**7.4. Система защиты растений от фитопатогенов**

Паразитизм бактерий, гри­бов, вирусов и некоторых микроскопических животных на расте­ниях и в связи с этим болезни растений изучает наука фитопатоло­гия. Фитопатогенов среди грибов гораздо больше, чем среди бакте­рий. Например, у культурного растения ржи *(Secale cereale)* насчи­тывают более 70 грибных заболеваний. Часть фитопатогенов может существовать и сапротрофно, а некоторые из грибных фитопатоге­нов имеют так называемую сапротрофную фазу. Микроорганизмы, которые могут переходить от сапротрофного существования к па­разитическому, называют иногда «оппортунистическими» вида­ми. Среди бактерий — типичный представитель *Pseudomonas syringae.* При изменении условий, например при ранении растения или других обстоятельствах, когда такой «оппортунист» случайно по­падает в растение, он может «перейти» к паразитической фазе. Механизмы таких переходов малоизучены, хотя очевидно, что им часто способствуют резкие изменения окружающей среды, на­пример изменения температуры и влажности, т. е. шоковые воздействия. Довольно много и облигатных паразитов.

Контакт паразита с хозяином происходит через филлоплану или ризоплану соответственно. Проникновение патогена внутрь расте­ния происходит различными способами: через естественные отвер­стия, например устьица и места образования боковых корней, пос­ле активного (энзиматического, целлюлазами и пектиназами) разрушения покровных оболочек, тканей и клеточных стенок расте­ний, через раны при механических воздействиях, например повреж­дениях, вызываемых насекомыми. Как известно, в растениях довольно много пектина, особенно в некоторых плодах. Одним из способов воздействия и проникновения патогена в растение-хозяина — это выделение пектинолитических ферментов. При этом происходит гид­ролиз пектинов растения и расслоение тканей и клеток.

Пектинолитическая система фитопатогенной бактерии *Erwinia chrysanthemi* включает 16 генов, которые вовлечены в кодирова­ние и управление синтезом пектинразрушающих ферментов. Ре­зультат воздействия патогена на растение может проявляться в разрушении тканей растения (появляются раневые участки или участки гниющих тканей); образовании токсинов, которые вызы­вают локальные некрозы тканей; изменении гормонального ба­ланса (происходит локальный быстрый рост тканей, в результате чeгo образуются опухоли, например галлы); поглощении питательных веществ и энергии, в результате чего снижается и даже прекращается совсем рост растения-хозяина; нарушение транспортных путей питательных веществ и воды или их перехват, что приводит к увяданию растения или сильным наруше­ниям развития. Наконец, может иметь место нарушение или пол­ное разрушение системы транскрипционных и трансляционных процессов, последствия таких нарушений вполне понятны [143].

Примером одной из наиболее агрессивных бактерий-фитопатогенов, наносящей существенный вред культурным растениям, может быть *Agrobacterium tumefaciens.* Эта бактерия поражает однодольные и двудольные растения. В результате инфицирования ра­стений на листьях образуются вздутия — галлы. Галлы — это разрастания, фактически опухоль тканей растений, в которых кон­центрируются *A. tumefaciens.*

Считается, что растения не имеют специальной иммунной системы. Тем не менее они имеют различные типы защитных механиз­мов. В некоторых из них активную роль играют синтезируемые рас­тениями низко- и высокомолекулярные соединения с антимикробной активностью. Первой и фактически универсальной реакци­ей растений на контакт с патогеном является включение «программы гиперчувствительной смерти» клеток растения, в результате чего клетка продуцирует активные радикалы кислорода, пагубно дей­ствующие как на патогена, так и на само растение. Гиперчувстви­тельный ответ клеток растения — первая линия зашиты растения от патогена. Связанная с гиперчувствительностью смерть клеток растения представляет собой часть более общего явления, а имен­но отражает «ответную индуцированную устойчивость» (induced resistance response) растения, которая усиливает и мобилизует его защитные возможности против последующих атак патогена.

Наиболее известны и изучены два типа ответной индуцированной устойчивости — накопление растением специальных, выз­ванных патогенезом белков и других, небелковых «защитных» вторичных метаболитов. Белки синтезируются как локально, в месте проникновения патогена, так и системно, во всем растении. В связи с эти различают «локальную приобретенную устойчивость» (ЛПУ) и «системную приобретенную устойчивость». Двумя наибольши­ми группами патогенных белков, синтезируемых растением в ре­зультате системно приобретенной устойчивостью, являются глюканазы и хитиназы. Вследствие воздействия этих ферментов на клеточные стенки патогенов (в данном случае грибов) накапли­ваются олигомеры глюкана и хитозана, которые, в свою очередь, могут функционировать как вещества, вызывающие дальнейшие, не связанные с патогенными белками защитные реакции расте­ния. Эти вещества называют еще элиситорами.

Другим типом защитных реакций растений, связанных с гиперчувствительностью, является аккумуляция растением некото­рых вторичных метаболитов, включая фитоалексины. Фитоалек­сины крайне специфичны, причем не только видо-, но часто даже органо- и тканеспецифичны для одного и того же растения.

Положительные формы микробно-растительных взаимодействий можно использовать для защиты растений от фитопатогенных микроорганизмов с помощью других микроорганизмов. Микроорганизмы, которые использу­ют для защиты растений от фитопатогенов, называют биоконтро­лирующими агентами. Биоконтроль подразумевает не полное уничтожение нежелательного микроорганизма, а ограничение его до­минирования и тем более безудержного размножения, приводя­щего к уничтожению растения(й)-хозяина. Преимущество исполь­зования биоконтролирующих агентов по сравнению с «контро­лем» фитопатогенов пестицидами очевидно. При таком способе не происходит загрязнение окружающей среды и растительной продукции пестицидами. У фитопатогенов гораздо труднее разви­вается «привыкание» к соответствующему контролирующему агенту или не развивается совсем.

В качестве биоконтролирующих агентов в настоящее время используются очень многие микроорганизмы. Известно несколь­ко способов биоконтролирующего действия микроорганизма-супрессора на фитопатоген. Предполагается, что биоконтролирую­щий агент и растение-хозяин обмениваются «сигналами» в виде химических веществ, которые помогают этому «агенту» более успешно колонизировать растение. Биоконтролирующий эффект может быть результатом выделения биоконтролирующим агентом каких-то веществ антибиотической природы. В качестве примера — способность некоторых бактерий *Pseudomonas fluorescens* продуцировать 2,4-фтороглюцинол, который подавляет рост гриба *Gaeumannomyces gram inis,* вызывающего болезнь «увядания» ра­стений пшеницы. Биоконтролирующий агент может вытеснять фитопатоген, конкурируя с ним за сходные субстраты, лизиро­вать его, выделяя литические ферменты и др. Взаимодействие микроорганизмов и растений приводит к возникновению «микробно-растительных комплексов» в различных экологических регионах. Многочисленные исследования в различных точках земного шара показали, что везде существуют микробно-растительные комплексы, но которые отличаются по составу в зависимости от окружающей среды. В течение продолжительного периода совместного сосуществования сложилась модель, которая включает механизм защиты растений от действия фитопатогенных микроорганизмов. Весьма эффективный биоконтроль фитопатогенов может осуществлять­ся микроорганизмами, создающими защитные барьеры на поверхности кор­ней. Наиболее часто эту роль выполняют агенты бактерии рода Pseudomonas (Р. fluorescens, Р. chlororaphis, Р. corrugata, Р. putida), а также некоторые виды Serratia (S. marcescens) и Bacillus (В. cereus, В. subtilis). Эти микроорганизмы обьединены в группу *PGPR* (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*). Они предотвращают инфицирование растений патогенными грибами (Fusarium, Trichoderma, Verticillium) с использованием разнообразных механиз­мов [144].

Одним из таких способов является метод ингибирования роста фитопатогенных микроорганизмов бактериальными антибиотиками. В частности, многие штаммы Pseudomonas продуцируют феназины, на­пример, феназин-1-карбоксимид (PCN) активный против Fusarium oxysporum [145]. Бактериальные мутации, приводящие к фенотипу PCN- (не обладающим феназином), вызывают утрату биоконтрольной функции. Транскрипция генов синтеза PCN активируется в ризосфере хозяина при воздействии корневых экссудатов. Синтез этих антибиотиков может сопровождаться выделением летучих антифунгальных метаболитов, например цианидов, участие которых в биоконтроле фитопатогенов было показано в опытах с совместным культивированием *PGPR* и Fusarium [146].

Второй способ подавления *PGPR*-бактериями фитопатогенов заключается в конкуренции за источники питания. Эффективными орудиями этой конкуренции являются бактериальные сидерофоры, которые обладают гораздо более высоким сродством к ионам железа, чем сидерофоры грибов. Важность бактериальных сидерофоров в биоконтроле патогенов была доказана с использованием генетически модифицированных штаммов *PGPR* с повышенной или утраченной способностью к синтезу этих соединений [147].

Конкурентное исключение фитопатогенов наиболее успешно происходит тогда, когда бактерии проявляют высокую активность колонизации поверхности корней, но не колонизируют их внутренние ткани, лишь в небольших количествах проникая в наружные слои корневого кортекса. Основными экологическими нишами, которые занимают *PGPR*, являются зоны активного выделения корневых экссудатов, которое может составлять до 30 % растительного фотосинтеза. Большая часть бактерий сосредоточена в зонах развития корневых волосков и элонгации корня, а также на стыках эпидермальных клеток, где бактерии формируют микроколонии и биопленки.

Важность колонизации корней для проявления защитных свойств ризобактерий очевидна из того, что гены, кодирующие бактериальные факторы адгезии (липополисахариды, флагеллы), являются необходимыми для этой защиты. Инактивация данных генов приводит к утрате фитопротекторных функций *PGPR*, тогда как повышение активности генов (например, при их амплификации или подключении к «сильным» промоторам) может усиливать их функцию Подавление роста Fusarium может быть связано с прикреплением клеток Р. chlororaphis не только к поверхности корней, но и к гифам патогенна [148].

Благодаря этому некоторые штаммы *PGPR* осуществляют биоконтроль, выступая в роли гиперпаразитов патогенных грибов или микофагов. Эти функции могут быть связаны с выработкой бактериями ферментов, разрушающих клеточные стенки патогена: Некоторые штаммы Serratia и Bacillus вырабатывают внеклеточные хитиназы, ингибирующие развитие Fusarium на разных стадиях, включая прорастание конидий и развитие гиф. Логично предположить, что такие защитные симбионты растений возникли из бактерий, являвшихся естественными антагонистами фитопатогенных грибов.

В ряде исследований показано, что инокуляция *PGPR* сопровождается развитием у растений индуцированной системной устойчивости *ISR* (*Induced Systemic Resistance*), делающей корни недоступными для патогенов. Первоначально *ISR* считали реакцией, специфичной для непатогенных систем и существенно отличающейся от типичной для патогенеза реакции системной приобретенной устойчивости, *SAR* (*Systemic Acquired Resistance*). Реакции обоих типов индуцируются при патогенных и непатогенных взаимодействиях, однако различаются по природе эндогенных элиситоров. Обычная реакция *SAR* характеризуется участием в качестве сигнала салициловой кислоты и патоген-регулируемых (*PR*) белков, тогда как *ISR* основана на выработке жасмоната и этилена [149]. Системные реакции обоих типов могут запускаться сигналами, которые растение получает от клеток PGPR, прикрепившихся к поверхности корней или проникших в их наружные ткани. При воздействии некоторых молекул, продуцируемых *PGPR* (липополисахариды, глюканы, компоненты флагелл, экзоферменты, фитогормоны, сидерофоры, белковые эффекторы систем секреции III типа), у хозяина возникают те же за­щитные ответы, что и при инокуляции живыми бактериями.

Фитопротекторные функции *PGPR* осуществляются под непосредственным контролем хозяина, который выделяет в ризосферу легко усваиваемые источники питания и энергии. Наиболее активна продукция антибиотиков клетками *PGPR*, колонизирующими зону элонгации корня, где эти бактерии достигают максимальной численности. Важность трофических взаимодействий при биоконтроле патогенов очевидна из того факта, что среди фитогенов, специфически активируемых у Р. fluorescens в ризосфере, преобладают гены катаболических процессов.

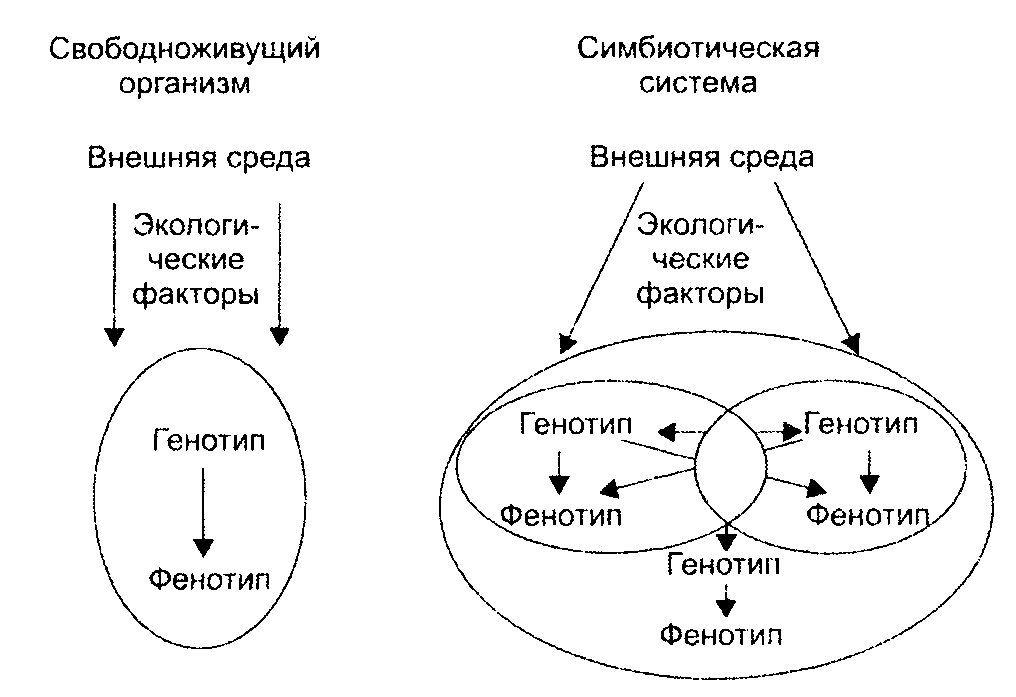
Активный рост и связанная с биоконтролем экспрессия генов *PGPR* зави­сят от выделяемых корнями органических кислот в большей степени, чем от сахаров, что делает сходными защитные ассоциации с азотфиксирующими ас­социациями растений и Azospirillum. Это сходство подтверждено при мутационном анализе: мутанты Р. fluorescens с нарушениями ферментов утилизации органических кислот (малатдегидрогеназы) обладают резко сниженной биоконтрольной активностью, хотя мутанты по утилизации сахаров (глюкозо-6-фосфат дегидрогеназе) такого снижения не проявляли.

Высокая защитная активность бактерий может быть связана с ее регуляцией растениями, осуществляемой, например, путем изменения состава корневых экссудатов. Если атакуемые патогенами растения инокулировали *PGPR*, то количество органических кислот в экссудатах возрастало, стимулируя рост бактерий и продукцию антибиотиков. Кроме того, показано, что растения способны управлять жизнедеятельностью *PGPR*, выделяя соединения, которые имитируют бактериальные сигналы, являющиеся регуляторами систем «чувства кворума» (*quorum* *sensing*), контролирующих колонизацию корней и антифунгальную активность микроорганизмов [146].

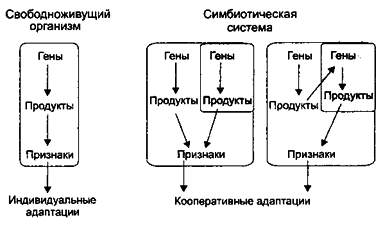
Существенную роль в проявлении биоконтрольных функций ризобактерий играет синтез фитогормонов. Например, высокая биоконтрольная активность, проявляемая Pseudomonas в ризосфере редиса, может быть связана с синтезом ИУК из триптофана корневых экссудатов, количество которого у редиса в 30−100 раз выше, чем у пшеницы или томатов. В экспрессии защитных свойств ризобактерий участвует также АЦК-дезаминаза, катализирующая катаболизм АЦК (1-аминоциклопропан-1-карбоксилата) — предшественника фитогормона этилена. Изучение способности утилизировать АЦК в качестве ис­точника азота, показало, что этим ферментом обладают лишь некоторые штаммы PGPR. Перенос генов АЦК-дезаминазы из Erwinia cloacae в Р. fluorescens сопровождается существенным возрастанием способности рекомбинантов подавлять патогенные грибы. Практически все растения поддерживают в своих тканях разнообразные эндофитные микроорганизмы, которые синтезируют защитные вещества, активные против растительноядных животных или фитопатогенов. Среди защитных эндофитов большое значение имеют спорыньевые грибы, которые обитают в злаках, включая зерновые (пшеница, рожь, просо) и кормовые (райграс, овсяница) культуры. Фундаментальный интерес к этой группе грибов связан с механизмами симбиоза, которые представляют собой мозаику эффектов мутуализма и антагонизма.

**7.5. Генетические основы растительно-микробного симбиоза**

Генетические основы эволюции растительно-микробного симбиоза представляют разнообразные функции: матричные процессы, обмен веществ и энергии, образование мем­бранных и поверхностных структур, клеточный цикл. В дополнение к хромосоме, в геноме «колийного типа» функционируют генетические элементы не зависимые от хромосом плаз­миды, эписомы,транспозоны, профаги, контролирующие адаптивные функции, включая синтез антибиотиков, использование редких источников питания, устойчивость к тяжелым металлам или ксенобиотикам. Однако эти репликоны не являются обя­зательными для функционирования и репродукции клетки. Кроме того хромосомы симбиотических организмов состоят из хромосом состоящим из одной цепочки одного и из другой цепочки другого симбионта. Изучение бактериальных симбионтов растений показало, что многие из них обладают гораздо более сложными, много­компонентными (состоящими из нескольких сопоставимых по размеру репликонов) геномами, обеспечивающими существование микроорганизмов в сложных экосистемах «хозяин-среда» (рис. 5).

Рис. 5. Соотношение генотипа и фенотипа у сво­бодноживущих организмов и симбиотических систем:

* + - объединения продуктов действия генов партнеров;
    - синтеза одним из партнеров продукта, который воздействует на другого партнера и вызывает образование продукта, используемого первым партнером (рис. 6).

Рис. 6. Соотношение ген−признак у свободноживущих организмов и симбиотических систем

В модельной бобоворизобиальной системе большинство отношений построено по второму тину, а к первому типу можно отнести образование перибактероидных мембран, содержащих белки как бактериального, так и растительного происхождения

После проведения двухуровневого генетического анализа удалось конкретизировать созданное ранее представление о том, что для симбиоза единицей наследственности является не ген (как у индивидуального организма), а как минимум пара генов, принадлежащих разным организмам (рис 5 и 6). Эта единица мо­жет считаться функционально эквивалентной гену, выявляемому в классическом ген-анализе: пары взаимодействующих Avr/R генов в симбиозах оказываются функционально аналогичными парам аллелей А/а у диплоидного организма [150]. Сходство простейшей схемы наследования признаков патосистемы с менделевской схемой наследования моногенного признака указывает на то, что отношения симбиотических партнеров могут быть описаны в терминах не только межгенных, но и межаллельных взаимодействий. Однако необходимо подчеркнуть, что в симбиотической системе единица наслед­ственности состоит из негомологичных генов, что принципиально отличает страте­гию и результаты генетического анализа симбиоза и свободноживущего организма.

Показано, что размеры геномов у ризобий значительно выше, чем у свободноживущих бактерий, они варьируют от 4300 до 7000 т.п.н. у форм с высокой или средней скоростью роста (*Rhizobium*, *Sinorhizobium*, *Mesorhizobium*) и могут превышать 9000 т.п.н. у форм с низкой скоростью роста (*Bradyrhizobium*). Таким образом, ризобии по размеру генома достигают или даже превосходят низшие эукариоты (у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* геном состоит из 6600 т.п.н.), что связано с необходимо­стью поддержания генных систем, функционирующих на альтернативных (симбиотической и свободноживущей) стадиях жизненного цикла. Сравнительный анализ широкого спектра *α*-протеобактерий показал, что симбионты растений имеют в среднем намного более крупные геномы (6,73±1,26 млн пар нуклеотидов), чем свободноживущие бактерии (4,34±0,99 млн пар нуклеотидов). У быстрорастущих видов (Зуда) *Rhizobium* геномы содержат в дополнение к хромосоме *многочисленные плазмиды*, которые могут достигать необычайно крупных размеров. Впервые многокомпонентные геномы были выявлены у ризобий люцерны (*S. meliloti*): было показано, что практически все штаммы содержат в дополнение к хромосоме (около 3600 т.п.н.) две гигантские плазмиды (1100−1900 т.п.н.), а иногда еще и 1−6 «средних» плазмид размером 10−400 т.п.н. [151]. Не менее сложные геномы выявлены у агробактерий — патогенов, образующих опухоли на растениях. Эти бактерии таксономически близки к быстрорастущим ризобиям. Было показано, что Зуда-плазмиды являются детерминантами основных сим­биотических признаков ризобий: вирулентности, азотфиксирующей активности и хозяйской специфичности. Для некоторых *Sym*-плазмид показано участие в кон­троле адаптивно значимых признаков, важных для выживания в почве, например для катаболизма сложных и редких питательных субстратов, синтеза поверхност­ных компонентов клетки и бактериоцинов, а также кислотоустойчивость и скорости ро­ста. Для разви­тия эффективного (сопровождающегося активной фиксацией N2) симбиоза необходимы и остальные плазмиды: утрата любой из них приводит к резкому снижению скорости образования клубеньков и (или) нитрогеназной актив­ности. Часть генома, вовлеченная в сим­биоз, составляет 15−20% для ризобий, но менее 1% для растений, показывая, что геномы микросимбионтов намного более специализированы для целей симбиоза, чем геномы растений-хозяев.

Универсальной и симбиотически значимой характеристикой геномов ризобий является их необычайно высокая пластичность. Адаптивная роль высокой геномной пластичности симбиотических микробов заключается в регулярных генных перестройках, являющихся источником «исхо­дного материала» для коэволюции с хозяевами. Горизонтальный перенос генов ризобий была впервые показана В. Хейманом. В модельных опытах, проведенных на *Е. coli*, было показано, что мутации, снижающие скорость размножения, возника­ют с частотами 10-4, тогда как повышающие ее мутации — с частотами 4·10-9 на клетку.

Способность *Sym*-плазмид широко специфичных ризобий функционировать в неродственных до­нору реципиентах может быть результатом адаптации этих бактерий к функ­ционированию в клубеньках разнородных хозяев. Данное свойство Sym-плазмид является очень важным для эволюции симбиоза, так как широко специфичные ризобии (например, *R. tropici*) могут быть донорами sym-генов, передаваемых в различные почвенные бактерии, что приводит к формированию новых симбио­тических азотфиксаторов.

Особенностью некоторых ризобий является локализация sym-генов в составе специальных геномных элементов — «симбиотические остро­ва» (СОС). После переноса в штамм-реципиент СОС обычно встраиваются в гены фен-тРНК или вал-тРНК, что характерно для мобильных геномных островов, кодирующих разнообраз­ные (в том числе и патогенные) свойства бактерий [143]. Будучи лишенными собственной системы репликации, СОС могут переноситься между разными штаммами *Mesorhizobium spp.* с помощью интегразы типа Р 4. СОС были выявлены также у некоторых штаммов *Bradyrhizobium*, которые способны передавать свои sym-гены в почвенные и ассоцииро­ванные с растениями бактерии.

Отличительной особенностью СОС является их сниженное, по сравнению с другими частями генома, содержание ГЦ (гуанин + цитозин) пар оснований, что типично для ДНК-элементов, подвергающихся интенсивному переносу в популя­циях. Эволюционное значение этого переноса заключается в том, что он может приводить к быстрому преобразованию свободноживущих бактерий в симбиотически активные формы.

Использование методов транскриптомики и метаболомики подтвердило, что гены метаболиз­ма и транспорта различных источников питания являются наиболее симбиотически значимыми элементами генома ризобий [151]. Большинство симбиотических бактерий сочетает способность к генетически контролируемым биотрофным и некротрофным взаимодействиям с растениями хозяевами с эффективной сапрофитной эксплуатацией экологических ниш почвы. Следует подчеркнуть, что по интенсивности переноса генов ризобии зна­чительно уступают энтеробактериям (*Escherichia, Salmonella*), которые имеют системы для высокочастотного переноса генов (F- и F-факторы, эффективные трансдуцирующие фаги), и тем не менее проявляют строго клональную популяционную структуру.

В природных условиях микроорганизмы подвержены воздействию не только физико-химических факторов, но и других живых существ (биотических факторов). Особенностью микроорганизмов можно считать их участие в биотических связях не в виде одной клетки, а в составе популяции.

Сожительство микроорганизмов с высшими организмами имеет свои особенности. Микробные клетки могут обитать как на поверхностях, так и в различных полостях и тканях высших животных и растений. Резидентные микроорганизмы постоянно присутствуют и размножаются в организме животного или растения, а транзитные могут попадать туда из окружающей среды. Симбиотические отношения с макроорганизмом основаны прежде всего на обмене продуктами метаболизма и предоставлении жизненного пространства. Прижизненные выделения и отмершие части высших организмов являются источником питания для микроорганизмов. Макроорганизм обеспечивает достаточно постоянные условия для роста микробов и в ряде случаев защищает микробную популяцию от внешних воздействий. При образовании симбиоза с высшим организмом микроорганизмы вступают во взаимодействие с защитными системами хозяина и с другими микроорганизмами-симбионтами этого макроорганизма. Характер симбиозов макро- и микроорганизмов может быть разный. Например, болезнетворные микроорганизмы, вступая в паразитический симбиоз с макроорганизмом, наносят существенный вред своим развитием, вызывая инфекционные заболевания, а иногда и гибель организма-хозяина. Напротив, при мутуалистическом симбиозе микроорганизмы играют важную роль в жизни животных и растений, снабжая их некоторыми питательными веществами и витаминами и подавляя патогенные формы. Ни один природный макроорганизм не может нормально существовать без «дружественных» симбиотических микроорганизмов.

Универсальная стратегия, которой следует большинство РМС, включает сигнальное взаимодействие растений с микробами, их обмен метаболитами, а также развитие специализированных для симбиоза клеточных и тканевых структур. Обмен сигналами является процессом, играющим ключевую роль во всех симбиозах и определяющим перекрестную регуляцию и координирован­ную экспрессию генов партнеров [124].

Функционально и гене­тически интегрированные симбиозы возникли и эволюционировали, в первую очередь, как системы для восприятия, преобразования, хранения, а в ряде слу­чаев — и для наследования сигнальной информации, получаемой от партнеров.

Высокая зависимость растений от этих взаимодействий отражается насыщен­ностью их геномов последовательностями ДНК, кодирующими предполагае­мые рецепторы для сигналов, получаемых от микросимбионтов.

### 7.6. Актиномицеты в почве

В 1877 г. патолог Боллингер и ботаник Гарц исследовали опухоли (актиномикозные узлы) коров и обнаружили их возбудителя, которого из-за лучистого расположения нитей назвали лучистым грибком (*Actinomyces*). Это название вскоре стало собирательным для нескольких близких родов.

В 1884 г. Израиль получил первую чистую культуру актиномицета (*Actinomyces* *israelii*). В дальнейшем было обнаружено множество патогенных форм (1888 г. — из ноги больного мадуровой болезнью человека Нокардом был выделен первый представитель рода Nocardia), в 1890–1892 гг. Госпирини составил список родов акиномицетов.

В 1912–1916гг. стали появляться первые описания непатогенных актиномицетов, выделенных из обычных природных субстратов. В этот период свой вклад в развитие актиномицетологии внесли С. А. Ваксман, Краинский, Рудольф Лиске. Новый этап развития науки начался в 1939 г., когда Красильников получил в нативном виде антибиотик мицетин, выделяемый стрептомицетами. В 1945 г. Ваксман, Шатц и Буги выделили стрептомицин. На актиномицеты было обращено большое внимание, однако в основном развивались прикладные аспекты актиномицетологии, связанные с получением и применением антибиотиков.

Представители почти всех известных родов актиномицетов выделены из почвы или обнаружены в почве. Почва является тем природным субстратом, из которого акти­номицеты выделяются в наибольшем количестве и разнообразии. Однако представители некоторых родов актиномице­тов (*Streptoverticillium*, *Micromonospora*) обнаруживаются в подстилкев значительно (на порядок) большем количестве, чем в почве. В почве всегда присутствует определенное количество малочисленных микробных популяций, способных быстро увеличивать свою численность и встраиваться в микробное сообщество, если резко меняются условия или из трофической цепочки выбивается какое-то звено [152].

Сукцессия прокариотных микроорганизмов в различных поч­вах характеризуется, как правило, преобладанием вначале грам­отрицательных бактерий и увеличением доли актиномицетов на более поздних стадиях. Увеличение численности актиномицетов наблюдается в тот период, когда биомасса грибов начинает снижаться. Вероятно, актиномицеты специализируются на использовании отмершего мицелия грибов, который содержит хитин. Однако закономер­ности распределения мицелиальных прокариот в почвах до не­давнего времени были исследованы только у представителей ро­дов *Streptomyces* и *Streptoverticillium*. Введение понятия комплекса почвенных актиномицетов, структура которого отражает пространст­венно-временное соотношение отдельных таксонов (родов, ви­дов) мицелиальных прокариотных микроорганизмов, способство­вало выявлению общих закономерностей распределения этих организмов в природных субстратах и, в первую очередь, в поч­ве. Структура комплекса почвенных актиномицетов определяет­ся составом и численностью типичных родов и видов и величи­ной видового спектра. Структура комплексов почвенных актиномицетов специфич­на для каждого биогеоценоза. Лесной биогеоценоз характеризу­ется наличием одного доминирующего рода *Streptomyces* с типич­ными доминирующими видами только одной секции и серии. Виды почвенных актиномицетов лесного биогеоценоза функцио­нируют в условиях, где основными средообразующими фактора­ми являются подстилка, невысокое содержание гумуса, низкое значение pH среды. Эти условия определяют заполнение основ­ной части пространства экологических возможностей (65%) в лесной почве только стрептомицетами секции и серии *Cinereus Achromogenes*. Показано, что экологические ниши изученных актиномицетных популяций дерново-подзолистой почвы не разоб­щены полностью, а в той или иной мере перекрываются. В лесных биогеоценозах так называемые олигоспоровые акти­номицеты (роды *Actinomadura*, *Saccharomonospora*, *Microbispora*, *Saccharopolyspora*, *Termomonospora*, *Nocardia*) обнаружены во всех ярусах — надземном (листья кустарников, трава), наземном (мох, слои подстилки L, F), почвенном (минеральные горизонты поч­вы). Наиболее благоприятными местообитаниями для олиго- споровых актиномицетов в хвойных лесах оказались листья кус­тарников, нижние слои подстилки (F) и верхний горизонт почвы, обогащенные растительными остатками разной степени разложенности, где их численность может достигать сотен тысяч ко­лониеобразующих единиц КОЕ на 1 г субстрата, а доля от всех актиномицетов в комплексе составляет 50%. Актиномицеты представляют собой единое звено в трофиче­ской цепи любой экосистемы, осуществляя в ней функции микробов-редуцентов. Основная роль мицелиальных прокариот со­стоит в разложении таких сложных полимеров как лигнин, хитин, целлюлоза, гумусовые соединения. Актиномицеты участвуют так­же в накоплении в почве биологически активных веществ и фор­мировании азотного баланса почв.

Характеристика актиномицетов, как азотфиксирующих симбионтов, — актиномицеты способны к формированию на некоторых стадиях развития ветвящегося мицелия диаметром 0,4–1,5 мкм, что проявляется у них в оптимальных для существования условиях [153]. Они имеют грамположительный тип клеточной стенки и высокое (60–75 %) содержание ГЦ пар в ДНК. Наиболее распространены в почве: в ней обнаруживаются представители почти всех родов актиномицетов. Актиномицеты обычно составляют четверть бактерий, вырастающих на традиционных средах при посевах их разведённых почвенных суспензий и 5–15 % прокариотной биомассы. Их экологическая роль заключается чаще всего в разложении сложных устойчивых субстратов; предположительно они участвуют в синтезе и разложении гумусовых веществ. Могут выступать симбионтами беспозвоночных и высших растений [154].

Дифференциация мицелия — процесс усложнения в процессе развития колонии актиномицета. Прежде всего, она проявляется в делении на первичный (субстратный) и вторичный (воздушный) мицелий. Воздушный мицелий толще, он гидрофобен, содержит больше ДНК и ферментов, на поверхности его клеток имеются различные структуры (палочковидные, фибриллы). Воздушный мицелий с редкими перегородками, практически превалирующий у спорообразующих, а с частыми перегородками (септами) у неспорулирующих форм. Образование септы начинается с впячивания цитоплазматической мембраны.

Вегетативные клетки большинства форм делятся поперечными перегородками, *Geodermatophilus* и *Dermatophilus* — во взаимно перпендикулярных направлениях, некоторые актиномицеты содержат клетки с септами, проходящими в совершенно разных направлениях (спорангии *Micromonospora*, везикулы *Frankia*). Везикулы — инкапсулированные азотфиксирующие образования у *Frankia*. Ветвление происходит по механизму почкования [155].

В процессе старения цитоплазма клеток приобретает неравномерную электронную плотность, в ней перестают различаться рибосомы, граница нуклеоида расплывается, клеточная стенка становится тонкой и рыхлой, образуется микрокапсула. При автолизисе в цитоплазме образуются обширные светлые участки, нуклеоид распадается, в клеточной стенке образуются отверстия, клетка заполняется мембранными структурами, разрушающимися последними.

Нокардиоформные актиномицеты редко образуют споры и размножаются преимущественно фрагментами быстро распадающегося мицелия. Актиномицеты, имеющие продолжительные мицелиальные стадии, различаются по типу спорообразования.

Актиномицеты (особенно рода *Micromonospora*) обнаруживаются в водоёмах и их донных осадках, однако не решен вопрос о том, являются ли они постоянными их обитателями или занесены из почвы. Исследование структуры актиномицетных комплексов позволило не только установить закономерности в распространении мицелиальных прокариот в биогеоценозах основных природных зон, но и показать, что традиционно считающиеся редкими роды актиномицетов, в частности Мiсrотопоsроrа, Sассharотопоsроrа, Sассhаrоро1уsроrа и др. при определенных условиях могут иметь равную со стрептомицетами численность, а иногда и являться доминантами в актиномицетном комплексе [156]. Характеристика структуры актиномицетных сообществ наземных экосистем, установление экологического статуса постоянно выделяемых из почв и растительных субстратов родов актиномицетов отвечает задачам расширения наших знаний о микробном разнообразии.

К настоящему времени проведены большие исследования симбиозов с актиномицетами таких растений, как облепиха (*Hippophae*), лох (*Elaeagnus*), восковница (*Myrica*). Актиноризные растения семейства лоховых формируют бактериосимбиотрофические отношения с содержащимися в почве актиномицетами рода *Frankia*. Актиномицеты из рода *Frankia* могут продуцировать некоторые фитогормоны и сидерофоры. Показано, что вышеупомянутые растения обладают повышенной способностью взаимодействовать с ризосферными актиномицетами, которые растут на корнях с образованиея клубней (актиноризы). [157].

Бактериосимбиотрофия относится к одной из положительных форм положительных взаимоотношений высших растений и бактерий. Микробные симбионты трансформируют элементы минерального питания растений, продуцируют биологически активные соединения, выполняют защитную функцию, ассимилируют молекулярный азот. Накопление азота в почве при участии таких растений может достигать 150–300 кг на 1 га в год.

Клубеньковые бактерии проявляют антагонистический эффект против многих патогенных грибов. Система клубеньков на корнях лоховых растений по аналогии с микоризой носит название актиноризы. В настоящее время подобный тип взаимоотношений покрытосеменных растений с азотфиксирующими актиномицетами описан более чем для двух сотен видов, преимущественно древесных. Интересно то, что если в симбиозе с ризобиями макросимбионтами являются только растения семейства бобовых, то в отношении актиномицетов список семейств растений-макросимбионтов более обширен.

По мнению Е.Н. Мишустина актиномицеты осуществляют влияние на азотный баланс почвы [150]. Так, представители рода *Frankia* формируют ассоциации с небобовыми растениями (ольха, облепиха и др.). Растение в ответ на инвазию актиномицета формирует клубеньки на корнях. В этих условиях актиномицеты начинает интенсивно фиксировать атмосферный азот. В настоящее время с несомненностью доказана возможность фиксации азота in vitro актиномицетами рода *Frankia*. Описание рода *Frankia*, объединившего актиномицеты, способные образовывать азотфиксирующие клубеньки, было сделано на основании изучения свойств актиномицетов in vivo. Однако только в 1975 году была получена первая чистая культура актиномицетов в анаэробных условиях на сложной среде для культуры тканей, методом Lalonde. В состав рода *Frankia* входят виды с хорошо развитым мицелием, спорангии формируются только из части клеток нити в виде интеркалярных и терминальных "опухолей". При распаде спорангиев из них освобождаются подвижные и неподвижные споры. Воздушный мицелий отсутствует. Все представители группы — хемоорганогетеротрофы с высокими пищевыми потребностями, аэробы (главным образом микроаэрофилы), мезофилы. Процесс азотфиксации у франкий локализован в особых структурах (визикулах) размером 3-5 мкм, развивающихся на терминальных окончаниях гиф интеркалярно или на коротких выростах мицелия, нанизываясь подобно бусинам. По данным Г.Г. Майстренко везикулы могут быть окружены капсульным слоем, толщина и плотность которого варьирует в зависимости от возраста и состояния растения-хозяина. Мицелиальная форма встречается, как правило, в молодых клубеньках растений и в единичных клетках верхушек зрелых функционирующих клубеньков. Везикулы появляются в клетках начинающих ветвиться клубеньков растений и преобладают в активно фиксирующих азот клубеньках.

Л.В. Калакуцкий [153] указывал, что по количеству фиксированного азота на единицу массы клубенька *Frankia* значительно превосходят клубеньковые бактерии, а по энергетической экономичности азотфиксации симбиоз актиномицетов с растениями превосходит все типы азотфиксирующих симбиозов.

В последние годы получены интересные сведения, раскрывающие немало сокровенных тайн симбиоза актиномицетов с высшими растениями. Без его оптимизации практически невозможно интенсивное лесоводство. Селекционеры создают растения с определенными свойствами, удачно сочетающимися с наиболее эффективными штаммами *Frankia*. Создание современных методов их культивирования и отбора — крупная заслуга микробиологов. На основе их достижений были разработаны оригинальные подходы к рекультивации нарушенных земель, найдены пути повышения эффективности биологической фиксации азота в агросистемах. Стало очевидным, что отсутствие в почве необходимого количества актиномицетов, обязательных для заражения корневой системы и образования клубеньков, может стать неодолимым препятствием в закреплении растений-пионеров на бесплодных участках. Между тем, достаточно заразить посадочный материал чистыми культурами *Frankia*, чтобы без существенных затрат значительно увеличить продуктивность актиноризных симбиозов.

Перспективность подобных подходов убедительно доказана неоднократными опытами с черной ольхой, высаживаемой на рукотворных песчаных дюнах. В настоящее время культивирование различных штаммов *Frankia* становится объектом биотехнологического производства. Имеются обширные возможности их использования для заражения молодых растений, предназначаемых для рекультивации нарушенных территорий, сопровождающих карьерную добычу полезных ископаемых. Посадочный материал, заранее обеспеченный зачатками актиноризы, выгодно отличается по скорости роста, темпам накопления биомассы и эффективности усвоения азота.

Почва — наилучшая среда обитания актиномицетов. Они характерны для всех материков. В природе взаимовыгодный союз франкий и древесных растений продолжается в течение всего периода вегетации. Он служит убедительным примером энергетической экономичности. Потребности в энергии удовлетворяются за счет фотосинтеза, протекающего в листьях макросимбионта. Накопление азота может еще стимулироваться увеличением освещенности, добавлением в почву суперфосфата, не менее существенно присутствие молибдена и кобальта.

Неоднократно показано влияние микоризы на сохранение и рост сеянцев древесных пород, где отмечено стимулирующее воздействие корневых выделений на грибы-симбионты [157]. Грибы-симбионты в экотрофных микоризах расширяют возможность контакта между растениями и почвой вследствие увеличения поверхности, биохимической активности и образованию грибных чехлов. Кроме того одновременно показана защитная роль эктомикоризы по отношению к фитопатогенам, что проявляется в утилизации корневых углеводов и других питательных веществ, в выделении антибиотиков, поддерживающих ризосферную популяцию других видов микроорганизмов. С другой стороны, микробные симбионты перерабатывают и подготавливают минеральное питание для растений, продуцируют биологически активные соединения, выполняют защитную функцию, ассимилируют молекулярный азот.

В природе все растения формируют континуум ассоциированных с корнями микроорганизмов, распространяющийся из ризосферы в ризоплану и в растительные ткани, включая эпидермис, кортекс, эндодерму и васкулярную система корня. Взаимодействие почвы и растений происходит через ризосферу и ризосферные микроорганизмы при регуляции микробного комплекса почвы в целом.

При анализе полученных данных по динамике нитрогеназной активности лоховых растений возникает предположение о вероятной связи азотфиксации с биологическими особенностями лоховых растений. К настоящему времени установлено, что в родственном актиноризному бобово-ризобиальном симбиозе гены растения-хозяина оказывают воздействие на ряд событий в ходе симбиоза, определяя способность к формированию клубеньков, влияя на их численность, а также на внутриклеточную дифференциацию и эффективность азотфиксации. В условиях юга Западной Сибири лоховые растения при плантационном выращивании развиваются по следующему циклу: вегетация начинается в первой декаде мая, цветение у облепихи происходит в средине-конце мая, у моха - в июне. В исследованиях с лоховыми растениями показана связь вегетации с прирост корней, с образованием и разветвлением которых связано инфицирование франкиями и развитие клубеньков. Рост побегов тесно связан с развитием корневой системы. Поэтому, вероятно, пик азотфиксации происходит именно в этот период. Другие связи колебаний азотфиксирующей активности клубеньков лоховых растений в ходе вегетационного развития, возможно, согласуются с сезонными изменениями ультраструктуры инфицированной ткани, а также с особенностями функционирования в них эндофита.

Актиномицеты являются неотъемлемой частью микробного комплекса почвы, составляя четвертую часть от общего числа бактерий, вырастающих на традиционно используемых питательных средах при посеве из разведений почвенных суспензий Актиномицетный мицелий в почве, составляет 5–15 % от общей биомассы бактерий.

Долгое время о распространении актиномицетов в почвах и связанных с ними растительных субстратах судили по количеству выделяемых стрептомицетов. Разработка селективных комбинированных приемов для выделения микромоноспор, сфснгоспорангиев, олигоспоровых актиномицетов родов позволила выявить определенные закономерности в организации актиномицетных комплексов в биогеоценозах: выявлена вертикальная стратификация в распределении актиномицетов в биогеоценозах, для которой характерно сочетание непрерывности (в отношении стрептомицетов) и дискретности (в отношении других родов). Различные роды актиномицетов поэтапно участвуют в процессе разложения органических веществ в почве, занимая определенную пространственную и временную позицию в экосистеме, согласно приспособлениям к наземному существованию, свойствам мицелия и спор, экологическим стратегиям и типу взаимоотношений рода с другими в актиномицетном комплексе. В определенных условиях (тип почвы, этап сукцессии) традиционно считающиеся редкими роды актиномицетов могут иметь равную со стрептомицетами долю в актиномицетном комплексе, а иногда и доминировать в нем.

Показано, что среди всех спорообразующих актиномицетов представители родов Мiсrотопоsроrанаиболее часто выделяются из почв и растительных субстратов.

В минеральных почвенных горизонтах микромоноспоры составляют минорный компонент актиномицетного комплекса, уступая по численности стрептомицетам.

Для лесных биогеоценозов характерно присутствие спорангиальных актиномицетов, которые обнаруживаются во всех ярусах, причем в количествах, сопоставимых со стрептомицетами. Известно, что стрептоспорангии выдерживают кислые условия окружающей среды.

Олигоспоровые актиномицеты в лесных биогеоценозах представляют минорный компонент, их доля в актиномицетном комплексе редко достигает 50%. Представители олигоспоровых актиномицетов, как правило, медленно растущие формы, нуждающиеся в дополнительных источниках питания. Численное преобладание микромоноспоровых актиномицетов над стрептомицетами является одной из специфических черт биогеоценозов на осушенных торфяниках. В актиномицетных комплексах этих биогеоценозов часто обнаруживаются представители олигоспоровых актиномицетов.

Таким образом, микромоноспоры и стрептоспорангии нельзя считать редкими формами в почвах лесной зоны. Численность актиномицетов этих родов сопоставима с количеством стрептомицетов, а иногда и превышает его. Представители олигоспоровых актиномицетов в лесной зоне являются редкими формами

В аридной зоне характерно постоянное присутствие в биогеоценозах микромоноспоровых актиномицетов во всех ярусах — надземном, наземном и почвенном. В степном войлоке численность микромоноспор превышает численность стрептомицетов. В растительном же и почвенном ярусах степных биомов стрептомицеты и микромоноспоры представлены примерно в равных долях.Стрептоспорангии менее характерны для актиномицетных комплексов биогеоценозов аридной зоны

С 1980-х–1990-х внимание исследователей переключилось на изучение экологических функций актиномицетов, их взаимоотношения в естественных условиях с животными, растениями и микроорганизмами. Происходит пересмотр систематики, связанный с получением данных о геноме актиномицетов [104, 105].

Закономерности в организации комплекса стрептомицетов в наземных экосистемах могут быть сформулированы следующим образом:

* Изучение структуры почвенных стрептомицетных комплексов, которая определяется составом типичных видов, численностью доминантов, величиной видового спектра, позволило вскрыть различия этих комплексов в почвах основных биоклиматических зон. Установлено, что антропогенное воздействие приводит к созданию специфических стрептомицетных комплексов, в значительной степени отличающихся от комплексов природных наземных экосистем. Стрептомицетный комплекс использован для составления оценочной шкалы действия возрастающих доз минеральных удобрений и извести на состояние микробной системы почвы и сохранение ее гомеостаза.
* Использование сукцессионного подхода к исследованию стрептомицетных комплексов позволило определить и оценить экологические характеристики постоянно выделяемых из почвы видов стрептомицетов — приспособленность, экологическую стратегию популяций, перекрывание экологических ниш — и использовать эти экологические характеристики для решения задач микробиологической диагностики экосистем.
* Установлено, что антропогенное воздействие приводит к созданию специфических стрептомицетных комплексов, в значительной степени отличающихся от комплексов природных наземных экосистем. Стрептомицетный комплекс использован для составления оценочной шкалы действия возрастающих доз минеральных удобрений и извести на состояние микробной системы почвы и сохранение ее гомеостаза.

Таким образом, установлено, что кроме "вездесущих" стрептомицетов, которые обнаруживаются во всех исследованных типах почв основных почвенно-климатических зон и присутствуют во всех ярусах вертикальной структуры основных типов биогеоценозов, неотъемлемыми компонентами актиномицетных сообществ наземных экосистем являются моноспоровые и спорангиальные актиноицеты, среди которых наиболее распространены представители родов Мгсготопозрога инеизвестна также их роль в данных местообитаниях.

Почвы являются тем природным субстратом, откуда актиномицеты выделяются в наибольшем разнообразии. Однако большая часть биомассы актиномицетов представлена спорами, которые и дают колонии при учёте популяций в почве методом посева, лишь 1–4 % биомассы занимает мицелий. Он обнаруживается в микрозонах с повышенным содержанием органического вещества.

Актиномицеты доминируют на поздних стадиях микробной сукцессии, когда создаются условия для использования труднодоступных субстратов. Активация актиномицетной микрофлоры происходит при внесении в почву крахмала, хитина, нефтепродуктов и т. д. В то же время из-за медленного роста актиномицеты не способны конкурировать с немицелиальными бактериями за легкодоступные вещества. Возможно, что вторичные метаболиты (в особенности, меланоидные пигменты) играют какую-то роль в образовании гумуса. Ценозообразующую роль актиномицеты играют в местах первичного почвообразования, находясь в этих условиях в ассоциации с водорослью. Эти ассоциации в лабораторных условиях формировали лишайникоподобный таллом (актинолишайник).

Актиномицеты (рода *Streptomyces*, *Streptosporangium*, *Micromonospora*, *Actinomadura*) являются постоянными обитателями кишечника дождевых червей, термитов и многих других беспозвоночных. Разрушая целлюлозу и другие биополимеры, они являются их симбионтами. Патогенные формы, вызывающие актиномикоз в организме человека обитают в ротовой полости, в кишечнике, в дыхательных путях, на коже, в зубном налете, в кариозных зубах, на миндалинах.

Большинство актиномицетов — аэробы, факультативные анаэробы присутствуют лишь среди актиномицетов с непродолжительной мицелиальной стадией. Здесь усматривается некоторая параллель с грибами, среди которых лишь немицелиальные дрожжи также способны жить в анаэробных условиях. Предполагается что менее эффективный анаэробный тип метаболизма успешен при большей относительной поверхности клеток, которая достигается фрагментацией мицелия.

Актиномицеты более устойчивы к высушиванию чем немицелиальные бактерии, благодаря чему они доминируют в пустынных почвах. Особенно долго способны сохраняться при высушивании склероции, образуемые родом *Chainia*. Показано что при aw=0,50 некоторые споры прорастают (*р. Streptomyces*, *Micromonospora*), однако образовавшийся мицелий не ветвится. При aw=0,86 прорастают споры практически всех актиномицетов, у некоторых мицелий ветвится, образуются микроколонии, оптимум достигается при aw=0,95.

Чаще всего актиномицеты нейтрофилы, однако некоторые роды ацидофильны или алкалофильны. Характерным свойством актиномицетов является ацидотолерантность, благодаря чему их доля в микробном комплексе лесных почв относительно высока. Отмечено что на кислой среде продлевается вегетативная стадия, на щелочной, напротив, ускоряется спорообразование.

Актиномицеты не требовательны к содержанию органического углерода в среде, многие из них способны расти на «голодном» агаре. Представители рода *Nocardia* способны осуществлять хемосинтез, окисляя водород, метан и метанол. Широко среди актиномицетов распространена гетеротрофная фиксация CO2.

Отличительной особенностью актиномицетов является способность к синтезу физиологически-активных веществ, антибиотиков, пигментов, пахучих соединений (вещества геосмин, аргосмин, муцидон, 2-метил-изоборнеол). Именно ими формируется специфический запах почвы и иногда воды Актиномицеты являются активными продуцентами антибиотиков, образуя до половины известных науке [155].

Актиномицеты — симбионты способны инфицировать только паренхимные клетки коры корня. Как и при заражении бобовых микроорганизм проникает в корни из почвы через корневые волоски, которые в результате скручиваются. В месте инфицирования стенки корневого волоска утолщаются и гифы, проникшие внутрь клетки, покрываются толстым чехлом. По мере продвижения гиф по корневым волоскам чехол утоньшается и вокруг гиф формируется капсула, которая, вероятно, образуется как растением, так и актиномицетом.

Из корневого волоска гифы проникают в эпидермис и кору корня, вызывая деление и гипертрофию инфицированных клеток. Клубки гиф заполняют центр клеток растения, у клеточных стенок происходит расширение и деление концов гиф, в последнем случае формируются специфические структуры, так называемые везикулы. В клубеньках образуется вещество, подобное леггемоглобину бобовых растений. В конце вегетации везикулы деградируют, но в клетках растений сохраняются гифы, заражающие весной новые ткани. Обычно при симбиозе с небобовыми растениями энергия азотфиксации актиномицетами рода *Frankia* больше, чем у клубеньковых бактерий бобовых растений [156].

**7.7. Симбиоз актиномицетов и растений (актинориза)**

Микоризные грибы (от греч. mykes — гриб, rhiza — корень) образуют симбиоз с высшими растениями. Микориза — очень интересное и уникальное явление в природе: абсолютно разные по строению и способу жизни организмы объединяются, оказывают друг другу помощь в существовании. Есть хорошая пословица "Леса нет — и гриба нет". Это своеобразное сообщество растений и грибов, которое очень часто отражается в названиях последних (подберезовик, подосиновик), нашло научное обоснование в открытии явления микоризы. Это представляется следующим образом: когда мицелий определенного вида изначально распространяется в почве и на каком-то этапе своего развития встречает мелкие корешки растений определенного вида, то оплетает их своеобразной, невидимой глазом "муфтой", образуя грибной чехлик. Это хорошо и для растения, и для гриба. Растение обеспечивает микоризный гриб углеводами, углекислым газом, а при недостатке — кислородом. В свою очередь гриб участвует в обеспечении растения макро- и микроэлементами, водой. Кроме этого, микоризный гриб предохраняет корни растения от вредных микроорганизмов.

Без микоризы мицелий симбиотических грибов может определенное время существовать в почве, но при этом никогда не будет образовывать плодовых тел. Поэтому в искусственных условиях нельзя получить плодовые тела белого гриба, сыроежковых грибов, мухоморов — все они являются микоризообразователями и без определенной древесной породы не будут плодоносить. В свою очередь растение без своих грибных симбионтов развивается плохо, медленно, легко подвергается заболеваниям и даже может погибнуть. Так, например, сеянцы сосны могут вырасти крепкими и высокими только в том случае, если их корни оплетают определенные виды грибов.

В середине 50-х годов XX в. было принято решение вокруг города Элиста (Калмыкия) насадить зеленое кольцо, чтобы предохранить город от сильных степных ветров. Для этой цели выбрали акацию. Посадили раз — все деревца погибли, посадили второй и третий — все тоже. Обратились к ученым за советом. Когда провели анализы почвы и древесных остатков, то установили, что в почве отсутствовали микоризообразователи акации. Уже на следующий год были высажены новые молодые деревца, которые прижились и начали расти, поскольку предварительно в почву был внесен мицелий соответствующих грибов.

Семена орхидей имеют микроскопически маленькие размеры и не содержат никаких питательных веществ, поэтому могут прорасти только при наличии гриба-симбионта. Ростки орхидных длительное время должны питаться через симбионтов, которые разрушают готовые органические вещества. Вследствие этого орхидные изначально обзаводятся целой свитой микоризных грибов, способных давать им возможность осваивать питательные вещества. Через определенное время симбиоз становится им не нужен и гриб погибает, но не раньше, чем успеет образовать большое количество дозревших спор, которые будут разнесены водой или ветром и вновь вступят в симбиотические отношения с новыми ростками орхидных.

Как видно из вышеприведенных примеров, значение микоризных грибов очень большое: они способствуют росту и успешному развитию древесных, кустарниковых и травянистых растений. К микоризным грибам относится большое количество микромицетов, практически все трубчатые, все сыроежковые и около 35% всех пластинчатых грибов. Поэтому каждый, кто бывает в лесу, не должен уничтожать неизвестные ему и даже ядовитые грибы, поскольку они нужны самому лесу и его жителям. Четвертый эксперимент показал, что укороченные варианты гена SYMRK достаточны для АМ, но не для клубеньковых симбиозо [157].

Как и в третьем эксперименте, использовали мутантную форму лядвенца японского, не образующую ни АМ, ни СБР. Растениям пересаживали "средний" вариант гена, взятый у помидора, и "короткий" вариант, позаимствованный у риса. В обоих случаях у мутантного лядвенца восстановилась способность к формированию АМ, но не СБР. На основе этих и ряда других экспериментов и наблюдений ученые заключили, что белок SYMRK, по-видимому, необходим для формирования особых внутриклеточных структур — своеобразных "с имбионтоприемников" или "пре-инфекционных нитей" (pre-infection threads), которые впоследствии заселяются симбиотическими бактериями (и тогда их уже называют "инфекционными нитями"). Похожие "симбионтоприемники" образуются в клетках корней и перед принятием грибных симбионтов при формировании АМ (эти структуры называются pre-penetration apparatus). Сходство в строении и механизмах формирования этих "симбионтоприемников", по-видимому, отражает единство генетической программы, отвечающей за формирование всех трех типов внутриклеточного симбиоза: АМ, СБР и АР [158].

Мутации в некоторых "общих генах симбиоза" приводят к нарушению формирования "симбионтоприемников" (SYMRK, конечно, не единственный ген, необходимый для их формирования). Следует подчеркнуть, что "длинная" версия белка SYMRK, очевидно, является необходимым, но недостаточным условием формирования клубеньковых симбиозов. Это видно из того, что такие симбиозы могут формировать не все, а только некоторые обладатели "длинной" версии. По-видимому, растения, образующие клубеньки, должны обладать еще какими-то генетическими особенностями, которые пока не удалось обнаружить.

Способность к формированию клубеньковых симбиозов (АР и СБР) развилась на основе древней генетической программы АМ. Ключевое эволюционное событие заключалось в том, что клетки корней приобрели способность реагировать формированием "симбионтоприемников" не только на присутствие симбиотических грибов, но и на близость азотфиксирующих бактерий. Очень похоже, что в основе этого события лежало изменение структуры белка SYMRK, а именно добавление двух новых рецепторных доменов к его внеклеточной части. Оба эти домена могли быть заимствованы у генов других белков, имеющихся в геноме высших растений. Таким образом, возникновение клубеньковых симбиозов — яркий пример формирования новой функции путем модификации генного комплекса, ранее служившего для иных целей. Арбускулы, видоизменения мицелия у грибов — микоризообразователей, (аналогичные гаусториям), являются многократно дихотомически разветвлёнными гифами сложной формы, проникающими в паренхимальные клетки корня. Окружены внутри клетки клеточной плазмалеммой. В арбускулах происходит наиболее интенсивный обмен метаболитами между компонентами микоризы, хотя они и существуют лишь несколько дней (в последствии растворяются). Исследователями считается, что арбускулы образуются под влиянием защитной реакции клеток растения (см. рис. 7).

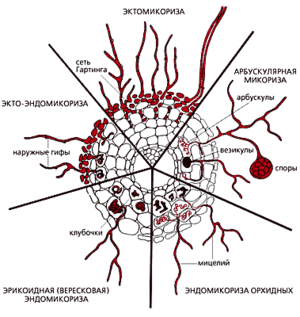


Рис. 7. Морфологические особенности различных типов микоризы

Симбиоз растений с актиномицетами рода *Frankia* — еще один тип клубенькового симбиоза. Этот тип симбиоза характеризуется менее эффективной азотфиксацией, чем бобово-ризобиальный. Однако данные последних лет по экспрессии отдельных генов у актиноризных растений позволяют заключить, что азотфиксация у них имеет много общего с этим процессом у бобовых. По меньшей мере, семь общих генов задействованы в этих двух типах симбиоза. Эти гены получили название “common symbiosis genes”. В их число, например, входят гены, отвечающие за образование “преинфекционных нитей”, которые впоследствии заселяются симбиотическими бактериями. Существует вероятность, что лектины актиноризных растений (аналогично лектинам бобовых) участвуют в инициации симбиоза с *Frankia* [104, 105]. Таким образом, первыми модельными небобовыми растениями, узнаваемыми ризобиями и вступающими с ними в симбиотические отношения, могут стать трансгенные актиноризные растения (в частности, облепиха, тип симбиоза у которой относительно близок к таковому у параспонии и некоторых бобовых [100].

В симбиотические отношения с растениями способны вступать представители цианобактерий и актиномицетов, в частности представители рода *Frankia.* Симбиотические отношения *Frankia* могут возникнуть с более чем 200 видами двудольных древесных растений, принадлежа­щих к восьми семействам, среди которых ольха *(Aims),* облепиха *(Hippophae),* стланик *(Dryas)* и др. При проникновении в растения часть гиф *Frankia* превращается в морфологически уникальные структуры, способные к азотфиксации и называемые везикулами. В конечном итоге на корнях инфицированных растений образуют­ся азотфиксирующие клубеньки, где и происходят синтез нитро- геназы и фиксация азота. Отметим, что бактерии рода *Frankia* спо­собны к азотфиксации и в свободноживущем состоянии, т. е. без контакта с растением.

Нами было обнаружено, что у исследованной нами облепихи корневые клубеньки не совсем крупные и представлены в виде густых сплетений корней, разветвленных наподобие кораллов), которые в основном формируются на боковых корнях, находящихся в верхнем слое (5–20 см) почвы. Рассмотрение микроорганизмов показало, что они проникает в корни из почвы через корневые волоски, которые в результате скручиваются. В месте инфицирования стенки корневого волоска утолщаются и гифы, проникшие внутрь клетки, покрываются толстым чехлом. По мере продвижения гиф по корневым волоскам чехол утоньшается и вокруг гиф формируется капсула, которая, как считают, образуется как растением, так и актиномицетом. Из корневого волоска гифы проникают в эпидермис и кору корня, вызывая деление и гипертрофию инфицированных клеток. Клубки гиф заполняют центр клеток растения, у клеточных стенок происходит расширение и деление концов гиф, затем формируются специфические структуры, так называемые везикулы размером 3–5 мкм. Клубеньки на корнях располагаются в любом месте, по размеру не совсем крупные и. в основном, формирующиеся на боковых корнях.