Water relations of mycorrhizal fungi and their host plants // P. Ayres, L. Boddy (eds.).Water, Fungi and Plants. Cambridge: Cambridge University Press. P.287–303.

Read D.J., Haselwandter K. 1981. Observations on the mycorrhizal status of some alpine plant communities // New Phytologist. Vol.88. P.341–352.
Read D.J., Kerley S.J. 1995. The status and function of ericoid mycorrhizal systems // A. Varma, B. Hock (eds.). Mycorrhiza, Structure, Function Molecular Biology and Biotechnology. Berlin: Springer-Verlag. P.499–520.
Read D.J., Perez-Moreno J. 2003. Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems – a journey towards relevance? // New Phytologist. Vol.157. No.3. P.475–492.
Read D.J., Stribley D.P. 1973. Effect of mycorrhizal infection on nitrogen and phosphorus nutrition of ericaceous plants // Nature, London. Vol.244. P.81.
Read D.J., Stribley D.P. 1975. Some mycological aspects of the biology of mycorrhiza in the Ericacease // F.E. Sanders, B. Mosse, P.B. Tinker (eds.). Endomycorrhizas. London: Academic Press. P.105–117.
Read D.J., Francis R., Finlay R.D. 1985. Mycorrhizal mycelia and nutrient cycling in plant communities // A.H. Fitter, D. Atkinson, D.J. Read, M.B. Usher (eds.). Ecological Interactions in Soil. Oxford: Blackwell Scientific Publications. P.193–217.
Read D.J., Leake J.R., Langdale A.R. 1989. The nitrogen nutrition of mycorrhizal fungi and their host plants // L.L. Boddy, R. Marchant, D.J. Read (eds.). Nitrogen, Phosphorus and Sulphur Utilisation by Fungi. Cambridge: Cambridge University Press. P.181–204.
Read D.J., Duckett J.G., Francis R., Ligrone R., Russell A. 2000. Symbiotic fungal associations in 'lower' land plants // Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences. Vol.355. P.815–830.
Read D.J., Leake J.R., Perez-Moreno J. 2004. Mycorrhizal fungi as drivers of ecosystem processes in heathland and boreal forest biomes // Canadian Journal of Botany. Vol.82. P.1243–1263.
Reddell P., Malajczuk N. 1984. Formation of mycorrhizae by jarrah (*Eucalyptus marginata* Donn ex Smith) in litter and soil // Australian Journal of Botany. Vol.32. P.511–520.
Reddell P., Spain A.V. 1991. Earthworms as vectors of viable propagules of mycorrhizal fungi // Soil Biology and Biochemistry. Vol.23. P.767–774.
Reddell P., Spain A.V., Hopkins M. 1997a. Dispersal of spores of mycorrhizal fungi in scats of native mammals in tropical forests of northeastern Australia // Biotropica. Vol.29. P.184–192.
Reddell P., Yun Y., Shipton W.A. 1997b. Cluster roots and mycorrhizae in *Casuarina cunninghamiana* – their occurrence and formation in relation to phosphorus supply // Australian Journal of Botany. Vol.45. P.41–51.
Reddy S.M., Pandey A.K., Melayah D., Marmeisse R., Gay G. 2003. The auxin responsive gene-*C61* is up-regulated in *Pinus pinaster* roots following inoculation with ectomycorrhizal fungi // Plant, Cell and Environment. Vol.26. P.681–691.
Redecker D., Kodner R., Graham L.E. 2000. Glomalean fungi from the Ordovician // Science. Vol.289. P.1920–1921.
Redecker D., Szaro T.M., Bowman R.J., Bruns T.D. 2001. Small genets of *Lactarius xanthogalactus, Russula cremoricolor* and *Amanita francheti* in late-stage ectomycorrhizal successions // Molecular Ecology. Vol.10. P.1025–1034.
Reed M.L. 1987. Ericoid mycorrhiza of Epacridaceae in Australia // D.M. Sylvia, L.L. Hung, J.H. Graham (eds.). Mycorrhizae in the Next Decade. Practical Applications and Research Priorities. Gainesville: Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. P.335.
Rees B., Shepherd V.A., Ashford A.E. 1994. Presence of a motile tubular vacuole system in different phyla of fungi // Mycological Research. Vol.97. P.985–992.
Reeves F.B., Wagner D., Moorman T., Kiel J. 1979. The role of endomycorrhizae in revegetation practices in the semi-arid west. I. A comparison of incidence of mycorrhizae in severely disturbed vs. natural environments // American Journal of Botany. Vol.66. P.6–13.
Reid C.P.P., Kidd F.A., Ekwebelam S.A. 1983. Nitrogen nutrition, photosynthesis and carbon allocation in ectomycorrhizal pine // Plant and Soil. Vol.71. P.415–432.
Reinecke T., Kindle H. 1994. Inducible enzymes of the 9,10-dihydro-phenanthrene pathway. Sterile orchid plants responding to fungal infection // Molecular Plant Microbe Interactions. Vol.7. P.449–454.
Reiners W.A. 1965. Ecology of a heath-shrub synusia in the pine barrens of Long Island, New York // Bulletin Torrey Bot Club. Vol.92. P.448–464.
Remy W., Taylor T.N., Hass H., Kerp H. 1994. Four hundred-million-year-old vesicular arbuscular mycorrhizae // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. Vol.91. P.11841–11843.

Requena N., Fuller P., Franken P. 199.9 Molecular characterization of *GmFOX2*, an evolutionarily highly conserved gene from the mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*, down-regulated during interaction with rhizobacteria // Molecular Plant-Microbe Interactions. Vol.12. P.934–942.

Requena N., Mann P., Hampp R., Franken P. 2002. Early developmentally regulated genes in the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*: identification of *GmGIN1*, a novel gene with homology to the C-terminus of metazoan hedgehog proteins // Plant and Soil. Vol.244. P.129–139.

Requena N., Breuninger M., Franken P., Ocón A. 2003. Symbiotic status, phosphate, and sucrose regulate the expression of two plasma membrane H^+-ATPase genes from the mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* // Plant Physiology. Vol.132. P.1540–1549.

Reynolds H.L., Hartley A.E., Vogelsang K.M., Bever J.D., Schultz P.A. 2005. Arbuscular mycorrhizal fungi do not enhance nitrogen acquisition and growth of old-field perennials under low nitrogen supply in glasshouse culture // New Phytologist. Vol.167. P.869–880.

Rhodes L.H., Gerdemann J.W. 1975. Phosphate uptake zones of mycorrhizal and nonmycorrhizal onions // New Phytologist. Vol.75. P.555–561.

Rhodes L.H., Gerdemann J.W. 1978a. Hyphal translocation and uptake of sulfur by vesicular-arbuscular mycorrhizae of onions // Soil Biology and Biochemistry. Vol.10. P.355–360.

Rhodes L.H., Gerdemann J.W. 1978b. Influence of phosphorus nutrition on sulphur uptake by vesicular-arbuscular mycorrhizae of onions // Soil Biology and Biochemistry. Vol.10. P.361–364.

Rhodes L.H., Gerdemann J.W. 1978c. Translocation of calcium and phosphate by external hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizae // Soil Science. Vol.126. P.125–126.

Richard C., Fortin J.A. 1973. The identification of *Mycelium radicis atrovirens* (*Phialocephala dimorphospora*) // Canadian Journal of Botany. Vol.51. P.2247–2248.

Richard C., Fortin J-A. 1974. Geographic distribution, ecology, physiology and pathogenicity of *Mycelium radicis atrovirens* // Phytoprotection. Vol.55. P.67–88.

Richardson K.A., Peterson R.L., Currah R.S. 1992. Seed reserves and early symbiotic protocormdevelopment of *Plantanthera hyperborea* (Orchidaceae) // Canadian Journal of Botany. Vol.70. P.291–300.

Richardson K.A., Currah R.S., Hambleton S.M. 1993. Basidiomycetous endophytes from the roots of neotropical epiphytic Orchidaceae // Lindleyana. Vol.8. P.127–137.

Richardson M.J. 1970. Studies on *Russula emetica* and other agarics in a Scots pine plantation // Transactions of the British Mycological Society. Vol.55. P.217–229.

Rillig M.C., Mummey D.L. 2006. Mycorrhizas and soil structure // New Phytologist. Vol.171. P.41–53.

Rillig M.C., Treseder K.K., Allen M.F. 2002a. Global change and mycorrhizal fungi // M.G.A. van der Heijden, I.R. Sanders (eds.). Mycorrhizal Ecology. Berlin: Springer-Verlag.

Rillig M.C., Wright S.F., Shaw M.R., Field C.B. 2002b. Artificial climate warming positively affects arbuscular mycorrhizae but decreases soil aggregate water stability in an annual grassland // Oikos. Vol.97. P.52–58.

Ritz K., Newman E.I. 1985. Evidence for rapid cycling of phosphorus from dying roots to living plants // Oikos. Vol.45. P.174–180.

Rivett M. 1924. The root tubercles in *Arbutus unedo* // Annals of Botany. Vol.28. P.661–677.

Roberts P. 1993. *Exidiopsis* species from Devon, including the new segregate genera *Ceratosebacina, Endoperplexa, Microsebacina* and *Serendipita* // Mycological Research. Vol.97. P.467–478.

Roberts P. 1999. *Rhizoctonia*-forming Fungi – a Taxonomic Guide. Kew: The Royal Botanic Garden.

Robertson D.C., Robertson J.A. 1982. Ultrastructure of *Pterospora andromedea* Nutall and *Sarcodes sanguinea* Torrey mycorrhizas // New Phytologist. Vol.92. P.539–551.

Robertson D.C., Robertson J.A. 1985. Ultrastructural aspects of *Pyrola* mycorrhizae // Canadian Journal of Botany. Vol.63. P.1089–1098.

Robertson G.P., Vitousek P.M. 1981. Nitrification potentials in primary and secondary succession // Ecology. Vol.62. P.376–386.

Robertson N.F. 1954. Studies on the mycorrhiza of *Pinus sylvestris* // New Phytologist. Vol.53. P.253–283.

Robinson D. 1994. The responses of plants to non-uniform supplies of nutrients // New Phytologist. Vol.127. P.635–674.

Robinson D., Fitter A.H. 1999. The magnitude and control of carbon transfer between plants linked by a common mycorrhizal network // Journal of Experimental Botany. Vol.50. P.9–13.

Robinson S.A., Slade A.P., Fox G.G., Phillips R., Ratcliffe R.G., Stewart G.R. 1991. The role of glutamate dehydrogenese in plant nitrogen metabolism // Plant Physiology. Vol.95. P.509–516.

Rodriguez A., Dougall T., Dodd J.C., Clapp J.P. 2001. The large subunit ribosomal RNA genes of *Entrophospora infrequens* comprise sequences related to two different glomalean families // New Phytologist. Vol.152. P.159–167.
Rommell L.G. 1938. A trenching experiment in spruce forest and its bearing on the problems of mycotrophy // Svensk Botanisk Tidskrift. Bd.32. S.89–99.
Rommell L.G. 1939a. The ecological problem of mycotrophy // Ecology. Vol.20. P.163–167.
Rommell L.G. 1939b. Barrskogens marksvamphar och deras roll i skogens liv // Svensk Botanisk Tidskrift. Bd.37. S.348–375.
Rønn R., Gavito M., Larsen J., Jakobsen I., Frederiksen H., Christensen S. 2002. Response of freeliving soil protozoa and microorganisms to elevated atmospheric CO_2 and presence of mycorrhiza // Soil Biology and Biochemistry. Vol.34. No.7. P.923–932.
Rose S.L. 1980. Mycorrhizal associations of some actinomycete nodulated nitrogen-fixing plants // Canadian Journal of Botany. Vol.58. P.1449–1454.
Rose S.L., Youngberg C.T. 1981. Tripartite associations in snow-brush *Ceanothus velutinus*: effect of vesicular-arbuscular mycorrhizae on growth, nodulation and nitrogen fixation // Canadian Journal of Botany. Vol.59. P.34–39.
Rosendahl S., Stukenbrock E.H. 2004. Community structure of arbuscular mycorrhizal fungi in undisturbed vegetation revealed by analyses of LSU rDNA sequences // Molecular Ecology. Vol.13. P.3179–3186.
Rosendahl S., Taylor J.W. 1997. Development of multiple genetic markers for studies of genetic variation in arbuscular mycorrhizal fungi using AFLPTm // Molecular Ecology. Vol.6. P.821–829.
Rosewarne G.M., Barker S.J., Smith S.E. 1997. Production of near-synchronous fungal colonization in tomato for developmental and molecular analyses of mycorrhiza // Mycological Research. Vol.101. P.966–970.
Rosling A., Landeweert R., Lindahl B.D. et al. 2003. Vertical distribution of ectomycorrhizal fungal taxa in a podzol soil profile // New Phytologist. Vol.159. p.775–783.
Rosling A., Lindahl B.D., Finlay R.D. 2004a. Carbon allocation to ectomycorrhizal roots and mycelium colonising different mineral substrates // New Phytologist.Vol.162. P.795–802.
Rosling A., Lindahl B.D., Taylor A.F.S., Finlay R.D. 2004b. Mycelial growth and substrate acidifi cation of ectomycorrhizal fungi in response to different minerals // FEMS Microbiology Ecology. Vol.47. P.31–37.
Ross J.P. 1971. Effect of phosphate fertilization on yield of mycorrhizal and nonmycorrhizal soybeans // Phytopathology. Vol.61. P.1400–1403.
Rost F.W.D., Shepherd V.A., Ashford A.E. 1995. Estimation of vacuolar pH in actively growing hyphae of the fungus *Pisolithus tinctorius* // Mycological Research. Vol.99. P.549–553.
Rouhier H., Read D.J. 1998. Plant and fungal responses to elevated atmospheric carbon dioxide in mycorrhizal seedlings of *Pinus sylvestris* // Environmental and Experimental Botany. Vol.40. No.3. P.237–246.
Rousseau J.V.D., Reid C.P.P. 1990. Effects of phosphorus and ectomycorrhizas on the carbon balance of loblolly pine seedlings // Forest Science. Vol.36. P.101–112.
Rousseau J.V.D., Reid C.P.P. 1991. Effects of phosphorus fertilisation and mycorrhizal development on phosphorus nutrition and carbon balance of loblolly pine. // New Phytologist. Vol.117. P.319–326.
Rousseau J.V.D., Sylvia D.M., Fox A.J. 1994. Contribution of ectomycorrhiza to the potential nutrient-absorbing surface of pine // New Phytologist. Vol.128. P.639–644.
Roussel H., van Tuinen D., Franken P., Gianinazzi S., Gianinazzi-Pearson V. 2001. Signalling between arbuscular mycorrhizal fungi and plants: identifi cation of a gene expressed during early interactions by differential RNA display analysis // Plant and Soil. Vol.232. P.13–19.
Rudawska M. 1986. Sugar metabolism of ectomycorrhizal Scots pine seedlings as influenced by different nitrogen forms and levels // Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae. Paris: INRA. P.389–394.
Ruess R.W., Hendrick R.L., Burton A.J. et al. 2003. Coupling fine root dynamics with ecosystem carbon cycling in black spruce forests of interior Alaska // Ecological Monographs. Vol.73. P.643–662.
Rufyikiri G., Huysmans L., Wannijn J., Van Hees M., Leyval C., Jakobsen I. 2004. Arbuscular mycorrhizal fungi can decrease the uptake of uranium by subterranean clover grown at high levels of uranium in soil // Environmental Pollution. Vol.130. P.427–436.
Rühling A., Tyler G. 1991. Effects of simulated nitrogen deposition to the forest floor on the macrofungal flora of a beech forest // Ambio. Vol.20. No.6. P.261–263.

Ruinen J. 1953. Epiphytosis – a second view of epiphytism // Annales Bogoriensis. Vol.1. P.101–157.
Ruiz-Lozano J.M. 2003. Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic stress. New perspectives for molecular studies // Mycorrhiza. Vol.13. P.309–317.
Ruiz-Lozano J.M., Porcel R., Aroca R. 2006. Does the enhanced tolerance of arbuscular mycorrhizal plants to water deficit involve modulation of drought-induced plant genes? // New Phytologist. Vol.171. P.693–698.
Rundel P.W. 1988. Leaf structure and nutrition in mediterranean-climate sclerophylls // R.L. Specht (ed.). Mediterranean-type Ecosystems. P.157–167. Dordrecht: Kluwer.
Ruotsalainen A.L., Tuomi J., Vare H. 2002. A model for optimal mycorrhizal colonization along altitudinal gradients // Silva Fennica. Vol.36. P.681–694.
Rusca T.A., Kennedy P.G., Bruns T.D. 2006. The effect of different pine hosts on the sampling of *Rhizopogon* spore banks in five Sierra Nevada forests // New Phytologist. Vol.170. P.551–560.
Russell A., Bulman S. 2004. The liverwort *Marchantia foliacea* forms a specialized symbiosis with arbuscular mycorrhizal fungi in the genus *Glomus* // New Phytologist. Vol.165. P.567–579.
Ryan E.A., Alexander I.J. 1992. Mycorrhizal aspects of improved growth of spruce when grown in mixed stands on heathlands // D.J. Read, D.H. Lewis, A.H. Fitter, I.J. Alexander (eds.). Mycorrhizas in Ecosystems. Wallingford: CAB International. P.237–245.
Ryan M., Ash J. 1999. Effects of phosphorus and nitrogen on growth of pasture plants and VAM fungi in SE Australian soils with contrasting fertiliser histories conventional and biodynamic // Agriculture Ecosystems and Environment. Vol.73. P.51–62.
Ryan M.H., Graham J.H. 2002. Is there a role for arbuscular mycorrhizal fungi in production agriculture? // Plant and Soil. Vol.244. P.263–271.
Ryan M.H., Chilvers G.A., Dumaresq D.C. 1994. Colonisation of wheat by VA-mycorrhizal fungi was found to be higher on a farm managed in an organic manner than on a conventional neighbour // Plant and Soil. Vol.160. P.33–40.
Ryan M.H., Small D.R., Ash J.E. 2000. Phosphorus controls the level of colonisation by arbuscular mycorrhizal fungi in conventional and biodynamic irrigated dairy pastures // Australian Journal of Experimental Agriculture. Vol.40. P.663–670.
Ryan M.H., Norton R.M., Kirkegaard J.A., McCormick K.M., Knights S.E., Angus J.F. 2002. Increasing mycorrhizal colonisation does not improve growth and nutrition of wheat on vertisols in south-eastern Australia // Australian Journal of Agricultural Research. Vol.53. P.1173–1181.
Ryan M.H., McCully M.E., Huang C.X. 2003. Location and quantification of phosphorus and other elements in fully hydrated, soil-grown arbuscular mycorrhizas: a cryo-analytical scanning electron microscopy study // New Phytologist. Vol.160. P.429–441.
Rygiewicz P.T., Anderson C.P. 1994. Mycorrhizae alter quality and quantity of carbon allocated below ground // Nature. Vol.369. P.58–60.
Rygiewicz P.T., Bledsoe C.S., Zasoski R.J. 1984. Effects of ectomycorrhizae and solution pH on [^{15}N] ammonium uptake by coniferous seedlings // Canadian Journal of Forest Research. Vol.14. P.885–892.
Rygiewicz P.T., Johnson M.G., Ganio L.M., Tingey D.T., Storm M.J. 1997. Lifetime and temporal occurrence of ectomycorrhizae on ponderosa pine (*Pinus ponderosa* Laws) seedlings grown under varied atmospheric CO_2 and nitrogen levels // Plant and Soil. Vol.189. P.275–287.
Safir G.R., Boyer J.S., Gerdemann J.W. 1971. Mycorrhizal enhancement of water transport in soybean // Science. Vol.172. P.581–583.
Safir G.R., Boyer J.S., Gerdemann J.W. 1972. Nutrient status and mycorrhizal enhancement of water transport in soybean // Plant Physiology. Vol.49. P.700–703.
Safir G.R., Coley S.C., Siqueira J.O., Carlson P.S. 1990. Improvement and synchronization of VA mycorrhiza fungal spore germination by short-term cold storage // Soil Biology and Biochemistry. Vol.22. P.109–111.
Salzer P., Hager A. 1991. Sucrose utilisation of the ectomycorrhizal fungi *Amanita muscaria* and *Hebeloma crustuliniforme* depends on the cell wall-bound invertase activity of their host *Picea abies* // Botanica Acta. Vol.104. P.439–445.
Salzer P., Hager A. 1993. Characteristization of wall-bound invertase isoforms of *Picea abies* cells and regulation of ectomycorrhizal fungi // Physiologia Plantarum. Vol.88. P.52–59.
Salzer P., Bonanomi A. et al. 2000. Differential expression of eight chitinase genes in *Medicago truncatula* roots during mycorrhiza formation, nodulation, and pathogen infection // Molecular Plant-Microbe Interactions. Vol.13. P.763–777.

Sampangi R., Perrin R. 1985. Attempts to elucidate the mechanisms involved in the protective effect of *Laccaria laccata* against *Fusarium oxysporum* // V. Gianinazzi Pearson, S. Gianninazzi (eds.). Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae. P.807–810. Paris: INRA.
Sancholle M., Dalpé Y. 1993. Taxonomic relevance of fatty acids of arbuscular mycorrhizal fungi and related species // Mycotaxon. Vol.69. P.187–193.
Sanders F.E., Sheikh N.A. 1983. The development of vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in plant root systems // Plant and Soil. Vol.71. P.223–246.
Sanders F.E., Tinker P.B. 1971. Mechanism of absorption of phosphate from soil by *Endogone* mycorrhizas // Nature. Vol.233. P.278–279.
Sanders F.E., Tinker P.B. 1973. Phosphate flow into mycorrhizal roots // Pesticide Science. Vol.4. P.385–395.
Sanders F.E., Mosse B., Tinker P.B. (eds.). 1975. Endomycorrhizas. London: Academic Press.
Sanders F.E., Tinker P.B., Black R.L.B., Palmerley S.M. 1977. The development of endomycorrhizal root systems. I. Spread of infection and growth-promoting effects with four species of vesicular-arbuscular endophyte // New Phytologist. Vol.78. P.257–268.
Sanders I.R. 2002. Specificity in the arbuscular mycorrhizal symbiosis // M.G.A. van der Heijden, I.R. Sanders (eds.). Mycorrhizal Ecology. P.416–437. Berlin: Springer-Verlag.
Sanders I.R., Fitter A.H. 1992a. Evidence for differential responses between host-fungus combinations of vesicular-arbuscular mycorrhizas from a grassland // Mycological Research. Vol.96. P.415–419.
Sanders I.R., Fitter A.H. 1992b. The ecology and functioning of vesicular-arbuscular mycorrhizas in co-existing grassland species II. Nutrient uptake and growth of vesiculararbuscular mycorrhizal plants in a semi-natural grassland // New Phytologist. Vol.120. P.525–533.
Sanders I.R., Alt M., Groppe K., Boller T., Wiemken A. 1995. Identification of ribosomal DNA polymorphisms among and within spores of the Glomales: application to studies on the genetic diversity of arbuscular mycorrhizal fungal communities // New Phytologist. Vol.130. P.419–427.
Sanders I.R., Koch A., Kuhn G. 2003. Arbuscular mycorrhizal fungi: genetics of multigenomic, clonal networks and its ecological consequences // Biological Journal of the Linnean Society. Vol.79. P.59–60.
Sangwanit V., Bledsoe S.C. 1987. Mycorrhizal fungi enhance uptake and storage of amino acids in mycorrhizal Douglas-Fir and western hemlock seedlings // D.M. Sylvia, L.L. Hung, J.H. Graham (eds.). Mycorrhizae in the Next Decade. Gainsville: Institute of Food and Agriculture Sciences, University of Florida. P.262.
Santantonio D., Santantonio E. 1987. Effect of thinning on production and mortality of fine roots in a *Pinus radiata* plantation on a fertile site in New Zealand // Canadian Journal of Forest Research. Vol.17. P.919–928.
Sasa M., Zahka G., Jakobsen I. 1987. The effect of pretransplant inoculation with VA mycorrhizal fungi on the subsequent growth of leeks in the field // Plant and Soil. Vol.97. P.279–283.
Sawaki H., Saito M. 2001. Expressed genes in the extraradical hyphae of an arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*, in the symbiotic phase // FEMS Microbiology Letters. Vol.195. P.109–113.
Sawyer N.A., Chambers S.M., Cairney J.W.G. 2003. Distribution of *Amanita* spp. genotypes under eastern Australian sclerophyll vegetation // Mycological Research. Vol.107. P.1157–1162.
Scales P., Peterson R.L. 1991a. Structure and development of *Pinus banksiana-Wilcoxina* ectendomycorrhizae // Canadian Journal of Botany. Vol.69. P.2135–2148.
Scales P., Peterson R.L. 1991b. Structure of ectomycorrhizae formed by *Wilcoxima mikolae* var. *mikolae* with *Picea mariana* and *Betula alleghaniensis* // Canadian Journal of Botany. Vol.69. P.2149–2157.
Scannerini S. 1968. Sull' ultrastruttura delle ectomicorrize. II. Ultrastruttura di una micorriza di ascomycete: *Tuber albidum X Pinus strobus* // Allionia. Vol.14. P.77–95.
Scannerini S., Bonfante-Fasolo P. 1983. Comparative ultrastructural analysis of mycorrhizal associations // Canadian Journal of Botany. Vol.61. P.917–943.
Schacht H. 1854. Uber Pilzfäden im Inneren der Zellen und Stärkemehlkörner // Flora. Vol.7. P.618–624.
Schachtman D.P., Reid R.J., Ayling S.M. 1998. Phosphorus uptake by plants: from soil to cell // Plant Physiology. Vol.116. P.447–453.
Schadt C.W., Mullen R.B., Schmidt S.K. 2001. Isolation and phylogenetic identification of a dark septate fungus associated with the alpine plant *Ranunculus adoneus* // New Phytologist. Vol.150. P.747–755.
Schaeffer C., Wallenda T., Güttenberger M., Hampp R. 1995. Acid invertase in mycorrhizal and non-mycorrhizal roots of Norway spruce (*Picea abies* [L.] Karst.) seedlings // New Phytologist. Vol.129. P.417–424.

Schellenbaum L., Gianinazzi S., Gianinazzi-Pearson V. 1993. Comparison of acid soluble protein synthesis in roots of endomycorrhizal wild type *Pisum sativum* and corresponding isogenic mutants // Journal of Plant Physiology. Vol.141. P.2–6.

Scheltema M.A., Abbott L.K., Robson A.D. 1987a. Seasonal variation in the infectivity of VA mycorrhizal fungi in annual pastures in a mediterranean environment // Australian Journal of Agricultural Research. Vol.38. P.707–715.

Scheltema M.A., Abbott L.K., Robson A.D., De'Ath G. 1987b. The spread of mycorrhizal infection by *Gigaspora calospora* from a localized inoculum // New Phytologist. Vol.106. P.727–734.

Schenck N.C. 1982. Methods and Principles of Mycorrhizal Research. St Paul: American Phytopathological Society.

Schenck N.C., Graham S.O., Green N.E. 1975. Temperature and light effect on contamination and spore germination of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi // Mycologia. Vol.67. P.1189–1192.

Scheromm P., Plassard C., Salsac L. 1990a. Nitrate nutrition of maritime pine (*Pinus pinaster* Soland *in* Ait.) ectomycorrhizal with *Hebeloma cylindrosporum* Romagn. // New Phytologist. Vol.114. P.93–98.

Scheromm P., Plassard C., Salsac L. 1990b. Regulation of nitrate reductase in the ectomycorrhizal basidiomycete, *Hebeloma cylindrosporum* Romagn., cultured on nitrate or ammonium // New Phytologist. Vol.114. P.441–447.

Schier G.A., McQuattie C.J. 1996. Response of ectomycorrhizal and nonmycorrhizal pitch pine (*Pinus rigida*) seedlings to nutrient supply and aluminum: growth and mineral nutrition // Canadian Journal of Forest Research. Vol.26. No.12. P.2145–2152.

Schmid E., Oberwinkler F. 1993. Mycorrhiza-like interaction between the achlorophyllous gametophyte of *Lycopodium clavatum* L. and its fungal endophyte studied by light and electron-microscopy // New Phytologist. Vol.124. No.1. P.69–81.

Schmid E., Oberwinkler F. 1994. Light and electron-microscopy of the host-fungus interaction in the achlorophyllous gametophyte of *Botrychium lunaria* // Canadian Journal of Botany. Vol.72. No.2. P.182–188.

Schmid E., Oberwinkler F. 1996. Light and electron microscopy of a distinctive VA mycorrhiza in mature sporophytes of O*phioglossum reticulatum* // Mycological Research. Vol.100. P.843–849.

Schramm J.R. 1966. Plant colonisation studies on black wastes from anthracite mining in Pennsylvania // Transactions of the American Philosophical Society. Vol.56. P.1–94.

Schreiner R.P., Koide R.T. 1993a. Antifungal compounds from the roots of mycotrophic and non-mycotrophic plant species // New Phytologist. Vol.123. P.99–105.

Schreiner R.P., Koide R.T. 1993b. Mustards, mustard oils and mycorrhizas // New Phytologist. Vol.123. P.107–113.

Schreiner R.P., Koide R.T. 1993c. Stimulation of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi by mycotrophic and nonmycotrophic plant root systems // Applied and Environmental Microbiology. Vol.59. P.2750–2752.

Schroeder M.S., Janos D.P. 2004. Phosphorus and intraspecific density alter plant responses to arbuscular mycorrhizas // Plant and Soil. Vol.264. P.335–348.

Schubert A., Marzachi C., Mazzitelli M., Cravero M.C., Bonfante-Fasolo P. 1987. Development of total and viable extraradical mycelium in the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus clarum* Nicol. and Schenck // New Phytologist. Vol.107. P.183–190.

Schubert A., Wyss P., Wiemken A. 1992. Occurrence of trehalose in vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and in mycorrhizal roots // Journal of Plant Physiology. Vol.140. P.41–45.

Schubert A., Allara P., Morte A. 2004. Cleavage of sucrose in roots of soybean (*Glycine max*) colonized by an arbuscular mycorrhizal fungus // New Phytologist. Vol.161. P.495–501.

Schüepp H., Miller D.D., Bodmer M. 1987. A new technique for monitoring hyphal growth of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi through soil // Transactions of the British Mycological Society. Vol.89. P.429–435.

Schuler R., Haselwandter K. 1988. Hydroxamate siderophore production by ericoid mycorrhizal fungi // Journal of Plant Nutrition. Vol.11. P.907–913.

Schultze E.D. 1989. Air-pollution and forest decline in a spruce (*Picea abies*) Forest // Science. Vol.244. No.4906. P.776–783.

Schultze E.D., Chapin F.S. III, Gebauer F. 1994. Nitrogen nutrition and isotope differences among life forms at the northern tree-line of Alaska // Oecologia. Vol.100. P.406–412.

Schüßler A. 2000. *Glomus claroideum* forms an arbuscular mycorrhiza-like symbiosis with the hornwort *Anthoceros punctatus* // Mycorrhiza. Vol.10. P.15–21.

Schüßler A. 2002. Molecular phyologeny, taxonomy and evolution of *Geosiphon pyriformis* and arbuscular mycorrhizal fungi // Plant and Soil. Vol.244. P.75–83.
Schüßler A., Wolf E. 2005. *Geosiphon pyriformis* – a glomeromycotan soil fungus forming endosymbiosis with Cyanobacteria // S. Declerck, D.G. Strullu, J.A. Fortin (eds.). In Vitro Culture of Mycorrhizas. Berlin: Springer. P.272–289.
Schüßler A., Mollenhauer D., Schnepf E., Kluge M. 1994. *Geosiphon pyriforme*, an endosymbiotic association of fungus and cyanobacteria: the spore structure resembles that of arbuscular mycorrhizal AM fungi // Botanica Acta. Vol.107. P.36–45.
Schüßler A., Schwarzott D., Walker C. 2001. A new fungal phylum, the *Glomeromycota*: phylogeny and evolution // Mycological Research. Vol.105. P.1413–1421.
Schuster R.M. 1966. The Hepaticae and Anthocerotae of North America. Vol.1. New York: Columbia University Press.
Schwarzott D., Walker C., Schüßler A. 2001. *Glomus*, the largest genus of the arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales), is nonmonophyletic // Molecular Phylogenetics and Evolution. Vol.21. P.190–197.
Schweiger P.F., Jakobsen I. 1999a. The role of mycorrhizas in plant P nutrition: fungal uptake kinetics and genotype variation // G. Gissel-Nielsen, A. Jensen (eds.). Plant Nutrition – Molecular Biology and Genetics. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. P.277–289.
Schweiger P.F., Jakobsen I. 1999b. Direct measurement of arbuscular mycorrhizal phosphorus uptake into field-grown winter wheat // Agronomy Journal. Vol.91. P.998–1002.
Schweiger P., Jakobsen I. 2000. Laboratory and field methods for measurement of hyphal uptake of nutrients in soil // Plant and Soil. Vol.226. P.237–244.
Schweiger P., Spliid N.H., Jakobsen I. 2001. Fungicide application and phosphorus uptake by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi into field-grown peas // Soil Biology and Biochemistry. Vol.33. P.1231–1237.
Schwob I., Ducker M., Sallanon H., Coudret A. 1998. Growth and gas exchange responses of *Hevea brasiliensis* seedlings to inoculation with *Glomus mosseae* // Trees. Vol.12. P.236–240.
Scott G.D. 1969. Plant Symbiosis. London: Edward Arnold.
Selle A., Willmann M., Grunze N., Gessler A., Weiss M., Nehls U. 2005. The high-affinity poplar ammonium importer PttAMT1.2 and its role in ectomycorrhizal symbiosis // New Phytologist. Vol.168. P.697–706.
Selosse M.A. 2005. Are liverworts imitating mycorrhizas? // New Phytologist. Vol.165. P.345–349.
Selosse M.A., Weiss M., Jany J.L., Tillier A. 2002a. Communities and populations of sebacinoid basidiomycetes associated with the achlorophyllous orchid *Neottia nidus-avis* (L.) LCM Rich. and neighbouring tree ectomycorrhizae // Molecular Ecology. Vol.11. P.1831–1844.
Selosse M.A., Bauer R., Moyersoen B. 2002b. Basal hymenomycetes belonging to the Sebacinaceae are ectomycorrhizal on temperate deciduous trees // New Phytologist. Vol.155. P.183–195.
Selosse M.A., Faccio A., Scappaticci G., Bonfante P. 2004. Chlorophyllous and achlorophyllous specimens of *Epipactis microphylla* (Neottieae, Orchidaceae) are associated with ectomycorrhizal septomycetes, including truffles // Microbial Ecology. Vol.47. P.416–426.
Selosse M.A., Setaro S., Glatard F., Richard F., Urcelay C., Weiss M. 2007. Sebacinales are common mycorrhizal associates of Ericaceae // New Phytologist. Vol.174. P.864–878.
Sen R., Hietala A., Zelmer A. 1999. Common anastomosis and ITS-RFLP groupings among binuculate *Rhizoctonia* isolates representing root endophytes of *Pinus sylvestris*, *Ceratorhiza* spp. from orchid mycorrhizas and a phytopathogenic anastomosis group // New Phytologist. Vol.144. P.331–341.
Serrigny J., Dexheimer J. 1985. Étude ultrastructurale des endomycorhizes d'une orchidée tropicale: *Epidendrum ibaguense*. II. Localisation des ATPases et des nucleosides diphosphatases // Cytologia. Vol.50. P.779–788.
Serrigny J., Dexheimer J. 1986. Endomycorrhize d'une orchidée tropicale: *Epidendrum ibaguense*. Étude comparative des activités phosphatasiques acides entre le champignon symbiote associe et isole // V. Gianinazzi-Pearson, S. Gianinazzi (eds.). Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae. Paris: INRA. P.271–275.
Setala H. 1995. Growth of birch and pine seedlings in relation to grazing by soil fauna on ectomycorrhizal fungi // Ecology. Vol.76. P.1844–1851.
Setaro S., Weiss M., Oberwinkler F., Kottke I. 2006. Sebacinales form ectendomycorrhizas with *Cavendishia nobilis*, a member of the Andean clade of Ericaceae, in the mountain rain forest of southern Ecuador // New Phytologist. Vol.169. P.355–365.

Seviour R.J., Willing R.R., Chilvers G.A. 1973. Basidiocarps associated with ericoid mycorrhizas // New Phytologist. Vol.72. P.381–385.
Sgorbati S., Berta G., Trotta A. et al. 1993. Chromatin structure variation in successful and unsuccessful arbuscular mycorrhizas of pea // Protoplasma. Vol.175. P.1–8.
Shachar-Hill Y., Pfeffer P.E., Douds D., Osman S.F., Doner L.W., Ratcliffe R.G. 1995. Partioning of intermediary carbon metabolism in vesicular-arbuscular mycorrhizal leek // Plant Physiology. Vol.108. P.7–15.
Sharples J.M., Chambers S.M., Meharg A.A., Cairney J.W.G. 2000a. Genetic diversity of rootassociated fungal endophytes from *Calluna vulgaris* at contrasting field sites // New Phytologist. Vol.148. P.153–162.
Sharples J.M., Meharg A.A., Chambers S.M., Cairney J.W.G. 2000b. Symbiotic solution to arsenic contamination // Nature. Vol.404. P.951–952.
Sharples J.M., Meharg A.A., Chambers S.M., Cairney J.W.G. 2000c. Mechanism of arsenate resistance in the ericoid mycorrhizal fungus *Hymenoscyphus ericae* // Plant Physiology. Vol.124. P.1327–1334.
Shaw G., Leake J.R., Baker A.J.M., Read D.J. 1990. The biology of mycorrhiza in the Ericaceae. XVII. The role of mycorrhizal infection in the regulation of iron uptake by ericaceous plants // New Phytologist. Vol.115. P.251–258.
Shaw J., Renzaglia K. 2004. Phylogeny and diversifi cation of bryophytes // American Journal of Botany. Vol.91. No.10. P.1557–1581.
Shefferson R.P., Weiss M., Kull T., Taylor D.L. 2005. High specificity generally characterizes mycorrhizal association in rare lady's slipper orchids, genus *Cypripedium* // Molecular Ecology. Vol.14. P.613–626.
Shepherd V.A., Orlovich D.A., Ashford A.E. 1993a. Cell-to-cell transport via motile tubules in growing hyphae of a fungus // Journal of Cell Science. Vol.105. P.1173–1178.
Shepherd V.A., Orlovich D.A., Ashford A.E. 1993b. A dynamic continuum of pleiomorphic tubules and vacuoles in growing hyphae of a fungus // Journal of Cell Science. Vol.104. P.495–507.
Shi L.B., Güttenberger M., Kottke I., Hampp R. 2002. The effect of drought on mycorrhizas of beech (*Fagus sylvatica* L.): changes in community structure, and the content of carbohydrates and nitrogen storage bodies of the fungi // Mycorrhiza. Vol.12. P.303–311.
Shiroya T., Lister G.R., Slankis V., Krotkov G., Nelson C.D. 1966. Seasonal changes in respiration, photosynthesis and translocation of the ^{14}C labelled products of photosynthesis in young *Pinus strobus* L. plants // Annals of Botany. Vol.30. P.81–91.
Shishkoff N. 1986. The dimorphic hypodermis of plant roots: its distribution in the angiosperms, staining properties and interaction with root invading fungi. PhD thesis. University of Cornell.
Sieber T.N. 2002. Fungal root endophytes // Y. Waisel, A. Eshel, U. Kafkafi (eds.). Plant Roots: The Hidden Half. New York: Marcel Dekker. P.887–917.
Sieber T.N., Grunig C.R. 2006. Biodiversity of fungal root-endophyte communities and populations in particular of the dark septate endophyte *Phialocephala fortinii* // B. Schulz, C. Boyle, T.N. Sieber (eds.). Microbial Root Endophytes. Berlin: Springer. P.107–132.
Sieverding E. 1987. On-farm inoculum production of V.A.M. inoculum // D.M. Sylvia, L.L. Hung, J.H. Graham (eds.). Mycorrhizae in the Next Decade. P.284–285. Gainsville: Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida.
Sieverding E. 1990. Should VAM inocula contain single or several fungal species? // Agriculture, Ecosystems and Environment. Vol.29. P.391–396.
Sieverding E. 1991. Vesicular-Arbuscular Mycorrhiza Management in Tropical Agrosystems. Eschborn: Deutsche Gesellschaft fur Technische Zusammenarbeit GTZ GmbH.
Sieverding E., Toro S., Mosquera O. 1989. Biomass production and nutrient concentrations in spores of VA mycorrhizal fungi // Soil Biology and Biochemistry. Vol.21. P.69–72.
Simard S.W. 1995. Interspecific carbon transfer in ectomycorrhizal tree species mixtures. PhD Thesis. Oregon State University.
Simard S.W., Durall D.M. 2004. Mycorrhizal networks: a review of their extent, function, and importance // Canadian Journal of Botany. Vol.82. P.1140–1165.
Simard S.W., Jones M.D., Durall D.M., Perry D.A., Myrold D.D., Molina R. 1997a. Reciprocal transfer of carbon isotopes between extomycorrhizal *Betula papyrifera* and *Pseudotsuga menziesii* // New Phytologist. Vol.137. P.529–542.

Simard S.W., Molina R., Smith J.E., Perry D.A., Jones M.D. 1997b. Shared compatibility of ectomycorrhizae on *Pseudotsuga menziesii* and *Betula papyrifera* seedlings grown in mixture in soils from southern British Columbia // Canadian Journal of Forest Research. Vol.27. P.331–342.
Simard S.W., Perry D.A., Jones M.D., Myrold D.D., Durall D.M., Molina R. 1997c. Net transfer of carbon berween ectomycorrhizal tree species in the field // Nature. Vol.388. P.579–582.
Simard S.W., Jones M.D., Durall D.M. 2002. Carbon and nutrient fluxes within and between mycorrhizal plants // M.G.A. van der Heijden, I.R. Sanders (eds.). Mycorrhizal Ecology. Berlin: Springer-Verlag. P.33–74.
Siminovitch D., Singh J., De la Roche I.A. 1975. Studies on membrane in plant cells resistant to extreme freezing. I. Augmentation of phospholipid and membrane substance without change in unsaturation of fatty acids during hardening of black locust bark // Cryobiology. Vol.12. P.144–153.
Simkin T., Fiske R.S. 1983. Krakatau 1883 – the Volcanic Eruption and its Effects. Washington: Smithsonian Institution Press.
Simon L., Bousquet J., Lévesque R.C., Lalonde M. 1993. Origin and diversification of endomycorrhizal fungi and coincidence with vascular land plants // Nature. Vol.363. P.67–69.
Simoneau P., Viemont J.D., Moreau J.C., Strullu D.G. 1993. Symbiosis-related polypeptides associated with the early stages of ectomycorrhiza organogenesis in birch (*Betula pendula* Roth) // New Phytologist. Vol.124. P.495–504.
Simpson D., Daft M.J. 1990. Spore production and mycorrhizal development in various tropical crop hosts infected with *Glomus clarum* // Plant and Soil. Vol.121. P.171–178.
Singer R., Araujo I. 1979. Litter decomposition and ectomycorrhiza in Amazonian forest. I. A comparison of litter decomposing and ectomycorrhizal basidiomycetes in latosol-terrafirme forest and white podzol campinarana // Acta Amazonica. Vol.9. P.25–41.
Singh K.G. 1965. Comparison of techniques for isolation of root-infecting fungi // Nature. Vol.206. No.4989. P.1169.
Singh K.G. 1974. Mycorrhiza in the Ericaceae with particular reference of *Calluna vulgaris* // Svensk Botanisk Tidskrift. Vol.68. P.–16.
Siqueira J.O., Saggin-Junior O.J. 2001. Dependency on arbuscular mycorrhizal fungi and responsiveness of some Brazilian native woody species // Mycorrhiza. Vol.11. P.245–255.
Siqueira J.O., Hubbell D.H., Schenck N.C. 1982. Spore germination and germ tube growth of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *in vitro* // Mycologia. Vol.4. P.952–959.
Siqueira J.O., Sylvia D.M., Gibson J., Hubbell D.H. 1985. Spores, germination and germ tubes of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi // Canadian Journal of Microbiology. Vol.31. P.965–972.
Siqueira J.O., Safir G.R., Nair M.G. 1991. Stimulation of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation and growth of white clover by flavonoid compounds // New Phytologist. Vol.118. P.87–93.
Siqueira J.O., Carneiro M.A.C., Curi N., Rosado S.C.S., Davide A.C. 1998. Mycorrhizal colonization and mycotrophic growth of native woody species as related to successional groups in southeastern Brazil // Forest Ecology and Management. Vol.107. P.241–252.
Sivak M.N., Walker D.A. 1986. Photosynthesis *in vivo* can be limited by phosphate supply // New Phytologist. Vol.102. P.499–512.
Skinner M.F., Bowen G.D. 1974a. The uptake and translocation of phosphate by mycelial strands of pine mycorrhizas // Soil Biology and Biochemistry. Vol.6. P.53–56.
Skinner M.F., Bowen G.D.1974b. The penetration of soil by mycelial strands of ectomycorrhizal fungi // Soil Biology and Biochemistry. Vol.6. P.57–81.
Smernik R.J., Dougherty W. 2007. Identification of phytate in phosphorus-31 nuclear magnetic resonance spectra: the need for spiking // Soil Science Society of America Journal. Vol.71. P.1045–1050.
Smith A.H., Zeller S.M. 1966. A preliminary account of the North American species of *Rhizopogon* // Memoirs of the New York Botanical Gardens. Vol.14. P.1–178.
Smith D.C., Douglas A.E. 1987. The Biology of Symbiosis. London: Edward Arnold.
Smith D.C., Muscatine L., Lewis D.H. 1969. Carbohydrate movement from autotrophs to heterotrophs in parasitic and mutualistic symbiosis // Biological Reviews. Vol.44. P.17–90.
Smith F.A. 2000. Measuring the influence of mycorrhizas // New Phytologist. Vol.148. P.1–6.
Smith F.A., Smith S.E. 1981. Mycorrhizal infection and growth of *Trifolium subterraneum*: comparison of natural and artificial inocula // New Phytologist. Vol.88. P.311–325.
Smith F.A., Smith S.E. 1990. Solute transport at the interface: ecological implications // Agriculture, Ecosystems and Environment. Vol.28. P.475–478.

Smith F.A., Smith S.E. 1996. Mutualism and parasitism: diversity in function and structure in the ‘arbuscular’ (VA) mycorrhizal symbiosis // Advances in Botanical Research. Vol.22. P.1–43.
Smith F.A., Smith S.E. 1997. Structural diversity in vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis // New Phytologist. Vol.137. P.373–388.
Smith F.A., Smith S.E., St John B.J., Nicholas D.J.D. 1986. Inflow of N and P into roots of mycorrhizal and non-mycorrhizal onions // V. Gianinazzi-Pearson, S. Gianinazzi (eds.). Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae. Paris: INRA. P.371–375.
Smith F.A., Dickson S., Morris C., Reid R.J., Tester M., Smith S.E. 1995. Phosphate transfer in VA mycorrhizas. Special mechanisms or not? // F. Baluska, M. Ciamporová, O. Gasparíková, P.W. Barlow (eds.). Structure and Function of Roots. P.155–161. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers.
Smith F.A., Jakobsen I., Smith S.E. 2000. Spatial differences in acquisition of soil phosphate between two arbuscular mycorrhizal fungi in symbiosis with *Medicago truncatula* // New Phytologist. Vol.147. P.357–366.
Smith F.A., Timonen S., Smith S.E. 2001. Mycorrhizae // C.W.P.M. Blom, E.J.W. Visser (eds.). Root Ecology. Berlin: Springer.
Smith F.A., Smith S.E., Timonen S. 2003b. Mycorrhizas // H. de Kroon, E.J.W. Visser (eds.). Root Ecology. Berlin: Springer-Verlag. P.257–295.
Smith F.W., Mudge S.R., Rae A.L., Glassop D. 2003a. Phosphate transport in plants // Plant and Soil. Vol.248. P.71–83.
Smith H.F., O’Connor P.J., Smith S.E., Smith F.A. 1998. Vesicular-arbuscular mycorrhizas of durian and other plants of forest gardens in West Kalmantan, Indonesia // A. Schulte, D. Ruhiyat (eds.). Soils of Tropical Forest Ecosystems. Berlin: Springer-Verlag. P.192–198.
Smith M.D., Hartnett D.C., Wilson G.W.T. 1999. Interacting influence of mycorrhizal symbiosis and competition on plant diversity in tallgrass prairie // Oecologia. Vol.21. P.574–582.
Smith N., Mori S.A., Henderson A., Stevenson D.W., Heald S.V. 2004b. Flowering Plants of the Neotropics. New Jersey: Princeton University Press.
Smith S.E. 1966. Physiology and ecology of orchid mycorrhizal fungi with reference to seedling nutrition // New Phytologist. Vol.65. P.488–499.
Smith S.E. 1967. Carbohydrate translocation in orchid mycorrhizal fungi // New Phytologist. Vol.66. P.371–378.
Smith S.E. 1973. Asymbiotic germination of orchid seeds on carbohydrates of fungal origin // New Phytologist. Vol.72. P.497–499.
Smith S.E. 1980. Mycorrhizas of autotrophic higher plants // Biological Reviews. Vol.55. P.475–510.
Smith S.E. 1982. Inflow of phosphate into mycorrhizal and non-mycorrhizal plants of *Trifolium subterraneum* at different levels of soil phosphate // New Phytologist. Vol.90. P.293–303.
Smith S.E. 1995. Discoveries, discussions and directions in mycorrhizal research // A. Varma, B. Hock (eds.). Mycorrhiza: Structure, Function, Molecular Biology and Biotechnology. Berlin: Springer-Verlag. P.3–24.
Smith S.E., Daft M.J. 1977. Interactions between growth, phosphate content and N_2 fixation in mycorrhizal and non-mycorrhizal *Medicago sativa* // Australian Journal of Plant Physiology. Vol.4. P.403–413.
Smith S.E., Dickson S. 1991. Quantification of active vesicular-arbuscular mycorrhizal infection using image analysis and other techniques // Australian Journal of Plant Physiology. Vol.18. P.637–648.
Smith S.E., Gianinazzi-Pearson V. 1988. Physiological interactions between symbionts in vesicular-arbuscular mycorrhizal plants // Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. Vol.39. P.221–244.
Smith S.E., Gianinazzi-Pearson V. 1990. Phosphate uptake and arbuscular activity in mycorrhizal *Allium cepa* L.: effects of photon irradiance and phosphate nutrition // Australian Journal of Plant Physiology. Vol.17. P.177–188.
Smith S.E., Read D.J. 1997. Mycorrhizal Symbiosis. 2nd edn. London: Academic Press Ltd.
Smith S.E., Smith F.A. 1973. Uptake of glucose, trehalose and mannitol by leaf slices of the orchid *Bletilla hyacinthina* // New Phytologist. Vol.72. P.957–964.
Smith S.E., Smith F.A. 1990. Structure and function of the interfaces in biotrophic symbioses as they relate to nutrient transport // New Phytologist. Vol.114. P.1–38.
Smith S.E., Walker N.A. 1981. A quantitative study of mycorrhizal infection in *Trifolium*: separate determination of the rates of infection and of mycelial growth // New Phytologist. Vol.89. P.225–240.

Smith S.E., Smith F.A., Nicholas D.J.D. 1981. Effects of endomycorrhizal infection on phosphate and cation uptake by *Trifolium subterraneum* // Plant and Soil. Vol.63. P.57–64.
Smith S.E., St John B.J., Smith F.A., Nicholas D.J.D. 1985. Activity of glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase in *Trifolium subterraneum* L. and *Allium cepa* L.: effects of mycorrhizal infection and phosphate nutrition // New Phytologist. Vol.99. P.211–227.
Smith S.E., Walker N.A., Tester M. 1986. The apparent width of the rhizosphere of *Trifolium subterraneum* L. for vesicular-arbuscular mycorrhizal infection: effects of time and other factors // New Phytologist. Vol.104. P.547–558.
Smith S.E., Long C.M., Smith F.A. 1989. Infection of roots with a dimorphic hypodermis: possible effects on solute uptake // Agriculture, Ecosystems and Environment. Vol.29. P.403–407.
Smith S.E., Robson A.D., Abbott L.K. 1992. The involvement of mycorrhizas in assessment of genetically dependent efficiency of nutrient uptake and use // Plant and Soil. Vol.146. P.169–179.
Smith S.E., Dickson S., Morris C., Smith F.A. 1994. Transport of phosphate from fungus to plant in VA mycorrhizas: calculation of the area of symbiotic interface and of fluxes of P from two different fungi to *Allium porrum* L. // New Phytologist. Vol.127. P.93–99.
Smith S.E., Smith F.A., Jakobsen I. 2003c. Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses // Plant Physiology. Vol.133. P.16–20.
Smith S.E., Smith F.A., Jakobsen I. 2004a. Functional diversity in arbuscular mycorrhizal AM symbioses: the contribution of the mycorrhizal P uptake pathway is not correlated with mycorrhizal responses in growth or total P uptake // New Phytologist. Vol.162. P.511–524.
Smith S.E., Barker S.J., Zhu Y.G. 2006. Fast moves in arbuscular mycorrhizal symbiotic signalling // Trends in Plant Science. Vol.11. P.369–371.
Smits M. 2006. Mineral tunnelling by fungi // G.M. Gadd (ed.). Fungi in Biogeochemical Cycles. Cambridge: Cambridge University Press. P.311–327.
Smits W.T.M. 1992. Mycorrhizal studies in dipterocarp forests in Indonesia // D.J. Read, D.H. Lewis, A.H. Fitter, I.J. Alexander (eds.). Mycorrhizas in Ecosystems. P.83–292. Wallingford: CAB International.
Smreciu E.A., Currah R.S. 1989. Symbiotic germination of seeds of terrestrial orchids of North America and Europe // Lindleyana. Vol.4. P.6–15.
Sneh B., Burpee L., Ogoshi A. 1991. Identification of *Rhizoctonia* species. St. Paul: APS Press.
Snellgrove R.C., Stribley D.P. 1986. Effects of pre-inoculation with a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus on growth on onions transplanted to the field as multi-seeded peat modules // Plant and Soil. Vol.92. P.387–397.
Snellgrove R.C., Splittstoesser W.E., Stribley D.P., Tinker P.B. 1982. The distribution of carbon and the demand of the fungal symbiont in leek plants with vesicular-arbuscular mycorrhizas // New Phytologist. Vol.92. P.75–87.
Söderström B. 1979. Seasonal fluctuations of active fungal biomass in the horizons of a podzolized pine forest soil in Central Sweden // Soil Biology and Biochemistry. Vol.11. P.149–154.
Söderström B., Read D.J. 1987. Respiratory activity of intact and excised ectomycorrhizal mycelial systems growing in unsterilised soil // Soil Biology and Biochemistry. Vol.19. P.231–236.
Söderström B., Finlay R.D., Read D.J. 1988. The structure and function of the vegetative mycelium of ectomycorrhizal plants. IV. Qualitative analysis of carbohydrate contents of mycelium interconnecting host plants // New Phytologist. Vol.109. P.163–166.
Sokolovski S.G., Meharg A.A., Maathuis F.J.M. 2002. *Calluna vulgaris* root cells show increased capacity for amino acid uptake when colonized with the mycorrhizal fungus *Hymenoscyphus ericae* // New Phytologist. Vol.155. P.525–530.
Solaiman M.Z., Saito M. 1997. Use of sugars by intraradical hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi revealed by radiorespirometry // New Phytologist. Vol.136. P.533–538.
Solaiman M.Z., Saito M. 2001. Phosphate efflux from intraradical hyphae of *Gigaspora margarita in vitro* and its implication for phosphorus translocation // New Phytologist. Vol.151. P.525–533.
Solaiman M.Z., Ezawa T., Kojima T., Saito M. 1999. Polyphosphates in intraradical and extraradical hyphae of an arbuscular mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita* // Applied and Environmental Microbiology. Vol.65. P.5604–5606.
Soltis P.S., Soltis D.E., Doyle J.J. 1992. Molecular Systematics of Plants. London: Chapman and Hall.
Son C.L., Smith S.E. 1988. Mycorrhizal growth responses: interactions between photon irradiance and phosphorus nutrition // New Phytologist. Vol.108. P.305–314.

Sonnewald U., Lerchl J., Zenner R., Frommer W. 1994. Manipulation of sink-source relations in transgenic plants // Plant, Cell and Environment. Vol.17. P.649–658.
Spanu P., Bonfante-Fasolo P. 1988. Cell-wall-bound peroxidase activity in roots of mycorrhizal *Allium porrum* // New Phytologist. Vol.109. P.119–124.
Spanu P., Boller T., Ludwig A., Wiemken A., Faccio A., Bonfante-Fasolo P. 1989. Chitinase in roots of mycorrhizal *Allium porrum*: regulation and localization // Planta. Vol.177. P.447–455.
Specht R.L. 1979. Heathlands and related shrublands of the world // R.L. Specht (ed.). Ecosystems of the World. Heathlands and Related Shrublands. Descriptive Studies. Amsterdam: Elsevier. P.1–18.
Specht R.L. 1981. Mallee ecosystems in southern Australia // F. di Castri, D.W. Goodall, R.L. Sprecht (eds.). Ecosystems of the World. Vol.11. Mediterranean-type Shrublands. Descriptive Studies. Amsterdam: Elsevier. P.203–231.
Specht R.L., Rundel P.W. 1990. Sclerophylly and foliar nutrient status of Mediterranean climate plant communities in southern Australia // Australian Journal of Botany. Vol.38. P.459–474.
Sprent J.I. 1985. Nitrogen fixation in arid environments // G.E. Wickens, J.R. Goodin, D.V. Field (eds.). Plants for Arid Lands. London: George Allen and Unwin. P.215–229.
St John T.V., Coleman D.C., Reid C.P.P. 1983a. Association of vesicular-arbuscular mycorrhizal hyphae with soil organic particles // Ecology. Vol.64. P.957–959.
St John T.V., Coleman D.C., Reid C.P.P. 1983b. Growth and spatial distribution of nutrient absorbing organs – selective exploitation of soil heterogeneity // Plant and Soil. Vol.71. P.487–493.
Staddon P.L., Fitter A.H. 1998. Does elevated atmospheric carbon dioxide affect arbuscular mycorrhizas? // Trends in Ecology and Evolution. Vol.13. P.455–458.
Staddon P.L., Heinemeyer A., Fitter A.H. 2002. Mycorrhizas and global environment change: research at different scales. // Plant and Soil. Vol.244. P.253–261.
Stahl E. 1900. Der sinn der mycorhizenbildung // Jahbuch fur Wissenschaftliche Botanik. Bd.34. S.539–668.
Stahl M. 1949. Die mycorrhiza de lebermoose mit besonderer beruchsichtigung der thallosen formen // Planta. Bd.37. S.103–148.
Stendell E.R., Horton T.R., Bruns T.D. 1999. Early effects of prescribed fire on the structure of the ectomycorrhizal fungus community in a Sierra Nevada ponderosa pine forest // Mycological Research. Vol.103. P.1353–1359.
Stevens P.F. 2004. Angiosperm phylogeny website. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/AP/>
Stevenson F.J. 1982. Humus Chemistry. New York: John Wiley.
Stewart G.R., Mann A.F., Fentem P.A. 1980. Enzymes of glutamate formation: glutamate dehydrogenase, glutamine synthetase and glutamate synthase // B.J. Miflin (ed.). The Biochemistry of Plants, a Comprehensive Treatise. Vol.5. New York: Academic Press. P.271–327.
Stewart G.R., Pate J.S., Unkovich M. 1993. Characteristics of inorganic nitrogen assimilation of plants in fire-prone Mediterranean type vegetation // Plant, Cell and Environment. Vol.16,. P.351–363.
Stober C., George E., Persson H. 2000. Root growth and response to nitrogen // Carbon and Nitrogen Cycling in European Forest Ecosystems // Ecological Studies. Vol.142. P.99–121.
Stoessl A., Arditti J. 1984. Orchid phytoalexins // J. Arditti (ed.). Orchid Biology: Reviews and Perspectives. 3. Ithaca: Cornell University Press. P.153–175.
Stone E.L. 1950. Some effects of mycorrhizae on the phosphorus nutrition of Monterey pine seedlings // Proceedings of the Soil Science Society of America. Vol.14. P.340–345.
Stoyke G., Currah R.S. 1991. Endophytic fungi from the mycorrhizae of alpine ericoid plants // Canadian Journal of Botany. Vol.69. No.2. P.347–352.
Stoyke G., Currah R.S. 1993. Resynthesis in pure culture of a common sub-alpine fungus-root association using *Phialocephala fortinii* and *Menziesia ferruginea*, Ericaceae // Arctic and Alpine Research. Vol.25. No.3. P.189–193.
Stoyke G., Egger K.N., Currah R.S. 1992. Characterization of sterile endophytic fungi from the mycorrhizae of sub-alpine plants // Canadian Journal of Botany. Vol.70. P.2009–2016.
Straatsma G., Krisai-Greilhuber I. 2003. Assemblage structure, species richness, abundance, and distribution of fungal fruit bodies in a seven year plot-based survey near Vienna // Mycological Research. Vol.107. P.632–640.
Straatsma G., Ayer F., Egli S. 2001. Species richness, abundance, and phenology of fungal fruit bodies over 21 years in a Swiss forest plot // Mycological Research. Vol.105. P.515–523.
Straker C.J., Mitchell D.T. 1986. The activity and characterization of acid phosphatases in endomycorrhizal fungi of the Ericaceae // New Phytologist. Vol.104. P.243–256.

Straker C.J., Mitchell D.T. 1987. Kinetic characterisation of a dual phosphate uptake system in the endomycorrhizal fungus of *Erica hispidula* // New Phytologist. Vol.106. P.129–137.
Straker C.J., Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S., Cleyet-Marel J-C., Bousquet N. 1989. Electrophoretic and immunological studies on acid phosphatase from a mycorrhizal fungus of *Erica hispida* // New Phytologist. Vol.111. P.215–222.
Strauss S.H., Martin F. 2004. Poplar genomics comes of age // New Phytologist. Vol.164. P.1–4.
Streitwolf-Engel R., Boller T., Wiemken A., Sanders I.R. 1997. Clonal growth traits of two *Prunella* species are determined by co-occurring arbuscular mycorrhizal fungi from a calcareous grassland // Journal of Ecology. Vol.85. P.181–191.
Stribley D.P., Read D.J. 1974a. The biology of mycorrhiza in the Ericaceae. III. Movement of carbon-^{14} from host to fungus // New Phytologist. Vol.73. P.731–741.
Stribley D.P., Read D.J. 1974b. The biology of mycorrhiza in the Ericaceae. IV. The effect of mycorrhizal infection on uptake of ^{15}N from labelled soil by *Vaccinium macrocarpon* Ait. // New Phytologist. Vol.73. P.1149–1155.
Stribley D.P., Read D.J. 1980. The biology of mycorrhiza in the Ericaceae. VII. The relationship between mycorrhizal infection and the capacity to utilise simple and complex organic nitrogen sources // New Phytologist. Vol.86. P.365–371.
Stribley D.P., Read D.J., Hunt R. 1975. The biology of mycorrhiza in the Ericaceae. V. The effect of mycorrhizal infection, soil type and partial soil sterilisation by γ irradiation on growth of cranberry *Vaccinium macrocarpon* Ait. // New Phytologist. Vol.75. P.119–130.
Stribley D.P., Tinker P.B., Rayner J.H. 1980a. Relation of internal phosphorus concentration and plant weight in plants infected by vesicular-arbuscular mycorrhizas // New Phytologist. Vol.86. P.261–266.
Stribley D.P., Tinker P.B., Snellgrove R.C. 1980b. Effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi on the relations of plant growth, internal phosphorus concentration and soil phosphate analyses // Journal of Soil Science. Vol.31. P.655–672.
Struble J.E., Skipper H.D. 1988. Vesicular-arbuscular mycorrhizal fungal spore production as influenced by plant species // Plant and Soil. Vol.109. P.277–280.
Strullu D.G. 1978. Cytologie des endomycorrhizes // Physiologie Végétale. Vol.16. P.657–669.
Strullu D.G., Gerault A. 1974. Ultrastructure et évolution du champignon symbiotique des racines de *Dactylorchis maculata* // Journal de Microscopie, Paris. Vol.20. P.285–294.
Strullu D.G., Gerault A. 1977. Études des ectomycorrhizes á basidiomycèetes et a ascomycètes du *Betula pubescens* Ehr. en microscopie electronique // Comptes Rendus d'Academie des Sciences, Paris. Série D. Vol.284. P.2243–2246.
Strullu D.G., Gourret J.P., Garrec J.P. 1981a. Microanalyse des granules vacuolaires des ectomycorhizes, endomycorhizes et endomycothalles // Physiologie Végétale. Vol.19. P.367–378.
Strullu D.G., Gourret J.P., Garrec J.P., Fourcy A. 1981b. Ultrastructure and electron-probe microanalysis of the metachromatic vacuolar granules occurring in *Taxus* mycorrhizas // New Phytologist. Vol.87. P.537–545.
Strullu D.G., Harley J.L., Gourret J.P., Garrec J.P. 1982. Ultrastructure and microanalysis of polyphosphate granules of the ectomycorrhiza of *Fagus sylvatica* // New Phytologist. Vol.92. P.417–423.
Stubblefield S.P., Taylor T.N., Trappe J.M. 1987a. Antarctic VAM fossils // American Journal of Botany. Vol.74. P.1904–1911.
Stubblefield S.P., Taylor T.N., Trappe J.M. 1987b. Fossil mycorrhizae: a case for symbiosis // Science. Vol.237. P.59–60.
Stukenbrock E.H., Rosendahl S. 2005a. Clonal diversity and population genetic structure of arbuscular mycorrhizal fungi (*Glomus* spp.) studied by multilocus genotyping of single spores // Molecular Ecology. Vol.14. P.743–752.
Stukenbrock E.H., Rosendahl S. 2005b. Development and amplification of multiple co-dominant genetic markers from single spores of arbuscular mycorrhizal fungi by nested multiplex PCR // Fungal Genetics and Biology. Vol.42. P.73–80.
Subin V.I.N., Ronkonen N.L., Saukkonen A.V. 1977. Effects of fertilizers on the fructification of macromycetes on young birch trees // Mikologiya I Fitopatologia. Vol.11. P.294–303.
Sukarno N., Smith S.E., Scott E.S. 1993. The effect of fungicides on vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis I. The effects on vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi and plant growth // New Phytologist. Vol.25. P.139–147.
Sukarno N., Smith F.A., Smith S.E., Scott E.S. 1996. The effect of fungicides on vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. II. The effects on area of interface and efficiency of P uptake andtransfer to plant // New Phytologist. Vol.132. P.583–592.

Summerbell R.C. 2005. From Lamarckian fertilizers to fungal castles: recapturing the pre-1985 literature on endophytic and saprotrophic fungi associated with ectomycorrhizal root systems // Studies in Mycology. Vol.53. P.191–256.
Sun Y.P., Unestam T., Lucas S.D., Johanson K.J., Kenne L., Finlay R. 1999. Exudation-reabsorption in a mycorrhizal fungus, the dynamic interface for interaction with soil and soil microorganisms // Mycorrhiza. Vol.9. P.137–144.
Sutton J.C. 1973. Development of vesicular-arbuscular mycorrhizae in crop plants // Canadian Journal of Botany. Vol.51. P.2487–2493.
Sutton J.C., Barron C.L. 1972. Population dynamics of *Endogone* spores in soil // Canadian Journal of Botany. Vol.50. P.1909–1914.
Sverdrup H., Hagen-Thorn A., Holmqvist J. et al. 2002. Biogeochemical processes and mechanisms // H. Sverdrup, I. Stjernquist (eds.). Developing Principles for Sustainable Forestry in Southern Sweden. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. P.91–196.
Swaminathan V. 1979. Nature of the inorganic fraction of soil phosphate fed on by vesiculararbuscular mycorrhizae of potatoes // Proceedings of the Indian Academy of Science. Vol.88B. P.423–433.
Swaty R.L., Gehring C.A., Van Ert M., Theimer T.C., Keim P., Whitham T.G. 1998. Temporal variation in temperature and rainfall differentially affects ectomycorrhizal colonization at two contrasting sites // New Phytologist. Vol.139. P.733–739.
Swaty R.L., Deckert R.J., Whitham T.G., Gehring C.A. 2004. Ectomycorrhizal abundance and community composition shifts with drought: predictions from tree rings // Ecology. Vol.85. P.1072–1084.
Sylvia D.M., Schenck N.C. 1983. Germination of chlamydospores of the three *Glomus* species as affected by soil matric potential and fungal contamination // Mycologia. Vol.75. P.30–35.
Sylvia D.M., Sinclair W.A. 1983a. Supressive influence of *Laccaria laccata* on *Fusarium oxysporum* and on Douglas fir seedlings // Phytopathology. Vol.73. P.384–389.
Sylvia D.M., Sinclair W.A. 1983b. Phenolic compounds and resistance to fungal pathogens induced in primary roots of Douglas fir by the ectomycorrhizal fungus *Laccaria laccata* // Phytopathology. Vol.73. P.390–397.
Sylvia D.M., Alagely A.K., Chellemi D.O., Demchenko L.W. 2001. Arbuscular mycorrhizal fungi influence tomato competition with bahiagrass // Biology and Fertility of Soils. Vol.34. P.448–452.
Taber W.A., Taber R.A. 1987. Carbon nutrition and respiration of *Pisolithus tinctorius* // Transactions of the British Mycological Society. Vol.89. P.13–26.
Tagu D., Rampant P.F. et al. 2001. Variation in the ability to form ectomycorrhizas in the F1 progeny of an interspecific poplar *Populus* spp. cross // Mycorrhiza. Vol.10. No.5. P.237–240.
Tagu D., Python M., Crétin C., Martin F. 1993. Cloning symbiosis-related cDNAs from eucalypt ectomycorrhizas by PCR-assisted differential screening // New Phytologist. Vol.125. P.339–343.
Tagu D., Nasse B., Martin F. 1996. Cloning and characterization of hydrophobins-encoding cDNAs from the ectomycorrhizal Basidiomycete *Pisolithus tinctorius* // Gene. Vol.168. P.93–97.
Tagu D., Rampant P.F., Lapeyrie F., Frey-Klett P., Vion P., Villar M. 2001. Variation in the ability to form ectomycorrhizas in the F1 progeny of an interspecific poplar (*Populus* spp.) cross // Mycorrhiza. Vol.10. P.237–240.
Tagu D., Lapeyrie F., Martin F. 2002. The ectomycorrhizal symbiosis: genetics and development // Plant and Soil. Vol.244. P.97–105.
Tahiri-Alaoui A., Antoniw J.F. 1996. Cloning of genes associated with the colonization of tomato roots by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* // Agronomie. Vol.16. P.699–707.
Takacs E.A. 1967. Produccion de cultivos puros de hongos micorrhizygenos en el Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Castelar // *I*DIA Supplement of Forestry. Vol.4. P.83.
Tallis J.H. 1991. Plant Community History. London: Chapman and Hall.
Tamasloukht M., Séjalon-Delmas N., Kluever A. et al. 2003. Root factors induce mitochondrial related gene expression and fungal respiration during the developmental switch from asymbiosis to presymbiosis in the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora rosea* // Plant Physiology. Vol.131. P.1468–1478.
Tamm C.O. 1985. The Swedish optimum nutrition experiments in forest stands. Aims, methods, yield, results // Journal Royal Swedish Academy of Agriculture and Forestry Supplement. Vol.17. P.9–29.
Tamm C.O. 1991. Nitrogen in Terrestrial Ecosystems. Berlin: Springer-Verlag.
Tanner E.V.J. 1977. Four montane rain forests of Jamaica: a quantitative characterisation of the floristics, the soils and the foliar mineral levels, and a discussion of the inter-relationships // Journal of Ecology. Vol.65. P.83–918.

Tanner E.V.J., Kapos V., Franco W. 1992. Nitrogen and phosphorus fertilization effects on Venezuelan montane forest trunk growth and litterfall // Ecology. Vol.73. P.78–86.
Tanner E.V.J., Vitousek P.M., Cuevas E. 1998. Experimental investigation of nutrient limitation of forest growth on wet tropical mountains // Ecology. Vol.79. P.10–22.
Tarafdar J.C., Marschner H. 1994. Phosphatase activity in the rhizosphere and hyphosphere of VA mycorrhizal wheat supplied with inorganic and organic phosphorus // Soil Biology and Biochemistry. Vol.26. P.387–395.
Tarkka M.T., Schrey S., Nehls U. 2006. The alpha-tubulin gene *AmTuba1*: a marker for rapid mycelial growth in the ectomycorrhizal basidiomycete *Amanita muscaria* // Current Genetics. Vol.49. P.294–301.
Tashima Y., Terashita T., Umata H., Matsumoto M. 1978. *In vitro* development from seed to flower in *Gastrodia verrucosa* under fungal symbiosis // Transactions of the Mycological Society of Japan. Vol.19. P.449–453.
Tawaraya K. 2003. Arbuscular mycorrhizal dependency of different plant species and cultivars // Soil Science and Plant Nutrition. Vol.49. P.655–668.
Tawaraya K., Watanabe S., Yoshida E., Wagatsuma T. 1996. Effect of onion *Allium cepa* root exudates on the hyphal growth of *Gigaspora margarita* // Mycorrhiza. Vol.6. P.57–59.
Tawaraya K., Hashimoto K., Wagatsuma T. 1998. Effect of root exudate fractions from P-deficient and P-sufficient onion plants on root colonisation by the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita* // Mycorrhiza. Vol.8. P.67–70.
Tawaraya K., Tokairin K., Wagatsuma T. 2001. Dependence of *Allium fi stulosum* cultivars on the arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus fasciculatum* // Applied Soil Ecology. Vol.17. P.119–124.
Tawaraya K., Takaya Y., Turjaman M. et al. 2003. Arbuscular mycorrhizal colonization of tree species grown in peat swamp forests of Central Kalimantan, Indonesia // Forest Ecology and Management. Vol.182. P.381–386.
Taylor A.F.S., Alexander I.J. 1989. Demography and population dynamics of ectomycorrhizas of Sitka spruce fertilised with N // Agriculture, Ecosystems and Environment. Vol.28. P.493–496.
Taylor A.F.S., Alexander I.J. 2005. The ectomycorrhizal symbioses: life in the real world // Mycologist. Vol.19. P.02–112.
Taylor A.F.S., Högbom L., Högberg M., Lyon A.J.E., Näsholm T., Höberg P. 1997. Natural ^{15}N abundance in fruit bodies of ectomycorrhizal fungi from boreal forests // New Phytologist. Vol.136. P.713–720.
Taylor A.F.S., Martin F., Read D.J. 2000. Fungal diversity in ectomycorrhizal communities of Norway spruce (*Picea abies* L. Karst.) and beech (*Fagus sylvatica* L.) along north-south transects in Europe // Carbon and nitrogen cycling in European forest ecosystems // Ecological Studies. Vol.142. P.343–365.
Taylor A.F.S., Gebauer G., Read D.J. 2004. Uptake of nitrogen and carbon from double-labelled (^{15}N and ^{13}C) glycine by mycorrhizal pine seedlings // New Phytologist. Vol.164. P.383–388.
Taylor D.L. 1997. The evolution of mycoheterotrophy and specificity in some North American orchids. PhD thesis. Berkeley: University of California.
Taylor D.L., Bruns T.D. 1997. Independent, specialized invasions of ectomycorrhizal mutualism by two nonphotosynthetic orchids // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. Vol.94. P.4510–4515.
Taylor D.L., Bruns T.D. 1999a. Community structure of ectomycorrhizal fungi in a *Pinus muricata* forest: minimal overlap between the mature forest and resistant propagule communities // Molecular Ecology. Vol.8. P.1837–1850.
Taylor D.L., Bruns T.D. 1999b. Population, habitat and genetic correlates of mycorrhizal specialization in the ‘cheating’ orchids *Corallorhiza maculata* and *C. mertensiana* // Molecular Ecology. Vol.8. No.10. P.1719–1732.
Taylor D.L., Bruns T.D., Leake J.R., Read D.J. 2002. Mycorrhizal specificity and function in mycoheterotrophic plants // M.G.A. van der Heijden, I.R. Sanders (eds.). The Ecology of Mycorrhizas. Berlin: Springer-Verlag. P.375–413.
Taylor D.L., Bruns T.D., Szaro T.M., Hodges S.A. 2003. Divergence in mycorrhizal specialization within *Hexalectris spicata* (Orchidaceae), a nonphotosynthetic desert orchid // American Journal of Botany. Vol.90. P.1168–1179.
Taylor J.W., Jacobson D.J., Fisher M.C. 1999. The evolution of asexual fungi: reproduction, speciation and classification // Annual Review of Phytopathology. Vol.37. P.197–246.
Taylor T.N., Remy W., Hass H., Kerp H. 1995. Fossil arbuscular mycorrhizae from the Early Devonian // Mycologia. Vol.87. P.560–573.

Taylor T.N., Klavins S.D., Krings M., Taylor E.L., Kerp H., Hass H. 2004. Fungi from the Rhynie chert: a view from the dark side // Transactions of the Royal Society of Edinburgh-Earth Sciences. Vol.94. P.457–473.

Taylor T.N., Kerp H., Haas H. 2005. Life history biology of early land plants: deciphering the gametophyte phase // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. Vol.102. P.5892–5897.

Tedersoo L., Koljalg U., Hallenberg N., Larsson K.H. 2003. Fine scale distribution of ectomycorrhizal fungi and roots across substrate layers including coarse woody debris in a mixed forest // New Phytologist. Vol.159. P.153–165.

Tedersoo L., Hansen K., Perry B.A., Kjoller R. 2006. Molecular and morphological diversity of pezizalean ectomycorrhiza // New Phytologist. Vol.170. P.581–596.

Tedersoo L., Pellet P., Koljalg U., Selosse M.A. 2007. Parallel evolutionary paths to mycoheterotrophy in understorey Ericaceae and Orchidaceae: ecological evidence for mixotrophy in Pyrolae // Oecologia. Vol.151. P.206–217.

Terashita T. 1982. Fungi inhabiting wild orchids in Japan II. Isolation of symbionts from *Spiranthes sinensis* var. *amoena* // Transactions of the Mycological Society of Japan. Vol.15. P.121–133.

Terashita T. 1985. Fungi inhabiting wild orchids in Japan III. A symbiotic experiment with *Armillarea mellea* and *Galeola septentrionalis* // Transactions of the Mycological Society of Japan. Vol.26. P.47–53.

Terashita T. 1996. Biological species of *Armillaria* symbiotic with *Galeola septentrionalis* // Nippon Kingakukai Kaiho. Vol.37. P.45–49.

Terashita T., Chuman S. 1987. Fungi inhabiting wild orchids in Japan IV: *Armillariella tabescens,* a new symbiont of *Galeola septentrionalis* // Transactions of the Mycological Society of Japan. Vol.28. P.145–154.

Termorshuizen A.J. 1993. The influence of nitrogen fertilizers on ectomycorrhizas and their fungal carpophores in young stands of *Pinus sylvestris* // Forest Ecology and Management. Vol.57. No.1–4. P.179–189.

Tester M., Smith S.E., Smith F.A., Walker N.A 1986. Effects of photon irradiance on the growth of shoots and roots, on the rate of initiation of mycorrhizal infection and on the growth of infection units in *Trifolium subterraneum* L. // New Phytologist. Vol.103. P.375–390.

Theodorou C. 1968. Inositol phosphate in needles of *Pinus radiata* D. Don and the phytase activity of mycorrhizal fungi // Proceedings of the 9th International Congress of Soil Science. Vol.3. P.483–493.

Theodorou C. 1971. The phytase activity of the mycorrhiza fungus *Rhizopogon roseolus* // Soil Biology and Biochemistry. Vol.3. P.89–90.

Theodorou C. 1978. Soil moisture and the mycorrhizal association of *Pinus radiata* D. Don. // Soil Biology and Biochemistry. Vol.10. P.33–37.

Theodorou C., Bowen G.D. 1973. Inoculation of seeds and soil with basidiospores of mycorrhizal fungi // Soil Biology and Biochemistry. Vol.5. P.765–771.

Thomas G.W., Jackson R.M. 1982. *Complexipes moniliformis* – ascomycete or zygomycete? // Transactions of the British Mycological Society. Vol.79. P.149–186.

Thomas R.S., Dakessian S., Ames R.N., Brown M.S., Bethlenfalvay G.J. 1986. Aggregation of a silty clay loam soil by mycorrhizal onion roots // Soil Society of America, Journal. Vol.50. P.1494–1499.

Thompson J.P. 1987. Decline of vesicular-arbuscular mycorrhizae in Long Fallow Disorder of field crops and its expression in phosphorus defi ciency of sunflower // Australian Journal of Agricultural Research. Vol.38., P.847–867.

Thompson J.P. 1990. Soil sterilization methods to show VA-mycorrhizae aid P and Zn nutrition of wheat in vertisols // Soil Biology and Biochemistry. Vol.22. P.229–240.

Thompson J.P. 1994. Inoculation with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi from cropped soil overcomes long-fallow disorder of linseed *Linum usitatissimum* L. by improving P and Zn uptake // Soil Biology and Biochemistry. Vol.26. P.1133–1143.

Thomson B.D., Robson A.D., Abbott L.K. 1990a. Mycorrhizas formed by *Gigaspora calospora* and *Glomus fasciculatum* on subterranean clover in relation to carbohydrate concentrations in roots // New Phytologist. Vol.114. P.217–225.

Thomson B.D., Clarkson D.T., Brain P. 1990b. Kinetics of phosphorus uptake by the germ-tubes of the vesicular-abuscular mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita* // New Phytologist. Vol.116. P.647–653.

Thomson B.D., Grove T.S., Malajczuk N., Hardy G.S.T.J. 1994. The effectiveness of ectomycorrhizal fungi in increasing the growth of *Eucalyptus globulus* Labill. in relation to root colonisation and hyphal development in soil // New Phytologist. Vol.126. P.517–524.

Thomson J., Melville L.H., Peterson R.L. 1989. Interaction between the ectomycorrhizal fungus *Pisolithus tinctorius* and root hairs of *Picea mariana* (Pinaceae) // American Journal of Botany. Vol.76. P.632–636.

Thomson J., Matthes-Sears U., Peterson R.L. 1990. Effect of seed provenance and fungal specieson bead formation in roots of *Picea mariana* seedlings // Canadian Journal of Forest Research. Vol.20. P.1746–1752.

Tibbett M., Sanders F.E. 2002. Ectomycorrhizal symbiosis can enhance plant nutrition through improved access to discrete organic nutrient patches of high resource quality // Annals of Botany. Vol.89. P.783–789.

Tibbett M., Sanders F.E., Cairney J.W.G. 1998a. The effect of temperature and inorganic phosphorus concentration on acid phosphatase production and growth rate in arctic and temperate isolates of the ectomycorrhizal fungi *Hebeloma* spp. in axenic culture // Mycological Research. Vol.102. P.129–135.

Tibbett M., Sanders F.E., Minto S.J., Dowell M., Cairney J.W.G. 1998b. Utilization of organic nitrogen by ectomycorrhizal fungi (*Hebeloma* spp.) of arctic and temperate origin // Mycological Research. Vol.102. P.1525–1532.

Tibbett M., Sanders F.E., Cairney J.W.G. 200.2 Low-temperature-induced changes in trehalose, mannitol and arabitol associated with enhanced tolerance to freezing in ectomycorrhizal basidiomycetes *Hebeloma* spp. // Mycorrhiza. Vol.12. P.249–255.

Tilman D. 1982. Resource Competition and Community Structure. NY: Princetown University Press.

Tilman D. 1987. Secondary succession and the pattern of plant dominance along experimental nitrogen gradients // Ecological Monographs. Vol.57. P.189–214.

Tilman D. 1988. Plant Strategies and the Dynamics and Structure of Plant Communities. NY: Princetown University Press.

Tilman D. 1990. Mechanisms of plant competition for nutrients: the elements of a predictive theory of competition // J.B. Grace, D. Tilman (eds.). Perspectives on Plant Competition. New York: Academic Press. P.117–142.

Timmer L.W., Leyden R.F. 1980. The relationship of mycorrhizal infection to phosphorus-induced copper deficiency in sour orange seedlings // New Phytologist. Vol.85. P.15–23.

Timonen S., Peterson R.L. 2002. Cytoskeleton in mycorrhizal symbiosis // Plant and Soil. Vol.244. P.199–210.

Timonen S., Smith S.E. 2005. Effect of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* on expression of cytoskeletal proteins in tomato roots // Canadian Journal of Botany. Vol.83. P.176–182.

Timonen S., Jørgensen K.S., Haahtela K., Sen R. 1998. Bacterial community structure at defined locations of *Pinus sylvestris-Suillus bovinus* and *Pinus sylvestris-Paxillus involutus* mycorrhizospheres in dry pine forest soil and nursery peat // Canadian Journal of Microbiology. Vol.44. P.499–513.

Timonen S., Smith F.A., Smith S.E. 2001. Microtubules of the mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* in symbiosis with tomato roots // Canadian Journal of Botany. Vol.79. P.307–313.

Timonen S., Christensen S., Ekelund F. 2004. Distribution of protozoa in Scots pine mycorrhizospheres // Soil Biology and Biochemistry. Vol.36. P.1087–1093.

Tinker P.B. 1975a. Effects of veiscular-arbuscular mycorrhizas on higher plants // Symposium of the Society for Experimental Biology. Vol.29. P.325–349.

Tinker P.B. 1975b. Soil chemistry of phosphorus and mycorrhizal effects on plant growth // F.E. Sanders, B. Mosse, P.B. Tinker (eds.). Endomycorrhizas. London: Academic Press. P.353–371.

Tinker P.B. 1978. Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizas on plant nutrition and plant growth // Physiologie Végétale. Vol.16. P.743–751.

Tinker P.B.H., Nye P.H. 2000. Solute Movement in the Rhizosphere. Oxford: Oxford University Press.

Tinker P.B., Durall D.M., Jones M.D. 1994. Carbon use efficiency in mycorrhizas: theory and sample calculations // New Phytologist. Vol.128. P.115–122.

Tisdall J.M. 1994. Possible role of soil micro-organisms in aggregation of soils // Plant and Soil. Vol.159. P.115–121.

Tisdall J.M. 1995. Formation of soil aggregates and accumulation of soil organic matter // M.R. Carter, B.A. Stewart (eds.). Structure and Organic Matter Storage in Agricultural Soils. Advances in Soil Science. Boca Raton: Lewis Publishers, CRC Press Inc. P.57–96.

Tisdall J.M., Adem H.H. 1990. Mechanized relay-cropping in an irrigated red-brown earth in south-eastern Australia // Soil Use and Management. Vol.6. P.21–28.
Tisdall J.M., Oades J.M. 1979. Stabilization of soil aggregates by the root systems of ryegrass // Australian Journal of Soil Research. Vol.17. P.429–441.
Tisdall J.M., Oades J.M. 1982. Organic matter and water-stable aggregates in soils // Journal of Soil Science. Vol.33. P.141–163.
Tisserant B., Gianinazzi-Pearson V., Gianinazzi S., Gollotte A. 1993. *In planta* histochemical staining of fungal alkaline phosphatase activity for analysis of efficient arbuscular mycorrhizal infections // Mycological Research. Vol.97. P.245–250.
Tobar R.M., Azcon R., Barea J.M. 1994. Improved nitrogen uptake and transport from ^{15}N-labelled nitrate by external hyphae of arbuscular mycorrhiza under water-stressed conditions // New Phytologist. Vol.126. P.119–122.
Tommerup I.C. 1983. Spore dormancy in vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi // Transactions of the British Mycological Society. Vol.81. P.37–45.
Tommerup I.C. 1984a. Effect of soil water potential on spore germination by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi // Transactions of the British Mycological Society. Vol.83. P.193–202.
Tommerup I.C. 1984b. Persistence of infectivity by germinated spores of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in soil // Transactions of the British Mycological Society. Vol.82. P.275–282.
Tommerup I.C. 1984c. Development of infection by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus in *Brassica napus* and *Trifolium subterraneum* // New Phytologist. Vol.98. P.487–495.
Tommerup I.C., Abbott L.K. 1981. Prolonged survival and viability of V.A. mycorrhizal hyphae after root death // Soil Biology and Biochemistry. Vol.13. P.431–433.
Torti S.D., Coled P.D., Kursar T.A. 2001. Causes and consequences of monodominance in tropical lowland forests // American Naturalist. Vol.157. P.141–153.
Toth R. 1992. The quantification of arbuscules and related structures using morphometric cytology // J.R. Norris, D.J. Read, A.K. Varma (eds.). Methods in Microbiology. London: Academic Press. P.275–299.
Toth R., Toth D. 1982. Quantifying vesicular-arbuscular mycorrhizae using a morphometric technique // Mycologia. Vol.74. P.182–187.
Toth R., Doane C., Bennett E., Alexander T. 1990. Correlation between host-fungal surface areas and percent colonization in VA mycorrhizae // Mycologia. Vol.82. P.519–522.
Toth R., Miller R.M., Jarstfer A.G., Alexander T., Bennett E.L. 1991. The calculation of intraradical fungal biomass from percent colonization in vesicular-arbuscular mycorrhizae // Mycologia. Vol.83. P.553–558.
Toussaint J.P., St-Arnaud M., Charest C. 2004. Nitrogen transfer and assimilation between the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* Schenck and Smith and Ri T-DNA roots of *Daucus carota* L. in an in vitro compartmented system // Canadian Journal of Microbiology. Vol.50. P.251–260.
Tranvan H., Habricot Y., Jeannette E., Gay G., Sotta B. 2000. Dynamics of symbiotic establishment between an IAA-overproducing mutant of the ectomycorrhizal fungus *Hebeloma cylindrosporum* and *Pinus pinaster* // Tree Physiology. Vol.20,. P.123–129.
Trappe J.M. 1967. Pure culture synthesis of Douglas fir mycorrhizae with species of *Hebeloma*, *Suillus*, *Rhizopogon* and *Astraeus* // Forest Science. Vol.13. P.121–130.
Trappe J.M. 1977. Selection of fungi for ectomycorrhizal inoculation in nurseries // Annals Review of Phytopathology. Vol.15. P.203–222.
Trappe J.M. 1987. Phylogenetic and ecologic aspects of mycotrophy in the angiosperms from an evolutionary standpoint // G.R. Safir (ed.). Ecophysiology of VA mycorrhizal Plants. Boca Raton: CRC Press. P.5–25.
Trappe J.M., Berch S.M. 1985. The prehistory of mycorrhizae: AB Frank's predecessors // Proceedings of the 6th North America Conference on Mycorrhizae College of Forestry. OregonState University, Corvallis.
Treseder K.K. 2004. A meta-analysis of mycorrhizal responses to nitrogen, phosphorus, and atmospheric CO_2 in field studies // New Phytologist. Vol.164. P.347–355.
Treseder K.K., Allen M.F. 2000. Mycorrhizal fungi have a potential role in soil carbon storage under elevated CO_2 and nitrogen deposition // New Phytologist. Vol.147. P.189–200.
Treu R., Laursen G.A., Stephenson S.L., Landolt J.C., Densmore R. 1996. Mycorrhizae from Denali National Park and Preserve, Alaska // Mycorrhiza. Vol.6. P.21–29.

Trojanowski J., Haider K., Hüttermann A. 1984. Decomposition of ^{14}C-labelled lignin, holocellulose and lignocellulose by mycorrhizal fungi // Archives of Microbiology. Vol.139. P.202–206.
Trouvelot A., Kough J.L., Gianinazzi-Pearson V. 1986. Mesure du taux de mycorhization VA d'un système radiculaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionelle // V. Gianinazzi-Pearson, S. Gianinazzi (eds.). Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae. Paris: INRA. P.217–221.
Trudell S.A., Rygiewicz P.T., Edmonds R.L. 2003. Nitrogen and carbon stable isotope abundances support the myco-heterotrophic nature and host-specificity of certain achlorophyllous plants // New Phytologist. Vol.160. P.391–401.
Tsai S.M., Phillips D.A. 1991. Flavonoids released naturally from alfalfa promote development of symbiotic *Glomus* spores *in vitro* // Applied and Environmental Microbiology. Vol.57. P.1485–1488.
Tullio M., Pierandrei F., Salerno A., Rea E. 2003. Tolerance to cadmium of vesicular arbuscular mycorrhizae spores isolated from a cadmium-polluted and unpolluted soil // Biology and Fertility of Soils. Vol.37. P.211–214.
Turnau K., Kottke I., Oberwinkler F. 1993. Element localization in mycorrhizal roots of *Pteridium aquilinum* L. Kuhn collected from experimental plots treated with cadnium dust // New Phytologist. Vol.123. P.313–324.
Turnau K., Mleczko P., Blaudez D., Chalot M., Botton B. 2002. Heavy metal binding properties of *Pinus sylvestris* mycorrhizas from industrial wastes // Acta Societatis Botanicorum Poloniae. Vol.71. P.253–261.
Turnbull M.H., Goodall R., Stewart G.R. 1995. The impact of mycorrhizal colonisation upon nitrogen source utilisation and metabolism of seedlings of *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden and *Eucalyptus maculata* Hook // Plant Cell and Environment. Vol.18. P.1386–1394.
Uchiumi T., Shimoda Y. et al. 2002. Expression of symbiotic and nonsymbiotic globin genes responding to microsymbionts on *Lotus japonicus* // Plant and Cell Physiology. Vol.43. P.1351–1358.
Uebel E., Heinsdorf D. 1997. Results of long-term K and Mg fertilizer experiments in afforestation // Forest Ecology and Management. Vol.91. P.47–52.
Uetake Y., Peterson R.L. 1997. Changes in actin fi lament arrays in protocorm cells of the orchid species *Spiranthes sinensis* induced by the symbiotic fungus *Ceratobasidium cornigerum* // Canadian Journal of Botany. Vol.75. P.1661–1669.
Uetake Y., Peterson R.L. 1998. Association between microtubules and symbiotic fungal hyphae in protocorm cells of the orchid species, *Spiranthes sinensis* // New Phytologist. Vol.140. P.715–722.
Uetake Y., Farquhar M.L., Peterson R.L. 1997. Changes in microtubule arrays in symbiotic orchid protocorms during fungal colonization and senescence // New Phytologist. Vol.135. P.701–709.
Uetake Y., Kojima T., Ezawa T., Saito M. 2002. Extensive tubular vacuole system in an arbuscular mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita* // New Phytologist. Vol.154. P.761–768.
Umata H. 1995. Seed germination of *Galeola altissima*, an achlorophyllous orchid, with aphyllophorales fungi // Mycoscience. Vol.36. P.369–372.
Umata H. 1998a. *In vitro* symbiotic association of an achlorophyllous orchid, *Erythrorchis ochobiensis* with orchid and non-orchid fungi // Memoirs of the Faculty of Agriculture, Kagoshima University. Vol.34. P.97–107.
Umata H. 1998b. A new biological function of shiitake mushroom, *Lentinula edodes*, in a mycoheterotrophic orchid, *Erythrorchis ochobiensis* // Mycoscience. Vol.39. P.85–89.
Unestam T. 1991. Water replellency, mat formation, and leaf-stimulated growth of some ectomycorrhizal fungi // Mycorrhiza. Vol.1. P.13–20.
Unestam T., Sun Y.P. 1995. Extramatrical structures of hydrophobic and hydrophilic ectomycorrhizal fungi // Mycorrhiza. Vol.5. P.201–311.
Untereiner W.A., Malloch D. 1999. Patterns of substrate utilization in species of Capronia and allied black yeasts: ecological and taxonomic implications // Mycologia. Vol.91. No.3. P.417–427.
Upson R. 2006. The Status of Dark Septate Root Fungal Endophytes in Antarctic Plant Communities. PhD Thesis. Sheffield: University of Sheffield.
Urban A., Weiss M., Bauer R. 2003. Ectomycorrhizas involving sebacinoid mycobionts // Mycological Research. Vol.107. P.3–14.
Urcelay C., Diaz S. 2003. The mycorrhizal dependence of subordinates determines the effect of arbuscular mycorrhizal fungi on plant diversity // Ecology Letters. Vol.6. P.388–391.

Ursic M., Peterson R.L. 1997. Morphological and anatomical characterization of ectomycorrhizas and ectendomycorrhizas on *Pinus strobus* seedlings in a southern Ontario nursery // Canadian Journal of Botany. Vol.75. No.12. P.2057–2072.

Ursino D.J., Nelson C.D., Krotkov G. 1968. Seasonal changes in the distribution of photoassimilated ^{14}C in young pine plants // Plant Physiology. Vol.43. P.845–852.

Vallorani L., Polidori E., Sacconi C. et al. 2002. Biochemical and molecular characterization of NADP glutamate dehydrogenase from the ectomycorrhizal fungus *Tuber borchii* // New Phytologist. Vol.154. P.779–790.

van Aarle I.M., Olsson P.A., Söderström B. 2002a. Arbuscular mycorrhizal fungi respond to the substrate pH of their extraradical mycelium by altered growth and root colonization // New Phytologist. Vol.155. P.173–182.

van Aarle I.M., Rouhier H., Saito M. 2002b. Phosphatase activities of arbuscular mycorrhizal intraradical and extraradical mycelium, and their relation to phosphorus availability // Mycological Research. Vol.106. P.1224–1229.

van Aarle I.M., Cavagnaro T.R., Smith S.E., Smith F.A., Dickson S. 2005. Metabolic activity of *Glomus intraradices* in *Arum*- and *Paris*-type arbuscular mycorrhizal colonization // New Phytologist. Vol.166. P.611–618.

van Breemen N., Finlay R., Lundstrom U., Jongmans A.G., Giesler R., Olsson M. 2000a. Mycorrhizal weathering: a true case of mineral plant nutrition? // Biogeochemistry. Vol.49. P.53–67.

van Breemen N., Lundstrom U.S., Jongmans A.G. 2000b. Do plants drive podzolization via rock-eating mycorrhizal fungi? // Geoderma. Vol.94. P.163–171.

Van Cleve K., Viereck L.A. 1981. Forest succession in relation to nutrient cycling in the boreal forest of Alaska // D.C. West, H.H. Shugart, B.D. Botkin (eds.). Forest Succession. Berlin: Springer. P.185–212.

van der Heijden E.W. 2000. Mycorrhizal symbiosis of *Salix repens*: diversity and functional significance. PhD thesis. Wageningen University.

van der Heijden E.W. 2001. Differential benefits of arbuscular mycorrhizal and ectomycorrhizal infection of *Salix repens* // Mycorrhiza. Vol.10. No.4. P.185–193.

van der Heijden E.W., Kuyper T.W. 2001a. Laboratory experiments imply the conditionality of mycorrhizal benefits for *Salix repens*: role of pH and nitrogen to phosphorus ratios // Plant and Soil. Vol.228. P.275–290.

van der Heijden E.W., Kuyper T.W. 2001b. Does origin of mycorrhizal fungus or mycorrhizal plant infl uence effectiveness of the mycorrhizal symbiosis? // Plant and Soil. Vol.230. P.161–174.

van der Heijden E.W., Kuyper T.W. 2003. Ecological strategies of ectomycorrhizal fungi of *Salix repens*: root manipulation versus root replacement // Oikos. Vol.103. P.668–680.

van der Heijden E.W., Vosatka M. 1999. Mycorrhizal associations of *Salix repens* L. communities in succession of dune ecosystems. II. Mycorrhizal dynamics and interactions of ectomycorrhizal and arbuscular mycorrhizal fungi // Canadian Journal of Botany. Vol.77. No.12. P.1833–1841.

van der Heijden M.G.A. 2004. Arbuscular mycorrhizal fungi as support systems for seedling establishment in grassland // Ecology Letters. Vol.7. P.293–303.

van der Heijden M.G.A., Boller T., Wiemken A., Sanders I.R. 1998a. Different arbuscular mycorrhizal fungal species are potential determinants of plant community structure // Ecology. Vol.79. P.2082–2091.

van der Heijden M.G.A., Klironomos J.N., Ursic M. et al. 1998b. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity // Nature. Vol.396. P.69–72.

van der Heijden M.G.A., Sanders I.R. 2002. Mycorrhizal ecology: synthesis and perspectives // M.G.A. van der Heijden, I.R. Sanders (eds.). Mycorrhizal Ecology. Berlin: Springer-Verlag. P.441–456.

van der Heijden M.G.A., Wiemken A., Sanders I.R. 2003. Different arbuscular mycorrhizal fungi alter coexistence and resource distribution between co-occurring plants // New Phytologist. Vol.157. P.569–578.

van Hees P.A.W., Lundstrom U.S., Giesler R. 2000. Low molecular weight organic acids and their Al-complexes in soil solution – composition, distribution and seasonal variation in three podzolized soils // Geoderma. Vol.94. P.173–200.

van Hees P.A.W., Jones D.L., Jentschke G., Godbold D.L. 2004. Mobilization of aluminium, iron and silicon by *Picea abies* and ectomycorrhizas in a forest soil // European Journal of Soil Science. Vol.55. P.101–111.

van Kessel C., Singleton P.W., Hoben H.J. 1985. Enhanced N transfer form soybean to maize by vesicular-arbuscular VAM fungi // Plant Physiology. Vol.79. P.562–563.

van Rhijn P., Fang Y. et al. 1997. Expression of early nodulin genes in alfalfa mycorrhizae indicates that signal transduction pathways used in forming arbuscular mycorrhizae and *Rhizobium*-induced nodules may be conserved // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. Vol.94. P.5467–5472.

van Schöll L. 2006. Ectomycorrhizal fungi and *Pinus sylvestris*: aluminium toxicity, base cation defi ciencies and exudation of organic anions. PhD Thesis. University of Wageningen.

van Schöll L., Keltjens W.G., Hoffland E., van Breemen N. 2005. Effect of ectomycorrhizal colonization on the uptake of Ca, Mg and Al by *Pinus sylvestris* under aluminium toxicity // Forest Ecology and Management. Vol.215. P.352–360.

van Schöll L., Hoffland E., van Breemen N. 2006a. Organic anion exudation by ectomycorrhizal fungi and *Pinus sylvestris* in response to nutrient deficiencies // New Phytologist. Vol.170. P.153–163.

van Schöll L., Smits M.M., Hoffland E. 2006b. Ectomycorrhizal weathering of the soil minerals muscovite and hornblende // New Phytologist. Vol.171. P.805–814.

van Tichelen K.K., Colpaert J.V. 2000. Kinetics of phosphate absorption by mycorrhizal and non-mycorrhizal Scots pine seedlings // Physiologia Plantarum. Vol.110. No.1. P.96–103.

van Tichelen K.K., Vanstraelen T., Colpaert J.V. 1999. Nutrient uptake by intact mycorrhizal *Pinus sylvestris* seedlings: a diagnostic tool to detect copper toxicity // Tree Physiology. Vol.19. P.189–196.

van Tuinen D., Jacquot E., Zhao B., Gollotte A., Gianinazzi-Pearson V. 1998. Characterization of root colonization profiles by a microcosm community of arbuscular mycorrhizal fungi using 25S rDNA-targeted nested PCR // Molecular Ecology. Vol.7. P.879–887.

van Wijk M.T., Clemmensen K.E., Shaver G.R. et al. 2004. Long-term ecosystem level experiments at Toolik Lake, Alaska, and at Abisko, Northern Sweden: generalizations and differences in ecosystem and plant type responses to global change // Global Change Biology. Vol.10. P.105–123.

Vandenkoornhuyse P., Leyval C., Bonnin I. 2001. High genetic diversity in arbuscular mycorrhizal fungi: evidence for recombination events // Heredity. Vol.87. P.243–253.

Vandenkoornhuyse P., Husband R., Daniell T.J., Watson I.J., Duck J.M., Fitter A.H., Young J.P.W. 2002. Arbuscular mycorrhizal community composition associated with two plant species in a grassland ecosystem // Molecular Ecology. Vol.11. P.1555–1564.

Vandenkoornhuyse P., Ridgway K.P., Watson I.J., Fitter A.H., Young J.P.W. 2003. Co-existing grass species have distinctive arbuscular mycorrhizal communities // Molecular Ecology. Vol.12. P.3085–3095.

Vanderplank J.E. 1978. Genetic and Molecular Basis of Plant Pathogenesis. Berlin: Springer-Verlag.

Väre H., Vestberg M., Eurola S. 1992. Mycorrhiza and root-associated fungi in Spitzbergen // Mycorrhiza. Vol.1. P.93–104.

Varma A.K., Bonfante P. 1994. Utilisation of cell-wall related carbohydrates by ericoid mycorrhizal endophytes // Symbiosis. Vol.16. P.301–313.

Vegh I., Fabre E., Gianinazzi-Pearson V. 1979 .Présence en France de *Pezizella ericae* Read, champignon endomycorhizogène des Ericacées horticoles // Phytopathologische Zeitschrift. Bd.96. S.231–243.

Vermeulen P. 1946. *Studies on Dactylorchis*. Utrecht.

Vestberg M., Estaún V. 1994. Micropropagated plants, an opportunity to positively manage mycorrhizal activities // S. Gianinazzi, H. Schüepp (eds.). Impact of Arbuscular Mycorrhizas on Sustainable Agriculture and Natural Ecosystems. Basel: Birkhäuser Verlag. P.217–226.

Vezina L-P., Margolis H.A., Ouimet R. 1988. The activity, characterisation and distribution of the nitrogen assimilation enzyme, glutamine synthetase, in jack pine seedlings // Tree Physiology. Vol.4. P.9–118.

Vezina L-P., Margolis H.A., Delaney S. 1989. Changes in the activity of enzymes involved with primary nitrogen metabolism due to ectomycorrhizal symbiosis on jack pine seedlings // Physiologia Plantarum. Vol.75. P.55–62.

Viera A., Glenn M.G. 1990. DNA content of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungal spores // Mycologia. Vol.82. P.263–267.

Vierheilig H. 2004a. Further root colonization by arbuscular mycorrhizal fungi in already mycorrhizal plants is suppressed after a critical level of root colonization // Journal of Plant Physiology. Vol.161. P.339–341.

Vierheilig H. 2004b. Regulatory mechanisms during the plant-arbuscular mycorrhizal fungus interaction // Canadian Journal of Botany. Vol.82. P.1166–1176.

Vierheilig H., Ocampo J.A. 1990a. Role of root extract and volatile substances of non-host plants on vesicular-arbuscular mycorrhizal spore germination // Symbiosis. Vol.9. P.199–202.

Vierheilig H., Ocampo J.H. 1990b. Effects of isothiocyanate on germination of spores of *G. mosseae* // Soil Biology and Biochemistry. Vol.22. P.1161–1162.
Vierheilig H., Alt M., Mohr U., Boller T., Wiemken A. 1994. Ethylene biosynthesis and activities of chitinase and β-1,3-glucanase in the roots of host and non-host plants of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi after inoculation with *Glomus mosseae* // Journal of Plant Physiology. Vol.143. P.337–343.
Vierheilig H., Alt M., Lange J., Gut-Rella M., Wiemken A., Boller T. 1995. Colonization of transgenic tobacco constitutively expressing pathogenesis-related proteins by the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae* // Applied and Environmental Microbiology. Vol.61. P.3031–3034.
Vierheilig H., Alt-Hug M., Engel-Streitwolf R., Mäder P., Wiemken A. 1998a. Studies on the attractional effect of root exudates on hyphal growth of an arbuscular mycorrhizal fungus in a soil compartment-membrane system // Plant and Soil. Vol.203. P.137–144.
Vierheilig H., Coughlan A.P., Wyss U., Piché Y, 1998b, Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi // Applied and Environmental Microbiology. Vol.64. P.5004–5007.
Vieweg M.F., Fruhling M., Quandt H.J. et al. 2004. The promoter of the *Vicia faba* L. leghemoglobin gene *VfLb29* is specifi cally activated in the infected cells of root nodules and in the arbuscule-containing cells of mycorrhizal roots from different legume and nonlegume plants // Molecular Plant-Microbe Interactions. Vol.17. P.62–69.
Vieweg M.F., Hohnjec N., Kuster H. 2005. Two genes encoding different truncated hemoglobins are regulated during root nodule and arbuscular mycorrhiza symbioses of *Medicago truncatula* // Planta. Vol.220. P.757–766.
Vilarino A., Sainz M.J. 1997. Treatment of *Glomus mosseae* propagules with 50% sucrose increases spore germination and inoculum potential // Soil Biology and Biochemistry. Vol.29. P.1571–1573.
Villarreal-Ruiz L., Anderson I.C., Alexander I.J. 2004. Interaction between an isolate from the *Hymenoscyphus ericae* aggregate and roots of *Pinus* and *Vaccinium* // New Phytologist. Vol.164. P.183–192.
Visser S. 1995. Ectomycorrhizal fungal succession in jack pine stands following wildfire // New Phytologist. Vol.129. P.389–401.
Vitousek P.M. 1984. Litterfall, nutrient cycling and nutrient limitation in tropical forests // Ecology. Vol.65. P.285–298.
Vitousek P.M., Stanford R.L. 1986. Nutrient cycling in moist tropical forest // Annual Review of Ecology and Systematics. Vol.17. P.137–167.
Vitousek P.M., Shearer G., Kohl D.H. 1989. Foliar ^{15}N natural abundance in Hawaiian rainforest: patterns a possible mechanisms // Oecologia. Vol.78. P.383–388.
Vitousek P.M., Gerrish G., Turner D.R., Walker L.R., Muellerdombois D. 1995. Litterfall and nutrient cycling in 4 Hawaiian montane rain-forests // Journal of Tropical Ecology. Vol.11. P.189–203.
Vogt K.A., Edmunds R.L., Grier C.C. 1981. Biomass and nutrient concentrations of sporocarps produced by mycorrhizal and decomposer fungi in *Abies amabilis* stands // Oecologia. Vol.50. P.170–175.
Vogt K.A., Grier C.C., Meier C.E., Edmonds R.L. 1982. Mycorrhizal role in net primary production and nutrient cycling in *Abies amabilis* ecosystems in western Washington // Ecology. Vol.63. P.370–380.
Vogt K.A., Publicover D.A., Vogt D.J. 1991. A critique of the role of ectomycorrhizas in forest ecology // Agriculture, Ecosystems and Environment. Vol.35. P.171–190.
Voiblet C., Duplessis S., Encelot N., Martin F. 2001. Identification of symbiosis-regulated genes in *Eucalyptus globulus-Pisolithus tinctorius* ectomycorrhiza by differential hybridization of arrayed cDNAs // The Plant Journal. Vol.25. P.181–191.
Volpin H., Elkind Y., Okon Y., Kapulnik Y. 1994. A vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradix* induces a defense response in alfalfa roots // Plant Physiology. Vol.104. P.683–689.
Volpin H., Philipps D.A., Okon Y., Kapulnik Y. 1995. Suppression of an isoflavonoid phytoalexin defense response in mycorrhizal alfalfa roots // Plant Physiology. Vol.108. P.1449–1454.
Vrelstad T., Holst-Jensen A., Schumacher T. 1998. The postfire discomycete *Geopyxis carbonaria* (Ascomycota) is a biotrophic root associate with Norway spruce (*Picea abies*) in nature // Molecular Ecology. Vol.7. P.609–616.
Vrelstad T., Fossheim T., Schumacher T. 2000. *Piceirhiza bicolorata* – the ectomycorrhizal expression of the *Hymenoscyphus ericae* aggregate? // New Phytologist. Vol.145. P.549–563.
Vrelstad T., Myhre E., Schumacher T. 2002a. Molecular diversity and phylogenetic affinities of symbiotic root-associated ascomycetes of the Helotiales in burnt and metal polluted habitats // New Phytologist. Vol.155. P.131–148.

Vrelstad T., Schumacher T., Taylor A.F.S. 2002b. Mycorrhizal synthesis between fungal strains of the *Hymenoscyphus ericae* aggregate and potential ectomycorrhizal and ericoid hosts // New Phytologist. Vol.153. P.143–152.

Wagner F., Gay G., Debaud J.C. 1988. Genetic variability of glutamate dehydrogenase activity in monokaryotic and dikaryotic mycelia of the ectomycorrhizal fungus *Hebeloma cylindrosporum* // Applied Microbiology and Biotechnology. Vol.28. P.566–576.

Wagner F., Gay G., Debaud J.C. 1989. Genetic variation of nitrate reductase activity in mono- and dikaryotic populations of the ectomycorrhizal fungus *Hebeloma cylindrosporum* Romagnési // New Phytologist. Vol.113. P.259–264.

Wahrlich W. 1886. Beitrage zur Kenntnis der Orchideen Wurzelpilze // Botanische Zeitung. Bd.44. S.480–488.

Walker C. 1979. *Complexipes moniliformis*: a new genus and species tentatively placed in Endogonaceae // Mycotaxon. Vol.10. P.99–104.

Walker C.M. 1992. Systematics and taxonomy of the arbuscular endomycorrhizal fungi Glomales – a possible way forward // Agronomie. Vol.12. P.887–897.

Walker C., Blaszkowski J., Schwarzott D., Schussler A. 2004. *Gerdemannia* gen. nov., a genus separated from *Glomus*, and *Gerdemanniaceae* fam. nov., a new family in the Glomeromycota // Mycological Research. Vol.108. P.707–718.

Walker N.A., Smith S.E. 1984. The quantitative study of mycorrhizal infection. II. The relation of rate of infection and speed of fungal growth to propagule density, the mean length of the infection unit and the limiting value of the fraction of the root infected // New Phytologist. Vol.96. P.55–69.

Walker R.F., West D.C., McLaughlin S.B. 1982. *Pisolithus tinctorius* ectomycorrhizae reduce moisture stress of Virginia pine on a southern Appalachian coal spoil // B.A. Thielges (ed.). Proceedings of the Seventh North American Forest Biology Workshop. Lexington: University of Kentucky. P.374–383.

Walker R.F., West D.C., McLaughlin S.B., Amundsen C.C. 1989. Growth, xylem pressure potential, and nutrient absorption of loblolly pine on a reclaimed surface mine as affected by an induced *Pisolithus tinctorius* infection // Forest Science. Vol.35. No.2. P.569–581.

Walker T.W., Syers J.K. 1976. The fate of phosphorus during pedogenesis // Geoderma. Vol.15. P.1–19.

Wallace A., Mueller R.T., Alexander G.V. 1978. Influence of phosphorus on zinc, iron, manganese, and copper uptake in plants // Soil Science. Vol.126. P.336–341.

Wallace G.D. 1975. Studies of the Monotropoideae (Ericaceae) taxonomy and distribution // Wasmann Journal of Biology. Vol.33. P.1–88.

Wallander H. 2000. Uptake of P from apatite by *Pinus sylvestris* seedlings colonised by different ectomycorrhizal fungi // Plant and Soil. Vol.218. P.249–256.

Wallander H. 2006. External mycorrhizal mycelia – the importance of quantification in natural ecosystems // New Phytologist. Vol.171. No.2. P.240–242.

Wallander H., Hagerberg D. 2004. Do ectomycorrhizal fungi have a significant role in weathering of minerals in forest soil? // Symbiosis. Vol.37. No.1–3. P.249–257.

Wallander H., Nylund J-E. 1992. Effects of excess nitrogen and phosphorus starvation on the extramatrical mycelium of ectomycorrhizas of *Pinus sylvestris* L. // New Phytologist. Vol.120. P.495–503.

Wallander H., Nylund J-E., Sundberg B. 1994 The influence of IAA, carbohydrate and mineral concentration in host tissue on ectomycorrhizal development on *Pinus sylvestris* L. in relation to nutrient supply // New Phytologist. Vol.127. P.521–528.

Wallander H., Arnebrant K., Dahlberg A. 1999. Relationships between fungal uptake of ammonium, fungal growth and nitrogen availability in ectomycorrhizal *Pinus sylvestris* seedlings // Mycorrhiza. Vol.8. P.215–223.

Wallander H., Nilsson L.O., Hagerberg D., Beeth E. 2001. Estimation of the biomass and seasonal growth of external mycelium of ectomycorrhizal fungi in the field // New Phytologist. Vol.151. P.753–760.

Wallander H., Goransson H., Rosengren U. 2004. Production, standing biomass and natural abundance of ^{15}N and ^{13}C in ectomycorrhizal mycelia collected at different soil depths in two forest types // Oecologia. Vol.139. P.89–97.

Wallenda T., Kottke I. 1998. Nitrogen deposition and ectomycorrhizas // New Phytologist. Vol.139. P.169–187.

Wallenda T., Read D.J. 1999. Kinetics of amino acid uptake by ectomycorrhizal roots // Plant Cell and Environment. Vol.22. No.2. P.179–187.

Wamberg C., Christensen S., Jakobsen I., Muller A.K., Sorensen S.J. 2003. The mycorrhizal fungus (*Glomus intraradices*) affects microbial activity in the rhizosphere of pea plants (*Pisum sativum*) // Soil Biology and Biochemistry. Vol.35. No.10. P.1349–1357.

Wang B., Qiu Y-L. 2006. Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizae in land plants // Mycorrhiza. Vol.16. P.299–636.

Wang C.J.K., Wilcox H.E. 1985. New species of ectomycorrhizal and pseudomycorrhizal fungi: *Phialophora finlandia*, *Chloridium paucisporum*, and *Phialocephala fortinii* // Mycologia. Vol.77. P.951–958.

Wang G., Coleman D., Freckman D. et al. 1989. Carbon partitioning patterns of mycorrhizal versus non-mycorrhizal plants: real-time dynamic measurements using $^{11}CO_2$ // New Phytologist. Vol.112. P.489–493.

Wang H., Wang Z., Zhang F., Liu J., He X. 1997. A cytological study on the nutrient-uptake mechanism of a saprophytic orchid *Gastrodia elata* // Acta Botanica Sinica. Vol.39. P.500–504.

Wang Y., Hall I.R. 2004. Edible ectomycorrhizal mushrooms: challenges and achievements // Canadian Journal of Botany. Vol.82. P.1063–1073.

Warcup J.H. 1971. Specificity of mycorrhizal associations in some Australian terrestrial orchids // New Phytologist. Vol.70. P.41–46.

Warcup J.H. 1975. Factors affecting symbiotic germination of orchid seeds // F.E. Sanders, B. Mosse, P.B. Tinker (eds.). Endomycorrhizas. P.87–104. London: Academic Press.

Warcup J.H. 1980. Ectomycorrhizal associations of Australian indigenous plants // New Phytologist. Vol.85. P.531–535.

Warcup J.H. 1981. The mycorrhizal relationships of Australian orchids // New Phytologist. Vol.87. P.371–381.

Warcup J.H. 1985. *Rhizanthella gardneri* (Orchidaceae), its *Rhizoctonia* endophyte and close association with *Melaleuca uncinata* (Myrtaceae) in Western Australia // New Phytologist. Vol.99. P.273–280.

Warcup J.H. 1988. Mycorrhizal associations of isolates of *Sebacina vermifera* // New Phytologist. Vol.110. P.227–231.

Warcup J.H. 1991. The *Rhizoctonia* endophytes of *Rhizanthella* (Orchidaceae) // Mycological Research. Vol.95. P.656–659.

Warcup J.H., Talbot P.H.B. 1967. Perfect states of Rhizoctonias associated with orchids // New Phytologist. Vol.66. P.631–641.

Warcup J.H., Talbot P.H.B. 1970. Perfect states of Rhizoctonias associated with orchids II // New Phytologist. Vol.70. P.35–40.

Warcup J.H., Talbot P.H.B. 1980. Perfect states of Rhizoctonias associated with orchids III // New Phytologist. Vol.86. P.267–272.

Wardle D.A. 1999. Is 'sampling effect' a problem for experiments investigating biodiversity –ecosystem function relationships? // Oikos. Vol.87. P.403–407.

Waring R.H., Running S.W. 1998. Forest Ecosystems-analysis at Multiple Scales. San Diego: Academic Press. 369 p.

Warner A. 1984. Colonization of organic matter by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi // Transactions of the British Mycological Society. Vol.82. P.352–354.

Warner A., Mosse B. 1983. Spread of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi between separate root systems // Transactions of the British Mycological Society. Vol.80. P.353–354.

Warnock A.J., Fitter A.H., Usher M.B. 1982. The influence of a springtail, *Folsoma candida* (Insecta, Collembola) on the mycorrhizal association of leek *Allium porrum* and the vesicular arbuscular mycorrhizal endophyte *Glomus fasiculatus* // New Phytologist. Vol.90. P.285–292.

Warren Wilson J., Harley J.L. 1983. The development of mycorrhiza on seedlings of *Fagus sylvatica* L. // New Phytologist. Vol.95. P.673–695.

Weber H.C. 1981. Orchideen auf weg zum Parasitismus? Uber die moglichkeit einer phylogenetischen umkonstruktion der infektionsorgane von *Corallorhiza trifida* Chat (Orchidaceae) zu kontaktorganen parasitischer blutenpfl anzen // Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft. Bd.94. S.275–286.

Wegel E., Schauser L., Sandal N., Stougaard J., Parniske M. 1998. Mycorrhiza mutants of *Lotus japonicus* define genetically independent steps during symbiotic infection // Molecular Plant-Microbe Interactions. Vol.11. P.933–936.

Weidmann S., Sanchez L., Descombin J., Chatagnier O., Gianinazzi S., Gianinazzi-Pearson V, 2004, Fungal elicitation of signal transduction-related plant genes precedes mycorrhiza establishment and requires the *dmi3* gene in *Medicago truncatula* // Molecular Plant-Microbe Interactions. Vol.17. P.1385–1393.

Weiss M., Oberwinkler F. 2001. Phylogenetic relationships in Auriculariales and related groups – hypotheses derived from nuclear ribosomal DNA sequences // Mycological Research. Vol.105. P.403–415.

Weiss M., Selosse M.A., Rexer K.H., Urban A., Oberwinkler F. 2004. Sebacinales: a hitherto overlooked cosm of heterobasidiomycetes with a broad mycorrhizal potential // Mycological Research. Vol.180. P.1003–1010.

Weissenhorn I., Glashoff A., Leyval C., Berthelin J. 1994. Differential tolerance to Cd and Zn of arbuscular mycorrhizal (AM) fungal spores isolated from heavy metal-polluted and unpolluted soils // Plant and Soil. Vol.167. No.2. P.189–196.

Weissenhorn I., Leyval C., Belgy G., Berthelin J. 1995. Arbuscular mycorrhizal contribution to heavy metal uptake by maize (*Zea mays* L.) in pot culture with contaminated soil // Mycorrhiza. Vol.5. P.245–251.

Welch R.M. 2002. The impact of mineral nutrients in food crops on global human health // Plant and Soil. Vol.247. P.83–90.

Welch R.M., Graham R.D. 2002. Breeding crops for enhanced micronutrient content // Plant and Soil. Vol.245. P.205–214.

Wellings N.P., Wearing A.H., Thompson J.P. 1991. Vesicular-arbuscular mycorrhizae (VAM) improve phosphorus and zinc nutrition and growth of pigeonpea in a vertisol // Australian Journal of Agricultural Research. Vol.42. P.835.

Wellman C.H., Osterloff P.L., Mohiuddin U. 2003. Fragments of the earliest land plants // Nature. Vol.425. P.282–285.

Werner N.J., Allen M.F., MacMahon J.A. 1987. Dispersal agents of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in a disturbed arid ecosystem // Mycologia. Vol.79. P.721–730.

Wessels J.G.H. 1992. Gene expression during fruiting in *Schizophyllum commune* // Mycological Research. Vol.96. P.609–620.

West H.M. 1996. Influence of arbuscular mycorrhizal infection on competition between *Holcus lanatus* and *Dactylis glomerata* // Journal of Ecology. Vol.84. P.429–438.

West H.M., Fitter A.H., Watkinson A.R. 1993a. Response of *Vulpia ciliata* ssp. *ambigna* to removal of mycorrhizal infection and to phosphate application under natural conditions // Journal of Ecology. Vol.81. P.351–358.

West H.M., Fitter A.H., Watkinson A.R. 1993b. The influence of three biocides on the fungal associates of the roots of *Vulpia ciliata* ssp *ambigna* under natural conditions // Journal of Ecology. Vol.81.

Wheeler C.T., Tilak M., Scrimgeour C.M., Hooker J.E., Handley L.L. 2000. Effects of symbiosis with *Frankia* and arbuscular mycorrhizal fungus on the natural abundance of ^{15}N in four species of Casuarina // Journal of Experimental Botany. Vol.51. P.287–297.

Whitmore T.C. 1984. Tropical Rainforests of the Far East. 2nd edn. Oxford: Clarendon Press.

Whittingham J., Read D.J. 1982. Vesicular-arbuscular mycorrhiza in natural vegetation systems. III. Nutrient transfer between plants with mycorhizal interconnections // New Phytologist. Vol.90. P.277–284.

Wibawa A., Baon J.B., Nurkholis. 1995. Growth of shade trees for coffee and cacao as affected by mycorrhizal and rhizobial inoculation // Supriyanto, J.T. Kartana (eds.). Proceedings of the 2nd Symposium on Biology and Biotechnology of Mycorrhizae and 3rd Asian Conference on Mycorrhizae. Biotrop Special Publication. No.56. P.209–214. Bogor: Seameo Biotrop.

Wiese J., Kleber R., Hampp R., Nehls U. 2000. Functional characterization of the *Amanita* muscaria monosaccharide transporter, AmMst1 // Plant Biology.Vol.2. P.278–282.

Wikström N., Savolainen V., Chase M.W. 2001. Evolution of the angiosperms: calibrating the family tree // Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B**.** Vol.268. P.2211–2220.

Wilcox H.E. 1964. Xylem in roots of *Pinus resinosa* Ait. In relation to heterorhyzy and growth activity // M. Zimmerman (ed.). Formation of Wood in Forest Trees. New York: Academic Press. P.459–478.

Wilcox H.E. 1968a. Morphological studies of the root of red pine, *Pinus resinosa*. I. Growth characteristics and branching patterns // American Journal of Botany. Vol.55. P.247–254.

Wilcox H.E. 1968b. Morphological studies of the roots of red pine, *Pinus resinosa*. II. Fungal colonisation of roots and development of mycorrhizae // American Journal of Botany. Vol.55. P.686–700.

Wilcox H.E. 1971. Morphology of ectendomycorrhizae in *Pinus resinosa* // Proceedings of the 1st North American Conference on Mycorrhizae. University of Illinois, 1969. Washington: US Forestry Service. P.54–67.

Wilcox H.E., Wang C.J.K. 1987a. Ectomycorrhizal and endomycorrhizal association of *Phialophora finlandia* with *Pinus resinosa, Picea rubens,* and *Betula alleghaniensis* // Canadian Journal of Forest Research. Vol.17. P.976–990.
Wilcox H.E., Wang C.J.K. 1987b. Mycorrhizal and pathological associations of dematiaceous fungi in roots of 7-month-old tree seedlings // Canadian Journal of Forest Research. Vol.17. P.884–889.
Wilcox H.E., Ganmore-Neumann R., Wang C.J.K. 1974. Characteristics of two fungi producing ectendomycorrhizae in *Pinus resinosa* // Canadian Journal of Botany. Vol.52. P.2279–2282.
Williams P.G., Roser D.J., Seppelt R.D. 1994. Mycorrhizas of hepatics in continental Antarctica // Mycological Research. Vol.98. P.34–36.
Williamson B. 1970. Induced DNA synthesis in orchid mycorrhiza // Planta. Vol.92. P.347–354.
Williamson B. 1973. Acid phosphatase and esterase activity in orchid mycorrhiza // Planta. Vol.112. P.149–158.
Williamson B., Alexander I.J. 1975. Acid phosphatases localised in the sheath of beech mycorrhiza // Soil Biology and Biochemistry. Vol.7. P.195–198.
Williamson B., Hadley G. 1969. DNA content of nucleii in orchid protocorms symbiotically infected with *Rhizoctonia* // Nature. Vol.222. P.582–583.
Williamson B., Hadley G. 1970. Penetration and infection of orchid protocorms by *Thanatephorus cucumeris* and other *Rhizoctonia* isolates // Phytopathology. Vol.60. P.1092–1096.
Willis K.J., McElwain J.C. 2002. The Evolution of Plants. Oxford: Oxford University Press.
Wilson B.J., Addy H.D., Tsuneda A., Hambleton S., Currah R.S. 2004. *Phialocephala sphaeroides* sp nov., a new species among the dark septate endophytes from a boreal wetland in Canada // Canadian Journal of Botany. Vol.82. P.607–617.
Wilson G.W.T., Hartnett D.C. 1997. Effects of mycorrhizae on plant growth and dynamics in experimental tallgrass prairie microcosms // American Journal of Botany. Vol.84. P.478–482.
Wilson G.W.T., Hartnett D.C. 1998. Interspecific variation in plant responses to mycorrhizal colonization in tallgrass prairie // American Journal of Botany. Vol.85. P.1732–1738.
Wilson G.W.T., Daniels Hetrick B.A., Gerschefske Kitt D. 1988. Suppression of mycorrhizal growth response of big bluestem grass by non sterile soil // Mycologia. Vol.80. P.338–343.
Wilson J.M. 1984. Competition for infection between vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi // New Phytologist. Vol.97. P.427–435.
Wilson J.M., Tommerup I.C. 1992. Interactions between fungal symbionts: VA mycorrhizae // M.F. Allen (ed.). Mycorrhizal Functioning. London: Chapman and Hall. P.199–248.
Wilson J.M., Trinick M.J. 1982. Factors affecting the estimation of numbers of infective propagules of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi by the most probable number method // Australian Journal of Soil Research. Vol.21. P.3–81.
Wilson J.M., Trinick M.J. 1983. Infection development and interactions between vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi // New Phytologist. Vol.93. P.543–553.
Wilson K.H., Wilson W.J., Radosevich J.L. et al. 2002. High-density microarray of small-subunit ribosomal DNA probes // Applied and Environmental Microbiology. Vol.68. P.2535–2541.
Winther J.L.,Friedman W.E. 2007a. Arbuscular mycorrhizal symbionts in *Botrychium* (Ophioglossaceae) // American Journal of Botany. Vol.94. P.1248–1255.
Winther J.L., Friedman W.E. 2007b. Arbuscular mycorrhizal associations in hycopodiaceae // New Phytologist. doi:10.1111/j.1469-8137.2007.02276.x
Wipf D., Benjdia M., Tegeder M., Frommer W.B. 2002. Characterization of a general amino acid permease from *Hebeloma cylindrosporum* // FEBS Letters. Vol.528. P.119–124.
Wong K.K.Y., Fortin J.A. 1990. Root colonisation and intraspecific mycobiont variation in ectomycorrhiza // Symbiosis. Vol.8. P.197–231.
Wong K.K.Y., Piché Y., Montpetit D., Kropp B.R. 1989. Differences in the colonisation of *Pinus banksiana* roots by sib-monokaryotic and dikaryotic strains of ectomycorrhizal *Laccaria bicolor* // Canadian Journal of Botany. Vol.67. P.1717–1726.
Wong K.K.Y., Piché Y., Fortin J.A. 1990.. Differential development of root colonisation among four closely related genotypes of ectomycorrhizal *Laccaria bicolor* // Mycological Research. Vol.94. P.876–884.
Wood T., Cummings B. 1992. Biotechnology and the future of VAM commercialization // Mycorrhizal Functioning. M.F. Allen (ed.). London: Chapman and Hall. P.468–487.
Worley J.F., Hacskaylo E. 1959. The effect of available soil moisture on the mycorrhizal association of Virginian pine // Forest Science. Vol.5. P.267–268.

Wright D.P., Read D.J., Scholes J.D. 1998a. Mycorrhizal sink strength influences whole plant carbon balance of *Trifolium repens* L. // Plant, Cell and Environment. Vol.21. P.881–891.
Wright D.P., Scholes J.D., Read D.J. 1998b. Effects of VA mycorrhizal colonization on photosynthesis and biomass production of *Trifolium repens* L. // Plant, Cell and Environment. Vol.21. P.209–216.
Wright D.P., Scholes J.D., Read D.J. Rolfe S.A. 2000. Changes in carbon allocation and expression of carbon transporter genes in *Betula pendula* Roth. colonized by the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus* (Batsch) Fr. // Plant Cell and Environment. Vol.23. P.39–49.
Wright D.P., Johansson T., Le Quere A., Söderström B., Tunlid A. 2005. Spatial patterns of gene expression in the extramatrical mycelium and mycorrhizal root tips formed by the ectomycorrhizal fungus *Paxillus involutus* in association with birch (*Betula pendula*) seedlings in soil microcosms // New Phytologist. Vol.167. P.579–596.
Wright S.J. 2002. Plant diversity in tropical forests: a review of mechanisms of species coexistence // Oecologia. Vol.130. P.1–14.
Wright S.F., Jawson L. 2001. A pressure cooker method to extract glomalin from soils // Soil Science Society of America Journal. Vol.65. P.1734–1735.
Wright S.F., Upadhyaya A. 1998. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi // Plant and Soil. Vol.198. P.97–107.
Wright S.J. 2002. Plant diversity in tropical forests: a review of mechanisms of species coexistence // Oecologia. Vol.130. No.1. P.1–14.
Wright W., Fitter A., Meharg A. 2000. Reproductive biomass in *Holcus lanatus* clones that differ in their phosphate uptake kinetics and mycorrhizal colonization // New Phytologist. Vol.146. P.493–501.
Wu T.H., Sharda J.N., Koide R.T. 2003. Exploring interactions between saprotrophic microbes and ectomycorrhizal fungi using a protein-tannin complex as an N source by red pine (*Pinus resinosa*) // New Phytologist. Vol.159. P.131–139.
Wulf A., Manthey K. et al. 2003. Transcriptional changes in response to arbuscular mycorrhizal development in the model plant *Medicago truncatula* // Molecular Plant-Microbe interactions. Vol.16. P.306–314.
Wyss P., Boller T., Wiemken A. 1991. Phytoalexin response is elicited by a pathogen (*Rhizoctonia solani*) but not by a mycorrhizal fungus (*Glomus mosseae*) in soybean roots // Experientia. Vol.47. P.395–399.
Xavier L.J.C., Germida J.J. 2003. Bacteria associated with *Glomus clarum* spores influence mycorrhizal activity // Soil Biology and Biochemistry. Vol.35. P.471–478.
Xiao G., Berch S.M. 1992. Ericoid mycorrhizal fungi of *Gaultheria shallon* // Mycologia. Vol.84. P.470–471.
Xiao G., Berch S.M. 1995. The ability of known ericoid mycorrhizal fungi to form mycorrhizae with *Gaultheria shallon* // Mycologia. Vol.87. No.4. P.467–470.
Xiao G.P., Berch S.M. 1999. Organic nitrogen use by salal ericoid mycorrhizal fungi from northern Vancouver Island and impacts on growth *in vitro* of *Gaultheria shallon* // Mycorrhiza. Vol.9. No.3. P.145–149.
Xu D., Dell B., Malajczuk N., Gong M. 2001. Effects of P fertilisation and ectomycorrhizal fungal inoculation on early growth of eucalypt plantations in southern China // Plant and Soil. Vol.233. P.47–57.
Xu J., Guo S. 2000. Retrospect on the research of the cultivation of Gastrodia elata B1, a rare Chinese traditional medicine // Chinese Medical Journal. Vol.113. P.686–692.
Xu J-T., Mu C. 1990. The relation between growth of *Gastrodia elata* protocorms and fungi // Acta Botanica Sinica. Vol.32. P.26–33.
Yagame T., Yamato M., Mii M., Suzuki A., Iwase K. 2007. Developmental processes of achlorophyllous orchid, *Epipogium roseum*: from seed germination to flowering under symbiotic cultivation with mycorrhizal fungus // Journal of Plant Research. Vol.120. P.229–236.
Yamada A., Maeda K., Kobayashi H., Murata H. 2006. Ectomycorrhizal symbiosis *in vitro* between *Tricholoma matsutake* and *Pinus densiflora* seedlings that resembles naturally occurring ‘shiro’ // Mycorrhiza. Vol.16. P.111–116.
Yamato M. 2001. Identification of a mycorrhizal fungus in the roots of achlorophyllous *Sciaphila tosaensis* Makino, Triuridaceae // Mycorrhiza. Vol.11. No.2. P.83–88.
Yamato M., Yagame T., Suzuki A., Iwase K. 2005. Isolation and identification of mycorrhizal fungi associating with an achlorophyllous plant, *Epipogium roseum* (Orchidaceae) // Mycoscience. Vol.46. P.73–77.

Yanai R.D., Blum J.D., Hamburg S.P., Arthur M.A., Nezat C.A., Siccama T.G. 2005. New insights into calcium depletion in northeastern forests // Journal of Forestry. Vol.103. P.14–20.

Yang C.S., Korf R.P. 1985. A monograph of the genus *Tricharina* and of a new, segregate genus, *Wilcoxina* Pezizales // Mycotaxon. Vol.24. P.467–531.

Yang C.S., Wilcox H.E. 1984. An E-strain ectomycorrhiza formed by a new species *Tricharina mikolae* // Mycologia. Vol.76. P.675–684.

Yano K., Yamauchi A., Iijima M., Kono Y. 1998. Arbuscular mycorrhizal formation in undisturbed soil counteracts compacted soil stress for pigeon pea // Applied Soil Ecology. Vol.10. P.95–102.

Yawney W.J., Schultz R.C. 1990. Anatomy of a vesicular-arbuscular endomycorrhizal symbiosis between sugar maple *Acer saccharum* Marsh and *Glomus etunicatum* Becker and Gerdemann // New Phytologist. Vol.114. P.47–58.

Yazid S.M., Lee S.S., Lapeyrie F. 1994. Growth-stimulation of *Hopea* spp. (Dipterocarpaceae) seedlings following ectomycorrhizal inoculation with an exotic strain of *Pisolithus tinctorius* // Forest Ecology and Management. Vol.67. P.339–343.

Yokoyama J., Fukuda T., Tsukaya H. 200.5 Molecular identification of the mycorrhizal fungi of the epiparasitic plant *Monotropastrum humile* var. *glaberrimum* (Ericaceae) // Journal of Plant Research. Vol.118. P.53–56.

Yost R.S., Fox R.L. 1979. Contribution of mycorrhizae to P nutrition of crops growing on an Oxisol // Agronomy Journal. Vol.71. P.903–908.

Young B.W., Massicotte H.B., Tackaberry L.E., Baldwin Q.F., Egger K.N. 2002. *Monotropa uniflora*: morphological and molecular assessment of mycorrhizae retrieved from sites in the subboreal Spruce biogeoclimatic zone in central British Columbia // Mycorrhiza. Vol.12. P.75–82.

Yu T., Nassuth A., Peterson R.L. 2001b. Characterization of the interaction between the dark septate fungus *Phialocephala fortinii* and *Asparagus officinalis* roots // Canadian Journal of Microbiology. Vol.47. P.741–753.

Yu T.E., Egger K.N., Peterson R.L. 2001a. Ectendomycorrhizal associations – characteristics and functions // Mycorrhiza. Vol.11. P.167–177.

Zabinski C.A., Quinn L., Callaway R.M. 2002. Phosphorus uptake, not carbon transfer, explains arbuscular mycorrhizal enhancement of *Centaurea maculosa* in the presence of native grassland species // Functional Ecology. Vol.16. P.758–765.

Zak B. 1971. Characterization and classification of mycorrhizae of Douglas fir. II. *Pseudotsuga menzieii* + *Rhizopogon vinicolor* // Canadian Journal of Botany. Vol.49. P.1079–1084.

Zak B. 1973. Classification of Ectomycorrhizae // G.C. Marks, T.T. Kozlowski (eds.). Ectomycorrhizae. New York: Academic Press. P.43–78.

Zak B. 1974. Ectendomycorrhiza of Pacific madrone *Arbutus menziessi* // Transactions of the British Mycological Society. Vol.62. P.202–204.

Zak B. 1976a. Pure culture synthesis of bearberry mycorrhizae // Canadian Journal of Botany. Vol.54. P.1297–1305.

Zak B. 1976b. Pure culture synthesis of Pacific madrone ectendomycorrhizae // Mycologia. Vol.68. P.362–369.

Zangaro W., Bononi V.L.R., Trufen S.B. 2000. Mycorrhizal dependency, inoculum potential and habitat preference of native woody species in South Brazil // Journal of Tropical Ecology. Vol.16. P.603–621.

Zangaro W., Nisizaki S.M.A., Domingos J.C.B., Nakano E.M. 2003. Mycorrhizal response and successional status in 80 woody species from south Brazil // Journal of Tropical Ecology. Vol.19. P.315–324.

Zelmer C.D., Currah R.S. 1995. Evidence for a fungal liason between *Corallorhiza trifida* (Orchidaceae) and *Pinus contorta* (Pinaceae) // Canadian Journal of Botany. Vol.73. P.862–866.

Zelmer C.D., Cuthbertson L., Currah R.S. 1996. Fungi associated with terrestrial orchid mycorrhizas, seeds and protocorms // Mycoscience. Vol.37. P.439–448.

Zerova M.Y. 1955. Mykorrhiza formation in forest trees of the Ukrainian SSR // A. Imshenetskii (ed.). Mycotrophy in Plants (translated from Russian by Israel Programme for Scientific Translocations, 1967). Washington: USDA and NSF.

Zhang Y.H., Zhuang W.Y. 2004. Phylogenetic relationships of some members in the genus *Hymenoscyphus* (Ascomycetes, Helotiales) // Nova Hedwigia. Vol.78. P.475–484.

Zhu H., Guo D-C., Dancik B.P. 1990. Purification and characterisation of an extracellular acid proteinase from the ectomycorrhizal fungus *Hebeloma crustuliniforme* // Applied and Environmental Microbiology. Vol.56. P.837–843.

Zhu H., Dancik B.P., Higginbotham K.O. 1994. Regulation of extracellular proteinase productionin an ectomycorrhizal fungus *Hebeloma crustuliniforme* // Mycologia. Vol.86. P.227–234.

Zhu Y.G., Christie P., Laidlaw A.S. 2001. Uptake of Zn by arbuscular mycorrhizal white clover from Zn-contaminated soil // Chemosphere. Vol.42. P.193–199.

Zhu Y.G., Smith S.E., Barritt A.R., Smith F.A. 2001. Phosphorus P efficiencies and mycorrhizal responsiveness of old and modern wheat cultivars // Plant and Soil. Vol.237. P.249–255.

Zhu Y.G., Smith F.A., Smith S.E. 2003. Phosphorus efficiencies and responses of barley (*Hordeum vulgare* L.) to arbuscular mycorrhizal fungi grown in highly calcareous soil // Mycorrhiza. Vol.13. P.93–100.

Zimmer K., Hynson N.A., Gebauer G., Allen E.B., Allen M.F., Read D.J. 2007. Wide geographic and ecological distribution of nitrogen and carbon gains from fungi in pyroloids and monotropoids (Ericaceae) and in orchids // New Phytologist. Vol.175. P.166–175.

ПРЕДМЕТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

Жирным шрифтом выделены страницы, где расположены таблицы, *курсивом* – страницы с рисунками

Автолиз
  грибов
  см. также переваривание
Авторадиография
Азот
  $\delta^{15}N$ подпись
  ассимиляция в АМ корнях
  в арбускулярных микоризах
  в бореальных почвах
  в микогетеротрофных микоризах
  в орхидных микоризах
  в эктомикоризах
  в эрикоидных микоризах
  вторичная сукцессия
  и накопление калия
  изотопы, *см. также* мечение изотопами
  конкуренция в почвах верещатников
  недостаток в сухих тропиках
  обилие ^{15}N
  первичная сукцессия
  перенос между растениями
  поглощение ~
  типы источников
  транспортеры
  у грушанковых
  у темных септированных грибов
Азотфиксация
Азотфиксирующие симбиозы
Аквапорины
Актин
Аланин
Альпийские биомы
Алюминий
Аминокислоты
  в арбускулярной микоризе
  в эрикоидной микоризе
  как источник N для микоризных растений
  у эктомикоризных растений
  Аммоний
  механизмы транспорта
  поглощение АМ грибами
  поглощение в эрикоидной микоризе
  поглощение эктомикоризными грибами
  поглощение эктомикоризными корнями и растениями
  эктомикоризный рост на ~
  см. также питательные вещества; транспортеры питательных веществ
Анализ методом парсимонии
Анастомоз гиф
Антарктические биомы
Антибиотическая активность
Антиоксиданты
Антоцеротовые мхи
Апатит
Апопластный компартмент *см.* межфазный апопласт; симбиотическая контактная зона
Аппарат, предваряющий проникновение
  см. также цитоплазматическая столбчатая структура
Аппрессориев образование
  мутанты и
Арбускулы
  в палеонтологических находках
  и рост свободного мицелия
  и транспорт фосфора
  морфология колонизации
  проникновение в корень и образование ~
  развитие и круговорот
  у споровых наземных растений
Арбускулярно-микоризный путь
  поглощение питательных веществ
Арбускулярные микоризы
  анализ выгоды-затрат
  биология и развитие
  в луговых сообществах
  в различных экосистемах
  в сельском хозяйстве и садоводстве
  в сухих тропиках
  взаимоотношения с беспозвоночными
  влияние на защитные реакции растений
  влияние на питание и рост растения
  азот
  железо

калий
медь
фосфор
цинк
во влажных тропиках
генетическая организация
зависимость от плотности
и водный баланс
и вторичная сукцессия
и микогетеротрофы
и патогены, эндофиты
и структура почвы
инокулюм
несовместимые растения, мутанты и ~
палеонтологическая история
развитие колонизации в корневой системе
растения-хозяева
восприимчивость растений
мицелиальная сеть
фосфорное питание растения
свободный мицелий
система и филогения грибных симбионтов
специфичность симбионтов
транспорт углерода
у споровых наземных растений
экология
Арбутоидные микоризы
у *Arbutus* и *Arctostaphylos*
у Pyrolae
характеристика
Аргинин
Арктические биомы
Асимбиотическое прорастание орхидных
Аскомицеты (Ascomycetes)
как симбионты эктомикоризы
как симбионты эрикоидной микоризы
разведывательные стратегии
споровые растения и ~
АТФазная активность
Ауксины
Базидиомицеты (Basidiomycetes)
генетика
и орхидные
и споровые растения
как симбионты арбутоидной микоризы
как симбионты эктомикоризы
молекулярный и филогенетический статус
Бактерии
-помощники микоризации
бактериеподобные организмы
в микоризосфере
в ризосфере
см. также микроорганизмы
Белки
гликопротеины
как источник азота
связанные с симбиозом
связанные с устойчивостью к металлам у дрожжей
см. также аминокислоты; полипептиды; протеомика; ферменты
«Белковые» грибы
Белковые профили
Бенлат, *см. также* фунгициды
Беномил, *см. также* фунгициды
Беспозвоночные
Библиотеки цДНК
Биологическая концепция вида
Биомасса
грибная
зависимость от плотности
и разнообразие растений
плодовых тел
Биомы
арктические, антарктические и альпийские
бореальные и умеренные леса
верещатник
глобальное распространение
луг
тропические и субтропические
см. также местообитания; луга
Биотит
Биотрофия
Биполярная система скрещивания
Бобовые
АМ дефектные мутанты
в северных верещатниках
влияние АМ колонизации на рост
общий симбиотический путь (SYM)
специфичность колонизации
Бореальные леса
доступность питательных веществ
азот
фосфор
и вторичные сукцессии
микоризы
почвы
темные септированные грибы
Бычий сывороточный альбумин
Вакуоли
запасание фосфора
перемещение фосфора
см. также вакуолярные трубки
Вакуолярные трубки
Вегетативное размножение
Везикулы
Везикулярно-арбускулярные микоризы
см. также арбускулярные микоризы
Верещатник, *см. также* вересковые; травянистые растения; эпакрисовые
Вермикулит
Видовое богатство
Видовое разнообразие (растений и грибов)
см. также видовое богатство

Витальные красители
Влажное просеивание
Влияние плотности посадки
см. также обилие гиф; обилие корней
Внедрение в ризодерму
Внутривидовое генетическое разнообразие
Внутриклеточные гифы
клубки
см. также Paris-тип микоризы
Водный баланс
арбускулярные микоризы
тканей
эктомикоризы
см. также аквапорины; гидравлическая проводимость; засуха; скорость транспирации
Восприимчивые растения
см. также континуум мутуализм-паразитизм; рост; функциональное разнообразие
Время расхождения
Вспашка
Вспышки семенной продукции
Вторичные сукцессии
Вулканическая активность
Выгода и затраты
Выветривание
Выживаемость
Вырубка
Высадка растений
Высотность, микоризные типы и ~
Гаметофиты
мохообразных
плаунов
сосудистых споровых растений
Гексозы
Генетическое разнообразие
у АМ грибов
у грибов эрикоидной микоризы
у эктомикоризных грибов
Генная экспрессия
аквапоринов
микромаркеры
связанная с защитными реакциями
транспортеры питательных веществ
см. также транспортеры питательных веществ
Гены мембранных белков
Гены транспортеров
азота
нитрата
питательных веществ
при поглощении по микоризному пути
фосфата (фосфора)
см. также транспортеры питательных веществ
Гетерокариоз
Гибридизация
запрещающая субтрактивная *in situ*
Гидравлическая проводимость
Гидравлический лифт
Гидрофобины
Гипафорин
Гипотеза лимитирования ресурсов
Гипотеза насыщения хищника
Гирцинол
Гифальный отсек
Гифальный рост
Глиадин
Гликоген
Гликолиз
Гликопротеины
Глиоксилатный цикл
Глицин
Глобальное
изменение
потепление
см. также изменение климата; температура
Гломалин
Глутамат
Глутаматдегидрогеназа
путь
Глутамин
Глутаминсинтетаза
путь
Глутатион
Глюканазы
Глюкоза
Голосеменные
строение зрелой сети Гартига
см. также Picea; *Pinus*; *Pseudotsuga*
Гомокариоз
Горное дело
восстановление районов добычи руды
восстановление растительности
Грибная биомасса
Грибной метаболизм Р
Грибные сообщества
арбускулярно-микоризные
оценка и поддержание
многовидовые
эктомикоризные
Грибные таксоны
Грибные шпильки
Грибы Е-штамма
Грибы «поздней стадии»
Грибы «ранней стадии»
см. также грибы «поздней стадии»
Двойная колонизация
Двудольные
гены
образование микоризы

Двуядерные ризоктонии
Дегидрины
Дереворазрушающие виды
см. также сапротрофы
Дикарион
Диффузия
Дневной баланс углерода
ДНК
библиотеки цДНК
ДНК методы исследования
в агротехнике
ДНК последовательности
арбускулярные микоризы
в филогении
монотропоидные микоризы
орхидные микоризы
эктомикоризы
эрикоидные микоризы
см. также участок ITS; филогения
Дождевые леса
Долипоровая септа
Донорные растения и транспорт питательных веществ
см. также общие мицелиальные сети; транспорт веществ между растениями
Доступность питательных веществ в почве
азот
фосфор
Древесные породы
бореальных и умеренных лесов
в дождевых лесах
встречаемость АМ грибов у ~
культивируемые
тропические и субтропические
эктомикоризные симбиозы
Дрожжи (*Saccharomyces*)
Дыхание
вклад грибов
метод кольцевания
эктомикоризного мицелия
Единицы инфекции
Железо
Жирные кислоты
в качестве маркерных молекул
фосфолипидные
Загрязненные местообитания
см. также горное дело; вулканическая активность
Загрязняющие вещества в почве
Запрещающая субтрактивная гибридизация
Засуха
Защитные реакции
в арбускулярной микоризе
в орхидной микоризе
в эктомикоризе
вторичные метаболиты
генная экспрессия
Зеин
Зеленые орхидные
Зигомицеты (Zygomycetes)
Злаки
микоризная колонизация
ростовые ответные реакции
см. также кукуруза; пшеница; ячмень
Зона пред-сети Гартига (зона наложения)
Зоны истощения (неподвижные элементы)
см. также фосфат; фосфор
Изозимный анализ
Изоляция металлов
Иммунолокализация
Инвертазы
Индекс митоза
Индекс разнообразия Шеннона
Индолил-3-уксусная кислота
Индуцированные мишенью локальные повреждения генома (TILLING)
Инокулюм
источники ~ для АМ грибов
накопление
проблемы
производство
споры как источник ~
Инокуляция
в производстве древесины
и прирост биомассы
практика ~
проблемы ~
Инфекционная шпилька
Инфекционность
грибная
почвы
Иррадиация
Кадмий
Казеин
Калий
и полифосфаты
мобилизация, поглощение и транспорт
Кальций
Каменный фосфат
Карбендазим
Карбоксиметил-целлюлоза
Каталаза
Кварц
Кислые фосфатазы
см. также фосфатазы
Кислые аминокислоты
Классификация типов микориз
Клеточная стенка
белки ~
в начале колонизации
у спор
Клещи
Климат
и типы микориз

изменение ~
см. также глобальное изменение; засуха; оледенение; сезонность; температура; углекислый газ;
Клубеньковые микоризы
Коллемболы
Колонизация
арбускулы и ~
арбускулярные микоризы
в эктомикоризах
зрелая сеть Гартига
клубеньковые микоризы
на уровне корня
преколонизация
растительные симбионты
ризоморфы и свободный мицелий
роль мицелиальной сети
свободный мицелий
сеть Гартига
срок жизни корней
типы чехла
формирование сложной структуры
чехол
в эрикоидных микоризах
и устойчивость к токсичным ионам металлов
взрослых растений орхидных
восприимчивость растений
генетические подходы к изучению
генная транскрипция во время ~
грибы
защитные реакции растений
ключевые моменты
контакт и внедрение
микогетротрофные орхидные
микогетротрофы с арбускулярными микоризами
микоризы в растительных сообществах
печеночные мхи, *см. также* мохообразные; наземные споровые растения
питание и рост растений
протеомика
протокормы орхидных
разнообразие растений и ~
смешанная колонизация корней
степень распространения в корнях
факторы окружающей среды и ~
цитологические изменения во время ~
Кольцевание стволов
Конканавалин А
Конкуренция
грибы-конкуренты
и транспорт веществ между растениями разных видов
конкурентные взаимодействия
межвидовая
Контактная зона
Контактная стратегия
Континуум мутуализм-паразитизм
Контроль качества инокулюма
Концепция вида
Корни
арбускулярно-микоризные
ассимиляция азота
размеры и сфера влияния
степень колонизации
эктомикоризные
контакт с микобионтом
поглощение фосфора
срок жизни
усвоение азота
см. также экссудаты
Коровая паренхима
Коровая сеть Гартига
Коровые клетки
Красители
Крахмал
Круг хозяев
см. также симбиотическая специфичность; экологическая специфичность; таксономическая специфичность
Кукуруза (*Zea*)
ассимиляция азота
транспорт микроэлементов
Культурные растения
древесные породы
питание
плодовые
севооборот
сельскохозяйственные
совмещенная и последовательная культура
тепличные
см. также удобрения; фунгициды
Леггемоглобин
Лекарства
Леса
арбускулярные микоризы в ~
грушанковые
доступность азота
микогетеротрофы в ~
срок жизни микоризных окончаний
сукцессия микориз
характер распределения углерода
эктомикоризные сообщества в ~
эктомикоризы и ~
см. также бореальные леса; дождевые леса; древесные породы; лесное хозяйство
Лесное хозяйство
и эктомикорзы
рубка
Лесовозобновление
Лигнин
Лизис, орхидные микоризы

см. также переваривание
Липиды
фосфолипиды
Луг
Магний
Маннит
Марганец
Медь
Межфазный апопласт
непроницаемость
транспорт азота
транспорт аммония
транспорт органического азота
транспорт фосфора
см. также симбиотическая контактная зона
Местообитания
арбускулярно-микоризные сообщества и микоризные сукцессии
орхидные микоризы
экологические взаимодействия
эктомикоризные сообщества
см. также альпийские биомы; антарктические биомы; арктические биомы; биомы; верещатник; леса; луг, песчаные дюны; субтропические биомы; тропические биомы
Метод вычитания для расчета поглощения питательных веществ
Метод закапывания семян
Метод замораживания-замещения
Метод ловушек
Метод мембранных фильтров
Метод наиболее вероятных чисел
Метод пересечения с сеткой
Межклеточные гифы
Меристема корня
Метаболические пути
Металлотионеин
Метиламин
Метиламмоний
Метилбромид
Мечение изотопами
азота
углерода
фосфора
цинка
Мечение углерода
см. также мечение изотопами
Микогетеротрофные орхидные
грибные ассоциации и специфичность
структурные аспекты
Микогетеротрофные растения
Микогетеротрофы
на арбускулярных микоризах
у орхидных
у споровых наземных растений
филогения
см. также монотропоидные микоризы; орхидные микоризы
Микоризные симбиозы
арбускулярные
микогетеротрофных орхидных
монотропоидные
эктомикоризные
Микоризный путь поглощения
фосфатные транспортеры
см. также питательные вещества
Микоризосфера
см. также ризосфера
Микоризы
взаимодействия с патогенами
влияние высотности и широты
зависимость от микоризы
микоризный статус основных групп наземных растений
образование у покрытосеменных
определение
отделенные
ростовые ответные реакции
Микромаркеры
Микроорганизмы
бактерии-помощники микоризации
см. также бактерии
Микросателлитные маркеры
Микротрубочки
Микроэлементы
Миксотрофные растения
Минеральное питание
арбускулярные микоризы
микогетеротрофы
орхидные микоризы
эктомикоризы
эрикоидные микоризы
см. также питательные вещества
Михаэлиса-Ментен зависимость
см. также кинетические параметры поглощения
Мицелиальные сети
Мицелий
дыхание
и первичная сукцессия
мицелий внутри корня
свободный
уровень продуктивности
эктомикоризный в природных условиях
см. также гифы; общие мицелиальные сети; ризоморфы; свободный мицелий
Многовидовые сообщества
Многоядерные ризоктонии
Модель смешения изотопов
Молекулярные методы
вересковые
грибы в бореальных лесах

орхидные микоризы
эктомикоризы
см. также ДНК последовательности; РНК; секвенирование генома; ITS
Монодоминантные сообщества
Монокарион
Моноклональные антитела
Моносахариды
гексоза
глюкоза
фруктоза
Монотропоидные микоризы
характеристика
грибные симбиозы и специфичность
строение
см. также микогетеротрофы; *Monotropa*
Мортмасса
Морфотипирование
Мохообразные
см. также мхи; печеночные мхи; споровые наземные растения
Мочевина
Мошенники
Мошенничество и микоризные грибы
Мультитрофные взаимодействия
Мусковит
Мутант с пониженной микоризной колонизацией (*rmc*)
Мутанты
Мутации
и симбиотичекая специфичность
у бобовых
у не-бобовых
у томата
Мутуализм
Мхи
см. также мохообразные; споровые наземные растения
Мышьяк
Надземные плодовые тела
Нарушение долгого пара
Невосприимчивые растения
см. также континуум мутуализм-паразитизм; функциональное разнообразие
Нейтральные аминокислоты
Некротрофия
Нематоды
Неорганический азот
использование арбускулярно-микоризными грибами
использование эктомикоризными грибами
использование эктомикоризными корнями и растениями
см. также аммоний; нитрат
Неорганический фосфор
см. также фосфат, фосфор
Несептированный мицелий
Низкорослость
Никель
Нитрат
поглощение эктомикоризными грибами
поглощение эктомикоризными корнями и растениями
рост арбускулярных микориз
рост эктомикориз
рост эрикоидных микориз
Нитратредуктаза
Нитрит
Нуклеиновые кислоты
см. также ДНК; РНК
Обилие гиф
см. также общие мицелиальные сети; свободный мицелий
Обилие корней
Облегченная диффузия
Облигатные симбионты
Обогащение атмосферы углекислым газом (FACE, Free Air Carbon dioxide Enrichment)
Обработка почвы паром
Образование клубеньков
см. также азотфиксация; общий SYM путь; SYM путь
Общие мицелиальные сети
арбускулярные микоризы
как источник инокулюма
передвижение питательных веществ и углерода
эктомикоризы
Общий SYM путь
Однодольные
Одноядерные ризоктонии
Окислительный стресс
Окружающая среда *см.* биомы; местообитания
Оксалат
Оледенение
Органический азот
использование грибами эрикоидной микоризы
использование эктомикоризными грибами
использование эктомикризными растениями
транспорт от грибного к растительному симбионту
Органический фосфор
Органический углерод
в эктомикоризах
использование в эрикоидных микоризах источники
количества, используемые грибными симбионтами арбускулярной микоризы
транспорт между растениями
Ортофосфат
см. также неорганический фосфор; фосфат

Орхидные
Орхидные микоризы
взаимодействие симбионтов в протокорме
выделение и идентификация симбионтов
колонизация протокормов
механизмы транспорта
паразитизм в ~
развитие семени и протокорма
распространение
транспорт питательных веществ в ~
у взрослых орхидных
у протокормов
характеристика
см. также микогетеротрофные орхидные
Орхинол
Основные аминокислоты
Ответные реакции растений на фосфор
Отделенные микоризы
Отношение корень: побег
Отношение углерод: азот
Отношения «лучших друзей»
см. также специфичность
Отрицательные ростовые ответные реакции
Отток веществ
Палеонтологические данные
арбускулярные микоризы
мохообразные
эктомикоризы
Папоротники
Параметры кинетики поглощения
K_m V_{max} поглощения
Параризодермальная сеть Гартига
Паразитизм
в орхидных микоризах
у микогетеротрофов
см. также континуум мутуализм-паразитизм
Паразиты
грибные
эпипаразиты
Патогены
биологический контроль
в орхидных микоризах
взаимодействия с микоризными грибами и эндофитами
темные септированные грибы
удаление ~
см. также токсичность
Пектиназы
Пелотоны
у зеленых орхидных
у микогетеротрофных орхидных
Пентозофосфатный путь
Пептиды
полипептиды
Пептон
Первичная сукцессия
Переваривание
Периарбускулярная мембрана (ПАМ)
Перидий
Периризодермальная сеть Гартига
Пероксидазы
Пестициды
см. также фунгициды
Песчаные дюны
арбускулярные микоризы
мицелиальные сети
первичная сукцессия на ~
эктомикоризы
Печеночные мхи
грибные симбиозы
структуры грибных симбиозов
см. также мохообразные; споровые наземные растения
Питание растений, влияние АМ грибов
см. также питательные вещества
Питательные вещества
в орхидных микоризах
см. также азот; калий; кальций; магний; фосфор; цинк
в эктомикоризах
микоризные и немикоризные растения
мобилизация ~
распространение по мицелиальным сетям
см. также общие мицелиальные сети
роль арбускул в транспорте минеральных веществ и углерода
роль внутриклеточных гифальных клубков в транспорте минеральных веществ и углерода
транспорт ~ между растениями
см. также Главу 16
эктомикоризы и транспорт питательных веществ
Питомники растений
Пластиды
Плектенхиматический чехол
Плодовые культуры
Плодовые тела
и обогащение азотом
и первичная сукцессия
образование
см. также плодоношение
Плодоношение
образование плодовых тел
см. также плодовые тела
Поглощение питательных веществ, участие ферментов
Поглощение фосфора
в арбускулярных микоризах
в бореальных почвах
в дождевых лесах
в эктомикоризах
в эрикоидных микоризах

и анализ выгоды-затрат
и мицелиальные сети
обилие гиф
роль свободного мицелия
у культурных растений
эффективность
см. также питательные вещества; процессы мембранного транспорта; транспортеры питательных веществ
Поддержание грибных популяций
Подземные плодовые тела
Подкисление и высвобождение питательных веществ
Подстилка
разложение
Покрытосеменные
дивергенция
микоризное состояние
микоризообразование
происхождение
строение зрелой сети Гартига
филогения и микоризообразование
Полевой шпат
Полиморфизм длины рестрикционных фрагментов (RFLP)
Полипептиды
Полисахариды
см. также гликоген; крахмал; целлюлоза
Полифосфат (полиР)
Последовательная культура
Почва
доступность фосфора в ~
загрязнение металлами
и типы микориз
изоляция С
органическое вещество в ~
поглощение азота из ~
поглощение питательных веществ из ~
поглощение фосфора из ~
типы
Пояски Каспари
Преколонизационные события
арбускулярные микоризы
эктомикоризы
Прибрежные сообщества *см.* песчаные дюны
Прирост биомассы
в арбускулярных микоризах
в эктомикоризах
в эрикоидных микоризах
культурных растений
см. также рост; биомасса
Проводимость
гидравлическая
устьичная
Программируемая клеточная смерть
и первичная сукцессия
см. также гифы; мицелий; споры; фрагменты корня
Продукты фотосинтеза
Прозенхиматический чехол
Пропагулы
Прорастание
АМ спор и рост гифы
асимбиотическое, у семян зеленых орхидных
грушанковых
корневых паразитов
микогетеротрофов
симбиотическое
у вересковых растений
у зеленых орхидных
эктомикоризных спор
Pyrolae
Протеиназы
Протеомика
Протокормы (у орхидных)
взаимодействия симбионтов в ~
микогетеротрофных орхидных
микоризная колонизация
питание
развитие
Протопласты
Профили транскрипции
Процент колонизации в арбускулярных микоризах
влияние факторов окружающей среды
Процессы мембранного транспорта
и перемещение фосфора
см. также кинетические параметры поглощения; транспортеры питательных веществ
Прямой путь поглощения питательных веществ
Псевдомикоризы
Псевдопаренхиматический чехол
грибные шпильки
Птиофагия
Пшеница (*Triticum*)
см. также злаки
Пылевидные семена
микогетеротрофы
орхидные
Пыльца
Разведывательные стратегии микориз
Разветвленные абсорбирующие структуры
Разнообразие *см.* структурное разнообразие; функциональное разнообразие; фенотипическое разнообразие; разнообразие растений
Разнообразие растений
Распределение видового обилия
Распределение углерода в подземной части сообщества
Растительноядные животные

Растительные сообщества
Рациональное землепользование
Ризодермальная сеть Гартига
Ризодермальные клетки
  клеточные стенки
  эктомикоризная колонизация
Ризоморфы
  клубеньки и ~
  процесс образования
  разведывательные стратегии
    близкой дистанции
    длинной дистанции
    контактная
    «на закорках»
    средней дистанции
  различные типы
  стадии развития
  строение
Ризосфера
  микоризосфера
  см. также зоны истощения;
  микроорганизмы
Рибосомальные гены большой субъединицы
РНК
  интерференция
  рРНК последовательности
Роговая обманка
Рост
  зависимость
  ответные реакции
  подавление
  см. также восприимчивые растения;
  гифальный рост; континуум мутуализм-
  паразитизм; невосприимчивые растения;
  ответные реакции на Р; рост корня
Рост корней
  и арбускулярные микоризы
  и факторы окружающей среды
  и эктомикоризы
  см. также обилие корней
Ростковая трубка
Садоводство
Сапротрофный рост
Сапротрофы
Сапрофиты
  см. также микогетротрофы
Сахара
  и прорастание спор АМ грибов
  транспорт
  см. также гексозы; глюкоза;
  полисахариды; сахароза; трегалоза;
  фруктоза
Сахароза
Свинец
Свободный мицелий
  в эктомикоризах
  и использование углерода
  и образование спор
  обилие в почве
  поглощение азота
  поглощение и транспорт воды
  поглощение меди
  поглощение питательных веществ
  поглощение фосфора
  рост
  транспорт липидов
  см. также общие мицелиальные сети;
  ризоморфы
Сезонность
  в сухих тропиках
  и спороношение
  и транспорт углерода
  поглощения фосфора
  распределения углерода
  см. также температура
Секвенирование генома
  варианты последовательностей
  эктомикоризные грибы
Сельское хозяйство
  агротехнические мероприятия
  арбускулярные микоризы в ~
  см. также инокуляция; культуры;
  фунгициды; удобрения
Септированные грибы
  симбиозы
  см. также темные септированные грибы
Сеть Гартига
  арбутоидные микоризы
  в эктомикоризах
  в эктэндомикоризах
  развитая ~
  развитие
  строение зрелой ~
Сигмовидные кривые
Сигнальные молекулы
Сигнальные пути
Сидерофоры
Сила поглощения
Симбиотическая зона контакта
  см. также межфазный апопласт
Симбиотическая эффективность, сочетания
симбионтов
Симбиотическое прорастание
Системная инфекция
Скорость транспирации
Слюда
Смешанная колонизация корней
Совмещенная культура
Соевые бобы
Соленость
Состояние
  грибного симбионта
  растения
Специфичность *см.* экологическая

специфичность; специфичность симбионтов; таксономическая специфичность
Специфичность симбионтов
  арбускулярные микоризы
  микогетеротрофы
  монотропоидные микоризы
  орхидные микоризы
  эктомикоризы
  эрикоидные микоризы
  см. также таксономическая специфичность; экологическая специфичность
Споровые наземные растения
  см. также мохообразные; мхи; печеночные мхи
Споры
  встречаемость
  грибов арбускулярной микоризы
  грибов эктомикоризы
  как источник инокулюма
  образование
  прорастание
  распространение и распределение
  стенки ~
  ядра
Среды без почвы
Старение
Стела
Стратегия близкой дистанции
  см. также ризоморфы
Стратегия длинной дистанции
  ризоморфы
Стратегия поиска «на закорках»
  см. также ризоморфы
Стратегия средней дистанции
  ризоморфы
Стриголактоны
Структура почвы
  и агрегаты
  и гифы
  и уплотнение
    см. также гломалин
Структурное разнообразие
  см. также фенотипическое разнообразие; *Arum*-тип микоризы; *Paris*-тип микоризы
Суберин
Субтропические биомы
Сукцессионные процессы
  микоризы во вторичных сукцессиях
  микоризная колонизация в ~
Сукцинатдегидрогеназа
Супероксиддисмутаза
Суперфосфат
Сухие тропики
Съедобные микоризные грибы
Таксономическая специфичность
Таксономия *см.* филогения
Талломы
Таннин
Телеоморфы
Темные септированные (ТС) грибы
  на высокогорьях и в высоких широтах
Температура
  влияние на колонизацию
  глобально потепление
  и колонизация в эрикоидной микоризе
  оледенение
  различия в транспорте фосфата
  см. также сезонность
Тепличная культура
Тесты на вегетативную несовместимость
Тетраполярные системы скрещивания
Тиобензидол
  см. также фунгициды
Ток цитоплазмы
Токсичность
  токсичных элементов
  тяжелых металлов
  фитоалексинов
  см. также патогены
Толипофагия
Томат (*Solanum*)
  мутант с пониженной микоризной колонизацией (*rmc*)
  урожайность
  эксперимент со смесью видов
Точки проникновения
Травянистые растения
  АМ колонизация
  вторичная колонизация
  грибные сообщества
  межвидовая конкуренция
  процент колонизации
  развитие арбускул
  цикл арбускул
  см. также злаки; луг
Транспорт питательных веществ между растениями
  см. также общие мицелиальные сети
Транспорт углерода
  в арбускулярных микоризах
  в дождевых лесах
  в эктомикоризах
  к грибному партнеру
Транспортеры питательных веществ
  аминокислот
  аммония
  нитрата
  пептидов
  сахаров
  фосфата
  цинка
Транспортный поток
  между симбионтами

Трегалоза
Тройной симбиоз
см. также азотфиксация; образование клубеньков; микогетеротрофы
Тропические биомы
Трюфели
Тундра
Тяжелые металлы
в эрикоидных микоризах
и прорастание
механизмы устойчивости
токсичность
Углеводы
в орхидной микоризе
и микоризная колонизация
см. также гексозы; гликоген; глюкоза; крахмал; сахара; целлюлоза
Углекислый газ
и арбускулярно-микоризная колонизация
и эктомикоризная колонизация
и эрикоидно-микоризная колонизация
повышенное содержание
см. также глобальное потепление; изменение климата
Углерод
в эктомикоризах
метаболизм
не связанное с питанием влияние на ассимиляцию
поступление к эктомикоризным грибам
распределение в интактной системе гриб-растение
распределение в сообществе
у грушанковых
у микогетеротрофов
у орхидных
у симбионтов арбускулярной микоризы
у симбионтов эктомикоризы
Удобрения
влияние на колонизацию
влияние на рост АМ растений
стоимость и доступность
Умеренные леса *см.* бореальные леса
Уран
Устойчивость к болезням
Устьичная проводимость
Фактор ветвления
Факультативные микоризы
Фенилаланин-аммоний-лиаза
Фенолы
Фенотипическое разнообразие
см. также структурное разнообразие
Ферментативный горизонт
Ферменты
ассимиляции аммония
ассимиляции нитрата
в защитных реакциях растений
в орхидных микоризах
в процессах колонизации
гидролитические
и доступность фосфора
и транспорт азота
при формировании сети Гартига
эктомикоризных грибов
эрикоидных микориз
Феррикроцин
Филогения
грибов арбускулярной микоризы
грибов арбутоидной микоризы
грибов орхидной микоризы
грибов эктэндомикоризы
грибов эрикоидной микоризы
микогетеротрофов (и их грибных симбионтов)
орхидных
печеночных мхов
подъельниковых
растений с арбускулярной микоризой
растений с эктомикоризой
растений с эктэндомикоризой
растений с эрикоидной микоризой
таксонов грибов
таксонов растений
темных септированных грибов
эктомикоризных грибов
см. также по типам микориз
Фитат (инозитолфосфат)
Фитоалексины
Флавоноиды
Флогопит
Флуоресцентные псевдомонады
Флуоресценция
эпифлуоресценция
DAPI
Фосфат
гены транспортеров
железа
зоны истощения
каменный фосфат
накопление
пентозофосфатный путь
поглощение в арбускулярных микоризах
поглощение в эктомикоризах
полифосфат
транспорт
см. также ортофосфат; транспортеры питательных веществ; фосфор
Фосфатазы
в арбускулярных микоризах
в корнях
в орхидных микоризах
в эктомикоризах
в эрикоидных микоризах
см. также кислые фосфатазы; щелочные

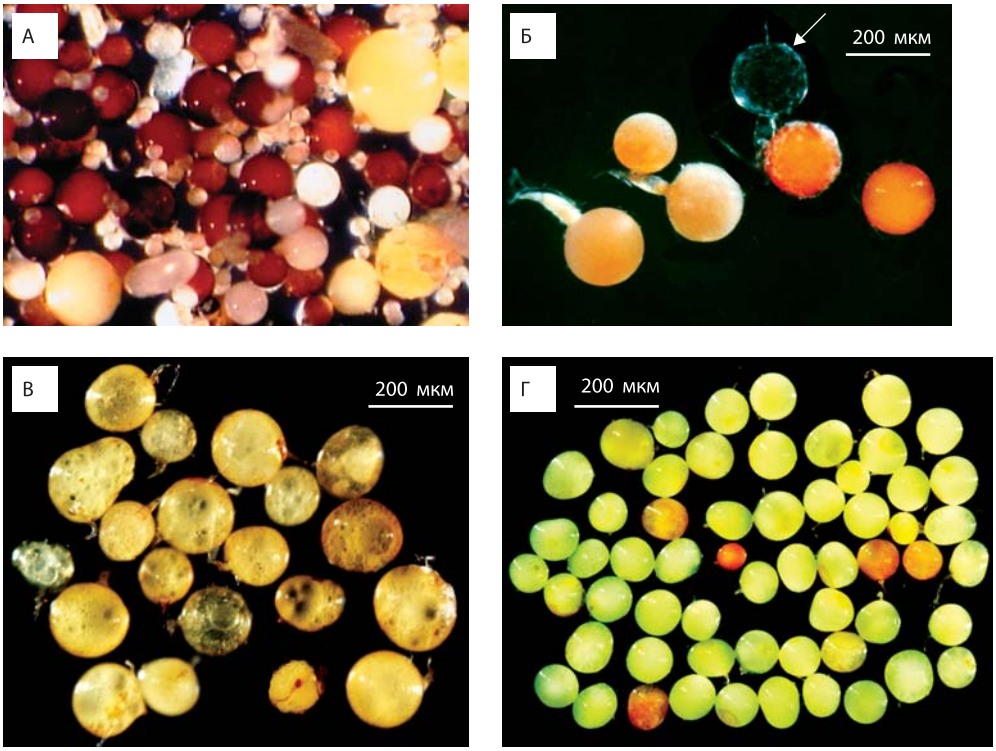
фосфатазы
Фосфодиэстеразы
Фосфодиэфиры
Фосфолипидные жирные кислоты
см. также арбускулярные микоризы
Фосфолипиды
Фосфомоноэстеразы
Фосфомоноэфиры
Фосфор
в орхидных микоризах
взаимодействия с микроэлементами
гены транспортеров
дефицит
доступность в почве
и микоризная колонизация
и мутации
и первичная сукцессия
и прорастание спор грибов
и токсичные элементы
и эктомикоризные симбионты
источники и мобилизация в почве
истощение в ризосфере
концентрация в листве
различия в потребностях
типы источников
транспорт между растениями
у грибов арбускулярной микоризы
см. также фосфат; органический фосфор; ортофосфат; неорганический фосфор
Фотосинтез
азот и фосфор в листве
микогетеротрофы
у АМ растений
у эктомикоризных растений
Фрагменты корней
Фруктоза
Фумигация
Фунгициды
см. также беномил/бенлат и др.
Функциональная продолжительность
Функциональная совместимость
Функциональное разнообразие
см. также восприимчивые растения; невосприимчивые растения; континуум мутуализм-паразитизм; структурное разнообразие
Халконсинтаза
Хелатирование
внеклеточное
внутриклеточное
Хитин
Хитиназы
Хламидоспоры
Хлоренвинфос
Хлорофилл
Хроматин
Цезий
Целлюлазы
Целлюлоза
Целлюфлуор
Цианобактерии
см. также Geosiphon, Nostoc
Цикл развития арбускул
Цикл трикарбоновых кислот
Цинк
Цитокинины
Цитологические изменения во время АМ колонизации
Цитоплазма
Цитоплазматическая мембрана
см. также периарбускулярная мембрана
Цитоплазматическая столбчатая структура
см. также аппарат, предваряющий проникновение
Чехол
в эрикоидных микоризах
использование в классификации
плектенхиматический
поглощение фосфора
псевдопаренхиматический
развитие
слои ~
типы
эктомикоризный
см. также сеть Гартига
Шаперон металлов
Щавелевая кислота
Щелочные фосфатазы
см. также фосфатазы
Экзодерма
Экологическая специфичность
см. также таксономическая специфичность; специфичность симбионтов
Экологические взаимодействия
см. также Глава15
Экономический анализ
Экссудаты корней
высвобождение питательных веществ и органические кислоты
и прорастание
ранние этапы колонизации
Эктомикоризины
Эктомикоризные грибы
генетика
контакт с корневой системой
поглощение питательных веществ
азот
калий
кальций
магний
фосфор
поступление углерода
распределение углерода между

симбионтами
распределение углерода, не связанные с питанием эффекты
система
съедобные
Эктомикоризные растения
водный баланс
калий
кальций
магний
поглощение P отделенными микоризами и немикоризными корнями
поглощение фосфата интактными растениями
усвоение азота в симбиозе
усвоение азота в чистой культуре
усвоение азота корнями и интактными растениями
Эктомикоризные сообщества
Эктомикоризы
в бореальных лесах
в дождевых лесах
в лесном хозяйстве
внутривидовая изменчивость и продуктивность леса
межвидовая конкуренция
микоризосфера
молекулярные методы изучения
на вересковых пустошах
роль в сукцессиях
вторичных
первичных
специфичность симбионтов
см. также арбутоидные микоризы; колонизация; эктэндомикоризы
Эктэндомикоризы
встречаемость и строение
характеристика
Электронная микроскопия
Эндомикоризы
Эндоплазматическая сеть
Эндофиты
в побегах
взаимодействия с микоризами
орхидные
патогены
с тонким мицелием
Clavicipitaceae
Эпакрисовые
Эпипаразитизм *см.* микогетеротрофы; тройной симбиоз
Эпипаразиты
Эпифиты
Эпифлуоресценция
Эргостерин
Эрикоидные микоризы
внутриклеточная колонизация
на вересковых пустошах
проникновение через растительную клеточную стенку
процесс колонизации
специфичность
физиология в чистой культуре
физиология симбиоза
Эффект выборки
Ядерный магнитный резонанс (ЯМР)
Ядра
АМ грибов
в гифах у Pyrola
в клетках АМ растений
в клетках орхидных
в клетках эктэндомикоризных растений
грибов орхидной микоризы
эктомикоризных грибов
Ячмень (*Hordeum*)

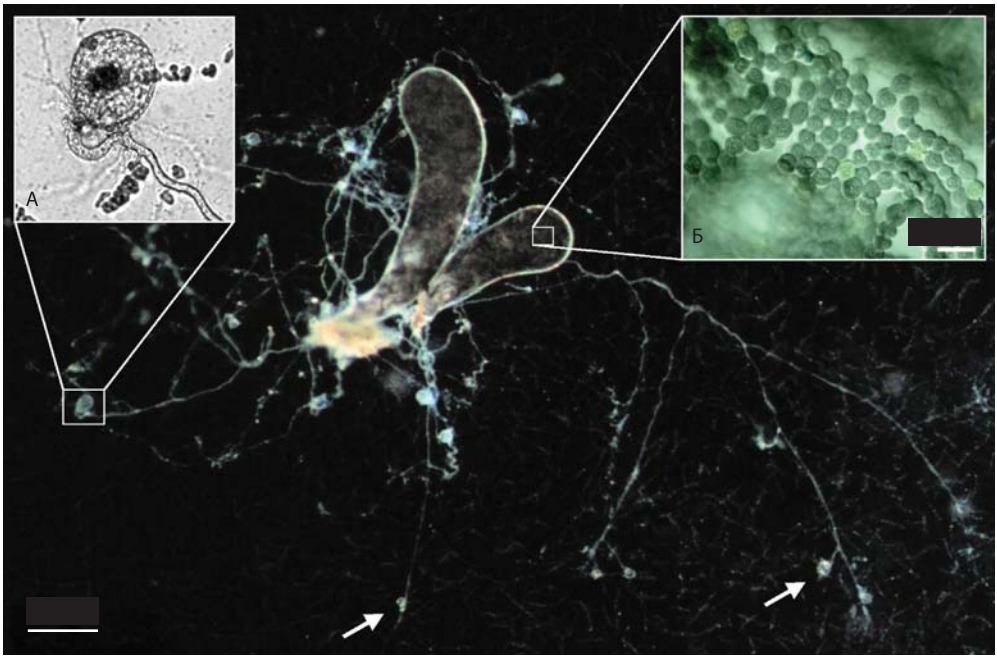
Acaulospora
Acaulosporaceae
Afrothismia
Allium
развитие колонизации
ранняя колонизация
углеродный транспорт
фосфор
Alnus
Amanitaceae
Amanita
Arum-тип микориз
арбускулы
единицы инфекции
защитные механизмы растений
мутанты
транспорт
Betula
поглощение азота
транспорт углерода
BLO *см.* бактериеподобные организмы
Boletus
Botrychium
Burmanniaceae
Calluna
Cantharellus
Citrus
Corallorhiza
Cryptothallus
Cucumis
Dactylorhiza
Ericaceae
Eucalyptus
в симбиозе с *Pisolithus*
грибные симбионты
инокуляция
поглощение азота
поглощение фосфора

ростовые ответные реакции
Fagus
поглощение азота
поглощение фосфора
углеродный обмен
фосфорный обмен
Gastrodia
Geosiphon
Gigaspora
колонизация
специфичность симбионтов
споры
Glomeromycota
генетическая организация
и печеночные мхи
симбиотическая специфичность
филогения
см. также Acaulospora, Gigaspora, Glomus, Scutellospora
Glomus
арбускулы
биомасса в корнях
генетика
защитное действие
колонизация
мицелий
палеонтологическая история
различия в восприимчивости растений
симбиотическая специфичность
споры
углеродный транспорт
фосфор
Goodyera
Hebeloma
инокуляция и лесное хозяйство
использование азота
климатическая адаптация
поглощение азота
Hyacinthoides
Hymenoscyphus комплекс
см. также Rhizoscyphus
In situ гибридизация
In vitro культура
арбускулярных микориз
гифальный рост в ~
орхидных
получение спор
физиологические исследования
эктомикориз
Monotropoideae
ITS (Internal Transcribed Spacer) участок
Laccaria
азотный метаболизм
секвенирование генома
Lotus
Lycopodium
Medicago
колонизация
молекулярно-генетические методы
поглощение фосфора
Monotropa
Mycelium radicis atrovirens
Myc факторы
Neottia
Nod факторы
Nostoc в симбиозе с Glomeromycota
см. Geosiphon
Orchis
Paris-тип микоризы
внутриклеточное развитие
защитные механизмы растений
Paxillus
поглощение азота
поглощение калия
поглощение магния
усвоение азота
pH
в бореальных почвах
в межфазном апопласте
и доступность фосфора
и микоризная колонизация
и протеиназная активность
и усвоение азота
Picea
поглощение азота
поглощение калия
поглощение магния
поглощение фосфора
распространение корней
эктомикоризы
Pinus
бактериальные популяции
межвидовая конкуренция
палеонтологические данные
поглощение азота
поглощение калия
поглощение магния
поглощение питательных веществ
поглощение фосфора
эктомикоризы
эктэндомикоризы
Pisolithus
арбутоидные микоризы
в программах инокуляции
в симбиозе с *Eucalyptus*
инокуляция
поглощение азота
поглощение фосфора
Plantago
Populus
Pseudotsuga
Pterospora
грибные шпильки
Pyrola

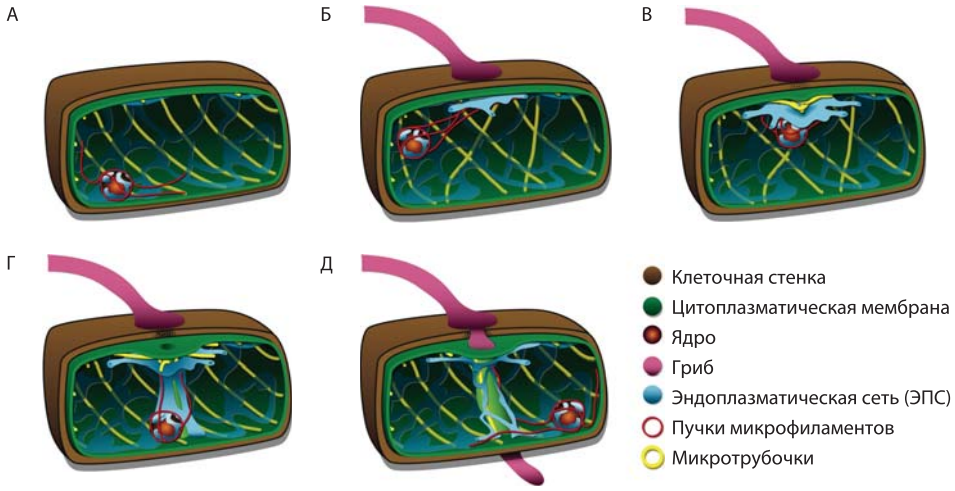
ультраструктура микоризованных корней
Quercus
Rhizoctonia
выделение и идентификация
колонизация протокормов
специфичность
Rhizopogon
монотропоидные микоризы
эктомикоризы
Rhizoscyphus
исследование в чистой культуре
физиология симбиоза
филогения
см. также Hymenoscyphus
Rhododendron
Salix
первичная сукцессия
распределение углерода
Sarcodes
Scutellospora
Sebacina
Suillus
поглощение азота
поглощение калия
поглощение фосфора
SYM путь
см. также образование клубеньков; общий SYM путь
Thelephora
Tomentella
Trifolium
питание растений
поглощение фосфора
Tuber
Vaccinium
Voyria



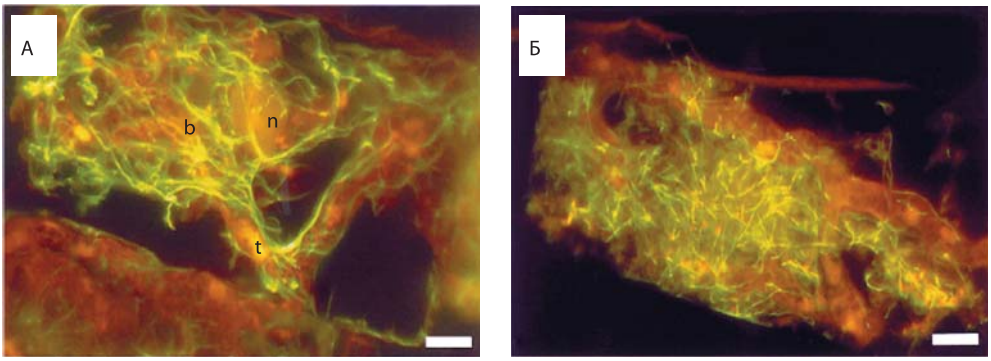
Приложение 1.1. А — споры девяти видов АМ грибов, собранные на лугу, возникшем на месте заброшенного агроценоза. Воспроизведено из Bever et al., 2001 (Arbuscular mycorrhizal fungi: more diverse than meets the eye, and the ecological tale of why. *Bioscience* **51**, 923–931, права принадлежат Американскому институту Биологических наук, с разрешения). Б — споры *Acaulospora laevis.* К споре крепится прозрачный спороносный мешочек (отмечено стрелкой). В — споры *Glomus mosseae.* Г — споры *Gigaspora gigantea.* Фото Б, В и Г любезно предоставлены Д. Мортоном.



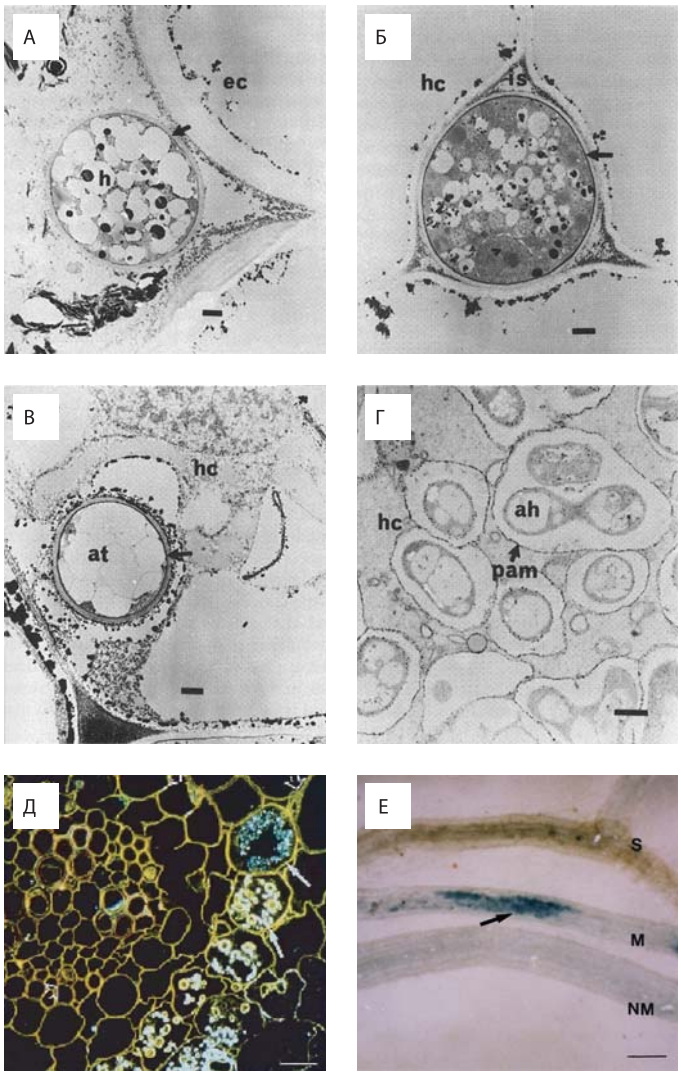
Приложение 1.2. *Geosiphon pyriformis*, почвенный гриб из гломеромицетов, образующий эндосимбиоз с цианобактерией и формирующий в *in-vitro* культуре микоризоподобную ассоциацию. А — спора и гифа *G. pyriformis*; Б — цианобактериальный симбионт; В — пузыревидные структуры *G. pyriformis* с отходящим от них свободным мицелием. Из Schüßler, Wolf, 2005: *Geosiphon pyriformis* – a glomeromycotan soil fungus forming endosymbiosis with Cyanobacteria, в *In Vitro Culture of Mycorrhizas.* Eds S Declerck, DG Strullu, JA Fortin pp. 272–289, с любезного разрешения Springer Science and Business Media.



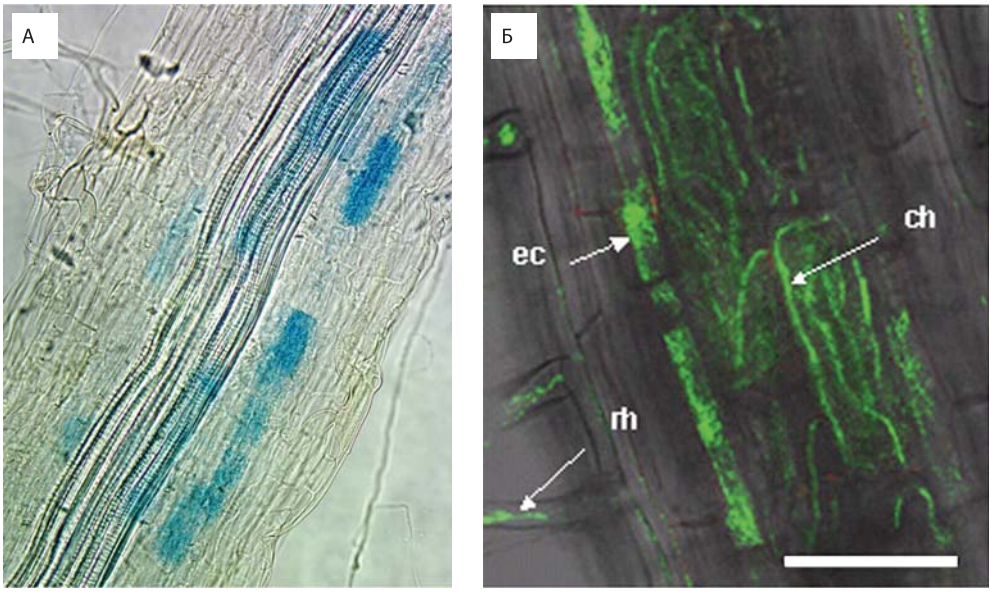
Приложение 3.1. Образование аппарата, предваряющего проникновение (АПП), способствующего прохождению АМ грибов через клетки ризодермы корня. А — клетка ризодермы до контакта с грибным партнером. Отмечено ядро, занимающее периферическое положение, расположение элементов цитоскелета и эндоплазматической сети (ЭПС). Б — образование аппрессориев на наружной поверхности клетки растения-хозяина приводит к серьезным изменениям в расположении микротрубочек, пучков микрофиламентов и ЭПС, с чем связано движение ядра к поверхности аппрессория. В, Г — образование временного АПП в цитоплазматической столбчатой структуре и последующая миграция ядра через клетку. Д — АМ гифа проникает через клеточную стенку и проходит сквозь ризодермальную клетку по апопластному компартменту, образованному столбчатой структурой. Обозначения различных структур см. в легенде. Любезно предоставлено А. Жанром.



Приложение 3.2. Расположение микротрубочек в клетках *Nicotiana tabacum*, содержащих арбускулы *Gigaspora margarita*. А — пучки микротрубочек, проходящие через ветви арбускулы (b), вдоль ствола арбускулы (t) и около ядра (n). Б — более короткие пучки видны среди ветвей арбускулы, соединяя их между собой. Масштаб 10 мкм. Из Genre, Bonfante, 1998, с разрешения.

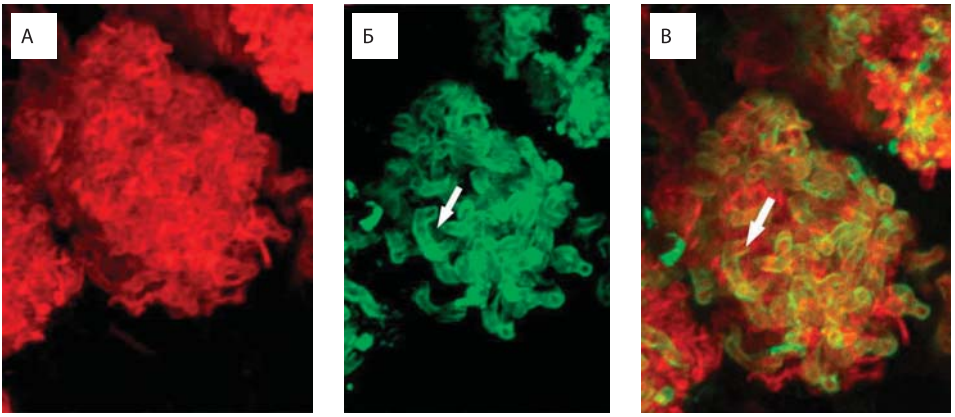


Приложение 4.1. А–Г — структуры арбускулярной микоризы *Allium cepa* и *Glomus intraradices*. Трансмиссионная электронная микроскопия. Срезы корня были фиксированы и окрашены для выявления АТФазной активности по отложению тонкого электроноплотного осадка фосфатов. А, Б, В — без ингибиторов; Г — в присутствии молибдата, ингибирующего неспецифичные фосфатазы, но не H^+ -АТФазы. А — свободная гифа на поверхности корня; Б — межклеточная гифа; В — стволовая гифа арбускулы в клетке коры; Г — тонкие ветви арбускулы в клетке коры. Стрелками показано наличие АТФазной активности на грибной (А–В) и растительной (Г) мембранах. Масштаб 0,5 мкм. Рисунки воспроизведены из Smith, Smith, 1996, с разрешения. Оригиналы рисунков: А–В — В. Джанинацци-Пирсон (V. Gianinazzi-Pearson), неопубликованное; Г — из Gianinazzi-Pearson et al., 1991. Д — поперечный срез корня *Nicotiana tabacum*, колонизированного *Glomus fasciculatum*. Иммунолокализация H^+-АТФазы (яркое серебристое свечение) в клетках коры корня, содержащих арбускулы (сплошные стрелки),



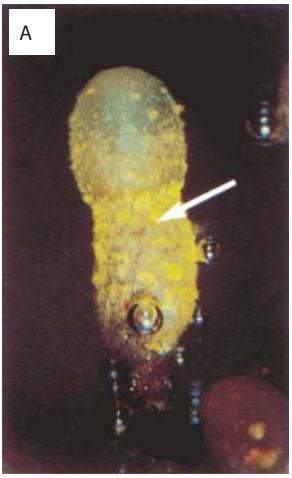
Приложение 5.1. Специфичная к типу клеток промоторная активность индуцируемых микоризой Pht1 транспортеров. А — гистохимическое окрашивание для выявления GUS активности в корнях *Medicago truncatula* при слиянии *MtPT4* промотор-UidA. Синее окрашивание показывает активность GUS, ассоциированную с арбускулами *Arum*-типа *Glomus versiforme*. Изображение любезно предоставлено М. Харрисон. Б — волосовидный корень *Solanum tuberosum*, трансформированный *StPT3* промотор-«Fluorescent Timer» химерным геном. Конфокальная микроскопия. Зеленое свечение, возникающее под действием « Fluorescent-Timer», в клетках, колонизированных гифальными клубками Paris-типа *Gigaspora margarita*. rh, корневые волоски; ec, клетки ризодермы; ch, спиральные гифы. Воспроизведено из Karandashov et al., 2002) *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **101**, 6285–6290. Права принадлежат Национальной академии наук США.

световая микроскопия. В неколонизированных клетках коры или в стеле сигнал отсутствует (контурные стрелки). Масштаб 15 мкм. Е — активность GUS в содержащих арбускулы клетках недавно колонизированного участка корня (М) *N. tabacum* трансформированного *pma4*-gusA конструктом (стрелкой отмечено синее окрашивание). Никакой активности GUS не было отмечено в немикоризных корнях (NM) или в корнях, содержащих стареющие арбускулы (S). Масштаб 0,5 мм.



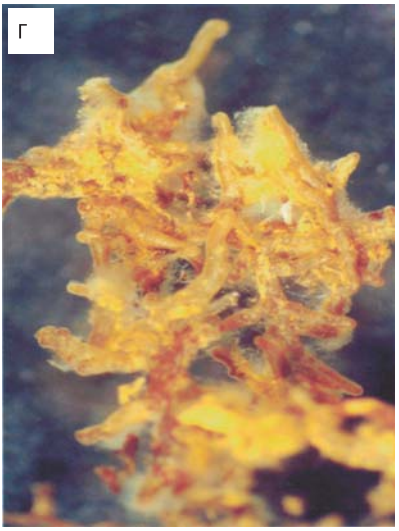
Приложение 5.2. Иммунолокализация MtPT4 в корнях *Medicago truncatula*, колонизированных *Glomus versiforme*. Конфокальная микроскопия. Корни прозондированы антителами, специфичными к MtPT4, они были визуализированы посредством вторичных антител, связанных с AlexaFluor 488 (зеленое свечение). Контрастирующее окрашивание корней для выявления грибных структур проведено красителем WGA-Texas red (красное свечение). А — арбускулы, окрашенные WGA-Texas red. Б — зеленое свечение, показывающее MtPT4, окружающее ветви арбускулы (отмечено стрелкой). В — объединенные изображения красного и зеленого свечения. Изображение любезно предоставлено М. Харрисон.

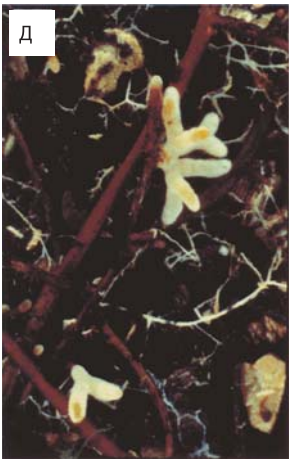
Приложение 6.1. Эктомикоризные окончания, образованные различными грибными симбионтами. А — микориза, образованная *Russula ochroleuca* и елью (*Picea abies*) с характерными зеленовато-желтыми участками (отмечено стрелкой) ×44. Из Agerer, 1987–2002, с разрешения. Б — неправильно разветвленное скопление микоризных корней бука (*Fagus sylvatica*) в симбиозе с *Lactarius subdulcis*. ×10. Из Agerer, 1987–2002, с разрешения. В — микоризное окончание *Piceirhiza bicolorata*-типа у ели (*Picea abies*) ×20. Из Agerer, 1987–2002, с разрешения. Г — скопление микоризных корней пробкового дуба (*Quercus suber*) в симбиозе с *Sebacina* sp. ×5. Из Azul et al., 2006. Д — дихотомически разветвленные микоризные корни сосны (*Pinus* sp.) в симбиозе с *Rhizopogon idahoensis* ×6. Любезно предоставлено Р. Молиной. Е — срез двух клубеньковых микоризных окончаний *Pinus* sp. в симбиозе с *Rhizopogon*, видны плотные скопления отдельных эктомикоризных корней, заключенные в оболочку из мицелия, ×3. Любезно предоставлено Б. Заком.


А

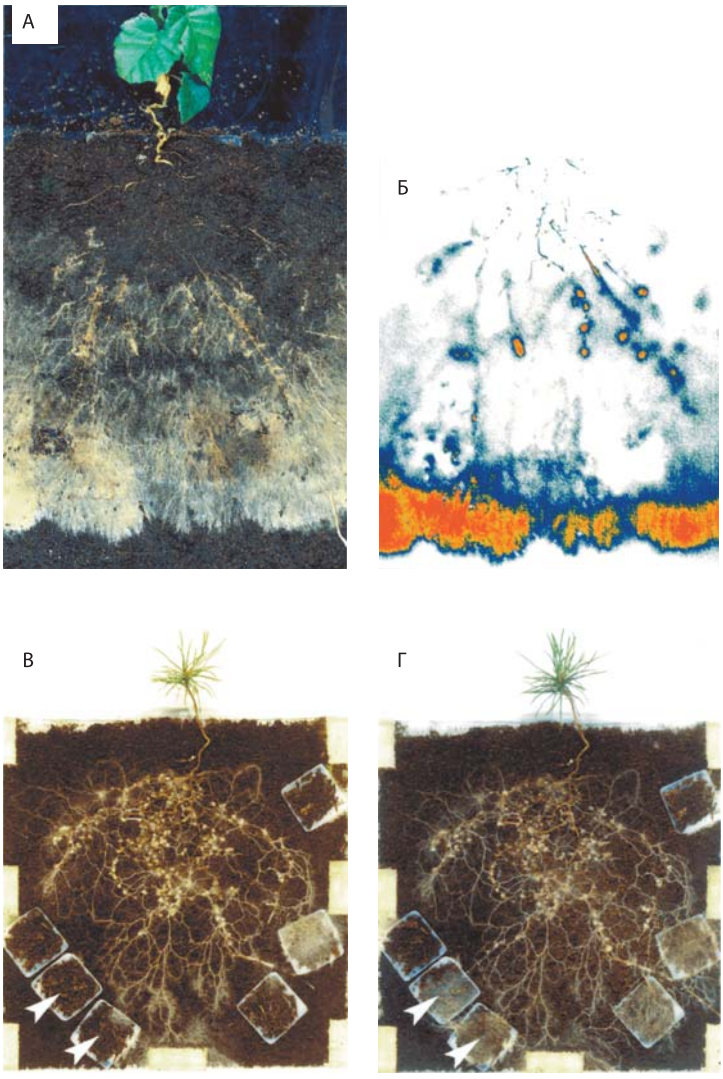
Б

В

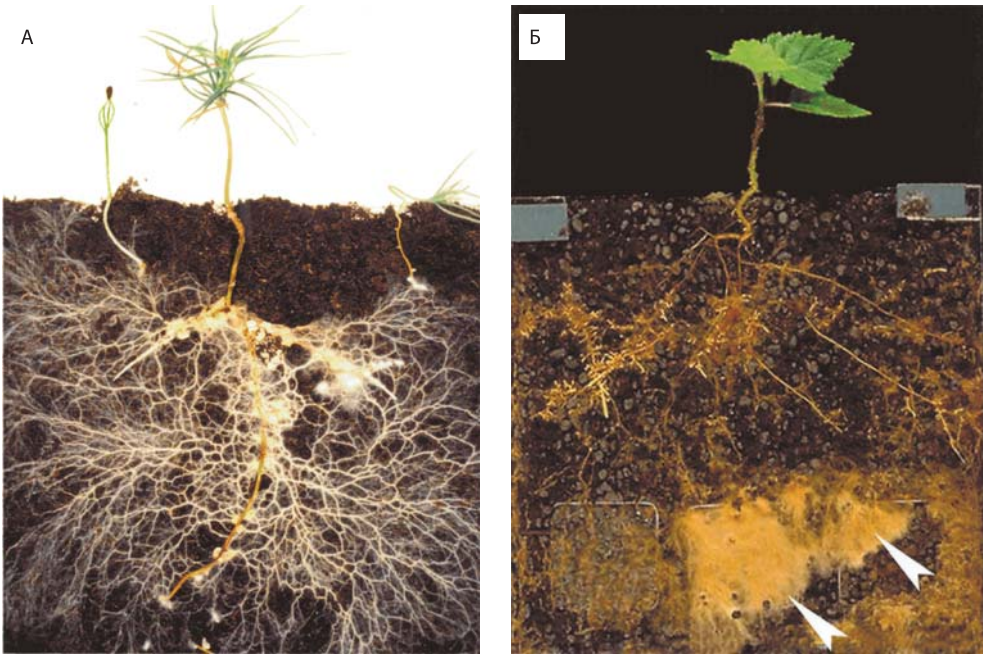

Г


Д

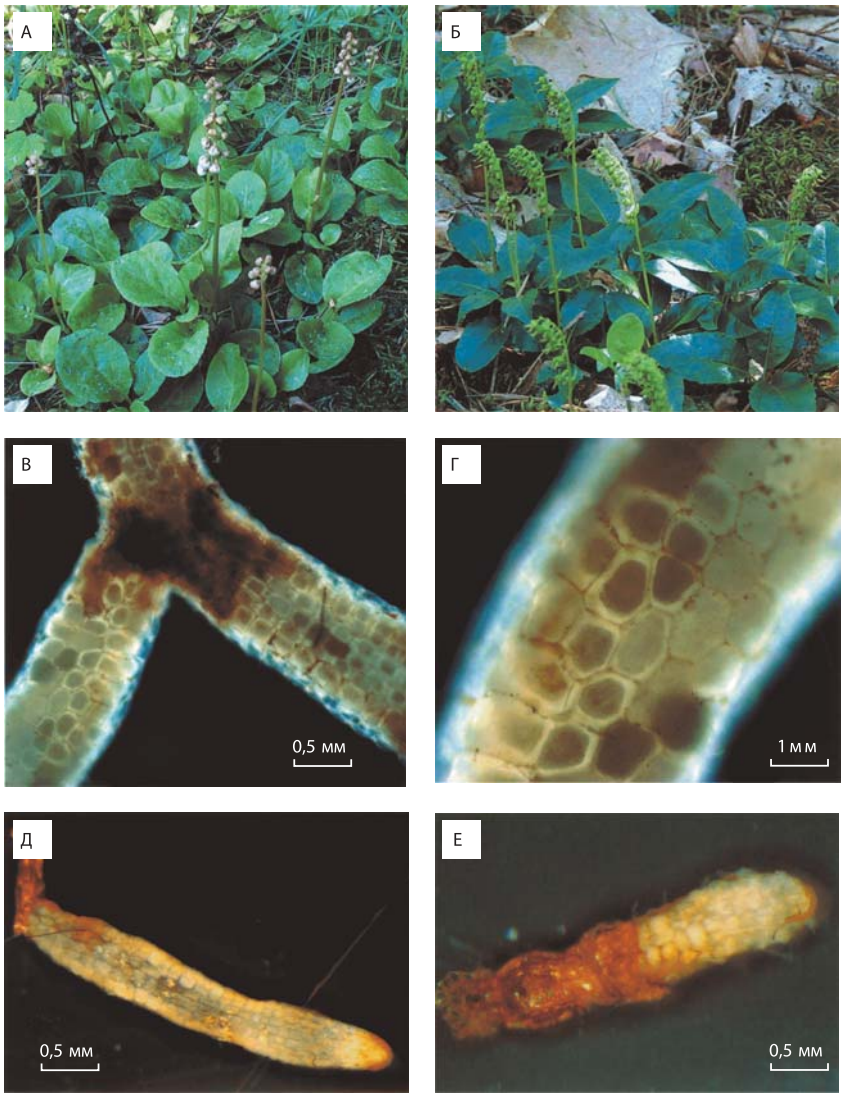
Е



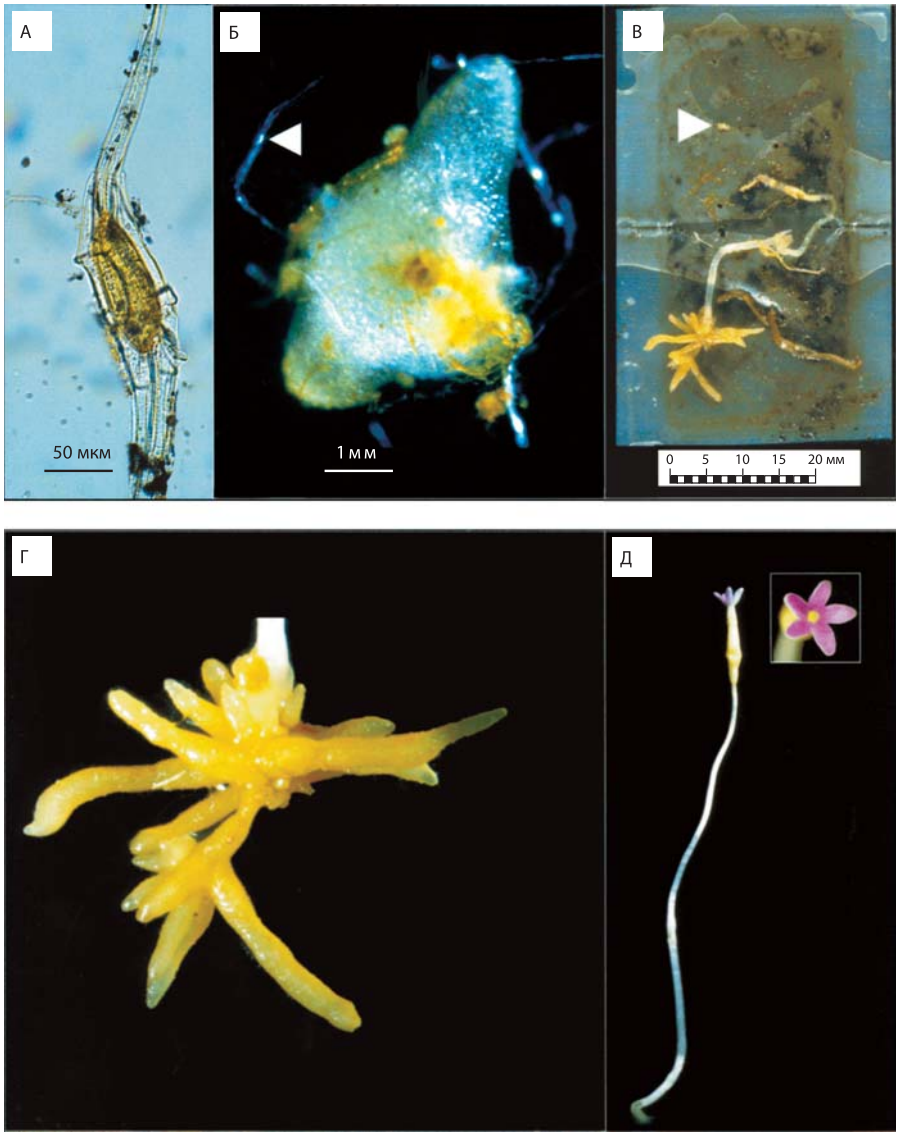
Приложение 6.2. Эктомикоризный вееровидный мицелий. А — вееровидный мицелий *Paxillus involutus* на субстрате из гомогенизированного торфа в микрокосме, отрастающий от корней березы (*Betula pendula*). В нижней части виден растущий гифальный фронт. Любезно предоставлено Дж. Ликом. Б — цветная лазерная сканирующая авторадиограмма микрокосма с рисунка (А), сделанная через 48 ч после внесения $^{14}CO_2$ в побеги *Betula*. Показано избирательное распределение и накопление углерода (красное окрашивание) в микоризных корнях и растущем крае мицелия. Любезно предоставлено Дж. Ликом. В — вееровидный мицелий *Suillus bovinus* на субстрате из гомогенизированного торфа, отрастающий от корней *Pinus sylvestris*. Растущий гифальный фронт соприкасается с поддонами, содержащими относительно богатое элементами питания органическое вещество, собранное из ферментативного горизонта (FH) лесной почвы (отмечено стрелками внизу слева). Из Bending, Read, 1995a. Г — тот же микрокосм, что и на рисунке (В) через 40 дней, видно активное использование мицелием *S. bovinus* веществ из FH (отмечено стрелками). Из Bending, Read, 1995a.



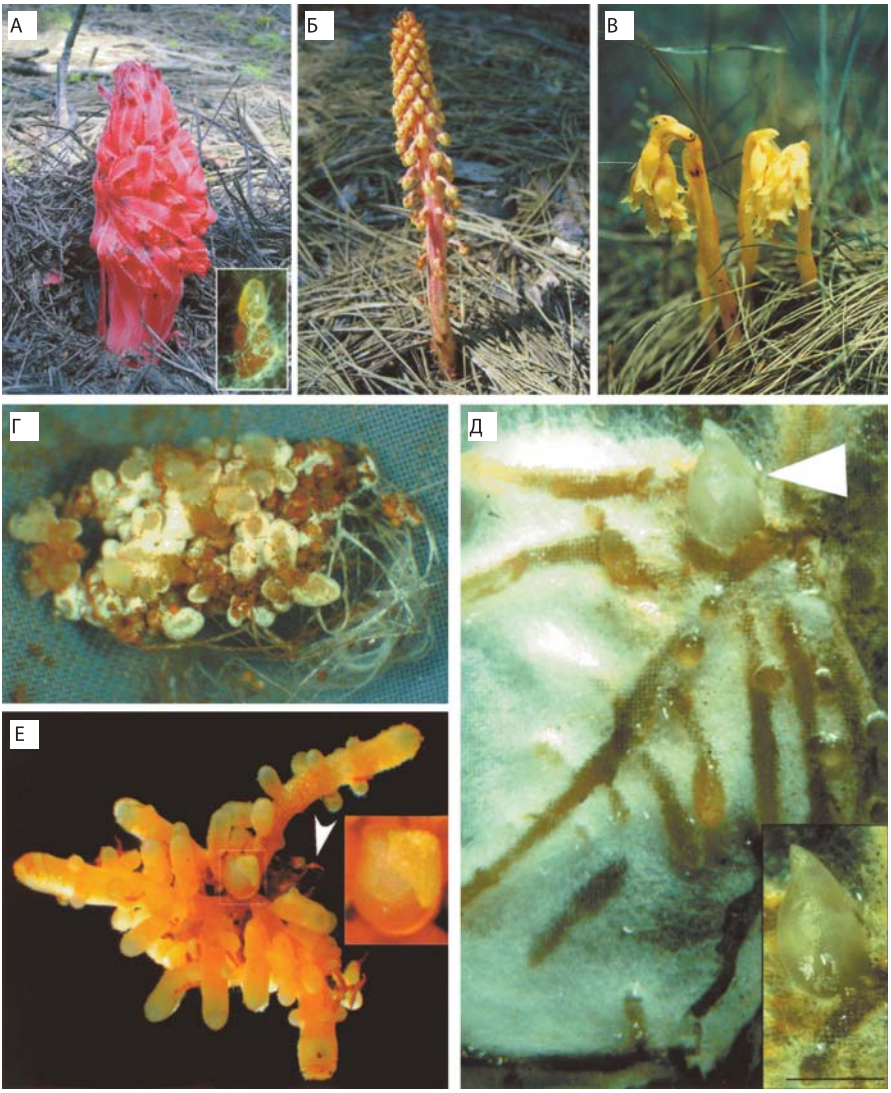
Приложение 6.3 А — обширная поисковая система, состоящая из ризоморф *Suillus bovinus* в симбиозе с *Pinus sylvestris*. Гифальный фронт контактирует с развивающимися сеянцами сосны, находящимися слева и справа от более зрелой особи, и начинает формирование микоризы, включая новые растения в общую мицелиальную сеть. Из Read, 1991c, с разрешения. Б — микоризы березы (*Betula pendula*) в симбиозе с *Paxillus involutus*. Верхняя часть микрокосма содержит смесь гомогенизированного торфа с инертными пластиковыми гранулами, в то время как в нижнюю помещены поддоны с мортмассой животных в качестве дополнительного источника питательных веществ (отмечены стрелками) или с торфом. Обратите внимание на активную пролиферацию гиф *Paxillus* в поддонах с мортмассой. Из Perez-Moreno, Read, 2001b.



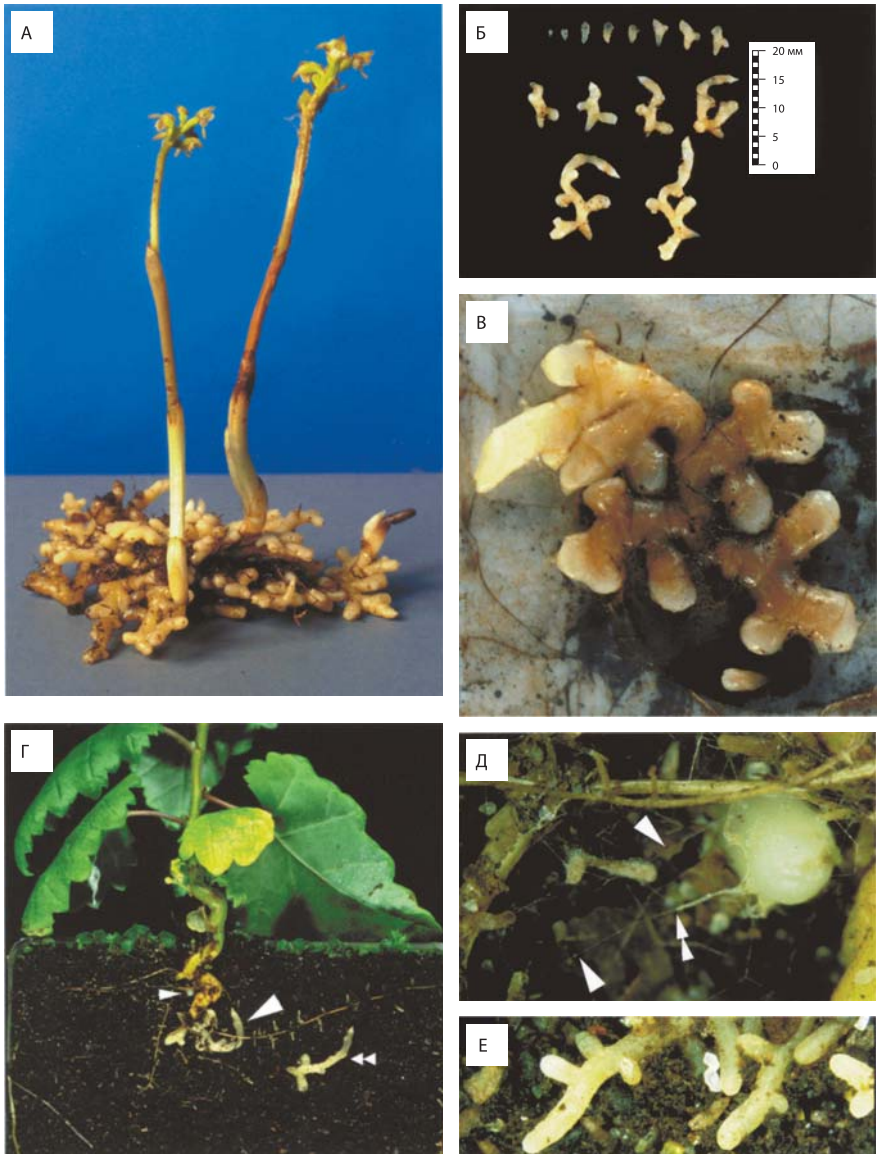
Приложение 7.1. А — побеги и цветоносы вида *Pyrola minor* (Pyrolae-Ericaceae), обитающего под пологом леса, образованного *Pinus sylvestris*. Любезно предоставлено К. Циммер. Б — побеги и цветоносы вида *Orthilia secunda* (Pyrolae-Ericaceae), обитающего под пологом смешанного леса. Любезно предоставлено К. Циммер. В — микоризованный корень *P. minor* без чехла с ризодермальными клетками, густо заполненными внутриклеточными клубками гиф. Световая микроскопия. Любезно предоставлено К. Циммер. Г — аналогично (В), но корень принадлежит *O. secunda*. Любезно предоставлено К. Циммер. Д — проросток *O. secunda*, появляющийся из семенной оболочки (на фото справа, коричневая окраска), полученный в семенном пакете. Плотные белые скопления в ризодермальных клетках представляют собой гифальные комплексы, образованные *Sebacina* sp. Фото и идентификация грибного симбионта — М. Бидартондо. Е — проросток *Pyrola chlorantha*, появляющийся из семенной оболочки (коричневая окраска) с ризодермальными клетками, обильно колонизированными *Sebacina* sp. Фото и идентификация грибного симбионта — М. Бидартондо.



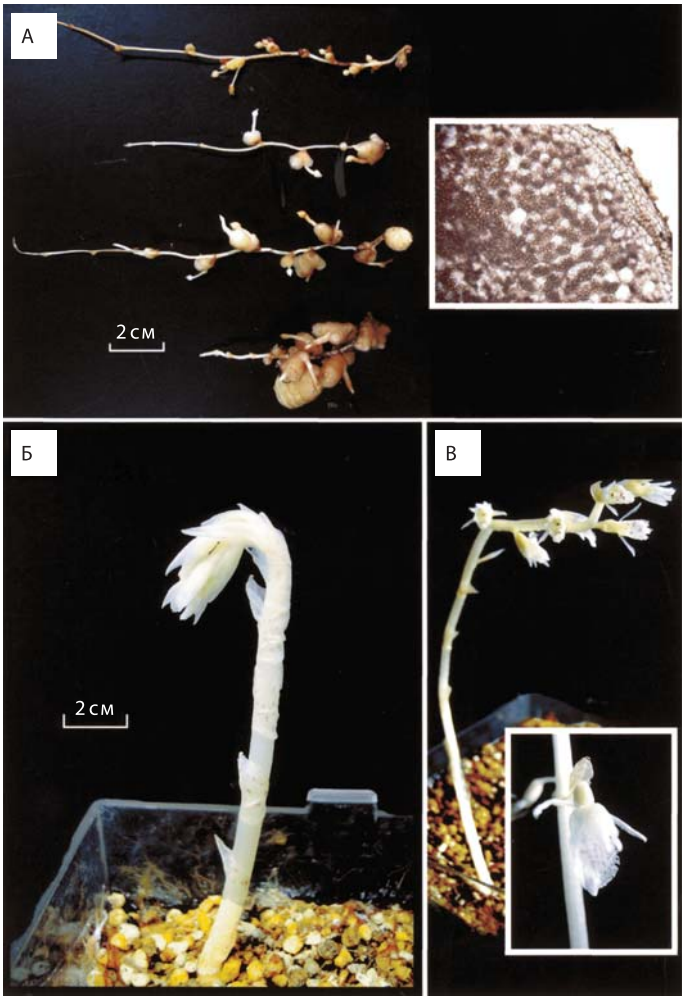
Приложение 13.1. Прорастание семени и развитие микогетеротрофного растения *Voyria tenella* (Gentianaceae) при симбиозе с *Glomus* spp. в семенных пакетах в тропическом дождевом лесу (Французская Гвиана, Южная Америка). А — непроросшее семя с волосковидными придатками, обеспечивающими плавучесть. Семена этого растения самые мелкие среди всех известных у высших растений. Б — проросток на ранней стадии развития. Сильно отражающие свет филаменты — непроросшие семена. Горизонтальная стрелка указывает на зародыш. В — полностью развитое растение с корнями, побегом и бутоном, сформировавшееся через 12 месяцев после того, как семена были высажены в естественном местообитании вида. Горизонтальная стрелка указывает на зародыш, отмеченный на рисунке Б. Г — корневая система растения. Д — полностью развитый побег с цветком (выноска). Обратите внимание на полное отсутствие листьев. Любезно предоставлено Дж. Ликом и С. МакКендрик.



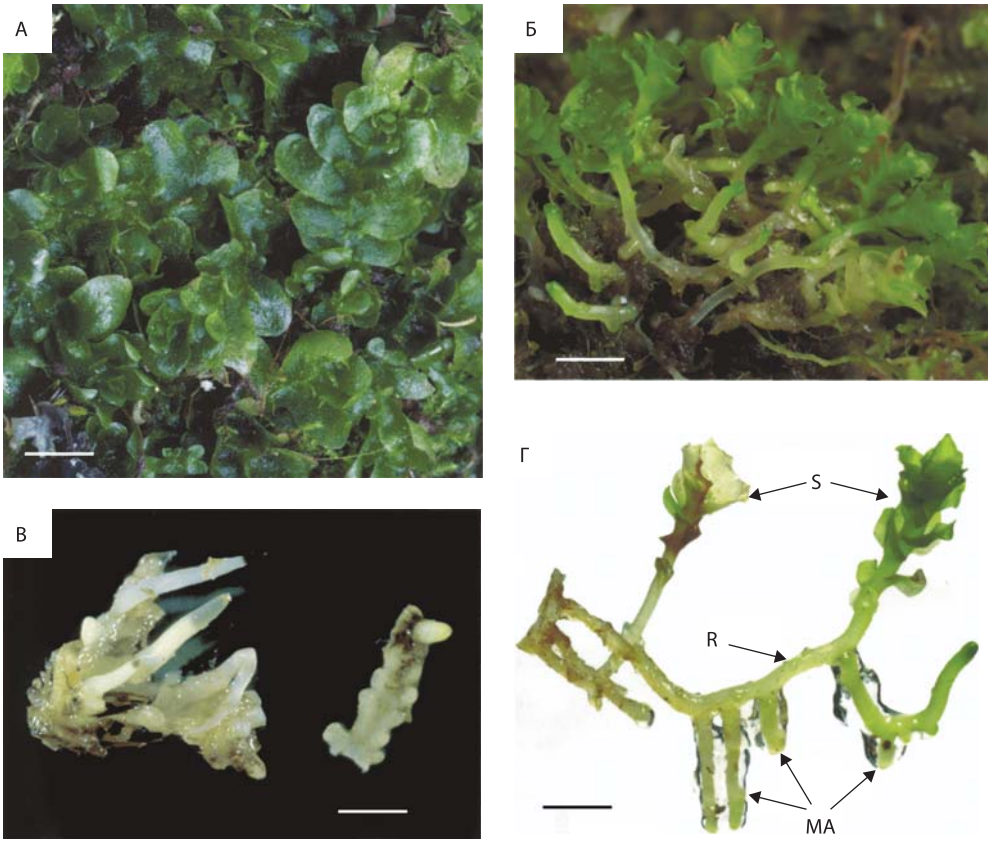
Приложение 13.2. Соцветие микогетеротрофного растения *Sarcodes sanguinea* (Monotropoideae), растущего на подстилке хвойного леса. Любезно предоставлено Т. Брунсом. Выноска: сеянец *S. sanguinea* после прорастания *in vitro* в симбиозе с высокоспецифичным грибным партнером *Rhizopogon ellenae*. Из Bruns, Read, 2000. Б — соцветие микогетеротрофного растения *Pterospora andromedea* (Monotropoideae). Любезно предоставлено В. Вонгом. В — соцветия микогетеротрофного растения *Monotropa hypopitys*, растущего под *Pinus sylvestris*, Великобритания. Фото Д.Дж. Рида. Г — сеянцы *P. andromedea* в пакете, в котором семена были внесены в природное местообитание. Проростки окружены мицелием специфичного микоризного симбионта *Rhizopogon salebrosus*. Заметны обильные ризоморфы гриба. Любезно предоставлено М. Бидартондо. Д — проросток *M. hypopitys*, полученный в семенном пакете через 21 месяц после закапывания под ЭМ кустарником *Salix repens*. Активно развиваются корни с монотропоидной микоризой, образованной *Tricholoma cingulatum*, и ростовая почка (отмечено стрелкой и см. выноску). Любезно предоставлено С. МакКендрик. Е — проросток *M. uniflora*, полученный в семенном пакете, с обильно микоризованными корнями и ростовой почкой (отмечено рамкой и см. выноску). Стрелкой отмечено непроросшее семя. Любезно предоставлено М. Бидартондо.



Приложение 13.3. А — микогетеротрофный представитель орхидных *Corallorhiza trifida*. Побеги редуцированы, лишены листьев, почти бесхлорофилльные, корневая система коралловидно разветвлена. Фото Д.Дж. Рида. Б — сеянцы *C. trifida*, полученные из одного семенного пакета, закопанного под ЭМ кустарником *Salix repens*. Грибным симбионтом во всех случаях был представитель сем. Thelephoraceae. В — зрелый сеянец из семенного пакета с закладывающейся ростовой почкой (слева). Г — отдельные интродуцированные сеянцы *C. trifida* (отмечено стрелками), развивающиеся в микрокосме с автотрофным ЭМ древесным растением *Betula pendula*. Д — сеянец *C. trifida* (справа), соединенный с ЭМ корнями *B. pendula* отдельными гифами (одиночные стрелки) и ризоморфой (двойная стрелка) телефороидного микоризного симбионта. Е — эктомикоризные корни березы в симбиозе с телефороидным микобионтом *C. trifida* вблизи от интродуцированных сеянцев орхидных. А–В — из McKendrick et al., 2000a, Г–Е — из McKendrick et al., 2006b.



Приложение 13.4. Стадии развития *in vitro* полностью микогетеротрофного представителя орхидных *Epipogium roseum*. А — подземные органы *E. roseum*, образовавшиеся на субстрате, представляющим собой смесь вулканической лавы и опилок, через 16 недель после внесения семян и инокуляции грибным симбионтом, близкородственным *Coprinus disseminatus*. На тонких нитевидных горизонтальных столонах развиваются утолщенные клубни, от которых поднимаются белые цветоносы. Клетки клубней заполнены зернами крахмала (выноска). Б — появление цветоноса через 26 недель после высева семян. В — полностью развитое соцветие через 27 недель после посева и строение цветка (выноска). Из Yagame et al., 2007.



Приложение 14.1. А — талломы гаметофита АМ-колонизированного печеночного мха *Treubia lacunosoides*, принадлежащего к базальной группе (масштаб 1 см). Из Duckett et al., 2006b. Б — Талломы гаметофита АМ-колонизированного печеночного мха *Haplomitrium ovalifolium*, принадлежащего к базальной группе (масштаб 0,5 см). Из Carafa et al., 2003. В — гаметофиты микогетеротрофного подземного печеночного мха *Cryptothallus mirabilis* с развивающимся спорофитом (масштаб 0,5 см). Фото Д.Дж. Рида. Г — отдельные талломы *H. ovalifolium* с облиственными побегами (S), обычно бесхлорофилльными ползучими «корневищами» (R) и отходящими вниз «микоризными осями» (MA), в которых в основном локализован АМ грибной симбионт (масштаб 0,5 см). Из Carafa et al., 2003.

Приложение 16.1. Корни *Pinus sylvestris*, использованные для изучения сообществ простейших, ассоциированных с (А) немикоризными короткими корнями (НМ), (Б) эктомикоризными короткими корнями (ЭМ) и (В) свободным мицелием (СМ) *Paxillus involutus*. См. рис. 16.11.

Приложение 17.1. Сбор съедобных грибов в Мехико. А — девочка, продающая на рынке белые грибы (*Boletus edulis*). Б и В — корзины с ЭМ грибами. Основные виды: *Gomphus flocculosus*, *Lactarius salmonicolor*, *Helvella crispa* и *Amanita aspera* var. *franchetii*. Фотографии любезно предоставлены Х. Перес-Морено.