РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
ГЛАВНЫЙ БОТАНИЧЕСКИЙ САД им. Н.В. ЦИЦИНА

На правах рукописи
УДК 582.28:632.425

ТКАЧЕНКО Олег Борисович

НИЗКОТЕМПЕРАТУРНЫЕ СКЛЕРОЦИАЛЬНЫЕ ГРИБЫ – ЛИМИТИРУЮЩИЙ ФАКТОР ЗИМУЮЩИХ ИНТРОДУЦИРУЕМЫХ ТРАВЯНИСТЫХ РАСТЕНИЙ

03.00.05 – ботаника
03.00.24 – микология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора биологических наук

МОСКВА 2006

Работа выполнена в Главном ботаническом саду им. Н.В.Цицина Российской Академии Наук

Научный консультант:	доктор биологических наук С.Н. Лекомцева
Официальные оппоненты:	доктор биологических наук, проф. Р.А.Карписонова доктор биологических наук, проф. М.Ф. Григорьев доктор биологических наук А.Н.Лихачев
Ведущая организация:	Московский государственный университет леса

Защита состоится «02» ноября 2006 г. в 13.00 часов на заседании диссертационного совета Д 002.028.01 по защите диссертаций на соискание ученой степени доктора биологических наук в Главном ботаническом саду им. Н.В.Цицина РАН в конференц-зале лабораторного корпуса (127276, г. Москва, Ботаническая ул., д. 4. тел./факс. (495)977-91-72)

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке Главного ботанического сада им. Н. В. Цицина РАН

Автореферат разослан « » 2006 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор биологических наук Ю.К. Виноградова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Одним из факторов успешной интродукции зимующих растений является их способность противостоять низкотемпературным автохтонным патогенным грибам, активным под снеговым покровом. Интродуцируемые растения, как правило, являются более ослабленными, чем аборигенные. Являясь широко специализированными, низкотемпературные склероциальные грибы (НСГ) обладают различной вредоносностью, зависящей от вида патогена, климатических и погодных условий. Ущерб от НСГ носит не ежегодный характер. Тем не менее, при благоприятных для этих патогенов условиях он может быть огромен. В сельском хозяйстве НСГ отнесены к прогрессирующим заболеваниям зерновых культур, потенциальные потери урожая от которых при эпифитотии достигают 25-30% (Санин, 2000).

Главной причиной интереса к НСГ в СССР, а затем в России была хозяйственная значимость этой группы патогенов, в то время как географическому распространению этих грибов и их специализации в отношении растений-хозяев не уделялось должного внимания.

Ботанические сады играют большую роль не только как места адаптации интродуцируемых растений в новые районы обитания. Здесь происходит адаптация к паразитированию на интродуцируемых растениях автохтонных паразитических грибов, к которым относятся НСГ. Интродуцируемые растения являются хорошими модельными объектами формирования новых патосистем «интродуцируемое растение – НСГ», особенно если в природе их ареалы не перекрываются.

Цель настоящей работы - биологическое обоснование стратегии интродукции растений в районах обитания наиболее вредоносных низкотемпературных склероциальных грибов (НСГ).

Задачи исследований:

1) Выявление видового состава, географического распространения, уровня специализации к растениям-хозяевам наиболее вредоносных низкотемпературных склероциальных грибов – возбудителей снежной плесени на территории России.
2) Исследование особенностей развития *Sclerotinia nivalis*, *S. borealis* и *Typhula ishikariensis* в природе и на искусственных средах.
3) Оценка роли НСГ в интродукции растений и разработка стратегии по ограничению их развития.

Научная новизна результатов исследований. Впервые в России выявлен новый опасный широко распространенный психротрофный паразит *Sclerotinia nivalis.* На территории России впервые изучено распространение наиболее опасных НСГ: *T. ishikarienis*, *S. nivalis* и *S. borealis.* Впервые на территории России проведено изучение видового состава комплексного таксона *T. ishikariensis. T. ishikarienis* впервые обнаружен в Азиатской части России. В предгорьях хребта Хамар-Дабан (Прибайкалье) отмечен рефугиум психрофилла *T. ishikarienis* биологического вида 2. Генетическими методами подтверждено, что виды *T. graminearum* и *T. humulina* являются синонимами *T. ishikariensis* биологического вида 1, причем последнее название приоритетно. Выявлены два пути адаптации *T. ishikariensis* к обитанию в почве.

Научно-практическая значимость работы. Определен круг растений-хозяев наиболее вредоносных НСГ. Подтверждена ненадежность признака «круг растений-хозяев» как таксономического критерия семейства Sclerotiniaceae и классификации грибов на основе пищевой адаптации. Показана стратегия сдерживания развития НСГ при интродукции растений.

Положения, вносимые на защиту:

1) Интродукционные центры – места формирования систем «растение-паразит» на примере НСГ;
2) НСГ – один из факторов, препятствующий интродукции растений в регионы;
3) Биотрофные НСГ способны развиваться и паразитировать в районах с резко континентальным климатом (Западная Сибирь);
4) Распространение психрофильного гриба *T. ishikariensis* на территории России носит дизъюнктивный характер;
5) Специализация паразитических видов НСГ к растениям-хозяевам не может являться таксономическим признаком при их определении.

Апробация результатов диссертации. Материалы, вошедшие в диссертационную работу, были представлены на конференции молодых специалистов: “Молодые ученые ГБС АН СССР свой труд и знание – родной стране” (Москва, 1984), «Молодые ботаники - 40-летию Главного ботанического сада АН СССР» (Москва, 1986), «Адаптационная изменчивость растений при интродукции» (Рига, 1990); Всес. конф. «Вопросы теории и практики защиты интродуцированных растений от вредителей, болезней и сорняков» (Киев, 1991), 2-ой конф. ВОФР “Регуляторы роста и развития растений” (Москва, 1993), 3-м съезде ВОФР (Санкт-Петербург,1993), Межд. семинаре «Plant-Microbe Interactions at Low Temperature Under Snow» (Саппоро, Япония, 1997), Межд. конф. «Проблемы интродукции растений и отдаленной гибридизации» (Москва, 1998), III Межд. конф. "Цветоводство-

сегодня и завтра", Москва, 1998, 2-ой Межд. конф. «Биологическое разнообразие. Интродукция растений» (Санкт-Петербург, 1999), Межд. конф., посв. 100-летию организации иссл. по микологии и криптогамной ботанике в Ботаническом Институте им. В.Л. Комарова РАН (Санкт-Петербург, 2000), Межд. семинаре «Plant and Microbe Adaptations to Winter Environments in Northern Areas» (Акурейри, Исландия, 2000), 7-ом Межд. симп. японского микологического общества (Цукуба, Япония, 2000), Первом съезде микологов России (Москва, 2002), XI Межд. совещ. по филогении растений (Москва, 2003), японско-российском семинаре в Нац. ин-те прикладной индустриальной науки и технологии (Саппоро, Япония, 2004), Межд. конф. «Грибы в природных и антропогенных экосистемах» (Санкт-Петербург, 2005).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 49 работ, из них 12 за рубежом.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 217 страницах машинописного текста и состоит из Введения, Обзора литературы, Материалов и методов, Экспериментальной части, Выводов, Списка литературы и Приложения. Работа содержит 15 таблиц и 52 рисунка. Список литературы включает 426 источников, из которых 358 на иностранном языке.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Обзор состоит из 4-х глав. В главе 1 представлены литературные данные по природе возбудителей склероциальных снежных плесеней: обсуждается характеристики снежных плесеней, как оппортунистических организмов, особенности их питания, влияние на развитие величины и продолжительности снежного покрова, промерзания почвы, а также температуры и влажности. В главе 2 приведены данные по видовому составу низкотемпературных склероциальных грибов (НСГ), паразитов растений: *Sclerotinia* spp., *Typhula* spp., а также другим видам НСГ, отмечены особенности их биологии и специализация.

Среди широко известных видов рода *Sclerotinia*, являющихся низкотемпературными паразитами и вызывающими болезни зимующих растений, наиболее известны *Sclerotinia borealis* Bub. & Vleug. [= *Myriosclerotinia borealis* (Bub. & Vleug.) Kohn и *S. graminearum* Elenev] – возбудитель склеротиниозной снежной плесени озимых зерновых и кормовых бобовых трав (Jamalainen, 1949) и *Sclerotinia trifoliorum* Eriks. – возбудитель гнили стебля бобовых культур (Gilbert, Bennet, 1917).

Недавно был описан как эндемик новый вид *S. nivalis* I. Saito, вызывающий снежную плесень различных двудольных на севере Японии (Saito, 1997). Уже через год на ряде интродуцированных растений в России нами были отмечены сходные с *S. nivalis* низкотемпературные патогены. Дальнейшие исследования *S. nivalis* касались следующих аспектов:

изучение методов определения вида, его географического распространения и специализации.

Считалось, что круг растений-хозяев НСГ довольно ограничен, основные растения-хозяева видов *T. ishikariensis* и *S. borealis* почти полностью представлены видами семейства Poaceae. Это связано, по-видимому, с тем, что наибольший ущерб первые два вида наносят сельскохозяйственным растениям именно этого семейства. Только в нашей работе 1983 года (Ткаченко, 1983) по *T. ishikariensis* и сравнительно недавней работе И. Сайто по *S. borealis* (Saito, 1997) отмечены другие растения-хозяева. О растениях-хозяевах вида *S. nivalis* вообще не было известно, т.к. гриб описан только в 1997 году.

Из 4-х паразитических грибов рода *Typhula*: *T. incarnata* Lasch ex Fr., *T. trifolii* Rostr., *T. phacorrhiza* Fr. и *T. ishikariensis* S. Imai. – последний вид является наиболее агрессивным низкотемпературным грибом этого рода. В благоприятные для своего развития годы гриб может вызывать серьезное поражение озимых и многолетних зерновых культур, спортивных газонов, особенно полей для гольфа. Это комплексный вид, находящийся в процессе эволюции. В различных странах описывались виды (США: *T. ishikariensis* и *T. idahoensis*) (Bruehl et al., 1975), разновидности (Канада: *T. ishikariensis* var. *ishikariensis*, *T. ishikariensis* var. *idahoensis* и *T. ishikariensis* var. *canadensis*) (Årsvoll, Smith, 1978), биотипы (Япония: *T. ishikariensis* битотип A, *T. ishikariensis* битотип B и *T. ishikariensis* битотип C) (Matsumoto et al., 1983) и группы (Норвегия: *T. ishikariensis* группа I, II и III) (Matsumoto et al., 1996) этого гриба. В России внутривидовая систематика гриба не изучалась. На данный момент мы принимаем классификацию Мацумото (Matsumoto, 1997), полученную на основе комплексного анализа всех принятых в мире внутривидовых таксонов, делящую таксон *T. ishikariensis* на два вида: BS-1 и BS-2 (биологические виды 1 и 2).

Оставался открытым вопрос о видах *T. graminearum* Gulaev и *T. humulina* Kuznetzova. Впервые В.В.Гуляев (1948) обнаружил *T. graminearum* и *S. graminearum* (= *S. borealis*) на сеянцах сосны и звездчатке *Stellaria media* (L.) Vill. в Чувашии, Мордовии и Татарстане. Он описал морфологические характеристики гриба, которого он назвал *T. graminearum* Gulaev. А.П.Кузнецова (1953) сообщила о виде *T. humulina* Kuznetzova, вызывающем зимнее заболевание хмеля (*Humulus lupulus* L.) в Европейской части России. *T. humulina* был впервые отмечен в Чувашии и республике Марий Эл, и также обнаружен в Брянской, Кировской и Московской областях (Кузнецова, 1953). *S. graminearum* в 30-40-е годы прошлого столетия вызывал гибель до 30% сеянцев сосны, поражение *T. graminearum* доходило до 80% (Гуляев, 1948), а поражение хмеля на пониженных участках достигало 50% (Кузнецова, 1953). О массовых заболеваниях, вызываемых этими грибами на сосне и хме-

ле, сообщалось только в России. Е.Г. Потатосова (1960) предположила, что *T. graminearum* и *T. humulina* являются синонимами *T. idahoensis*.

В главе 3 обсуждается географическое распространение НСГ. В России *T. ishikariensis* был отмечен только в центральной, северо-западной Европейской части и на Урале (Пототосова, 1960; Shiryaev, 2004), *S. borealis* преобладает в Восточных частях Европейской части России и на Камчатке (Хохряков, 1935). *S. nivalis* был описан как эндемик о. Хоккайдо (Япония).

В главе 4 описаны все методы регуляции численности возбудителей склероциальных снежных плесеней: агротехнический, химический, биологический и селекционный.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

При изучении географического распространения, экологической приуроченности, определения круга растений-хозяев использован комплексный подход с оценкой морфологических, генетических, цитологических и биохимических характеристик. Основное внимание уделяли изучению трех наиболее опасных видов НСГ: *Typhula ishikariensis*, *Sclerotinia borealis* и впервые обнаруженного нами на территории России *S. nivalis*.

Для сбора материала был проведен ряд экспедиций, маршруты которых представлены на рис. 1, охвативших почти все предполагаемые границы географического распространения изучаемых грибов.

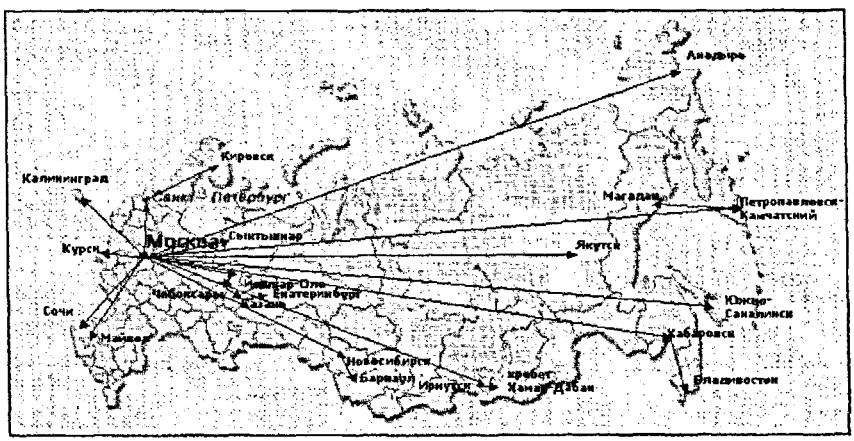


Рис. 1. Схема маршрутов экспедиций (1999-2004 гг.)

Материал собирали в виде склероциев, которые проращивали в лабораторных условиях на питательных средах. Образцы НСГ собирали как в ботанических садах России, так и в природе.

Выделение в чистую культуру. Перед выделением склероции помещали в воду для набухания. Для стимуляции прорастания иногда их некоторое время (1-2 ч) выдерживали в воде при температуре близкой к 0°С. При выделении НСГ пользовались общепринятыми методами: промывание склероциев под струей воды, опускание на несколько сек. в абс. спирт, нанесение повреждения оболочке склероция стерильными инструментами, опускание в стерильную воду, затем на КГА или сусло-агар. Против загрязнения бактериями в расплавленную среду на кончике стерильного скальпеля добавляли антибиотик дигидрострептомицин.

Культуральные характеристики. Культуры психрофильных *Typhula* spp. и *Sclerotinia borealis* выращивали при +10°С, а культуру психротолерантного *S. nivalis* – при 20°С. Сохраняли культуры на КГА в косяках в холодильнике при +3°С. Культуральные особенности всех изолятов *S. nivalis* наблюдали через 3 недели роста культур при +20°С на КГА, сроки наблюдения за изолятами *Typhula* spp. зависели от их скорости роста.

Определение таксонов *Typhula* spp. Для определения дикариотических изолятов *T. ishikariensis*, кроме морфометрических критериев, использовали скрещивания с тестерами-монокарионами, разработанными Рёедом (Røed, 1969). Эксперименты по скрещиванию проводили согласно методике Бриэля с соавторами (Bruehl et al., 1975). Применяли метод скрещивания дикарионов с монокарионами (ди-мон метод). В экспериментах были использованы 8 монокарионных тестеров, принятых в ряде стран. Использованы следующие тестеры: 2-5BS-1 (Норвегия, группа I), 4-3S-5 (Норвегия, группа II), 6-1BS-4 (Норвегия, группа III), PR7-6-7 (Япония, биотип А), PR9-4-3 (Япония, биотип А), 35-8 (Япония, биотип В), 8-2 (Япония, биотип В) и отечественный монокарион 92-32m1 (Москва). При мон-мон методе колонии высевали в непосредственной близости в центре чашки Петри и через 3-4 недели просматривали мицелий у сросшихся колонии на наличие пряжек. Наличие пряжек показывало, что оба образца совместимы.

Изучение температур роста изолятов *Typhula* spp. Мицелиальные диски диаметром 5 мм брали с края активно растущей колонии, помещали в центр чашек Петри диаметром 9 см и инкубировали при температурах 0, 5, 10 и 15°С. Опыт ставили в двукратной повторности. После 1-ой, 2-х и 3-х недель инкубации измеряли рост колоний.

Определение устойчивости мицелия и склероциев к низким температурам. Устойчивость мицелия и склероциев к холодовому стрессу определялась по возобновлению роста после него (Hoshino et al., 1998). Мицелиальный диск диаметром 5 мм с активно

растущей колонии и склероции, поверхностно обработанные в 70% этаноле, помещали в чашки Петри диаметром 2,5 см и замораживали до −40°С в морозильнике с быстрой скоростью заморозки 20°С/час. После заморозки мицелиальные диски и склероции оттаивали при 2°С в течение 16 часов, переносили в свежие чашки Петри и инкубировали при 2 и 10°С. Параметры роста мицелия определяли до 30 дней.

Получение апотециев *Sclerotinia nivalis.* Ломтики моркови (ок. 2 см толщины) помещали в 20-см чашки Петри автоклавировали при 120°С в течение 20 мин., после чего их инокулировали мицелием с агаровых дисков. Зараженные корнеплоды инкубировали в темноте при +20°С в течение 4-х недель. Зрелые склероции снимали с моркови и промывали под струей воды в течение 12 ч. После этого их переносили на насыщенную водой губку в стеклянные контейнеры. Стеклянные контейнеры со склероциями содержали при +20°С, на 100 см ниже постоянного источника флуоресцентного света (National FLR 40S-W/MX "36").

Гистология склероциев и апотециев *Sclerotinia.* Материалы фиксировали в 4%-ном глютаровом альдегиде в 1/15 М фосфатном буфере (pH 7), дегидрированном в ацетоновом градиенте, помещали в резину Спурра и рассекали на секции 1-2 мкм шириной стеклянными ножами на ультратоме Porter Blum MT-1. Все секции окрашивали в метиленовом синем азуре II и основном фуксине по методу Беннела и др. (Bennel et al., 1978). Сечения склероциев также рассматривали на предметных стеклах в 0,05% (w/v) толуидине голубом в 0,1 М фосфатном буфере (pH 4,6) под покровным стеклом. Сечения апотециев также делали из сублимированных апотециев инфильтрованных под вакуумом парафином.

Измерение телеоморф *Sclerotinia.* Измерение аскоспор проводили на предметных стеклах, взятых либо со свежих апотециев, либо с сухих образцов. Аскоспоры, полученные из изолятов S-1, S-7, N-2 и Ba-1, измеряли под микроскопом «Amplival» (x300). Аски и парафизы измеряли по сухим образцам.

Окрашивание ядер аскоспор *Sclerotinia.* Рассеченные апотеции фиксировали по методике Лу с использованием смеси хромовой кислоты, ледяной уксусной кислоты и n-бутилового спирта (Lu, 1962) и окрашивали гемотоксилиновыми квасцами (Henderson, Lu, 1968). Аскоспоры, помещенные на покровные стекла, окрашивали методом HCl-Giemsa (Wilson, 1992).

SDS-электрофорез. Для выделения *S. nivalis* от других видов рода *Sclerotinia* и его идентификации использовали методы SDS-PAGE (SDS электрофореза в полиакриламидном геле).

SDS-электрофорез в полиакриламидном геле (SDS-PAGE) суммарных белков у склероциев изолятов *Sclerotinia* sp. был проведен, согласно методике Saito (1997a). Для экс-

тракции белков из склероциев использовали буфер по Ньюстеду и др. (Newsted et al., 1985). SDS-PAGE проводили на гелевых пластинах (14x14x0,15 см), содержащих 12,5% акриламид с 0,375M Tris-HCl буфером (pH 8,8) и 0,1% SDS (w/v), с наложением буферного геля с 0,1 M Tris-HCl (pH 6,8) с 0,1% SDS (w/v). Экстракт из замороженных и просушенных склероциев растворяли в 10 мМ Tris-HCl буфере (pH 6,8), содержащем 4,5% SDS (w/v) и 5% β-меркаптоэтанола v/v) для получения концентрации протеинов от 1 мг/мл раствора. Смешанный раствор 5 минут кипятили при 100°С, затем добавляли такой же объем 10 мМ Tris-HCl буфера, содержащего 40% (w/v) глицерина и 0,002% (w/v) бромфенола голубого. На гелевые пластины помещали по 20 мкл образцов белков.

Для определения полипептидного состава альбуминов и глобулинов также использовали метод SDS-PAGE. Собранные с 3-х недельной культуры на КГА зрелые склероции (0,6 г) растирали в фарфоровой ступке с 6 мл холодного 2%-ного NaCl в 0,1 М Трис-аскорбатном буфере (pH 7,0). Экстракцию проводили дважды. Глобулины отделяли от альбуминов с использованием $(NH_4)_2SO_4$ путем насыщения до 50% при +4°С в течение ночи и центрифугировали. Осадок обрабатывали 3 мл холодного ацетона, центрифугировали и высушивали на воздухе. Альбумины получали из супернатанта путем осаждения при доведении насыщения $(NH_4)_2SO_4$ до 70% и центрифугировали. Подготовку образцов для электрофореза и SDS-PAGE проводили по стандартной методике в 12,5% полиакриламидном геле (Lacmmli, 1970). Использовали стандартный набор низкомолекулярных белковых маркеров.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных экспедиций было собрано около 200 изолятов НСГ.

Sclerotinia nivalis

Предварительно были изучены 20 изолятов *Sclerotinia nivalis*-подобных грибов, полученных из склероциальных анаморф, собранных с различных сорных и культурных растений из Санкт-Петербурга, Москвы и Новосибирска (табл. 1). Растения-хозяева принадлежали к 4-м видам семейства Asteraceae (*Aster novi-belgii* L., *Erigeron canadensis* L., *Pyrethrum cinerariefolium* Bocc. и *Trichopleurospermum perforatum* (Mégat) M.Lainz), 3-ем Brassicaceae (*Arabis alpina* L., *Aubrieta deltoides* (L.) DC и *Erysimum hieracifolium* L.), по одному виду из семейств Campanulaceae (*Edraianthus parnassicum* (Boiss. et Spr.) Halascy), Caryophyllaceae (*Stellaria media* L.), Fabaceae (*Trifolium* sp.), Iridaceae (*Iris germanica* L.), Liliaceae (*Tulipa* sp.) и несколько видов из семейства Crassulaceae (*Sedum lidyum* Boiss., *Sedum* spp.).

Таблица 1.

Изоляты *Sclerotinia nivalis*–подобных грибов, использованные для SDS-PAGE основных суммарных белков (см. SDS-PAGE на рис. 3)

Изолят	Растение-хозяин	Место сбора
83-Ir3a	*Iris germanica* L.	Москва
S-1	*Arabis alpina* L.	Москва
S-2	*Aster novi-belgii* L.	Москва
S-4	*Sedum* sp.	Москва
S-6	*Sedum lidyum* Boiss.	Москва
S-7	*Iris germanica* L.	Москва
S-10	*Edraianthus parnassicum* (Boiss. et Spr.) Halascy	Санкт-Петербург
S-11	*Trichopleurospermum perforatum* (Mégat) M.Lainz	Московская обл.
N-2	*Pyrethrum cinerariefolium* Bocc.	Новосибирск
99№0(1)	*Arabis alpina* L.	Москва
99№2(2)	*Sedum* sp.	Московская обл.
99№.3(2)	*Aubrieta deltoides* (L.) DC	Москва
99Scl-L	*Sedum* sp.	Санкт-Петербург
99Sb-1	*Tulipa* sp.	Москва
99N-3	*Trichopleurospermum perforatum* (Mégat) M.Lainz	Новосибирск
99N-4	*Erigeron canadensis* L.	Новосибирск
99N-6b	*Stellaria media* L.	Новосибирск
99N-6c	*Stellaria media* L.	Новосибирск
99N7	*Erysimum hieracifolium* L.	Новосибирск
99N-9	*Trifolium* sp.	Новосибирск
99N-13	*Sedum* sp.	Новосибирск

По морфологии анаморф и телеоморф и SDS электрофорезу склероциальных белков в полиакриламидном геле изоляты сравнивали с 4-мя известными паразитическими грибами рода *Sclerotinia*: *S. sclerotiorum*, *S. minor*, *S. trifoliorum* и *S. nivalis*.

При 20°С на PDA изоляты формировали белый более или менее пушистый мицелий. Позднее мицелий темнел, и колонии не всегда были чисто белыми. На них образовались склероции мельче, чем у *S. sclerotiorum* и *S. trifoliorum*, и крупнее, чем у *S. minor*. Особенности роста этих культур были сходны с изолятами *S. nivalis*, включая типовую культуру ATCC 201665 Ba-1. Структура тканей изучаемых склероциев (наличие межклеточных пространств в тканях медуллы) также была идентичной *S. nivalis*.

Через 60-т дней после начала проращивания апотециев *in vitro* карпогенно проросли только три изолята (S-1, выделенный из *Arabis alpina*, S-7 - из *Iris germanica* и N-2 - из *Pyrethrum cinerariaefolium*) (рис. 2).

Остальные 15 изолятов не образовывали апотеции даже через 13 месяцев. Чаше- или дискообразной формы апотеции были на ножках, 4-6 мм в диаметре, бледного коричнево-желтого цвета. Ткани апотециев состояли из 4-х слоев: гимения, субгимениий, медуллярного эксципулюма, состоящего из волокнистых гиф и внешнего эксципулюма, состоящего из округлых клеток. Все изученные

ны с описанием апотециев *S. nivalis* (Saito, 1997).

Рис. 2. Апотеции, полученные из склероциев: А – изолят N-2; В – изолят S-7

Размеры асков и аскоспор изолятов S-1, S-7 и N-2 приблизительно те же, что и у *S. nivalis* (Saito, 1997) (табл. 2).

Важным систематическим показателем является число ядер в аскоспорах грибов рода *Sclerotinia*. К сожалению, многие авторы, изучавшие грибы этого рода, этот важный систематический признак не определяли (табл. 2).

Таблица 2.

Размеры асков, аскоспор и число ядер в аскоспоре у грибов рода *Sclerotinia*

Изолят или вид	Аски (мкм)	Аскоспоры (мкм)	Число ядер
S-1	119.29±3.13 x 7.09±0.04	9.91±1.10 x 5.32±0.55	2
S-7	122.49±7.91 x 7.15±0.02	9.92±1.01 x 5.04±0.53	2
N-2	132.15±7.42 x 7.06±0.09	11.25±1.08 x 5.36±0.64	2
S. nivalis[1]	114-144 x 6.7-9.2	9.2-11.7 x 3.8-5.0	2
S. bulborum[2]	140 x 9	16 x 8	-
S. bulborum[3]	120 x 10	15 x 5-6	-
S. minor[4]	(110-)125-180 x 7-11	8-17(-20) x (4-)5-7(-9)	4
S. trifoliorum[4]	140-200 x 10-12	10-20 x (4-)6-9(-11)	4
S. sclerotiorum[4]	(110)130-150(-160) x 6-10	(9-)10-14 x 4-5(-6)	2

[1] (Saito, 1997), [2] (Wakker, 1889), [3] (Проценко, 1968), [4] (Kohn, 1979)

Указанный признак мог бы отличить четырехъядерные аскоспоры *S. minor* от причисленных к синонимам этого вида *S. sativa* и *S. intermedia*, у которых количество ядер не определялось. Аскоспоры *S. nivalis* содержат по два ядра (табл. 2). На основании морфологических характеристик телеоморф изученных изолятов, собранных в России, мы идентифицировали их как *S. nivalis*.

Характеристика SDS-PAGE суммарных белков изолятов согласуется с их идентификацией на основе морфологии телеоморф (рис. 3).

На основании особенностей белков все *S. nivalis*-подобные изоляты в этом эксперименте, собранные нами в России, были идентичны с типовой культурой *S. nivalis* (Ba-1), и различались от *S. minor* и *S. sclerotiorum* (рис. 3). Таким образом, 15 изолятов, у которых не была получена телеоморфа, были идентифицированы как *S. nivalis*.

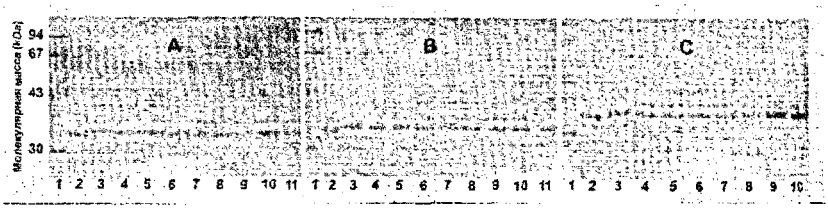


Рис. 3. SDS-электрофорез в полиакриламидном геле основных суммарных белков из склероциев, собранных в России. **A)** 1 - стандартные белки; 2 - *S. minor*; 3 - *S. sclerotiorum*; 4 - *S. nivalis*; 5 - изолят N-2; 6 - изолят 99№3(2); 7 - изолят 99Scl-L; 8 - изолят 99N-13; 9 - изолят 99N-7; 10 - изолят S-2; 11 - изолят 99N-6b. **B)** 1 - стандартные белки; 2 - *S. minor*; 3 - *S. sclerotiorum*; 4 - *S. nivalis*; 5 - изолят S-1; 6 - изолят S-10; 7 - изолят S-11; 8 - изолят 99N-3; 9 - изолят 99N-4; 10 - изолят S-6; 11 - изолят 99N-6c. **C)** 1 - стандартные белки; 2 - *S. minor*; 3 - *S. sclerotiorum*; 4 - *S. nivalis*; 5 - изолят N-2; 6 - изолят S-1; 7 - изолят S-8; 8 - изолят 99Sb-1; 9 - изолят 99N-9; 10 - изолят 99№2(2)

Далее была использована методика разделения белков низкотемпературных грибов рода *Sclerotinia* на фракции альбуминов и глобулинов. Сюда же были включены образцы, идентифицированные как *S. nivalis* в предыдущем опыте (рис. 4, 5).

Фракция альбуминов характеризовалась большим количеством полипептидных компонентов (около 15) (рис. 4A), в то время как у фракции глобулинов было только два основных полипептида с молекулярным весом 35,5 и 37,5 kDa и один минорный – 40,5 kDa (рис. 4B, 5). Для *S. nivalis* эти основные профили представляли стабильную особенность, и были более удобны для дальнейших исследований. Другой причиной, по которой использовали глобулины, было то, что они состоят главным образом из структурных белков. Фракция же альбуминов не столь стабильна, т.к. обычно в ее состав могут входить ферментативные белки.

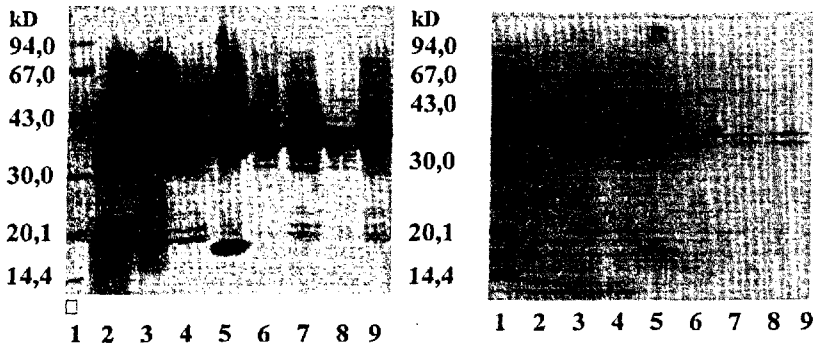


Рис. 4. Пример SDS-электрофореза в полиакриламидном геле белков фракции альбуминов **(A)** и фракции глобулинов **(B)**, полученных из склероциев и используемых в предыдущей методике: 1 - стандартные белки; 2 - изолят S-11; 3 - изолят S-1; 4 - изолят 83-Ir-3a; 5 - изолят 88-S_3-1 (*S. sclerotiorum*); 6 - изолят Ba-1 (*S. nivalis* - стандарт); 7 - изолят S-6; 8 - изолят N-2; 9 - изолят S-10

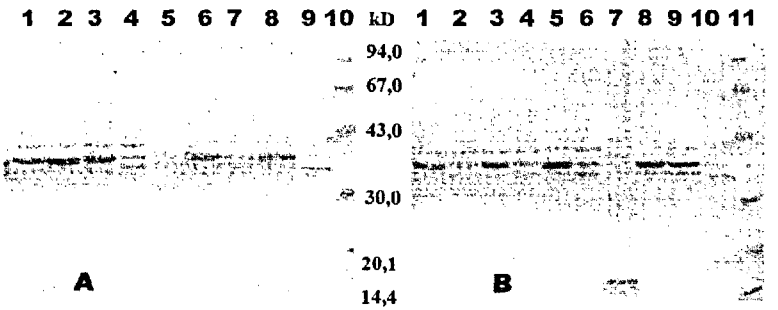


Рис. 5. Пример SDS-электрофореза в полиакриламидном геле белков фракции глобулинов, полученных из изолятов психротрофных *Sclerotinia*, собранных в России:

A) 1 - изолят 00Cb10*; 2 - изолят 00Chb3*; 3 - изолят 00ChB4*; 45 - изолят 00Chb1*; 5 - изолят 00SPb10 (*Sclerotinia* sp.); 6 - изолят 99№3(2)*; 7 - изолят 99№2(2)*; 8 - изолят 99Sb-1*; 9 - изолят Sm5 (стандарт *S. minor*); 10 - стандартные белки

B) 1 - изолят 99Sb-1*; 2 - изолят 00Ek10*; 3 - изолят 00Vla12*; 4 - изолят 00Kp2*; 5 - изолят 00Vla10*; 6 - изолят 00Vla13*; 7 - изолят 00Vla9 (*S. borealis*); 8 - изолят 00Vla1*; 9 - изолят 99N6b*; 10 - изолят Sm5 (стандарт *S. minor*); 11 - стандартные белки

* Электрофореграмма изолятов, определенные как *S. nivalis*

S. nivalis легко выделялся по основным полипептидам от других видов грибов рода (психрофильного *S. borealis*, мезофильных *Sclerotinia* spp., включая вид *S. minor*). По упомянутой методике SDS-PAGE было изучено 40 других изолятов низкотемпературных грибов рода *Sclerotinia*, собранных нами в Кировске (Кольский п-ов), Владивостоке (Дальний Восток), Екатеринбурге (Урал), Чебоксарах (Средняя Волга). В табл. 3 приведен список изолятов, определенных методом SDS-PAGE по фракции глобулинов как *S. nivalis*.

Таблица 3

Список изолятов *S. nivalis*, определенных методом SDS-PAGE по фракции глобулинов

п/п	Изолят	Растение-хозяин	Место сбора
1	S-1	*Arabis alpina*	Москва
2	S-6	*Sedum lidyum*	Москва
3	83Ir-3a	*Iris germanica*	Москва
4	99№1(2)	*Campanula persicifolia*	Москва
5	99№3(2)	*Aubrieta deltoides*	Москва
6	99Sb1	*Tulipa* sp.	Москва
7	S-11	*Trichopleurospermum perforatum (Mégat) M.Lainz*	Моск. обл. (Снегири)
8	99№2(2)	*Sedum* sp.	Моск. обл. (Снегири)
9	99Scl.L	*Sedum* sp.	Санкт-Петербург
10	00Kp2	*Helichrysum avenaceum*	Кировск
11	00Chb1	*Homomelis* sp.	Чебоксары
12	00Chb10	*Phlox* sp.	Чебоксары
13	00Chb3	*Thlaspe arvense*	Чебоксары
14	00Chb4	*Sedum* sp.	Чебоксары
15	00Ek10	*Th. arvense*	Екатеринбург
16	N-2	*Pyrethrum cinerariefolium*	Новосибирск
17	99N3	*T. perforatum* (Mégat) M.Lainz	Новосибирск
18	99N4	*Erigeron canadensis*	Новосибирск
19	99N6b	*Stellaria media*	Новосибирск
20	99N6c	*S. media*	Новосибирск
21	99N7	*Erysimum hieracifolium*	Новосибирск
22	99N13	*Sedum* sp.	Новосибирск
23	01Vla1	*Iris germanica*	Владивосток
24	01Vla10	Неизвестный Asteraceae	Владивосток
25	01Vla12	*Tulipa* sp.	Владивосток
26	01Vla13	Неизвестное двудольное	Владивосток

Наши исследования показали, что судить о видовой принадлежности грибов рода *Sclerotinia* исключительно только по растениям-хозяевам неправомерно. Так, в некоторых случаях *S. nivalis* поражал растения, считающиеся растениями-хозяевами других видов узкоспециализированных *Sclerotinia*. Например, *S. nivalis* отмечен нами на клевере *Trifolium* sp. в Новосибирске (рис. 3, изолят 99N9). Известно, что для клевера типичным паразитом из рода *Sclerotinia* считается *S. trifoliorum*. Наряду с *S. nivalis* на ирисе германском мы отмечали *S. borealis* со сходными симптомами поражения. Последний считается узкоспециализированным патогеном злаковых растений (сем. Poaceae).

Typhula ishikariensis

Проведенное нами скрещивание 32 дикариопов, выделенных из Европейской части бывшего СССР, с японскими, норвежскими и российским тестерами показало, что все эти изоляты относятся к виду *T. ishikariensis* BS-1.

В Азиатской части страны с резко континентальным климатом поражения зимующих растений сводились только к действию отрицательных температур, а возможность вредоносности от низкотемпературных паразитов даже не рассматривалась.

Для проверки адаптированности гриба к экстремальным условиям зимы Западной Сибири мы провели сравнение сибирских изолятов с изолятами, выделенными из мест с умеренными зимами. В экспериментах использовали по два изолята *T. ishikariensis* из Московского региона: 92Tr-1, выделенного с озимой пшеницы, и 93Tul-1 - с тюльпана; и Новосибирска: 98N-3 - со звездчатки (*Stellaria media*), и 98N-5 - с тимофеевки луговой (*Phleum pratense*).

Изоляты из Новосибирска скрещивались с *T. ishikariensis* BS-1, какими являются московский изолят 92-32m1, норвежские группы I и III и японский биотип A (табл. 4).

Все изоляты из Европейской части России, Прибалтики и северной Украины скрещивались с норвежской группой I и японским биотипом A. Однако изоляты из Европейской части России, Прибалтики и северной Украины не скрещивались с норвежской группой III. Новосибирские изоляты гриба успешно скрещивались с 6-1BS-4 норвежской группы III (табл. 4), что, вероятно, указывает на их общую генетическую основу и еще раз подтверждает правильность классификации *T. ishikariensis* по Мацумото.

Таблица 4

Результаты скрещивания сибирских изолятов *T. ishikariensis*

Тестеры-монокарионы	Изоляты	
	98N-3	98N-5
92-32m1 (Москва)	+	+
2-5BS-1 (Норвегия, группа I)	+	+
4-3S-5 (Норвегия, группа II)	–	–
6-1BS-4 (Норвегия, группа III)	+	+
PR7-6-7 (Япония, биотип A)	+	+
PR9-4-4 (Япония, биотип A)	P	–
35-8 (Япония, биотип B)	–	–
8-2 (Япония, биотип B)	–	–

+: мощный рост гиф с пряжками; -: мощный рост гиф без пряжек;
P: редкая дикариотизация

У двух московских и одного новосибирского изолята отмечена одинаковая оптимальная температура роста, равная 10°C (рис. 6). У другого новосибирского изолята максимальный рост наблюдался при температуре 5°C. При оптимальных температурах у новосибирских изолятов скорость роста была ниже, чем у московских. Обе группы изолятов показали тот же уровень оптимальных температур, что и в работе Потатосовой (1960) для российских изолятов.

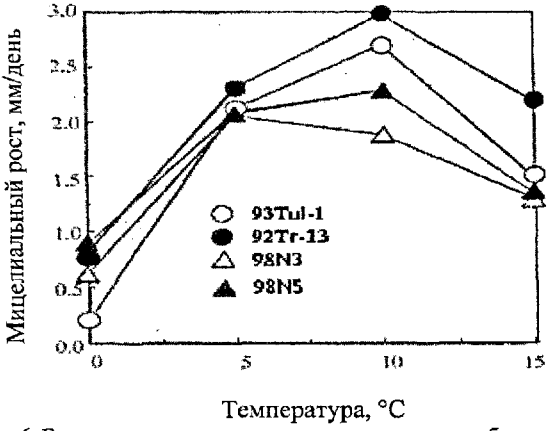


Рис. 6. Влияние температуры на рост мицелия новосибирских (98N3; 98N5) и московских (93Tul-1; 92Tr-13) изолятов гриба *Typhula ishikariensis*

У изолятов норвежской группы III оптимальная температура роста мицелия +4°С. Рост мицелия у группы III приостанавливался при умеренных температурах (около 10°С) при этом наблюдалось формирование перьеобразных колоний (Matsumoto et al., 1996; Hoshino et al., 1997). Однако таких изменений роста мицелия при 10 и 15°С у новосибирских изолятов не отмечено. Они сохраняли способность расти в области относительно умеренных температур (около 10°С), что может указывать на адаптацию к весенним колебаниям температур Западной Сибири.

Исследовано влияние замораживания на рост и жизнеспособность сибирских и московских изолятов. На рис. 7 показана скорость роста мицелия изучаемых изолятов. Московские изоляты погибали после трех замораживаний, новосибирские же выдерживали более 7-ми.

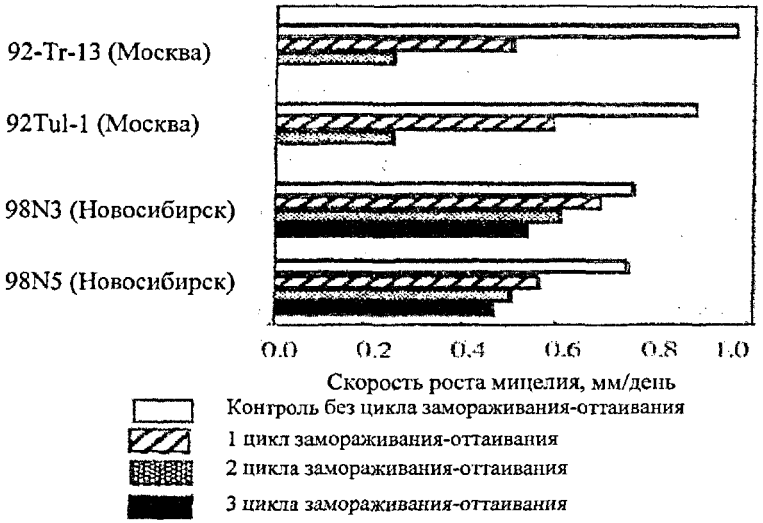
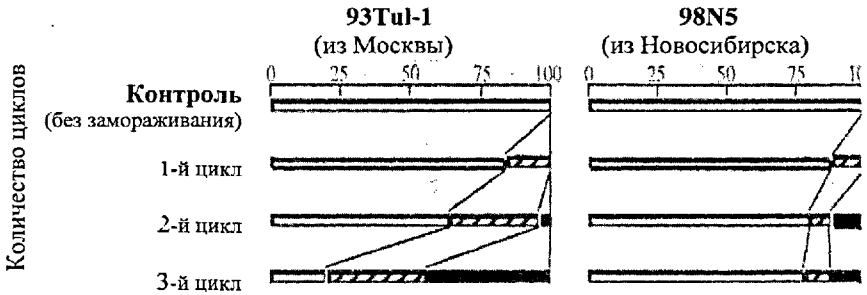


Рис. 7. Влияние холодового стресса на рост мицелия московских и новосибирских изолятов *Typhula ishikariensis*. Рост мицелия при 10°С через 21 день после холодового стресса

Сходные результаты получены в опытах по определению характера роста мицелия после замораживаний (рис. 8).



Рост мицелия здоровый, ненормальный; гибель склероциев

Рис. 8. Устойчивость к замораживанию склероциев у московского и новосибирского изолятов, подвергнутых циклам замораживания и оттаивания

Сибирские изоляты оказались чрезвычайно адаптированными к суровому континентальному климату Сибири. По-видимому, у новосибирских и норвежских изолятов группы III наблюдается сходная стратегия выживания в условиях сурового зимнего климата. Эти данные косвенно также подтверждают правомерность помещения Matsumoto норвежской группы III в биологический вид 1 (BS-1) *T. ishikariensis.* Изоляты, собранные в г. Томске Ю.А.Чикиным, также показали, что собранные им склероции *T. ishikariensis* относятся к биологическому виду 1 (Ткаченко и др., 2003).

Таким образом, наши эксперименты выявили широкие адаптивные возможности к низким зимним температурам западносибирских изолятов гриба *T. ishikariensis* BS-1. Обнаружение нами *T. ishikariensis* в Западной Сибири показало, что кроме вышеназванных факторов этот гриб также способен оказывать влияние на перезимовку растений. Учитывая возможность глобального потепления климата, Западная Сибирь со временем может превратиться в житницу России, где можно будет с успехом выращивать озимые зерновые культуры. Распространение спортивных площадок с газонами на восток, особенно полей для гольфа, где качество газонов имеет приоритетное значение, потребует серьезного изучения влияния на них этого гриба, способного значительно ухудшать качество газонов и урожай озимых зерновых. Очевидно, при интродукции растений в этом регионе необходимо будет учитывать и устойчивость растений и к этому патогену.

В Восточной Сибири (район Якутска) *T. ishikariensis* не был нами обнаружен (все низкотемпературные грибы отсутствовали из-за крайне экстремальных условий зимнего периода). В другом районе Восточной Сибири (Иркутск и Прибайкалье) показано отсутст-

вие НСГ на территории сухих степей, превалирующих в южном Прибайкалье в негорных местностях. Это, очевидно, как и в случае с Якутском, связано с экстремальными зимними условиями, которые во многом определяет вечная мерзлота в сочетании с относительно небольшим снеговым покровом.

5.2 Географическое распространение НСГ

Наши исследования позволили выявить целый ряд новых мест обитания изучаемых грибов.

S. nivalis, описанный в Японии как эндемик (Saito, 1997), был нами отмечен в различных регионах России (рис. 9): Европейской части страны (Москва, С.Петербург, Кировск, Чебоксары), Урале (Екатеринбург), Западной Сибири (Новосибирск), Дальнем Востоке (Владивосток). Таким образом, нами было показано гораздо более широкое распространение гриба *S. nivalis*, чем это предполагалось ранее. Гриб недавно был обнаружен в Китае (Li et al., 2000). Мы предполагаем, что низкотемпературные грибы, отмеченные в Северной Америке также относятся к *S. nivalis*. Здесь можно указать на описанный в Канаде *S. sativa*, неправильно признанный синонимом мезофилла *S. minor* (Kohn, 1979b) и *Sclerotinia* sp., вызвавший сильные поражения декоративных луковичных в США (Gould, McLean, 1952), позднее отнесенный к *S. bulborum* (Gould, Byther, 1979). Возможно, что «малоизученный» по Кон (Kohn, 1979b) вид *S. bulborum*, описанный в Голландии (Wakker, 1889), также является синонимом *S. nivalis*.

Рис. 9. Места сбора *Sclerotinia nivalis* в России

Другой вид этого рода - *S. borealis* - также оказался широко распространенным по территории нашей страны (рис. 10).

Рис. 10. Места сбора нами *Sclerotinia borealis* в России

Учитывая, что это некротрофный вид, он отмечался всюду, где злаковые и ряд других растений подвергаются подмораживанию. Особенно сильные поражения этим грибом отмечались нами на посевах озимых зерновых и трав в Поволжье и Западной Сибири. Мы обнаруживали гриб и в несельскохозяйственных районах на дикорастущих злаковых растениях: в Анадыре, на Камчатке (Козыревск, Мильково, Петропавловск-Камчатский, Эссо), в Магадане и на Сахалине (Южно-Сахалинск).

Особенностью распространения комплексного вида *T. ishikariensis* является дизъюнктивность ареала. *T. ishikariensis* BS-1 был отмечен нами в Европейской части России и впервые в Азиатской части страны. Южные границы ареала гриба как в Европе, так и в Азии ограничиваются лесостепной зоной, т.е. районами в постоянным снежным покровом длительностью 80-90 дней в году. Этот вид отмечен нами в Киеве, Курске, а другими микологами в Польше (Щецин) (Dynovska, 1983), в Германии (Бавария) (Andres et al., 1987). Однако в этих районах гриб никогда не вызывал серьезных поражений растений. В более северных регионах: странах Прибалтики, Московской области, Мурманской области – этот гриб в отдельные годы наносил существенный ущерб различным видам растений, например, злаковым, тюльпанам и др. В Азиатской части страны гриб отмечался на озимых зерновых в Новосибирске, на газонных травах в Томске. Южнее Новосибирска мы уже

гриб не обнаруживали, т.к. там происходит резкий переход на зону сухих степей, где *T. ishikariensis* существовать не может.

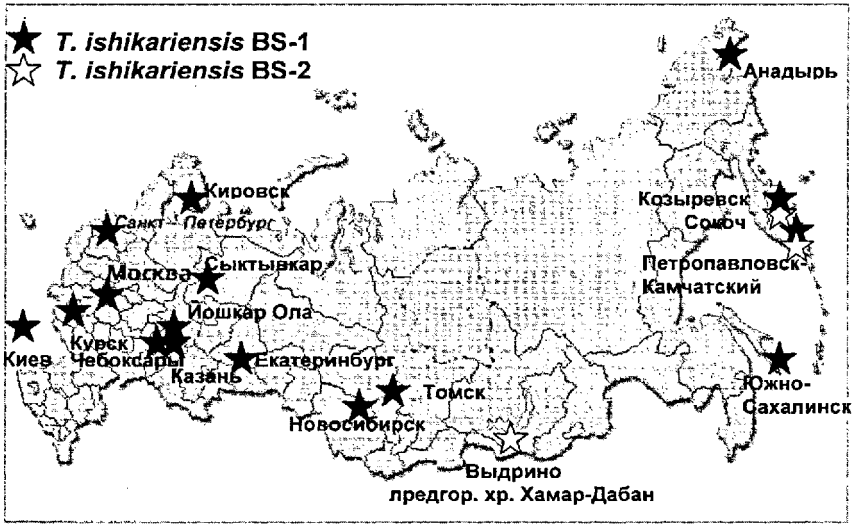


Рис. 11. Места сбора нами в *T. ishikariensis* видов BS-1 и BS-2

Как указывалось выше, наши попытки обнаружить какие-либо НСГ в Восточной Сибири в районе Якутска не увенчались успехом. Очевидно, вечная мерзлота, низкие снежный покров и температуры не способствовали выживанию этих грибов в зимний период, когда эти организмы активны.

T. ishikariensis BS-1 на Чукотке нам удалось обнаружить лишь на побережье Анадырского залива, где зимние условия смягчены. Кроме узкой полоски побережья гриб нигде более найти не удалось.

Представляет большой интерес факт обнаружения рефугиума ледникового периода гриба *T. ishikariensis* BS-2 в Восточной Сибири в предгорьях хребта Хамар-Дабан (Выдрино). Прибайкалье – регион, где выявлено много мест, представляющих рефугиумы для большого числа организмов, а северный склон предгорий Хамар-Дабана – один их самых влажных районов Прибайкалья, известный как рефугиум третичной термофильной мезогигрофильной флоры (Макрый, 2002). Северные склоны и северные предгорья Хамар-Дабана являются первыми по значению рефугиумом неморальных реликтов в Прибайкалье (Малышев, 1999). Очевидно, высокий снеговой покров и непромерзание почвы способствовали сохранению вида *T. ishikariensis* BS-2 в этих условиях.

T. ishikariensis BS-2, наряду с BS-1, отмечен нами на Камчатке (Петропавловск-Камчатский, п. Сокоч) (рис. 11).

Таким образом, впервые показано распространение обоих видов комплексного вида *T. ishikariensis* в Азиатской части России, выявлена его способность обитать в районах с суровым континентальным климатом и даже в районах с вечной мерзлотой на побережье океана. Отмечена дизъюнктивность ареала этих двух видов *T. ishikariensis* на территории России.

5.3 Круг растений-хозяев низкотемпературных грибов

Только благодаря исследованиям интродуцированных растений в ботанических садах России нам удалось значительно увеличить знания о специализации указанных патогенов, показать новые пути адаптации этих паразитов растений. Эти знания позволяют предвидеть одну из существенных трудностей при интродукции растений в новые регионы.

Для уточнения систематического положения возбудителей тифулеза сеянцев сосны и корневищ хмеля были исследованы морфологические характеристики склероциев, полученных на КГА в чашках Петри у выделенных из сосны, хмеля и окружающих их сорняков изолятов грибов, а также морфологические характеристики их базидиокарпов и базидиоспор. Было проведено сравнение с оригинальными морфометрическими данными по *T. graminearum* (Гуляев, 1948), *T. humulina* (Кузнецова, 1948), *T. ishikariensis* (Imai, 1930) и данными Потатосовой (1960а). Мы также использовали ди-мон скрещивания с различными тестерами *T. ishikariensis.* Мы заключили, что изоляты с сеянцев сосны и корневищ хмеля принадлежат к *T. ishikariensis* BS-1, а изоляты, полученные из *Stellaria media*, собранные в Екатеринбурге, которые находились вокруг *P. sylvestris*, принадлежали к одной группе вегетативной совместимости с изолятами из сеянцев сосны. Следует отметить, что кроме *T. ishikariensis* на корневищах хмеля был выявлен другой вид этого же рода – сапротрофный *T. variabilis.*

Ботанические сады являются сосредоточением интродуцируемых растений, которые наиболее уязвимы для фитопатогенов, в том числе и аборигенных НСГ. Именно в ботанических садах активно происходят процессы адаптации патогенов к новым растениям-хозяевам. В связи с этим представляется важным скрининг ботанической литературы прошлых лет для выяснения фактов, которые ранее не могли быть квалифицированно объяснены с позиций современной систематики патогенных грибов.

В качестве примера можно привести работу Л.А.Шавровой (1989) в Полярно-альпийском ботаническом саду-институте Кольского филиала РАН (ПАБСИ) (Кировск). Шаврова обнаружила неизвестный низкотемпературный гриб *Sclerotinia* sp. на многих ви-

дах растений, но по причине неясностей в систематике этого рода грибов, ошибочно определила вид как *S. minor*. Благодаря применению SDS-PAGE (см. рис. 5В, изолят 00Кр2) мы показали, что вид, определенный Л.А. Шавровой относится к *S. nivalis*, а список известных растений-хозяев гриба значительно увеличился. Определенные ею виды составляют 66% от всего представленного нами списка растений-хозяев *S. nivalis*.

Другой пример - случай первого упоминания о заражении тюльпана тифулезом. В статье А.А.Еленкина (1911) сообщается о поражении тюльпанов новой неизвестной склероциальной болезнью. Образец был передан в лабораторию Фитопатологической станции от главного садовника Императорского ботанического сада К.К. Мейнснера. А.А. Еленкин определил гриб как *Sclerotium tuliparum* (=*Rhizoctonia tuliparum*). Гриб поражал корни и донце растений (рис. 12А). Разрез склероция показан на рис. 12Б. Рисунок поражения тюльпана, сделанный А.А. Еленкиным, чрезвычайно сходен с типичным поражением луковиц тюльпанов тифулезом, а представленный им разрез склероция – со сделанным нами срезом склероция гриба *T. ishikariensis* (рис. 13Б).

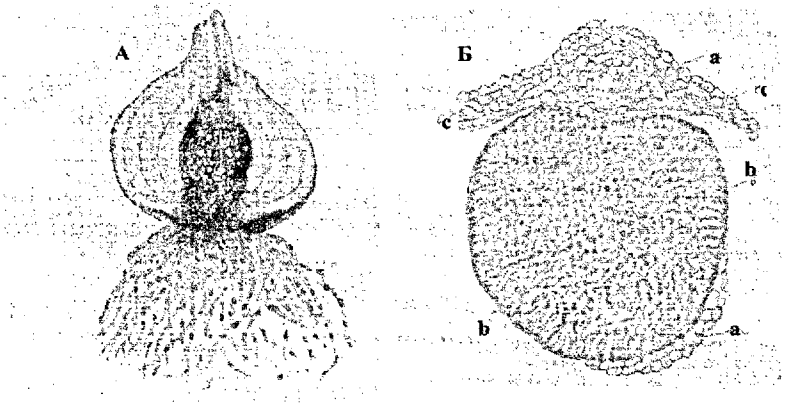


Рис 12. **А.** Продольный разрез луковицы (по Еленкину, 1911), пораженной внутри склероциями гриба *Sclerotium tuliparum* Kleb.; **Б.** Разрез ткани склероция, определенного А.А.Еленкиным как *Sclerotium tuliparum*, через корешок, в ткани которого он первоначально образовался: **a** – ткань корешка сверху (остатки ее плотно прилегают к склероцию снизу направо; **b** – ткань склероция; **c** – гифы в клетках ткани корешка

Сделанный А.А. Еленкиным срез склероция не похож на срез псевдосклероция *Rh. tuliparum* (рис. 13А). Клетки псевдосклероциев не отличаются по форме от клеток медуллы, только более пигментированы. Обратная картина у склероциев *T. ishikariensis*, обо-

лочка которых ясно дифференцирована от медуллы и состоит из параплектенхиматических окрашенных клеток (рис. 13Б), подобно изображению среза склероция у А.А. Еленкина. Кроме того, *Rh. tuliparum* поражает, как правило, верхнюю часть луковицы, и никогда – корни (Gladders, 1979). Таким образом, мы считаем, что гриб, исследованный А.А.Еленкиным, является первым упоминанием о поражении тюльпанов грибом *T. ishikariensis*.

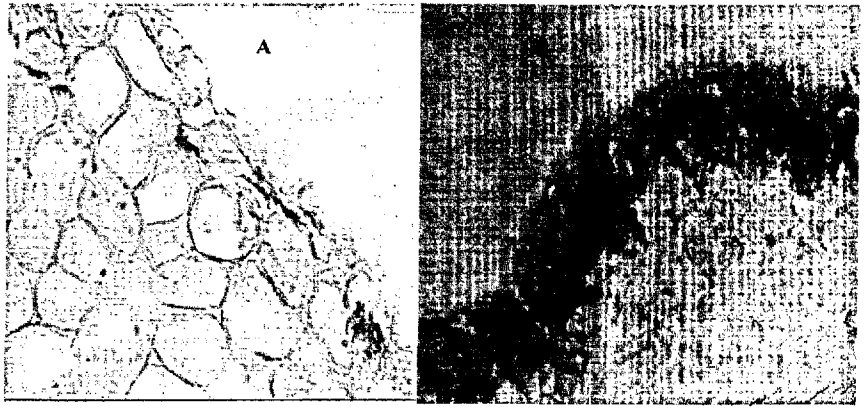


Рис. 13. Оболочка склероциев (поперечный разрез толщиной 15 мкм):
А – *Rhizoctonia tuliparum*; **Б** – *Typhula ishikariensis*

Только в 50-е годы прошлого века на тюльпанах был впервые отмечен *T. borealis* (=*T. ishikariensis*) в Швеции (Ekstrand, 1955), а в 60-е в Москве (Проценко, 1968).

Проведенные нами исследования наиболее агрессивного НСГ *T. ishikariensis*, сделанные главным образом в ботанических садах, широко известного за рубежом почти исключительно как патогена злаковых растений, показали широкую специализацию гриба. Гриб поражает растения около 100 видов, относящихся к 19-ти семействам (табл. 5).

Среди представленных в таблице 5 видов преобладают интродуцированные растения. Кроме культурных растений, гриб поражает и сорные травы, особенно звездчатку (*Stellaria media*), которые часто присутствуют в посевах и посадках культурных растений и способны являться резерваторами инфекции. *T. ishikariensis* поражает большое количество растений сем. Poaceae, однако значительный ущерб от этого гриба мы отмечали у растений семейства Caryophyllaceae, Liliaceae (тюльпаны) и Hyacinthaceae (мускари). В конце 70-х прошлого века мы наблюдали в Литве (а именно в это время повсеместно от-

мечались сильные вспышки поражения этим грибом в СССР) значительные выпады тюльпанов от тифулеза, предшественником которых была озимая рожь (Ткаченко, 1983).

Таблица 5

Круг растений-хозяев *T. ishikariensis**

Семейства	Виды и разновидности
Alliaceae	*Allium* sp., *A. karataviense* Regel.
Asteraceae	*Alyssum saxatile* L., *Artemisia* sp., *Artemisia stellerii* Bess.
Boraginaceae	*Myosotis stricta* L.
Brassicaceae	*Arabis aernosa* Scop., *A. alpina* L., *A. caucasica* Willd., *Brassica campestris* L., *B. napus* L., *B. napus var. oleifera*, *Draba aizoides* Pall., *D. sibirica* (Pall.) Thell., *Iberis sempervirens* L. *Sisimbrium* sp., *Thlaspi arvense* L.
Campanulaceae	*Campanula persicifolia* L.
Cannabaceae	*Humulus lupulus* L.
Caryophyllaceae	*Arenaria purpurescens* Ramond, *Cerastium agrenteum* Bieb., *C. biebersteinii* DC, *C. tomentosum* L., *Coronaria flos-jovis* A.Br., *Dinantus deltoides* L., *D. gratianapolitanus* Vill., *D. plumaris* L., *Lychnis* sp., *Sagina saginoides* (L.) D.-T., *Silene coeli-rosa* A.Br., *Stellaria media* L.
Crassulaceae	*Sedum acre* L., *S. sieboldii* Sweet., *S. tenuifolia* Fisch. ex Link Glaz.
Cyperaceae	*Carex flava* L.
Fabaceae	*Lotus corniculatus* L., *Medicago sativa* L., *Trifolium sativum* L., *Trifolium* sp.
Hemerocalidaceae	*Hemerocallis hybrida*
Hyacinthaceae	*Muscari paradoxum* (Fish. et Mey) Koch., *M. poliantum* Boiss., *M. tubergeniana* Hoog ex Turfil, *Ornithogallum balansae* Boiss.
Iridaceae	*Iris germanica* L., *Sisyrinchium angustifolium* Mill.
Lamiaceae	*Salvia sclarea* L., *Satureja hortensis* L., *Stachis lanata* Crantz., *Thymus serpyllum* L., *Th. citriodorus* = *Th. pulegoides x Th. vulgaris*
Liliaceae	*Colchicum* sp., *Tulipa* sp., *Xiphium* sp.
Poaceae	*Agropyron cristatum* Gaertn., *A. inerme* (Scribn. et Sm.) Rudb., *A. inermedium* (Host.) Beauv., *A. repens* Beauv., *A. smithii* Rudb., *Agrostis tenuis* L., *A. vulgaris* With., *Alopecurus pratensis* L., *A. arundinaceus* Poir., *Arrenaterum elatius* (L.) M. et K., *Avena sativa* L., *Bromus carinatus* Hook. et Arn., *B. inermis* Leyss, *B. tectorum* L., *Dactylis glomerata* L., *Deschampsia elongata* (Hook) Munro, *Festuca pratensis* Huds., *F. glauca 'Aurea'*, *F. rubra* L., *Holcus lanatus* L., *Hordeum nodosum* L., *H. vulgare* L., *Lolium multiflorum* Lam., *L. perenne* L., *Phalaris arundinaceae* L., *Phleum pratense* L., *Poa polustris* L., *P. pratensis* L., *P. trivialis* L., *Secale cereale* L., *Sesleria coerulea* (L.) Ard., *Stipa columbiana var. nelsonii* (Scribn.) Hitchc., *Triticum aestivum* L., *T. vulgare* Vill., *Typhoides arundinacea* L.
Pinaceae	*Pinus silvestris* L.
Polemoniaceae	*Phlox douglasii* Hook., *Phlox subulata* L.
Rosaceae	*Potentilla* sp., *P. atrasanquinea* Lodd., *P. leucopolitana* P.J. Muell. ex F. Schultz.

*В таблице представлены растения-хозяева комплексного вида *T. ishikariensis* без учета разделения на два биологических вида. BS-2 отмечался только на видах сем. Poaceae

Круг растений-хозяев обнаруженного впервые на территории России широко рас-

пространенного прихротрофного гриба *S. nivalis* представлен в табл. 6. Нами выявлено, что круг растений-хозяев гриба значительно шире, чем об этом было впервые упомянуто в северной Японии (Saito, 1997).

Таблица 6

Круг растений-хозяев гриба *S. nivalis*

Семейство	Виды
Apiaceae	*Angelica acutiloba* Kitagawa, *Daucus sativus* (Hoffm.) Rochl, *Panax ginseng* C.A. Meyer
Asteraceae	*Antennaria carpatica* (Wahlenb.) Bluff & Finget., *Anthemis rigescens* Willd., *Arctium lappa* L., *Arnica alpina* (L.) Olin, *A. frigida* C.A.Mey. ex Iljin, *A. montana* L., *Artemisia maritima* L., *A. tilesii* Ledeb., *Aster alpinus* L., *A. gaspensis* Victorin, *A. novi-belgii* L., *A. sibiricus* L., *A. subintegerrimus* (Trautv.), *A. thomsonii* C.B.Clarke, *Centaurea montana* L., *Chrysanthemum .coronarium* L., *Doronicum oblongifolium* DC., *Erigeron canadensis* L., *Helichrysum avenaceum* (L.) Moench, *Lactuca sativa* L., *Leucanthemum alpinum* Lam., *L. leucolepsis* (Briq. & Cavillier) Horvatic, *L. maximum* Marconi, *L. subglaucum* De Larambergue, *L. vulgare* Lam., *L. waldsteinii* (Sch.Bip.) Pouzar, *Ligularia altaica* DC., *Tripleurospermum perforatum* (Mérat) M.Lainz, *Pyrethrum cinerariefolium* Trev., *P. punctatum* (Desr.), *Saussurea maximowiczii* Herder, *S. pulviflora* DC., *Solidago compacta* Turcz.
Borraginaceae	*Myosotis polustris* L.
Brassicaceae	*Arabis alpina* L., *Aubrieta deltoides* (L.) DC, *Brassica campestris* L. sp. *napus* Hook., *Erysimum hieracifolium* L., *Hutchinsia alpina* (L.) R. Br., *Lactuca sativa* L., *Thlaspi arvense* L.
Campanulaceae	*Campanula barbata* L., *C. glomerata* L., *C. hondoensis* Kitam., *C. justiniana* Wit., *C. kolenatiana* C.A. Meg., *C. latifolia* L., *C. longistyla* Fomin, *C. olympica* Boiss., *C. persicifolia* L., *C. rotundifolia* L., *C. scheuchzeri* Vill., *C. thessala* Maire, *C. tridentata* Schreb., *Edraianthus parnassicum* (Boiss. et Spr.) Halascy
Caryophyllaceae	*Silene acaulis* L., *Stellaria media* L., *Viscaria alpina* (L.) G.Don
Crassulaceae	*Sedum lidyum* Boiss., *Sedum* sp.
Dipsacaceae	*Scablosa ochroleuca* L.
Fabaceae	*Hedysarum alpinum* L., *Lupinus arcticus* S.Wats., *L. polyphyllus* Lindl., *Trifolium* sp.
Gentianaceae	*Gentianella lingulata* (C. Agardh) N.M. Pritch.
Hamamelidaceae	*Hamamelis* sp.
Hemerocalidaceae	*Hemerocalis* sp.
Iridaceae	*Iris germanica* L.
Liliaceae	*Tulipa* sp.
Plantaginaceae	*Plantago lanceolata* L.
Polemoniaceae	*Phlox* sp.
Ranunculaceae	*Anemonastrum crinitum* (Juz.), *Ranunculus oreophyllus* Bieb.
Rosaceae	*Potentilla rupestris* L.
Scrophulariaceae	*Leptandra sibirica* (L.) Nutt. ex G. Don

Этот гриб так же, как и *T. ishikariensis*, обладает широкой специализацией. *S. nivalis* поражает 80 видов 50-ти родов растений, относящихся к 18-ти семействам. Ущерб от *S. nivalis* также может быть значительным, особенно при выращивании культуры долгое время на одном месте. Так, в 60-е годы прошлого века гриб *S. bulborum* (возможно, син. *S. nivalis*) поражал до 10% коллекции тюльпанов ГБС РАН (Синадский и др., 1979), а культура гиацинтов в Голландии в 60-70-е годы XVIII-начале XIX века вообще оказалась под угрозой из-за этого гриба (Moore, 1049). Гриб часто поражал ресурсные виды интродуцированных растений не только в России, но и за рубежом, нанося ущерб многим ценным продовольственным культурам: рапсу (*Brassica campestris* var. *napus*), латуку (*Latuca sativa*), зимующей моркови (*Daucus sativus*); многолетним кормовым растениям: копеечнику альпийскому (*Hedisandrum alpinum*), люпинам (*Lupinus* spp.), многим декоративным растениям: тюльпанам, колокольчикам, ирисам и др., а также продовольственным культурам, используемым за рубежом: съедобному лопуху (*Arctium lappa*), полыни (*Artemisia maritima*), дуднику (*Angelica acutiloba*) (Андреев и др., 2005). Среди отмеченных растений-хозяев гриба есть растения, входящие в списки редких и исчезающих, например, колокольчики *Campanula justiniana* Wit., *C. kolenatiana* C.A. Meg. (Редкие и нуждающиеся..., 2004). Среди растений-хозяев *S. nivalis* есть и сорные растения: *Tripleurospermum perforatum*, *Plantago lanceolata*, *Thlaspi arvense*.

Список растений-хозяев полунекротрофа *S. borealis* включает растения 28-ми видов 17-ти родов, относящихся к 8-ми семействам (табл. 7).

Таблица 7

Круг растений-хозяев гриба *S. borealis*

Семейство	Виды
Alliaceae	*Allium fistlosum* L.
Asteraceae	*Helianthus tuberosus* L.
Brassicaceae	*Brassica campestris* L. x *B. chinensis* L.
Campanulaceae	*Campanula portenshulagiana* Roem. et Schit
Fabaceae	*Trifolium repens* L.
Iridaceae	*Iris ensata* var. *hortensis* Makino (японский ирис) *I. germanica* L. (германский ирис) *I. hollandica* Hort. (голландский ирис) *I. pseudoacous* L.
Pinaceae	*Pinus sylvestris* L.
Poaceae	*Agrostis canina* L., *Agropyron dasystachum* (Hook.) Scrib., *A. desertorum* (Fisch.) Schult., *A. intermedium* (Host) Beauv., *A.semicostatum* (Steud.) Nees ex Boiss., *A. sibiricum* (Willd) Beauf., *Alopecurus pratensis* L., *Arrhenatherum elatius* (L.) J. & Presl., *Bromus erectus* Huds., *B. inermis* Leyss, *Dactylis glomerata* L., *Elymus canadensis* L., *E. sibiricus* L., *Festuca elatior* L., *F. gigantea* (L.) Vill., *F. rubra* L., *Lolium perenne* L., *Phleum pratense* L.

Известно, что *S. borealis* в основном поражает злаковые растения. Из «незлаковых» растений-хозяев *S. borealis* нам удалось обнаружить патоген только на *Iris germanica* при изучении изолятов с Дальнего Востока методом SDS-PAGE . Этот вид уже был отмечен среди «незлаковых» растений-хозяев Изуми Сайто (Saito, 1997).

Заражение грибами *S. borealis* и *S. nivalis* растений-хозяев сем. Fabaceae, для которых типично поражение узкоспециализированным *S. trifoliorum*, а грибом *S. borealis* - «незлаковых» растений-хозяев выявляет не только ненадежность показателя «круг растений-хозяев» как таксономического критерия семейства Sclerotiniaceae, но и классификацию грибов этого семейства на основе пищевой адаптации. В связи с этим *S. borealis* должен быть классифицирован как неспециализированный некротроф в отличие от принятой ранее оценки этого организма как специфического патогена растений сем. Poaceae.

5.4 Интродукция зимующих растений с учетом НСГ

В результате наших исследований разработана практическая стратегия путей уменьшения ущерба интродуцируемых растений от НСГ, включающая:

- своевременную смену участков с интродуцируемыми растениями, учитывая принадлежность патогенов НСГ к К-стратегам[1];

- борьбу с восприимчивыми к НСГ сорняками, способными являться резерватами инфекции;

- учет различий в устойчивости к НСГ интродуцированных растений. При этом следует обращать внимание на наиболее восприимчивые виды и разновидности растений. Например, на тюльпанах к НСГ наиболее восприимчивы раннецветущие сорта, наименее – позднецветущие (Синадский и др., 1979). В связи с возможным ущербом от *T. ishikariensis*, следует уделять повышенное внимание растениям из семейства Caryophyllaceae, как одними из наиболее восприимчивых к вышеупомянутому грибу видов;

- учитывая, что основной источник инфекции НСГ – склероции, легко опадающие с пораженных растений, при выбраковке больных растений следует избегать опадения склероциев и сохранения их на почве и растительных остатках;

- так как большинство НСГ – К-стратеги, использование моделей природных популяций может увеличить расстояние между восприимчивыми к НСГ растениями одних и тех же видов и уменьшить возможности передачи инфекции друг другу;

- при использовании химических средств защиты растений следует учитывать различную восприимчивость видов НСГ к пестицидам. Например, бензимидазольные фунги-

---

[1] Следует отметить, что способный широко распространяться аскоспорами *S.borealis* не относится к К-стратегам.

циды не эффективны против *Typhula* spp., и даже могут стимулировать развитие грибов этого рода.

5.5 Ботанические сады – центры формирования новых патосвязей «паразит - растение-хозяин»

На примере НСГ хорошо видно, что формирование новых систем «паразит-растение» происходит в местах скопления большого количества интродуцируемых растений. При этом наблюдается переход фитопаразитов с местных растений на интродуцируемые, причем может происходить значительное изменение образа жизни патогена. Это хорошо видно на примере гриба *Typhula ishikariensis*, обычно поражающего наземные части растений. Как все паразиты, в природе гриб не наносит серьезного ущерба злаковым, только в сельскохозяйственном производстве вред от него может быть значительным. Ареал диких тюльпанов не соприкасается с ареалом *T. ishikariensis*, в то время как в культуре тюльпана в ареале гриба патоген может наносить существенный ущерб этим растениям. Поражение подземных органов злаковых отмечалось только в местах с нестабильным снеговым покровом на о. Хоккайдо. В них гриб из-за стрессовых условий обитания вынужден был потерять совершенную стадию и приобрести повышенную агрессивностью, но сохранить популяцию. Потеря совершенной стадии может быть связана с двумя причинами: мелкими размерами склероциев, недостаточными для ее продуцирования, и/или ее малой эффективности, связанной с нестабильностью погодных условий района (Honkura et al., 1986). Подобные стрессовые условия отмечены в некоторых популяциях *T. ishikariensis* в Норвегии (Hoshino et al., 1998). Такой путь эволюционной адаптации гриба для сохранения его популяций мы называем «стрессовым».

Нами показан путь аккомодации, также связанный с питанием и жизнью гриба под землей. Этот путь не ведет к потере фертильной стадии, хотя гриб может продуцировать фертильные базидиокарпы только на поверхности почвы или на глубине менее 2 см. В данном случае мы наблюдаем адаптацию паразита не для выживания гриба в тяжелых условиях существования, а переход на образ жизни, позволяющий ему поражать органы, богатые питательными веществами: корнями, корневищами, донцем, и развиваться в более стабильных температурных условиях в почве. Этот тип адаптации гриба к новым растениям-хозяевам, связанный с изменением наземного на факультативный подземный образ жизни мы называем «адаптационным».

Как видно из табл. 8, круг растений-хозяев наиболее агрессивных НСГ *T. ishikariensis* и *S. nivalis* широк с таксономической точки зрения. Многие интродуцируемые растения, отмеченные в списке растений-хозяев *T. ishikariensis*, не поражаются в природе. У многих

из них, например, тех же тюльпанов (а в коллекции поражались и видовые тюльпаны), многих южных видов *Alissum saxatile*, *Arabis arenosa*, *A. caucasica*, *Cerastium biebersteinii* и др., ареалы растения-хозяина и паразита не совпадают. То же относится и к *S. nivalis*.

Таблица 8

Семейства и количество родов и видов растений-хозяев
T. ishikariensis (1) и *S. nivalis* (2)

Семейства растений	Виды НСГ				Семейства растений	Виды НСГ			
	1		2			1		2	
	Рода	Виды	Рода	Виды		Рода	Виды	Рода	Виды
Alliaceae	1	2	0	0	Gentianaceae	0	0	1	1
Apiaceae	0	0	3	3	Hamamelidaceae	0	0	1	1
Asteraceae	2	2	18	33	Iridaceae	2	2	1	1
Boraginaceae	1	1	1	1	Lamiaceae	4	5	0	0
Brassicaceae	6	11	7	7	Liliaceae	3	3	2	2
Campanulaceae	1	1	2	14	Pinaceae	1	1	0	0
Cannabaceae	1	1	0	0	Plantaginaceae	0	0	1	1
Caryophyllaceae	7	12	3	3	Polemoniaceae	0	0	1	1
Crassulaceae	1	3	1	2	Poaceae	19	35	0	0
Cyperaceae	1	1	0	0	Ranunculaceae	0	0	2	2
Dipsacaceae	0	0	1	1	Rosaceae	0	0	1	1
Fabaceae	3	4	3	4	Scrophulariaceae	0	0	1	1
					ИТОГО:	53	96	50	79

С другой стороны, выявить поражение патогеном в природе почти невозможно. Интродуцируемые растения, выращиваемые в посадках в непосредственной близости друг к другу, в особенности культурные сорта, потерявшие часть устойчивости из-за селекции на продуктивность, позволяют легко выявить места поражения грибом, которого можно в дальнейшем идентифицировать.

НСГ, обнаруженные на различных видах растений-хозяев, относятся к местным видам низкотемпературных грибов, нашедшим новые источники питания. Многие из этих видов являются ресурсными, которые могут широко внедряться в культуру. Например, никогда не фиксировалось поражение лопуха большого (*Arktium lappa*) психротрофом *S. nivalis* и другими НСГ в природе. В Японии на этом окультуренном виде растения вид *S. nivalis* был впервые отмечен и описан (Saito, 1997).

Климатические условия играют существенную роль в заражении растений НСГ. Например, в Полярно-Альпийский ботанический сад-институт Кольского филиала РАН (ПАБСИ) расположен в центре Кольского п-ва в Хибинских горах в 120 км севернее Полярного круга. Продолжительность снежного покрова там по данным Л.А.Шавровой (1989) колеблется от 198 до 260 дней в году, а его высота - от 81 до 189 см. Такие климатические показатели чрезвычайно благоприятны для снежных плесеней. В ПАБСИ (Ки-

ровск) Шаврова (1989) обнаружила 48 видов растений, пораженных грибом «*S. minor*», который, как мы доказали выше, является *S. nivalis*. Выявленные Шавровой растения-хозяева этого вида составляют 66% всех видов растений от представленного нами в табл. 6 списка круга растений-хозяев *S. nivalis*. Конечно, в других местах гриб не всегда будет способен поражать эти виды растений. В ботанических садах, где отмечался *S. nivalis*, мы можем предполагать потенциальную опасность заражения этим грибом определенного растения-хозяина. Интересно, что в ПАБСИ, где условия для развития НСГ чрезвычайно благоприятны, *T. idahoensis* (=*T. ishikariensis*) отмечен только на трех видах злаковых (Шаврова, 1989) и на *Lupinus arcticus* (Ткаченко и др., 1997), а *S. graminearum* (=*S. borealis*) – на 11 видах злаковых (Шаврова, 1989), причем поражение в сильной степени отмечалось только на 3-х видах.

Таким образом, можно сделать вывод, что в ботанических садах пораженность НСГ может служить одним из критериев состояния адаптационных возможностей интродуцируемых растений в данной местности.

Можно отметить географические отличия поражаемости растений НСГ. Например, только в России зафиксированы случаи поражения сеянцев сосны грибами *T. ishikariensis* и *S. borealis* (Гуляев, 1948). Нигде за рубежом не отмечено массового поражения тюльпанов *T. ishikariensis* кроме упоминания (без указания пораженных органов) в списке патогенных грибов Канады (Cormack, 1967) и Швеции (Extrand, 1955). Нигде не отмечено поражение хмеля *T. ishikariensis*, хотя в начале прошлого века наблюдался сильный ущерб культуры, вызванный этим патогеном (Кузнецова, 1953).

С другой стороны у нас еще не обнаружены LTB и SLTB (sclerotial low temperature basidiomycete), отмеченные в Канаде и вредящие озимым и многолетним злаковым. В России обнаруживается только сапротрофный *T. phacorrhiza*, в отличие от Канады, где зарегистрированы патогенные штаммы гриба. Также отсутствуют склероциальные патогены тюльпанов *S. wakkeri* и *S. perniciosum*, описанные в Голландии.

Следует отметить уменьшение числа публикаций о поражениях, вызываемых снежными плесенями, как в России, так и за рубежом. Так в 30-40-е годы прошлого века серьезный ущерб приносило поражение сеянцев сосны *S. graminearum* (= *S. borealis*) и *T. graminearum* (= *T. ishikariensis*). Посевам озимых зерновых значительный ущерб наносил гриб *S. borealis*. Относительное уменьшение публикаций от НСГ, развивающихся под снежным покровом, по нашему мнению, может быть связано с изменением климата (глобальным потеплением).

Вероятно, изменения климата из-за глобального потепления могут привести к расширению сельскохозяйственных площадей ресурсных видов в районы, где выращивание

этих зимующих растений было невозможно, таких как Западная Сибирь, где широко выращиваются яровые зерновые и уже делаются попытки выращивания озимых культур. С другой стороны, нужно учитывать цикличность изменения климата: вслед за потеплением можно ожидать его похолодание.

Выводы

1. Впервые на территории России выявлен видовой состав, географическое распространение, уровень специализации на культурных и дикорастущих растениях-хозяевах наиболее вредоносных склероциальных возбудителей снежной плесени – *Sclerotinia nivalis* I.Saito; *Sclerotinia borealis* Bub. et Vleug. (Sclerotiniaceae, Helotiales, Ascomycetes, Ascomycota) и *Typhula ishikariensis* S. Imai (Typhulaceae, Agaricales, Basidiomycetes, Basidiomycota).
2. Впервые обнаружен новый для России возбудитель снежной плесени психротолерантный склероциальный патоген *Sclerotinia nivalis*. Гриб отмечен в Нечерноземной зоне (Москва, Орел), северо-западе (Санкт-Петербург, Мурманская обл.), на Средней Волге (Чебоксары), Урале (Екатеринбург, Сыктывкар), в Западной Сибири (Новосибирск) и на Дальнем Востоке (Владивосток).
3. *Sclerotinia nivalis* выявлен как паразит 96-ти видов растений, относящихся к 19-ти семействам и 53-м родам, способный нанести существенный ущерб интродуцированным растениям, особенно декоративным луковичным, при выращивании на одних и тех же участках в течение длительного времени.
4. Психрофильный *Sclerotinia borealis* поражает 28 видов растений 17-ти родов и 8-ми семейств: Alliaceae, Asteraceae, Brassicaceae, Campanulaceae, Fabaceae, Iridaceae, Pinaceae и Poaceae. Этот вид относится к неспециализированным некротрофам и не является специфическим патогеном растений семейства Poaceae, как считалось ранее.
5. Комплексный подход к оценке системы видов семейства Sclerotiniaceae показал ненадежность параметра «круг растений-хозяев» как таксономического критерия, и неприемлемость классификации грибов этого семейства на основе пищевой специализации.
6. Комплексный вид *Typhula ishikariensis* на большей части России (Европейская часть, Западная Сибирь, Дальний Восток) представлен биологическим видом BS-1, обладающим широкой специализацией.
7. Комплексный вид *T. ishikariensis* является паразитом 96-ти видов растений, относящихся к 19-ти семействам 53-х родов.
8. *T. ishikariensis* BS-1 способен адаптироваться к жестким зимним условиям резко континентального климата Западной Сибири.

9. Отмечена дизъюнктивность ареала *T. ishikariensis* BS-1. Гриб обнаружен в Восточной Европе, Западной Сибири, Дальнем Востоке, отсутствует в Восточной Сибири. Южные границы ареала *T. ishikariensis* BS-1 проходят по лесостепной зоне, где снеговой покров сохраняется в течение 80-90 дней в году. Северные границы ареала *T. ishikariensis* ограничиваются вечной мерзлотой и наличием растений-хозяев.
10. Низкотемпературные патогены молодых сеянцев сосны *Typhula graminearum* и корневищ хмеля *T. humulina* являются синонимами *Typhula ishikariensis* BS-1, причем последнее название приоритетно.
11. *T. ishikariensis* биологический вид BS-2 выявлен на Дальнем Востоке (Сахалин и Камчатка) и в Восточной Сибири, в предгорьях хребта Хамар-Дабан, где находится рефугиум вида.
12. Формирование новых систем «паразит-растение» происходит в местах скопления большого количества интродуцируемых растений. При этом происходит переход фитопаразитов с местных растений на интродуцируемые, причем иногда наблюдается изменение образа жизни патогена.
13. Отмечены два пути адаптации к паразитизму в почве комплексного вида *T. ishikariensis*: «стрессовый», путь эволюционной адаптации, когда гриб образует мелкие склероции, обладает повышенной агрессивностью и теряет половую стадию; и «адаптационный», путь аккомодации, когда гриб адаптируется к поражению богатых питательными веществами подземных органов, не теряя половой стадии.

Список публикаций по теме диссертации (1985-2005 гг.)

1. **Ткаченко О.Б.**, Мухина Л.Н. Рекомендации по защите тюльпанов от склероциальных гнилей. - М.: Наука, 1985. - 15 с.
2. **Ткаченко О.Б.** Распространение склероциальных гнилей тюльпанов по территории Европейской части СССР // Тр. VII конф. молод. уч. ВНИИ Лекарственных Растений. - М., 1985. - ч.II. - С. 122-127. Рук. деп. в ВИНИТИ 08.05.86, ч.II, №3340-В86.
3. **Ткаченко О.Б.** Поведение склероциев *Typhula ishikariensis* в почве // Мат. конф. молод. спец. «Молодые ученые ГБС АН СССР свой труд и знания – родной стране», ГБС АН СССР, янв. 1984. - М., 1984. - С. 60-63. Рук. деп. в ВИНИТИ 05.03.85, №1732ДЕП.
4. **Ткаченко О.Б.** Испытание фунгицидов бавистина и байлетона против болезней тюльпанов // Тез. докл. обл. конф. «Вредные и патогенные организмы, повреждающие зеленые насаждения промышленных городов и защитные мероприятия», 9-12 июля 1987. – Донецк. – 1987. - С. 55.
5. **Ткаченко О.Б.**, Санин М.А., Зиновьева Л.А. Испытание болетина как протравителя тюльпанов// XIII рабочее совещ. рук. служб защиты растений региональных бот. садов СССР, окт. 1989. Саласпилс. – Рига: Зинатне, 1990. - С.118-119.
6. **Ткаченко О.Б.** Полевая устойчивость тюльпанов и гладиолусов к склероциальным гнилям // Мат. конф. «Молодые ботаники – 40-летию Главного ботанического сада АН СССР» ГБС АН СССР, 1986. - М.,

1990. - С. 121-125. Деп. в ВИНИТИ 01.06.90, №2972-В90.

7. **Ткаченко О.Б.** *Возможность использования в почве пространственной изоляции тюльпанов и возбудителей склероциальных гнилей гидратцеллюлозной пленкой* / В кн.: Вопросы теории и практики защиты интродуцированных растений от вредителей, болезней и сорняков, тез. докл. - Киев, 1991. - С. 48-49.
8. **Ткаченко О.Б.** Музыкантов В.П. Цитокинины в мицелии и культуральном фильтрате грибных патогенов тюльпанов // Тез.докл. 2-ой конф. «Регуляторы роста и развития растений». - М., 1993. - С. 67.
9. **Ткаченко О.Б.**, Музыкантов В.П. Цитокинины у различных стадий гриба *Sclerotinia bulborum* // Тез.докл. 3-го съезда ВОФР. - СПб, 1993. - С. 743.
10. **Tkachenko O.B.** Interrelationships of Sclerotinia bulborum on tulips with Gliocladium catenulatum, G. virens and Trichoderma lignorum // European Journal of Plant Pathology, Proc. XIII International Plant Protection Congress. The Hague, the Netherlands – 2-7 July 1995, Abstr. N 613 (In Engl.).
11. **Ткаченко О.Б.** Адаптация гриба *Typhula ishikariensis* к обитанию в почве // Микология и фитопатология. – 1995. – том 29. – вып. 3. – С.:14-19*.
12. **Tkachenko O.B.** Peculiarities of low-temperature basidiomycete *Typhula ishikariensis* in Russia // Proc. Int. Workshop on Plant-Microbe Interactions at Low Temperature Under Snow (Nov. 25-28, 1997), Northern regional center. - Sapporo, Japan, 1997. - P. 77-87 (In Engl.).
13. **Tkachenko O.B.**, Matsumoto N., Shimanuki T. Mating patterns of East-European isolates of *Typhula ishikariensis* with isolates from distant regions // Микология и фитопатология. – 1997. – том 31. - вып. 1. – С.: 68-72* (In Engl., Russian summary).
14. **Ткаченко О.Б.** Нетипичные для возбудителей склероциальных гнилей случаи поражения подземных органов растений // Тез. докл. III Межд. конф. "Цветоводство-сегодня и завтра". - Москва, 1998. - С. 274-276.
15. **Ткаченко О.Б.**, Сайто И. Снежная плесень в Сибири // «Проблемы интродукции растений и отдаленной гибридизации». Тез. докл. Межд. конф., посв. 100-летию со дня рожд. ак. Н.В.Цицина. - М., 1998. - С. 203-204.
16. **Ткаченко О.Б.**, Сайто И., Серая Л.Г. Снежная плесень - важный фактор сдерживания интродукции озимых и многолетних растений // «Проблемы интродукции растений и отдаленной гибридизации». Тез. докл. Межд. конф., посв. 100-летию со дня рожд. ак. Н.В.Цицина. - М., 1998. - С. 204-206.
17. **Ткаченко О.Б.** Нетипичные для возбудителей склероциальных гнилей случаи поражения подземных органов растений // Тез. докл. III Межд. конф. «Цветоводство - сегодня и завтра». - Москва, 1998. - С. 274-276.
18. **Ткаченко О.Б.** Возбудители снежной плесени на озимых и многолетних растениях // Доклады МСХА. - 1999. - вып. 271. - С. 49-53.
19. **Ткаченко О.Б.**, Сайто И., Серая Л.Г. Биологическое разнообразие возбудителей снежной плесени и их роль в интродукции растений // Тез. 2-ой Межд. конф. «Биологическое разнообразие. Интродукция растений» (20-13 апр. 1999г. Санкт-Петербург). - СПб, 1999. - С. 292-294.
20. **Ткаченко О.Б.**, Серая Л.Г. Сохранение жизнеспособности первичных и вторичных склероциев гриба *Typhula ishikariensis* в почве // Тр. Межд. конф., посв. 100-летию организации исследований по микологии и криптогамной ботанике в Бот. Институте им. В.Л. Комарова РАН. - СПб., 2000. - С. 246-249.
21. Серая Л.Г., **Ткаченко О.Б.**, Стройков Ю.М. Оценка эффективности некоторых фунгицидов при защите газонных насаждений от серой (пятнистой) плесени // Экология большого города. Альманах. - Вып. 4. -

«Проблемы содержания зеленых насаждений в условиях Москвы». - М.: Прима-Пресс, 2000. - С. 160-163.

22. Серая Л.Г., **Ткаченко О.Б.** Географическое распространение низкотемпературного грибного патогена *Typhula ishikariensis* в России // Тез. VII молод. конф. ботаников в Санкт-Петербурге. - СПб., 2000. - С. 82.

23. Hoshino T., **Tkachenko O.B.**, Matsumoto N., Tronsmo A.M. Frost resistance of sclerotia of *Typhula ishikariensis* // Plant and Microbe Adaptations to Winter Environments in Northern Areas, NJF seminar № 311, Akureyri, Iceland, May 19-21, 2000. - P. 24-25.

24. Saito I., **Tkachenko O.B.**, Novozhilova O.A. Snow mold of herbaceous dicots and non-gramineous monocots caused by *Sclerotinia nivalis* in Russia // Plant and Microbe Adaptations to Winter Environments in Northern Areas, NJF seminar № 311, Akureyri, Iceland, May 19-21, 2000. - P. 29-30.

25. Hoshino T., **Tkachenko O.B.**, Kawakami A. Matsumoto N. Physiological characteristics of snow mold *Typhula ishikariensis* from Siberia // Fungal-Plant Interactions From Parasitism to Symbiosis. Proc. of 7th Int. Symp. of the Mycological Society of Japan. - Tsukuba, Japan, 2000. - P. 62.

26. Hoshino T., **Tkachenko O.B.**, Tronsmo A.-M., Kawakami N., Matsumoto N., Saito I., Yokota Y., Yomoto I. Distribution pattern and ecological characteristics of snow mold fungi in Asia // Rostaniha (Botanical Journal of Iran). - 2001, supplement. - No.2. - P. 54.

27. **Ткаченко О.Б.**, Сайто И., Новожилова О.А. Гриб *Sclerotinia nivalis* широко распространен в России // Сб. мат. Межд. симп. «Проблемы изучения и охраны биоразнообразия и природных ландшафтов». - Пенза, 2001. - С. 142-145.

28. Hoshino T., **Tkachenko O.B.**, Tronsmo A-M., Kawakami N., Morita N., Ohgiya S., Ishizaki K., Matsumoto N. Temperature sensitivity and freezing resistance among isolates of *Typhula ishikariensis* from Russia // Būvisindi,, Island Agricultural Journal. - 2000 (2001). – V. 14. – P. 61-65.

29. Matsumoto N., **Tkachenko O.B.**, Hoshino T. The pathogenic species of *Typhula* // *In* "Low Temperature Plant Microbe Interactions under Snow", Chapter 5. Sapporo: Hokkaido National Agr. Experiment Station – 2001. - P. 49-59.

30. Серая Л.Г., **Ткаченко О.Б.** Испытание некоторых фунгицидов против психрофильного гриба *Typhula ishikariensis* на ряде растений-интродуцентов // Мат. Межд. конф. "Сохранение и воспроизводство растительного компонента биоразнообразия", посв. 75-летию Бот. сада Ростовского ГУ. Ростов–на-Дону, 28-31 мая 2002 года. - Ростов-на-Дону: Изд-во Ростовского ун-та. - С. 36-59.

31. **Ткаченко О.Б.**, Сайто И. Низкотемпературные патогенные гриба рода *Sclerotinia* и вопросы, связанные с их систематикой // Мат. Межд. конф. «Сохранение и воспроизводство растительного компонента биоразнообра-зия», посв. 75-летию Бот. сада Ростовского ГУ. Ростов–на-Дону, 28-31 мая 2002 года. - Ростов-на-Дону: Изд-во Ростовского ун-та. - С. 289-290.

32. **Ткаченко О.Б.**, Хошино Т., Сайто И., Серая Л.Г. Видовой состав и распространение основных психрофильных фитопатогенных склероциальных грибов // I съезд микологов «Современная микология в России». Тез. докл. - 2002, М. - С. 212-213.

33. **Ткаченко О.Б.**, Сайто И., Хошино Т. Видовой состав и распространение основных психротрофных фитопатогенных склероциальных грибов с К-стратегией // I съезд микологов «Современная микология в России». Тез. докл. - 2002, М. - С. 213.

34. **Ткаченко О.Б.**, Сайто И., Хошино Т. Низкотемпературные склероциальные грибы в ботанических садах // Тез. докл. Межд. науч. конф., посв. 70-летию со дня основания ЦБС «Ботанические сады: состояние и

перспективы сохранения, изучения, использования биологического разнообразия растительного мира» (г. Минск, 30-31 мая 2002 г.). - Минск, 2002. - С. 282-283.

35. Hoshino T., **Tkachenko O.B.**, Tronsmo A.M., Kiriaki M., Matsumoto N. Distribution and genetic variation of *Typhula ishikariensis* in Nothern Eurasia // Abst. of Int. workshop "Plant and Microbe Adaptations to Cold", Quebek City, May, 25-29, 2003. – P. 47.

36. **Ткаченко О.Б.**, Хошино Т., Чикин Ю.А. Возбудитель крапчатой (серой) снежной плесени в Западной Сибири // Защита и карантин растений. – 2003. - №10. – С. 43*.

37. **Ткаченко О.Б.**, Сайто И., Новожилова О.А. Попытка использования SDS-PAGE протеинов для изучения филогенеза гриба *Sclerotinia nivalis* // Тез. докл. XI Межд. совещ. по филогении растений (Москва, 28-31 января 2003 г.). М.: BCC-Press, 2003. - С. 100-101.

38. **Ткаченко О.Б.** Новый для России низкотемпературный гриб *Sclerotinia nivalis*, как один из факторов, препятствующих интродукции растений // Ботанические исследования в Азиатской части России, Т.1. Мат. XI съезда Русского ботанического общ-ва (18-22 августа 2003 г., Новосибирск-Барнаул). - Барнаул, 2003. - С. 69-70.

39. **Ткаченко О.Б.**, Хошино Т. Особенности распространения психрофильного склероциального патогена *Typhula ishikariensis* на южных границах ареала // Мат. III Межд. науч. конф. «Биологическое разнообразие. Интродукция растений». (23-25 сентября 2003 г., Санкт-Петербург). - СПб, 2003. - С. 450-451.

40. Saito I., **Tkachenko O.B.** Low temperature species of *Sclerotinia* causing plant diseases in winter / Advances in Plant Disease Management. Editors: Hung-Chang Huang and Surya N. Acharya. – 2003. - P. 195-214.

41. **Ткаченко О.Б.** Селекция озимых зерновых на устойчивость к снежной плесени // Сельскохозяйственная биология. – 2003. - №5. - С. 101-108*.

42. **Ткаченко О.Б.**, Сайто И., Новожилова О.А. Новый для России возбудитель снежной плесени рода *Sclerotinia* // Журнал Российского общества Фитопатологов. – 2003. – № 4. – С. 59-67* (Rus., Engl.).

43. Щуковская А.Г., **Ткаченко О.Б.**, Шестеперов А.А. Низкотемпературная микотрофная нематода *Aphelenchoides saprophillus* – потенциальный биоагент для борьбы с розовой снежной плесенью // Мат. VIII Молод. конф. ботаников в Санкт-Петербурге, БИН РАН, 17-21 мая, 2004. - СПб, 2004. - С. 78.

44. Щуковская А.Г., **Ткаченко О.Б.**, Шестеперов А.А. Фитонематоды озимой пшеницы, пораженной фузариозной снежной плесенью // Мат. докл. науч. конф. «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями», посв. 100-летию со дня рожд. Владимира Степановича Ершова. - М., 2004. - вып. 5. - С. 437-440.

45. Hoshino T., **Tkachenko O.B.**, Kiriaki M., Yumoto I., Matsumoto N. Winter damage caused by *Typhula ishikariensis* biological species I on conifer seedlings and hop roots collected in the Volga-Ural regions of Russia // Can. J. Plant Pathol. - 2004. – V. 26.- P. 391-396.

46. Hoshino T., **Tkachenko O.B.**, Morita H., Fujiwara M., Higashiyama T., Saito I., Matsuyama H., Yumoto I. Heat resistant bio-control agents against snow molds (*Typhula incarnata* and *T. ishikariensis*) in various materials from several cold regions // Proc. of Int. Symp. on «Identification and Use of Microbial Resources for Sustainable Agriculture», July 28, 2004. - National Agr. Res. Center for Kyushu Okinawa Region. - P. 88-97.

47. **Ткаченко О.Б.**, Хошино Т. Различия стратегий развития близких патогенных грибов видов Typhulaceae: *Typhula ishikariensis* и *T. incarnata*, и их распространение в связи с этим // Мат. межд. науч. конф. «Биология, систематика и экология грибов в природных экосистемах и агрофитоценозах» (Минск, 20-24 сентября 2004 г.). - С. 227-230.

49. Андреев Л.Н., Семихов В.Ф., **Ткаченко О.Б.**, Бабоша А.В. Мониторинг грибных патогенов как регуляторных факторов ресурсных видов / Фундаментальные основы управления биологическими ресурсами. Сборник научных статей. – М.: Товарищество научных изданий КМК, 2005. – С. 311-320.

2,25 печ. л. Зак. 646. Тир. 100 экз.

Центр оперативной полиграфии
ФГОУ ВПО РГАУ – МСХА им. К.А. Тимирязева
127550, Москва, ул. Тимирязевская, 44