

**Катаев Антон Дмитриевич**

**ЦЭПЛ РАН**

**СТРУКТУРА, ФУНКЦИИ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ  
ЭКТОМИКОРИЗНОГО СИМБИОЗА.**

**Экология**

Реферат написан в соответствии со списком прочитанной литературы и напрямую связан с темой диссертации.

**Тиунов Алексей Владимирович, д.б.н., ведущий научный сотрудник  
Института проблем экологии и эволюции им. А.Н.Северцова РАН,  
Москва**

**Москва 2016**

Одним из важнейших симбиозов, встречающихся в природе, является микориза. Она представляет собой симбиоз гриба и растения, сложившийся эволюционно и имеющий определённую структуру и функции. Обычно подобный симбиоз возникает в корнях растения, но как было доказано, у различных видов растений он может протекать в практически любых органах, тесно контактирующих с почвой. Микориза имеет огромную важность в снабжении растения питательными веществами из почвы, и более того – ряд исследователей выдвинули и неоднократно подтвердили теорию о том, что первые наземные растения смогли колонизировать сушу именно благодаря симбиозу с гифомицетами, то есть сформировав первую примитивную микоризу. Однако и современные растения в своей жизнедеятельности также сильно зависят от симбиоза со специализированными микоризными грибами.

На данный момент известны следующие разновидности микоризных симбиозов: эктомикориза, эктэндомикориза, арбускулярная, арбутоидная, эрикоидная, монотропоидная и орхидная. В бореальных лесах, занимающих значительную долю территории нашей страны, преобладающую роль играет эктомикориза. Эктомикоризный корень характеризуется наличием трёх структурных компонентов: мицелиального чехлика или покрова, окружающего корень, сложной системы гиф внутри корня, расположенной между эпидермисом и кортикальными клетками – такая система называется сетью Гартига – и внешнего или внекорневого мицелия, выступающего связующим звеном как с почвой, так и с плодовыми телами эктомикоризного гриба, а по некоторым данным – и с другими растениями-симбионтами. Степень развитости каждого из трёх компонентов может сильно варьировать у различных видов грибов и растений-участников симбиоза.

Структуры, образуемые эктомикоризными симбионтами легко отличимы от других вариантов микоризы поскольку в этом случае отсутствует проникновение грибного мицелия внутрь клеток растения. Однако из этого правила также существуют исключения, зависящие от видовой принадлежности хозяина, возрастной стадии растения в целом, и корня в частности, а также от изменений условий окружающей среды, к примеру нарушения питательного баланса – что может вылиться в итоге в переход гриба на паразитический способ питания.

Эктомикоризные грибы колонизируют как первые зародышевые корни семени растения, так и все последующие новые корни взрослого растения. В первом случае корень колонизируется любым подходящим грибом из окружающей его почвы, во втором обычно происходит колонизация из эктомикоризных структур главного корня. Почвенные грибы могут привлекаться к корням подходящего для них растения его корневыми выделениями. В случае контакта несовместимых гриба и растения, последнее действует по отношению к первому как в случае с патогенным грибом, активируя защитные механизмы – к примеру, повышая концентрацию фенольных соединений в месте контакта. В случае же совместимых видов, после установления контакта между гифами и корнем, состав корневых выделений радикально изменяется – равно как и состав грибных экссудатов – по мере того, как оба участника симбиоза устанавливают совместный метаболизм. Одновременно это служит сигналом, что корень уже колонизирован. Морфология гиф гриба, вступившего в контакт с корнем может существенно изменяться, гифы начинают покрывать поверхность корневых волосков, увеличивая площадь зоны контакта. Затем гифы гриба проникают в сам корень, формируя сеть Гартига. У большинства покрытосемянных она возникает непосредственно в эпидермисе и называется, соответственно, эпидермальной сетью Гартига.

Последняя также бывает двух разновидностей: параэпидермальная, в которых клетки эпидермиса окружаются гифами лишь частично (представлена у рода *Alnus*) и периэпидермальная, более распространённая, когда клетки эпидермиса окружены гифами целиком. Для ряда растений (к примеру, у *Populus tremuloides*) было показано, что параэпидермальная структура переходит в периэпидермальную при определённых условиях – что может свидетельствовать о возможной континуальной природе этих состояний и возможности перехода между ними под воздействием окружающей среды или с возрастом. У голосемянных в свою очередь сеть Гартига обычно проникает под эпидермис, прорастая в несколько слоёв кортикальных клеток, а в некоторых случаях доходя до эндодермы. Подобная структура называется кортикальной сетью Гартига и помимо голосемянных также встречается у нескольких родов покрытосемянных, таких как *Cistus* и *Dryas* в качестве единственно возможного варианта, а также изредка в роду *Populus* наряду с более совершенным вариантом.

Тот факт, что образование сети Гартига – как новым грибом из почвы, так и гифами гриба, уже колонизировавшего растение – происходит исключительно в строго определённой области корня, непосредственно за его кончиком, показывает, что проникновение гиф между клетками может происходить только на определённой стадии дифференциации эпидермальных клеток. Большинство исследователей считает, что пенетрация гиф в корень осуществляется чисто механическими методами, однако также в ряде работ было показано, что у хвойных деревьев стенки кортикальных клеток в области, предрасположенной к проникновению гиф микоризного гриба, имеют повышенный процент пектина по отношению к целлюлозе, чем у более зрелых клеток, находящихся дальше от кончика корня. Это может доказывать, что одним из механизмов регуляции колонизации грибом корня является восприимчивость клеток последнего к

межклеточной пенетрации на определённой стадии развития. Кроме того была выдвинута теория о возможном участии ферментов гриба в процессе пенетрации на основании наблюдения за лизисом промежуточной ламеллы эпидермальных клеток на пути роста гиф эктомикоризного гриба у некоторых видов растений. Также предполагается участие ферментов в формировании сети Гартига, на основании исследования микоризного интерфейса в зоне контакта грибных и растительных клеток. В ней наблюдается полное слияние стенок грибных и растительных тканей, столь плотное, что границу раздела невозможно зафиксировать микроскопическими методами. При этом получившийся интерфейс по-прежнему несёт в себе некоторые черты бывшей растительной стенки – такие как пектиновые и полисахаридные её компоненты. Существует предположение, что образование подобной структуры начинается с деградации растительной стенки, вызванной тем, что растительные ферменты, ответственные за её формирование и поддержание, связываются и соответственно ингибируются выделяемыми грибом белками. Впрочем существует и вероятность того, что гриб попросту растворяет эту стенку своими ферментами – и способность эктомикоризных грибов в определённых условиях разлагать стенки растительных клеток была доказана в процессе наблюдения за формированием арбутоидных и эктэндомикоризных конструкций. Да и в эктомикоризных корнях нередко наблюдается подобное поведение гиф гриба по отношению к эпидермальным и кортикальным клеткам старой части корня. Таким образом, можно проследить цепочку событий от момента первого взаимодействия гриба с молодыми клетками концевых зон корня и начала его участия в обмене питательных веществ, вплоть до момента, когда происходит пенетрация его гиф в уже отмирающие растительные клетки в отдалённой от кончика зоне корня – и вся последовательность может

занимать до 80 дней. К этому же времени относится и отмирание или даже частичное разложение мицелиального чехлика.

Сеть Гартига, таким образом, представляет собой интерфейс активного обмена питательными веществами, однако её биомасса при этом невелика, по сравнению с массой микоризного чехлика, окружающего колонизированный корень. Последний, разрастаясь, может составлять от 20 до 40% массы этого корня. Некоторые виды эктомикоризных грибов образуют чехлик, состоящий из рыхлой ткани, в которой можно различить отдельные гифы, в то время как у других гифы, составляющие чехлик, полностью утрачивают индивидуальность, и в результате образуется плотная ткань из клеток неправильной формы, называемая псевдопаренхимой. Структура чехлика является диагностическим признаком, по которому можно различать различных микоризообразователей, и по Агереру выделяют девять типов микоризы рыхлой ткани и семь типов псевдопаренхимальной.

Мицелиальный чехлик, непосредственно контактирующий с корнем на большой площади, играет важную роль в обмене питательными веществами между грибом и растением, а также, благодаря своей сравнительно большой биомассе, накапливает значительную часть запаса питательных веществ гриба. Однако с точки зрения увеличения площади контакта микоризной системы с почвой он явно второстепенен. Для этой цели микоризный гриб продуцирует значительные количества экстраматрикулярного мицелия, прорастающего от поверхности чехлика вглубь почвы в виде отдельных гиф или специальных структур, состоящих из множества объединённых гиф. Именно он выступает в качестве механизма, обеспечивающего связь микоризы с почвой и поступление оттуда питательных веществ. Экстраматрикулярный мицелий имеет множество вариантов организации – и самые простые из них формируются некоторыми аскомицетами, такими как *Senocosium geophilum* или *Tuber spp.*, и, несколько чаще, базидиомицетами.

Они представляют собой не более чем многочисленные гифы, индивидуально отходящие от чехлика в почву. Большинство же базидиомицетных эктомикоризообразователей формирует куда более сложные структуры, в которых гифы, параллельно отходящие от чехлика, объединены в особые структурные образования. В зависимости от толщины и особенностей строения таким структурам даётся множество наименований, объединяемых общим термином – ризоморфы. Морфологически они и в самом деле напоминают корни, пускай их строение и отличается от последних. Надо сказать, что термин «ризоморфы» применяются вообще ко всем линейным объединениям грибных гиф – таким, как, например, формируемые паразитическими грибами рода *Armillaria*.

Согласно Агереру, известные нам на сегодняшний день эктомикоризообразователи, формирующие ризоморфы, подразделяются по их структурным особенностям на шесть категорий. Простейшие из них являются рыхлыми линейными скоплениями недифференцированных гиф примерно равных по диаметру, с неопределёнными очертаниями. Следующая представляет собой по-прежнему недифференцированные гифы, однако организованные в более плотную структуру с гладкой поверхностью – подобное строение ризоморф имеют, к примеру, грибы рода *Laccaria* и *Lactarius*. Третья категория включает в себя несколько более сложные структуры с частичной дифференциацией гиф, заключающейся в некотором увеличении внутренних гиф по отношению к внешним. Следующие три типа демонстрируют значительное усложнение структурной организации, при которых внутренние гифы имеют значительно больший диаметр, нежели внешние. Кроме вышеперечисленной классификации, Агерер предлагает ещё одну, основанную на исследовательской стратегии ризоморф в почве – то есть на их протяжённости и разветвлённости. Выделяется 5 типов, где каждый следующий означает всё большую протяжённость гиф и гифальных

агрегатов в почве. Первые два типа стратегий – контактная и стратегия малой протяжённости соответственно – относятся к эктомикоризообразователям, не формирующим ризоморфы и проникающим в почву отдельными гифами. К ним относятся отдельные представители родов *Russula* и *Lactarius*, также большая часть аскомицетов, образующих эктомикоризу – к примеру, представители рода *Senecosium*, являются приверженцами стратегии малой протяжённости. Стратегия средней протяжённости встречается у различных грибов и подразделяется на три вариации, представляющие различные типы структурной организации ризоморф. К этому типу стратегии относят различные грибы, формирующие ризоморфные структуры средней протяжённости, со слабой дифференцированностью гиф – к примеру, формирующие гифальные маты грибы родов *Gautieria*, *Hysterangium* и *Hydnellum*. Четвёртая стратегия – стратегия большой протяжённости – характеризуется хорошо выраженными, крупными ризоморфами с чётко различимой дифференцированностью гиф. Её придерживаются многие грибы, относящиеся к основным эктомикоризообразователям – такие как представители родов *Boletus*, *Paxillus*, *Pisolithus*, *Rhizopogon* и *Suillus*. К последней, пятой стратегии, относятся преимущественно представители семейства *Gomphidiaceae*, продуцирующие гифы контактного или малопротяжённого типа, проникающие в ризоморфы других грибов и распространяющиеся по ним. Функциональные особенности, присущие каждому типу исследовательских стратегий, в настоящее время являются предметом исследования. К сожалению, у эктомикоризных грибов, выращенных на искусственных гомогенных средах, отсутствует тенденция к формированию гифальных агрегатов, и наблюдения за последними возможны только в их естественной форме – в почве, в ассоциации с растениями.



Исследования экстраматрикулярного мицелия показали, что его морфология довольно изменчива как в случае с молодым мицелием на краю, так и со зрелым, расположенным на отдалении от края колонизации. Сигналом к изменению, к примеру, может быть обнаруженный гифами проросток или неколонизированный микоризой корень подходящего растения. Также, когда гифы растущего мицелиального фронта контактируют с почвенными частицами или агрегатами, они могут начать интенсивно разветвляться, увеличивать свой объём (вплоть до четырёхкратного) и приобретать толстую слизистую оболочку – подобные изменения были описаны для агрегатов как органической, так и минеральной природы. Экспериментальное добавление определённых органических субстратов к разреженному экстраматрикулярному мицелию эктомикоризных грибов побуждало его начать резкий рост и увеличение протяжённости, характеризующие мобилизацию питательных веществ из добавленной органики.

Таким образом, передний край экстраматрикулярного мицелия эктомикоризных грибов в любом случае представляет собой активно ветвящуюся, широко распространяющуюся структуру (обычно в форме веера или широкой кисти). Подобные структуры венчают даже хорошо организованные, плотные и протяжённые ризоморфы, представляющие на большей части своего протяжения параллельные тяжи значительного диаметра. Объединение и сцепление разрозненных гиф переднего края в ризоморфы достигается при помощи множества механизмов, работающих по одному или сообща. Среди них встречаются межгифальные мостики – анастомозы, взаимная адгезия между гифами, создаваемая их слизистыми оболочками и многочисленные ответвления гиф по и против направления роста. Вышеперечисленные механизмы относятся Агерером к числу наиболее важных. Мостики при анастомозах могут также служить для

прямой связи между соединёнными гифами, зачастую они впоследствии перекрываются образованием септ или пряжек, которые, впрочем, не препятствуют перемещению питательных веществ из гифы в гифу, но могут быть полностью перекрыты в случае серьёзного повреждения одной из гиф. Продуцирование многочисленных ответвлений по и против направления роста – черта широко известная, применительно к конструкции эктомикоризных и сапротрофных ризоморф – между прочим, впервые описанная для древоразрушающего гриба *Serpula lacrimans*. Эти вторичные элементы структуры, называемые «усиками», оплетают более крупные гифы центральной части ризоморф, кроме того производя обильный слизистый матрикс, склеивающий конструкцию ризоморф воедино. В наиболее сложных типах ризоморф, с наивысшей степенью дифференциации гиф (описано на примере грибов *Suillus bovinus* и *Leccinum scabrum*), подобные усики полностью заключают в себя крупные гифы центральной части, которые постепенно теряют цитоплазму и утрачивают значительную часть септ, превращаясь в подобие трубопровода, по которому питательные вещества поступают к корням растения. Подобные гифы структурой очень напоминают сосуды древесной ксилемы, и потому их называют сосудистыми. Микроскопические исследования показывают, что сосудистые гифы возникают на значительном отдалении от переднего края растущих гиф, занимая в конечном итоге всю длину ризоморфа, но не продолжаясь в мицелиальном чехлике эктомикоризного корня. Связь с ним обычно осуществляется посредством неплотных агрегатов недифференцированных гиф, зачастую разветвляющихся, формируя дельтовидные структуры, соединяющие ризоморфы с чехликом.

Практически все растения, формирующие эктомикоризу, являются многолетними древесными растениями. Для некоторых из них эктомикориза является единственным вариантом микоризы, в то время как другие могут

также образовывать арбускулярную микоризу – более того, последняя может играть преобладающую роль. На настоящий момент к растениям, способным вступать в эктомикоризный симбиоз относят приблизительно 3% высших семенных растений, произрастающих повсеместно, от бореальных до тропических лесов. К примеру, эктомикоризными являются представители таких широко распространённых семейств, как Pinaceae и Fagaceae. Более 5000 видов грибов, относящихся к отделам базидио- и аскомицетов (включая и широко известные рода, такие как *Boletus*, *Russula* и пр.), способны образовывать эктомикоризу. Таким образом эктомикориза давно уже стала неотъемлемой частью самых различных лесных экосистем – и самые ранние ископаемые остатки эктомикоризы, на которых можно различить такие характерные особенности, как сеть Гартига, были обнаружены в известняковых отложениях возрастом около 50 млн лет. Предположительно, впервые она возникла более 130 млн лет назад.

Обычно растение определённого вида не обладает строгой специфичностью к одному виду гриба-симбионта – более того, индивидуальное растение, как правило связано с несколькими разновидностями эктомикоризных грибов одновременно. Большинство исследователей считает, что подобная низкая специфичность повышает шансы проростка повстречать подходящий ему вид симбионта, другие добавляют, что ещё одной причиной этому служит потребность растения в более широком разнообразии элементов питания, чем может предоставить один вид гриба. Однако существуют и исключения – к примеру деревья рода *Alnus*, чьим специализированным симбионтом является базидиомицет *Alrova*. Специфичность у эктомикоризных грибов как правило выражена в большей степени, чем у растений, хотя не редки и грибы-генералисты, образующие микоризу с широким спектром видов. Существует несколько объяснений таким различиям в специфичности – к примеру, что более

высокая специализация грибов выгодна растениям, поскольку снижает шансы того, что поставляемый грибу органический углерод будет доступен другим видам растений через общую мицелиальную сеть, и кроме того она снижает затраты углерода благодаря приспособленности гриба под симбиоз именно с этим растением.

Колонизация, созревание и старение отдельных эктомикоризных корней и всей эктомикоризной корневой системы являются процессами с крайне неопределёнными временными рамками, поскольку они сильно зависят от каждого конкретного случая. В то время как многие старые исследования называют срок жизни микоризного интерфейса, измеряемый днями, они же упоминают, что отдельные структурные элементы тонких корней могут сохраняться в почве годами. Более современные ультраструктурные анализы подтвердили срок жизни каждого конкретного участка микоризного интерфейса в несколько дней, после истечения которых начинается старение кортикальных клеток корня, вовлечённых в сеть Гартига. В дальнейшем, клетки постепенно отмирают, начиная от внутренних областей, и заканчивая концевыми – таким образом, срок жизни эктомикоризного интерфейса корня в целом ограничивается только скоростью, с которой его меристема производит новые кортикальные клетки в его концевой зоне. Различные исследования показывали существование такого интерфейса в течение 25-85 и более дней, кроме того ряд исследователей отмечал внезапные вспышки роста в уже казалось бы состарившейся меристеме, что выливается в итоге в особую структуру интерфейса в виде отдельных «бусин». Что касается продолжительности жизни микоризного корня, то он оценивается в срок от нескольких, до нескольких десятков лет.

В последнее время изучение эктомикоризы значительно продвинулось вперёд, что во многом связано с совершенствованием методов

исследования. Наиболее ранние работы опирались в установлении микоризного статуса гриба на систему расположения его плодовых тел - неточный метод, впоследствии дополненный и во многом замещённый микроморфологическим исследованием эктомикоризных корневых окончаний и внешнего почвенного мицелия. При помощи новых методов был собран значительный объём информации – в частности были установлены основные признаки эктомикоризных структур в корне и описаны различные типы экспансии гиф в почве. Следующим прорывом в изучении эктомикоризы стало применение молекулярных методов, позволяющих точно отслеживать присутствие гриба в тканях растения, определять принадлежность почвенного мицелия – одним словом, значительно повысить достоверность получаемых результатов.

Молекулярные методы, в частности основанные на анализе ДНК и РНК, по-прежнему играют важную роль в исследовании эктомикоризы и их потенциал отнюдь не исчерпан. Создаются и расширяются базы данных, содержащие нуклеотидные последовательности для всё большего числа эктомикоризных грибов, ищутся соответствия между ранее неопознанным мицелием в микоризных окончаниях и известными видами грибов, изучаются близкородственные виды эктомикоризообразователей на предмет участия в аналогичных симбиозах. Таким образом, к примеру, было выяснено, что способность формировать эктомикоризу возникла независимо у нескольких различных групп грибов, внутри которых в настоящий момент известны как эктомикоризные, так и сапротрофные виды. Одно время выделяли также несколько таксонов грибов, совершивших обратный переход, то есть эволюционировавших из эктомикоризных симбиотрофов в свободноживущих сапротрофов, однако в дальнейшем эта теория была признана ошибочной. Вышеперечисленные методы наилучшим образом приспособлены для определения качественных характеристик

эктомикоризы, для анализа её количественных показателей обычно используются модифицированные молекулярные методы и методы изотопного анализа, показывающие значительно более точные результаты.

Список использованной литературы:

- 1) Smith S.E., Read D. Mycorrhizal Symbiosis, Third Edition, Sec. 2  
Ectomycorrhizas, p. 189-349

## Словарь

- 1) Accumulation – накопление
- 2) Aggregated – агрегированный
- 3) Angiosperm - покрытосемянные
- 4) Arbutoid - арбутоидный
- 5) Arbuscular - арбускулярный
- 6) Ascomycetes - аскомицеты
- 7) Associate - ассоциат
- 8) Basidiomycetes - базидиомицеты
- 9) Biomass - биомасса
- 10) Biotic - биотический
- 11) Boreal forest – бореальный лес
- 12) Chitinase - хитиназа
- 13) ECM mantle – эктомикоризный чехлик
- 14) Ectendomycorrhiza - эктэндомикориза
- 15) Ectomycorrhiza - эктомикориза
- 16) Endodermal - эндодермальный
- 17) Epidermal - эпидермальный
- 18) Extramatrical - экстраматриальный
- 19) Extraradical - внекорневой
- 20) Fumigation - фумигация
- 21) Glomalin - гломалин
- 22) Glycoprotein - гликопротеин
- 23) Gymnosperms - голосемянные
- 24) Hardwood forest – лиственный лес
- 25) Hartig net – сеть Гартига
- 26) Herbaceous - травянистый
- 27) Heterogeneous - гетерогенный
- 28) Hydrophobic - гидрофобный
- 29) Hyphae - гифы
- 30) Hyphal network – сеть гиф
- 31) Hypogeous - подземный
- 32) Intercellular - межклеточный
- 33) Intracellular - внутриклеточный
- 34) Isolate - изолят



- 35) Meristem - меристема
- 36) Microbial - микробный
- 37) Minirhizotron -  
миниризотрон
- 38) Mycelium - мицелий
- 39) Mycophagous - микофаг
- 40) Mycorrhiza - микориза
- 41) Organomineral -  
органоминеральный
- 42) Pathogenic - патогенный
- 43) Phenolic - фенольный
- 44) Photosynthesis -  
фотосинтез
- 45) Polysaccharides -  
полисахариды
- 46) Rhizomorph - ризоморф
- 47) Saprotrophic -  
сапротрофный
- 48) Sclerotium - склероций
- 49) Sporocarp – плодовое  
тело
- 50) Vegetation –  
растительность.