

УДК 632.4.01

## ***MYCOSPHAERELLA GRAMINICOLA*: ОСОБЕННОСТИ ПАТОГЕНА И ПАТОГЕНЕЗА**

© 2011 г. С. Н. Шамрай

*Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина*  
(Харьков, Украина)

В обзоре приведены современные сведения по различным аспектам роста, развития и патологического процесса, вызываемого у растений пшеницы сумчатым грибом *Mycosphaerella graminicola*. Гриб представляет собой модельный объект исследований в области иммунологии растений и является возбудителем септориозной пятнистости листьев, одного из наиболее вредоносных заболеваний пшеницы, вызывающих до 50% потерь урожая в странах с достаточно влажным умеренным климатом. Патогенез заболевания уникальный и включает длительный бессимптомный период и последующую быструю некротизацию клеток листьев пшеницы. Популяции *M. graminicola* имеют удивительно сходную структуру в глобальном масштабе, в то же время наблюдается экстраординарно высокая внутривидовая изменчивость. Сведения по молекулярным механизмам патологического процесса и устойчивости растений все еще фрагментарны. Патогенность *M. graminicola* зависит от консервативных внутриклеточных путей передачи сигналов, включающих митоген-активируемые протеинкиназы, G-белки и протеинкиназу А. Устойчивость растений начинает проявляться быстро, спустя 3 ч после заражения, и связана с продуцированием активных форм кислорода, синтезом PR-белков, отложением в клеточных стенках каллозы и экспрессией многих генов. Гибель тканей растений на поздних этапах патогенеза, вероятно, обусловлена индукцией грибом реакции сверхчувствительности у восприимчивых сортов растений.

**Ключевые слова:** *Mycosphaerella graminicola*, *Triticum*, популяции, патогенность, устойчивость, реакция сверхчувствительности, активные формы кислорода

Сумчатый гриб *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) J. Schröt. in Cohn является возбудителем септориозной пятнистости листьев пшеницы (septoria leaf blotch of wheat). Он повсеместно распространен и представляет собой одного из наиболее вредоносных патогенов озимой и яровой пшеницы, особенно в зонах с влажным умеренным климатом (Eyal, 1999). В Украине септориоз чаще всего встречается в лесостепной зоне и Полесье (Бушулян, 2003). Вызываемый *M. graminicola* недобор урожая может достигать 30-40% и более, снижается также качество зерна (Eyal et al., 1987; Марютін, Равашдех Зіад Баракат, 2002).

Сообщения о потерях урожая, вызванных *M. graminicola*, периодически появлялись, начиная с 1890-х годов (Shipton et al., 1971). Однако только после внедрения в производство карликовых высокоурожайных восприимчивых сортов, применения высоких доз азотных удобрений и других приемов интенсивной агротехники возделывания, во многих странах гриб стал основным патогеном пшеницы, имеющим наиболее высокую вредоносность (Eyal, 1999; Scharen, 1999; Palmer, Skinner, 2002).

Для успешного выведения устойчивых к септориозу сортов, разработки эффективных приемов контроля заболевания необходимо глубокое понимание различных аспектов патогенеза. Однако тонкие особенности патологического процесса, механизмы патогенности в вирулентности *M. graminicola* остаются малоизвестными. Только в последнее время ряд ис-

---

Адрес для корреспонденции: Шамрай Сергей Николаевич, кафедра микологии и фитоиммунологии, Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина, пл. Свободы, 4, Харьков, 61077, Украина

## MYCOSPHAERELLA GRAMINICOLA

следовательских центров осуществляет выполнение программ, призванных пополнить наши познания в данном вопросе. Важно, что патоген стал модельным объектом, изучение его особенностей вносит значительный вклад в понимание взаимоотношений растений с возбудителями болезней и закономерностей иммунной реакции растений (Palmer, Skinner, 2002; Deller et al., 2010).

В настоящем обзоре обобщены современные сведения о биологии *M. graminicola* и особенностях вызываемого грибом патологического процесса.

Поражающий пшеницу возбудитель септориоза дивергировал от исходной древней популяции, заражавшей дикие злаки, около 10500 лет назад в районе Среднего Востока. Симпатрическая дивергенция сопровождалась генетической дифференциацией, и в настоящее время, по всей видимости, практически отсутствует генетический обмен между популяциями гриба на пшенице и дикорастущих злаках Среднего Востока, хотя и обнаружены доказательства возможного потока генов между ними (Zhan et al., 2003; Stukenbrock et al., 2007).

*M. graminicola* может заражать как всходы, так и взрослые растения. Обычно патоген заражает листья, но также может вызывать пятнистость на осях и колосковых чешуях. Симптомы заболевания (рис. 1) обнаруживаются в виде характерных поражений, содержащих расположенные рядами пикниды (Shipton et al., 1971; Wainshilbaum, Lipps, 1991).

*M. graminicola* не имеет узкой специали-

зации и в естественных условиях или при искусственном заражении вызывает заболевание, по меньшей мере, у 15 родов дикорастущих и культурных злаков, в частности у *Agropyron* spp., *Agrostis* spp., *Brachypodium* spp., *Bromus* spp., *Dactylis* spp., *Festuca* spp., *Hordeum* spp., *Glyceria* spp., *Poa* spp., *Secale cereale* и *Triticum* spp. (Brokenshire, 1975a; Eyal, 1999; Shipton et al., 1971). Однако, по всей видимости, не все эти растения могут служить эффективными альтернативными хозяевами патогена в естественных условиях.

### Таксономия и морфологические особенности *M. graminicola*

Патоген часто упоминается по анаморфной стадии как *Septoria tritici* Rob. et Desm. Анаморфа была описана Roberge и опубликована Desmazières в 1842 году (Cunfer, Ueng, 1999; Zadoks, 2002). Сумчатая стадия *M. graminicola* была описана в Европе еще в 1894 году (Cunfer, Ueng, 1999), однако она была идентифицирована как телеоморфа гриба *S. tritici* только в 1972 году (Sanderson, 1972).

*Mycosphaerella graminicola* принадлежит к царству *Fungi*, отделу *Ascomycota*, подотделу *Pezizomycotina*, классу *Dothideomycetes*, подклассу *Dothideomycetidae*, порядку *Capnodiales*, семейству *Mycosphaerellaceae*, роду *Mycosphaerella* (Schoch et al., 2006; Lumbsch, Huhndorf, 2007). В соответствии с базой данных Species Fungorum, синонимами являются *Septoria curtisiana* Sacc., *S. graminum* Desm., *S. tritici* Berk. & M.A. Curtis, *S. tritici* var. *lolicola* R. Sprague & Aar.G. Johnson, *Sphaerella graminicola* Fuckel.



Рис. 1. Септориозная пятнистость на листьях пшеницы (А) и поражение, покрытое пикнидами патогена крупным планом (Б). Длина приведенного на фото Б отрезка листа пшеницы – 1 см.

(Фотографии скопированы из открытых ресурсов Интернета.

Фото А: <http://www.recolta.eu/img/Septoria-tritici-septorioza-pete-characteristica-atac-grau.jpg>

Фото Б: <http://www.omafra.gov.on.ca/french/crops/facts/90-008.htm>).

В естественных условиях на пораженных растениях *M. graminicola* формирует два типа плодоношения: бесполое, представленное пикнидами, и половое плодоношение в виде псевдотециев.

Пикниды гриба шаровидные, расположены рядами вдоль жилок на обеих поверхностях листьев строго под устьицами, темноокрашенные, диаметром 60-270 мкм. Пикноспоры бесцветные, нитевидные, прямые или слегка изогнутые, имеют 3-7 септ и размер 20-98×1,4-5 мкм (Тетеревникова-Бабаян, 1987; Cunfer, Ueng, 1999; Scharen, 1999). В условиях высокой влажности пикноспоры выходят из пикнид в виде единого гидрофобного слизистого матрикса, называемого циррусом (cirrus, мн. цирри (cirri)) (Duncan, Howard, 2000). Циррус защищает пикноспоры от высыхания и препятствует преждевременному их прорастанию (Cunfer, 1999).

Помимо пикнид на пораженных частях растений были обнаружены микропикниды диаметром 30-75 мкм, которые содержали бесцветные слабо искривленные споры размером 8-10,5×0,8-1 мкм (Harrower, 1976). Споры из микропикнид не прорастали ни на питательных средах, ни на поверхности листьев пшеницы. Возможно, микропикниды могут играть роль сперматиев.

Телеморфная стадия, первоначально найденная в Новой Зеландии в 1972 году (Sanderson, 1972), в дальнейшем была обнаружена практически везде, где встречается патоген (см. например Hoorne et al., 2002; Verreet et al., 1990; Halama, 1996; Eriksen, Munk, 2003; Brown et al., 1978; Hunter et al., 1999). Псевдотеции развиваются одиночно, шаровидные, темно-коричневые, размером 76-80×77-100 мкм. Сумки битуникатные, грушевидные, размером 34-41×11-13 мкм, содержат восемь аскоспор. Парафизы отсутствуют. Аскоспоры двухклеточные, прозрачные, эллиптической формы, одна клетка обычно немного крупнее, имеют размер 10-15×2,5-3 мкм (Sanderson, 1972).

В чистых культурах половую стадию гриба получить не удастся, по крайней мере, в настоящее время. Псевдотеции образуются на мертвых тканях листьев в пределах септориозных поражений, и например в условиях Великобритании на озимой пшенице образование псевдотециев наблюдается, в зависимости от погодных условий, в интервале от 62 до 95 дней после формирования пикнид (Hunter et al., 1999).

### ***Рост in vitro***

Гриб легко культивируется *in vitro*; морфолого-культуральные особенности зависят от изолята гриба и состава питательной среды. *M. graminicola* является диморфным организмом и в типичном случае, при посеве на питательную среду пикноспор или аскоспор, начинает формировать дрожжеподобные колонии, состоящие из почкующихся клеток. Далее колонии становятся мицелиального или смешанного (мицелиально-дрожжеподобного) типа, формируется темная строма, в которой развиваются пикниды (Harrower, 1976; Коваленко, 1977; Санина и др., 1980; Манько, Глущенко, 1997). Помимо полноценных пикнид, в чистой культуре гриба может формировать подобные пикнидам структуры, не содержащие пикноспор («псевдопикниды») (Кема, Annone, 1991).

Одной из наиболее подходящих питательных сред, на которой происходит «типичное» развитие колоний *M. graminicola*, является картофельно-декстрозный или картофельно-глюкозный агар. В то же время, например, на среде Чапека-Докса гриб растет в виде дрожжеподобных культур со скудным мицелием (Harrower, 1976; Коваленко, 1977; Санина и др., 1980; Манько, Глущенко, 1997).

### ***Жизненный цикл***

Жизненный цикл *M. graminicola* показан на рис. 2. Важнейшим первичным источником инфекции являются распространяющиеся по воздуху аскоспоры. Они высвобождаются из зрелых псевдотециев в течение всего года, и массовое осаждение аскоспор на посевы пшеницы в период с августа по октябрь в северном полушарии и с февраля по апрель в южном полушарии имеет критическое значение для инициирования эпифитотий (Shaw, Royle, 1989; Eyal, 1999; Hunter et al., 1999; Scharen, 1999; Bathgate, Loughman, 2001; Palmer, Skinner, 2002).

Возможно, дополнительным источником первичной инфекции могут служить пикноспоры, содержащиеся в пикнидах, остающихся на растительных остатках (Brokenshire, 1975b). Однако пикноспоры могут распространяться только на небольшие расстояния, и с ними скорее связан перенос инфекции с нижних листьев на верхние и с больных растений на здоровые в пределах посева, чем первичное заражение растений (Shaw, Royle, 1989). В то же время пикноспоры могут служить источником первичной инфекции, например, в условиях монокультуры пшеницы, при нулевой обработке почвы, а так-

## MYCOPHAERELLA GRAMINICOLA

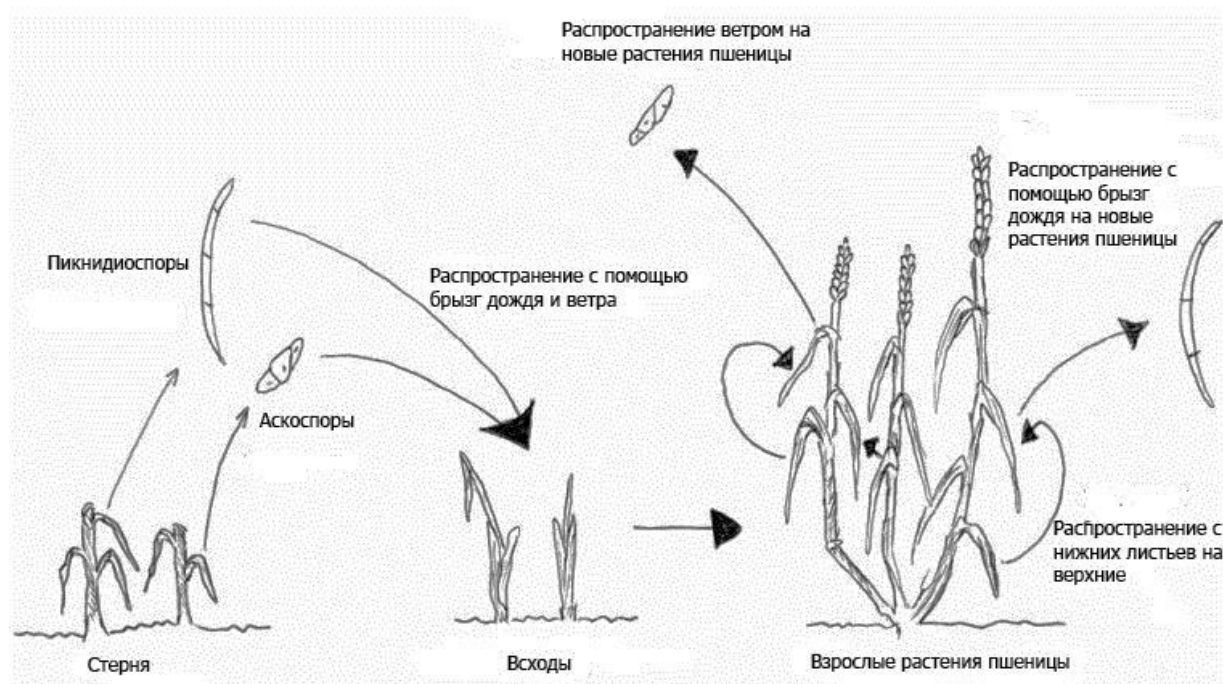


Рис. 2. Жизненный цикл *M. graminicola* (использованы данные Palmer, Skinner, 2002).

же при близком расположении новых посевов пшеницы к посевам предыдущего вегетационного периода (Shaw, 1999).

Следует принимать во внимание, что морфологически структуры полового и бесполого спороношений гриба довольно сходны, по этой причине роль пикноспор как источника первичной инфекции может быть ошибочно переоценена, а половая стадия может остаться незамеченной (Eyal et al., 1987).

Наконец, потенциальным источником первичной инфекции могут служить также семена (Brokenshire, 1975c), хотя доказательства этому отсутствуют.

Роль дикорастущих злаков как альтернативных хозяев *M. graminicola* в иницировании эпифитотий септориоза остается дискуссионной.

После первоначального заражения молодых растений наблюдается длительный бессимптомный период, затем заболевание проявляется на нижних листьях, в виде поражений, содержащих пикниды (Palmer, Skinner, 2002). При ливневых дождях пикноспоры переносятся с нижних листьев на верхние (вертикальный транспорт), а также с одного растения на другое (горизонтальный транспорт), обеспечивая прогрессирование заболевания. Перемещение заболевания вверх по растению считается важным моментом, обуславливающим вредоносность септориоза – степень поражения флагов-

вого, предфлагового и третьего листьев пшеницы полностью определяют потенциальное снижение урожая (Shaw, Royle 1989; Shaw, Royle, 1993; Lovell et al., 1997; Hunter et al., 1999; Palmer, Skinner, 2002).

Показано, что в течение одного вегетационного периода (у озимой пшеницы), к концу вегетации около 24% изолятов являются продуктами половой рекомбинации исходных изолятов, заразивших растения в начале вегетационного периода (Zhan et al., 1998). Таким образом, аскоспоры служат не только источником первичной инфекции, но и обеспечивают новые заражения растений в течение одного периода вегетации (рис. 2).

### Влияние внешних условий на развитие септориоза

Важнейшее влияние на динамику патологического процесса в посевах пшеницы оказывают температура и длительность влажного периода после заражения (Shipton et al., 1971).

Латентный период заболевания (от заражения до формирования первых пикнид) варьирует в зависимости от сортовых особенностей, влажности и температуры и в модельных экспериментах составлял от 15 до 37 суток (Shaw, 1990; Viljanen-Rollinson et al., 2005).

Минимальная температура, при которой происходит развитие патогена, составляет около 2,5°C (Lovell et al., 2004). При изменении

температуры от 11 до 25°C развитие заболевания усиливалось, но при росте температуры до 29°C оно резко снижалось (Shipton et al., 1971; Hess, Shaner, 1987; Wainshilbaum, Lipps, 1991; Lovell et al., 2004).

Значительный эффект оказывает также длительность периода высокой влажности (близкой к 100%) после заражения: развитие заболевания усиливалось при увеличении этого периода от 24 до 96 часов (Hess, Shaner, 1987; Chungu et al., 2001). При периоде высокой влажности менее 24 часов заболевание не проявлялось (Eyal et al., 1987).

Освещение снижает вероятность заражения пшеницы, но способствует развитию заболевания после внедрения патогена (Shaw, 1991).

Обобщая, можно отметить, что заболеванию способствует дождливая облачная погода с температурой 20-25°C (Eyal et al., 1987).

#### **Геном, популяции и изменчивость *Mycosphaerella graminicola***

Размер генома *M. graminicola* оценивают в 31-40 мпн, в зависимости от изолята гриба. Число хромосом составляет от 14 до 21, их длина варьирует от 0,3 до 6 мпн (McDonald, Martinez, 1991; Mehrabi et al., 2007). Несмотря на различия в общих размерах генома и числе хромосом, у изолятов отсутствуют отличия в росте, развитии и патогенности; это свидетельствует о том, что геном на 17-22% является избыточным (Mehrabi et al., 2007).

*M. graminicola* – гетероталличный гриб, для полового процесса необходимо взаимодействие двух изолятов с противоположными типами спаривания. Тип спаривания *M. graminicola* определяется двумя различными негомологичными аллелями (идиоморфами) в единственном локусе (Kema et al., 1996c).

Идиоморфы типа спаривания аскомицетов обозначают как *MAT1-1* и *MAT1-2* (Turgeon, Yoder, 2000). У всех исследованных к настоящему времени гетероталличных аскомицетов идиоморфа *MAT1-2* кодирует единственный ДНК-связывающий белок, содержащий мотив НМГ-бокс. Структура же *MAT1-1* зависит от систематического положения гриба (Turgeon, Yoder, 2000).

Оба локуса типа спаривания были изучены у *M. graminicola*. Локус *MAT1-2*, как и у

других аскомицетов, кодирует белок, имеющий домен НМГ-бокс. Идиоморфа *MAT1-1* кодирует единственный ДНК-связывающий белок с так называемым  $\alpha$ -бокс мотивом (Waalwijk et al., 2002).

Идиоморфы типа спаривания оказывают влияние на вирулентность изолятов *M. graminicola*, а именно изоляты с локусом *MAT1-1* имеют более высокую вирулентность, чем изоляты с локусом *MAT1-2* (Zhan et al., 2007). Причины такого различия в вирулентности не связаны со сцеплением генов и остаются пока неизвестными.

Анализ распределения идиоморф типа спаривания у изолятов гриба, собранных на четырех континентах, позволил установить, что, начиная от уровня разных пикнид на одном листе пшеницы, и заканчивая уровнем континентов, два типа спаривания гриба представлены в примерно равных количествах (Zhan et al., 2002). Это доказывает, что половое размножение гриба происходит повсеместно, везде, где этот патоген встречается, даже в тех регионах, где псевдотеции пока не обнаружены. Только ежегодно протекающий половой процесс может гомогенизировать частоты аллелей типов спаривания, которые могли бы быть смещены циклами бесполого размножения (Zhan et al., 2002).

Географически отдаленные популяции гриба имеют не только равное соотношение идиоморф типов спаривания, но и удивительно сходную генетическую структуру по другим локусам, как на уровне отдельных регионов (Boeger et al., 1993; Cordo et al., 2006), так и при сравнении популяций, собранных на разных континентах (Linde et al., 2003; Zhan et al., 2003). Эти данные указывают на существование потока генов между популяциями на глобальном уровне, включая континентальный, интенсивность которого достаточна для того, чтобы предотвратить значительную дифференциацию по частотам аллелей (Zhan et al., 2003). Наиболее очевидным механизмом, облегчающим поток генов между географически отдаленными популяциями, является перенос воздушными потоками аскоспор. Кроме того, потоку генов потенциально могут способствовать альтернативные хозяева гриба, хотя роль альтернативных хозяев в эпидемиологии *M. graminicola* остается плохо понятной и требует дальнейшего изучения. Наконец, одной из причин потока генов могут быть зараженные семена, которые транспортируются из одного региона в другой. Однако, хотя *M. graminicola* и

## MYCOSPHAERELLA GRAMINICOLA

может заражать семена (Brokenshire, 1975c), пока никто не показал, что из зараженных семян вырастают инфицированные септориозом растения (Boeger et al., 1993).

Повсеместное протекание полового процесса подтверждается также тем, что генетическая структура популяций *M. graminicola* определяется в основном половым размножением, а не естественным отбором, что было продемонстрировано в исследованиях, в которых сравнивалось влияние этих двух процессов (Chen, McDonald, 1996; McDonald et al., 1996).

Несмотря на сходную генетическую структуру при сравнении разных популяций, изоляты *M. graminicola* проявляют экстраординарно высокую внутрипопуляционную генетическую изменчивость (Linde et al., 2003; Razavi, Hughes, 2004). В некоторых случаях различались не только изоляты, выделенные из разных растений на одном поле или из разных листьев одного растения, но даже изоляты, выделенные из разных пикнид в пределах одного пораженного участка на листе пшеницы (McDonald, Martinez, 1990; Linde et al., 2003).

Генетическая изменчивость связана в основном с ядерным геномом (Schneider et al., 2001; Zhan et al., 2003). На уровне митохондриального генома, изменчивость гриба была менее выражена: среди изолятов были выявлены семь гаплотипов мтДНК, из которых два наиболее распространенных встречались примерно у 93% изолятов (Zhan et al., 2003).

Основную роль в необычно высокой генетической изменчивости *M. graminicola* играет половой процесс, бесполое размножение вносит значительно меньший вклад в генетическое разнообразие (McDonald et al., 1995). Некоторые хромосомы *M. graminicola* не имеют гомологов и при мейозе распределяются случайным образом. Поскольку они не присутствуют постоянно в геноме данного организма, эти хромосомы рассматриваются как избыточные, несущественные. В результате полового размножения у потомства наблюдается высокая степень полиморфизма числа хромосом и размера хромосом, что обеспечивает высокую пластичность патогена (Wittenberg et al., 2009). Мощным источником генетической изменчивости у гриба является также транспозирующий элемент, который активен как при половом, так и бесполом размножении (Goodwin et al., 2001).

Возможно, на микроэволюционном уровне происходит определенная специализация

изолятов *M. graminicola* по отношению к сортам и видам пшеницы, и при выровненности структуры популяций по нейтральным признакам, наблюдаются различия в вирулентности. Так, при сравнении по вирулентности популяций *M. graminicola* из Калифорнии, Орегона и Техаса, изоляты были в среднем более вирулентными для сортов, выращиваемых в той же самой географической зоне (Ahmed et al., 1995). Изоляты, выделенные из восприимчивых сортов пшеницы, имели в среднем более высокую вирулентность при сравнении с изолятами, выделенными из устойчивых сортов или сортов с промежуточной устойчивостью (Ahmed et al., 1996).

В среднем изоляты гриба с твердой пшеницы сильнее поражали сорта твердой пшеницы, чем мягкой (Van Ginkel, Scharen, 1988). При анализе митохондриальной ДНК изолятов, выделенных из сортов мягкой (*Triticum aestivum*) и твердой (*T. turgidum*) пшениц, были идентифицированы шесть гаплотипов. При минимальных различиях в полиморфизме длины рестрикционных фрагментов локусов ядерной ДНК, между двумя группами изолятов были выявлены различия в частоте гаплотипов митохондриальной ДНК. Гаплотип 4, который содержит уникальную вставку длиной примерно 3 тпн, был выявлен только у изолятов, выделенных с твердой пшеницы, и был доминирующим у изолятов данной группы (Zhan et al., 2004). Авторы предполагают, что различия в частоте гаплотипов митохондриальной ДНК является результатом действия естественного отбора.

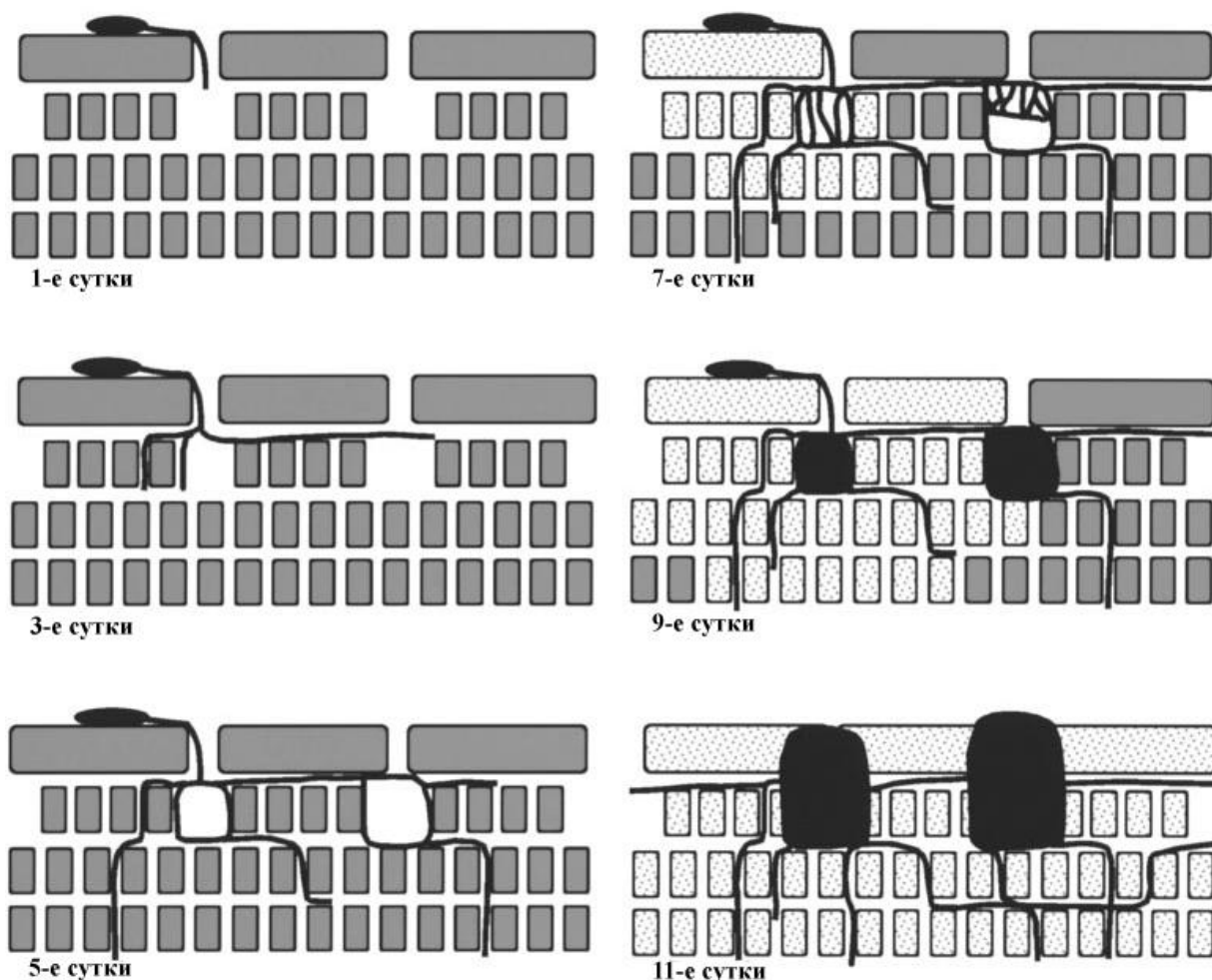
Некоторые специалисты даже предлагают различать две разновидности *M. graminicola* на основании специализации этого патогена по отношению к видам пшеницы (Kema et al., 1996b). Здесь, однако, следует отметить, что значительное число изолятов патогена являются вирулентными в одинаковой степени для широкого набора сортов разного происхождения и вида (Eyal et al., 1985; Eyal, 1999).

### Цитологические аспекты патологического процесса

Общая схема развития септориоза на листьях пшеницы показана на рис. 3.

После попадания на поверхность растения-хозяина аскоспор или пикноспор, при достаточно длительном периоде высокой влажности (Shaw, 1991), споры сначала почкуются, либо сразу прорастают ростковыми трубками и гифами мицелия, которые распространяются по

## ШАМРАЙ



**Рис. 3. Общая схема развития септориоза на листьях пшеницы.**

**1-е сут,** конидии *Mycosphaerella graminicola* прорастают, формируют ростковые трубки и проникают в подустыичную полость через устьеце. **3-е сут,** инфекционные гифы начинают колонизовать подустыичную полость и распространяются в стороны по межклетникам в окружающие ткани. **5-е сут,** межклеточный рост инфекционных гиф, как латеральный, так и в глубину окружающих тканей, приводит к колонизации прилегающих подустыичных полостей. **7-е сут,** перпендикулярное ветвление инфекционных гиф приводит к формированию подобных корзинам сплетениям инфекционных гиф по периферической части подустыичной полости. Начало появления макроскопических симптомов, изображенных на рисунке в виде точечной заливки, включающих автофлуоресценцию с последующим хлорозом и некрозом клеток хозяина. **9-е сут,** «корзины» инфекционных гиф, выстилающих подустыичные полости, начинают заполняться плотной тканью гриба, инициируя образование пикнид. Продолжают усиливаться макроскопические симптомы, такие как автофлуоресценция и хлороз клеток хозяина. **11-е сут,** полностью созревшие пикниды, окруженные наркотизированными клетками хозяина, заметны невооруженным глазом и могут выделять цирри при помещении во влажные условия. Инфекционные гифы продолжают распространяться по листовой пластинке. (Использованы данные Duncan, Howard, 2000).

поверхности листа (Cohen, Eyal, 1993; Duncan, Howard, 2000; Kema et al., 1996a;). Ряд исследователей отмечают, что гифы растут в случайном направлении (Kema et al., 1996a). В других случаях был отмечен ориентированный рост ростковых трубок, поперек длинной оси листьев пшеницы по направлению к устьицам, что вероятно свидетельствует о реакции гриба на тигмотропические сигналы (Cohen, Eyal, 1993; Duncan, Howard, 2000).

Заражение растений происходит в основном через устьица (Shipton et al., 1971; Cohen, Eyal, 1993; Kema et al., 1996a; Duncan, Howard, 2000), но наблюдается и прямое проникновение гриба в растение между клетками эпидермиса, по крайней мере, для некоторых комбинаций сортов растений и изолятов патогена (Rohel et al., 2001). Перед проникновением гриба на кончиках ростковых трубок могут формироваться

## MYCOSPHAERELLA GRAMINICOLA

структуры, напоминающие апрессории, однако происходит также прямое проникновение гиф между замыкающими клетками устьиц, без образования апрессориев (Cohen, Eyal, 1993; Kema et al., 1996a; Duncan, Howard, 2000).

Через 12-24 часа после заражения гифы гриба колонизируют подустьичную полость, затем, через двое суток, достигают клеток мезофилла (Duncan, Howard, 2000; Kema et al., 1996a). В дальнейшем гифы распространяются к прилегающим к участку заражения подустьичным полостям, колонизируя значительный участок листа после единичного события проникновения в растение (Duncan, Howard, 2000). Гифы гриба растут строго межклеточно, не формируя никаких питающих органов типа гаусторий.

Через 5-6 суток после заражения гифы гриба в подустьичных полостях формируют каркас или своего рода корзину, что означает начало формирования пикниды. Через 6 суток после заражения наблюдалась автофлуоресценция клеток хозяина в виде спорадических скоплений 10-20 клеток мезофилла и 2-3 клеток эпидермиса, прилегающих к подустьичной полости (Duncan, Howard, 2000).

До 7-8 суток после заражения видимых симптомов заболевания заметно не было (Kema et al., 1996a; Duncan, Howard, 2000). В дальнейшем на микроскопическом и макроскопическом уровнях становился заметен хлороз клеток эпидермиса. Хлоротичные клетки эпидермиса на этой стадии всегда были ассоциированы со скоплением автофлуоресцирующих клеток мезофилла (Duncan, Howard, 2000). К 9-м суткам очажки автофлуоресценции начинали сливаться и образовывать большие регионы автофлуоресцирующих клеток мезофилла и эпидермиса. К 11-м суткам эти ранее автофлуоресцирующие клетки становились некротизированными. В течение интервала от 10 до 12 дней после заражения, происходит обширная гибель клеток хозяина, которая индуцирует дальнейшую колонизацию и в конечном итоге созревание пикнид (Kema et al., 1996a; Duncan, Howard, 2000).

### **Молекулярные и биохимические аспекты патогенности гриба**

У грибов, в том числе и патогенных для растений и животных, в процессах роста и развития, а также в патогенности и вирулентности критическими являются консервативные сигнальные пути, опосредованные митоген-активируемыми протеинкиназами (mitogen-

activated protein kinase, MAP-киназа) и протеинкиназой А (называемой также цАМФ-зависимой протеинкиназой) (Xu, 2000; Li et al., 2007; Zhao et al., 2007). Важная роль этих путей в патогенности была показана и для возбудителя септориоза пшеницы.

Как было отмечено выше, *M. graminicola* является диморфным организмом и начинает рост в дрожжеподобной форме. На поверхности листьев растений в условиях ограниченного наличия питательных веществ происходит переключение от дрожжеподобного к мицелиальному росту – форме, которая является инфекционной для растений. У диморфных грибов сигнальная сеть, контролирующая это переключение, является консервативной и включает два основных пути – через G-белки, цАМФ и протеинкиназу А и через MAP-киназы (Nadal et al., 2008). Компоненты обоих путей были найдены и у *M. graminicola*.

Мутанты *M. graminicola* по гену *MgHog1* растут в виде почкующихся дрожжей, не способны переключаться к мицелиальному росту и заражать растения (Mehrabi et al., 2006a). Ген *MgHog1* кодирует MAP-киназу *MgHog1* и является ортологом гена *Hog1 Saccharomyces cerevisiae*. Таким образом, *MgHog1* является фактором патогенности, участвующем в регуляции диморфизма у *M. graminicola*.

Примечательно, что ортологи *Hog1* имеются у ряда других фитопатогенных грибов, в частности *Colletotrichum lagenarium*, *Magnaporthe grisea* и *Bipolaris oryzae*, и мутанты по гену *Hog1* данных организмов остаются полностью патогенными (Dixon et al., 1999; Kojima et al., 2004; Morigaki et al., 2006). Это позволяет предположить, что *Hog1* играет важную роль в патогенности диморфных фитопатогенных грибов, но не играет роли в патогенности у грибов, не имеющих диморфизма (Mehrabi et al., 2006a).

В регуляции диморфизма гриба участвует также сигнальный путь, связанный с цАМФ и протеинкиназой А. Первоначально этот путь был проанализирован путем нарушения генов каталитической и регуляторной субъединиц протеинкиназы А, обозначенных *MgTrk2* и *MgBcy1* соответственно (Mehrabi, Kema, 2006). В этом исследовании было установлено, что *MgTrk2* играет позитивную роль в регуляции мицелиального роста, поскольку мутанты по гену *MgTrk2* не переключались к мицелиальному росту на картофельно-декстрозном агаре. Однако они формировали мицелий на водном



агаре, в условиях, которые имитируют бедный питательными веществами субстрат на поверхности листьев. Мутанты *MgTrk2* проникали в растения и колонизовали мезофилл, но не были способными формировать пикниды и имели пониженную вирулентность.

В дальнейшем была показана важная роль в диморфизме и патогенности *M. graminicola* других компонентов этого сигнального пути – гетеротримерных G-белков и цАМФ (Mehrabi et al., 2009). У гриба были идентифицированы три гена, кодирующих три субъединицы G $\alpha$  (*MgGpa1*, *MgGpa2*, *MgGpa3*), и один ген, кодирующий субъединицу G $\beta$  (*MgGpb1*). Ген *MgGpa1* негативно регулирует образование нитей мицелия, поскольку мутант *MgGpa1* продуцировал значительно более длинные споры по сравнению с изолятом дикого типа на картофельно-декстрозном агаре и глюкозно-дрожжевом отваре. Мутанты *MgGpa3* проявляли выраженный дрожжеподобный рост. Внутриклеточные уровни цАМФ у мутантов *MgGpb1* и *MgGpa3* были снижены; это указывает на то, что оба гена позитивно регулируют путь цАМФ. Это подтверждается восстановлением фенотипа дикого типа у этих мутантов при добавлении экзогенного цАМФ. Уровни цАМФ у мутантов *MgGpa1* и изолятов дикого типа различались незначительно; вероятно данный ген не задействован в регуляции уровней цАМФ. Патогенность мутантов *MgGpa1*, *MgGpa3* и *MgGpb1* была значительно понижена (Mehrabi et al., 2009).

Еще одним важным фактором патогенности является ген МАР-киназы *MgFus3*, ортолог гена *Fus3 S. cerevisiae* (Cousin et al., 2006). Мутанты по данному гену при росте *in vitro* на ранних этапах развития колонии не отличались от штаммов дикого типа, однако на более поздних стадиях их рост был нарушен, они не становились меланизированными, выявляли нарушение ориентации роста и неспособность формировать воздушный мицелий. Эти мутанты были непатогенными для растений благодаря неспособности проникать через устьица. Кроме этого, мутанты по *MgFus3* не формировали пикнид. *MgFus3* может представлять собой мультифункциональный фактор патогенности *M. graminicola* (Cousin et al., 2006).

Наконец, был обнаружен также ген МАР-киназы *MgSl2*, ортолог гена *Sl2 S. cerevisiae* (Mehrabi et al., 2006b). Мутанты по гену *MgSl2* не образуют воздушного мицелия и не становятся меланизированными при росте на карто-

фельно-декстрозном агаре. Образование ростковых трубок и проникновение в растение этих мутантов происходит так же, как и у изолятов дикого типа, однако после попадания в подустыичную полость гифы гриба были неспособны ветвиться и колонизировать мезофилл. Таким образом, *MgSl2* является еще одним новым фактором патогенности *M. graminicola* (Mehrabi et al., 2006b).

Одной из важных предпосылок патогенности *M. graminicola* является наличие основного класса транспортных белков – АВС-транспортёров (АТР-binding cassette (ABC) transporters). Данные белки играют ключевую роль в обеспечении устойчивости фитопатогенных грибов к различным токсичным веществам, осуществляя их удаление из клеток (Dickinson, 2003). У *M. graminicola* была изучена роль пяти генов АВС-транспортёров (*MgAtr1...MgAtr5*). Исследования показали, что эти белки важны для защиты от токсичных для гриба соединений естественного и искусственного происхождения, включая предполагаемое защитное вещество пшеницы резорцин, а также другие метаболиты растений, фунгициды, антибиотики, микотоксины (Zwiers, De Waard, 2000; Stergiopoulos et al., 2003; Zwiers et al., 2003).

В патогенности *M. graminicola*, по всей видимости, важную роль играют выделяемые грибом гидролитические ферменты. Гриб продуцирует широкий спектр ферментов, деградирующих клеточные стенки растений – ксиланазы,  $\beta$ -1,3-глюканызы, полигалактуроназы, целлюлазы,  $\beta$ -ксилозидазы и  $\beta$ -галактозидазы, а также  $\alpha$ -арабинозидазы (Douaiher et al., 2007a). Была выявлена высокая корреляция в активности ферментов ксиланазного и полигалактуроназного комплексов *in vitro* при росте гриба на жидкой питательной среде с такими компонентами вирулентности, как частота образования и размер некротов и время формирования пикнид гриба на зараженных листьях (Douaiher et al., 2007b). В недавней работе была показана высокая корреляция активности эндо- $\beta$ -1,4-ксиланазы, которую изоляты *M. graminicola* выделяли *in planta* через 16-22 суток после заражения, с величиной развития болезни (Siah et al., 2010).

#### **Молекулярные и биохимические аспекты устойчивости растений**

Устойчивость растений к *Mycosphaerella graminicola* проявляется в ограничении или задержке распространения патогена в тканях хозяина и формирования пикнид (Palmer, Skinner,

## MYCOSPHAERELLA GRAMINICOLA

2002). Относительно механизмов, ответственных за ингибирование роста *M. graminicola* у устойчивых сортов пшеницы, известно очень мало.

Устойчивость пшеницы к грибу является комплексной, некоторые сорта имеют отдельные доминантные гены устойчивости, тогда как устойчивость других обусловлена несколькими генами, имеющими аддитивный эффект (Palmer, Skinner, 2002). К сожалению, во многих публикациях, в которых анализируются реакции устойчивости пшеницы к возбудителю септориоза, отсутствует генетический анализ устойчивости растений. Из-за этого полученные результаты не всегда легко интерпретировать и обобщать. Тем не менее, к настоящему времени накоплены важные данные, которые вносят определенную ясность в эту проблему.

Проращение пикноспор и проникновение патогена в подустьичную полость растения происходили одинаково на восприимчивых и устойчивых сортах пшеницы (Cohen, Eyal, 1993; Kema et al., 1996a; Shetty et al., 2003).

Гистохимическими исследованиями было показано, что устойчивость пшеницы к септориозу связана с укреплением клеточных стенок растений, а именно с отложением каллозы (Cohen, Eyal, 1993; Kema et al., 1996a; Shetty et al., 2009). Лигнификации клеточных стенок в случае взаимодействия устойчивого сорта пшеницы с *M. graminicola* не наблюдается (Shetty et al., 2009).

Количественное определение мицелия патогена в листьях устойчивых и восприимчивых сортов пшеницы показало, что на начальных этапах заражения оно было примерно одинаковым, однако в дальнейшем, к моменту созревания пикнид, масса мицелия у восприимчивых сортов начала экспоненциально увеличиваться; это увеличение сопровождалось массовым коллапсом клеток хозяина. У устойчивых же сортов рост гриба останавливался, масса мицелия практически не увеличивалась и пикниды не формировались или формировались в незначительном количестве (Kema et al., 1996a; Pnini-Cohen et al., 2000; Shetty et al., 2003; Keon et al., 2007).

Устойчивость растений не связана с реакцией сверхчувствительности (Kema et al., 1996a; Hammond-Kosack, Rudd, 2008). Более того, как будет показано ниже, сверхчувствитель-

ный отклик пшеницы в данном случае ассоциирован не с устойчивостью, а с восприимчивостью растений.

Одной из наиболее ранних реакций, связанных с устойчивостью растений к фитопатогенным организмам, является образование активных форм кислорода (АФК), наиболее важными из которых являются супероксидный анион-радикал, гидроксильный и гидроксипероксидный радикалы, а также наиболее долгоживущая и легко обнаруживаемая перекись водорода ( $H_2O_2$ ) (Hammond-Kosack, Jones, 1996). АФК могут оказывать непосредственное антимикробное действие, а также играют ключевую роль как сигнальные молекулы в координации других реакций устойчивости, включая реакцию сверхчувствительности. При этом, по имеющимся в настоящее время данным, перекись водорода непосредственно или опосредованно ингибирует рост биотрофных патогенов, но благоприятствует патологическому процессу, вызываемому некротрофами (Van Kan, 2006; Shetty et al., 2008).

Детальный анализ образования  $H_2O_2$  при заражении восприимчивого сорта Sevin и устойчивых сортов Stakado и Flame показал, что до 11-и суток после заражения значительно больше перекиси водорода накапливали устойчивые сорта по сравнению с восприимчивыми. Распределение по времени и локализация  $H_2O_2$  у Stakado коррелировали с остановкой роста патогена, указывая на роль этой молекулы в устойчивости. Однако на 13-15 сутки после инокуляции содержание  $H_2O_2$  значительно возросло уже у восприимчивого сорта и превосходило ее содержание у устойчивых сортов, и это совпадало с образованием пикнид и коллапсом клеток хозяина (Shetty et al., 2003; Keon et al., 2005; 2007).

Таким образом, перекись водорода у устойчивых сортов пшеницы накапливается на ранней бессимптомной стадии патологического процесса и тем или иным способом ингибирует рост и развитие *M. graminicola*, но при формировании пикнид и гибели клеток уже восприимчивые растения накапливают ее в значительных количествах. Происхождение АФК остается невыясненным, но вероятно у устойчивых сортов на ранней стадии патогенеза их продуцирует растение-хозяин; накопление же АФК на поздней стадии, после гибели клеток пшеницы, вероятно обусловлено деятельностью гриба (Keon et al., 2005, 2007).

Роль  $H_2O_2$  в устойчивости пшеницы к *M. graminicola* была подтверждена в экспериментах, в которых в растения устойчивого и восприимчивого сорта после заражения инфильтрировали перекись водорода либо каталазу, разрушающую  $H_2O_2$  (Shetty et al., 2007). Инфильтрация перекиси водорода делала растения более устойчивыми, тогда как инфильтрация каталазы и посредством этого удаление  $H_2O_2$  в значительной степени снижала резистентность устойчивого сорта.

У устойчивых сортов пшеницы также показано ранее значительное увеличение активности пероксидазы (Shetty et al., 2003). Возможно, этот фермент задействован в защитных реакциях, связанных с укреплением клеточных стенок. Однако не исключено также, что пероксидаза является одним из источников перекиси водорода, поскольку формы фермента клеточной стенки растений являются важными продуцентами  $H_2O_2$  (Hammond-Kosack, Jones, 1996).

При заражении *M. graminicola* устойчивой линии пшеницы с геном устойчивости *Stb4* и восприимчивой линии, у устойчивой линии была выявлена экспрессия связанных с патогенезом (Pathogenesis-Related, PR) белков, а именно PR-1, PR-2 и PR-5 (Ray et al., 2003). Как известно, PR-белки экспрессируются у устойчивых растений после заражения патогенами и предположительно играют роль в защитных реакциях, хотя функции целого ряда подобных белков неясны. В настоящее время признается существование 17 классов PR-белков растений, белок PR-1 предположительно обладает антигрибным эффектом и имеет неизвестные свойства, белок PR-2 является  $\beta$ -1,3-глюканазой, а PR-5 относится к томатин-подобным белкам (Van Loon, Van Strien, 1999; Van Loon et al., 2006).

У устойчивой линии пшеницы среди экспрессирующихся генов также был выявлен ген дисульфидизомеразы – белка, который является хорошо известным молекулярным шапероном и компонентом путей передачи сигналов у животных, но ранее не был упомянут как участник реакций устойчивости у растений (Ray et al., 2003).

Заслуживает особого упоминания, что экспрессия этих белков происходила спустя всего три часа после заражения. Таким образом, защитный отклик пшеницы на заражение *M. graminicola* начинает разворачиваться очень

быстро, задолго до проникновения гриба в растения.

Участие PR-2 ( $\beta$ -1,3-глюканазы) в устойчивости растений к септориозной пятнистости было подтверждено в недавней работе (Shetty et al., 2009). Накопление транскриптов соответствующего гена у устойчивого сорта пшеницы Stakado наблюдалось быстро, уже через 24 ч после заражения. Особенно высокая активность  $\beta$ -1,3-глюканазы наблюдалась в апопластной жидкости растений пшеницы, что свидетельствует о локализованном накоплении защитного белка в непосредственной близости от патогена, который также находится в апопласте. В противоположность этому, увеличение активности данного белка у восприимчивого сорта Sevin наблюдалось поздно, только через 9 сут после заражения, перед некротизацией тканей листьев.

Высвобождаемые  $\beta$ -1,3-глюканазой фрагменты  $\beta$ -глюканов фитопатогенных грибов являются одними из хорошо известных элиситоров защитных реакций растений (см. например: He et al., 2007). Обработка восприимчивых растений пшеницы фрагментами  $\beta$ -1,3-глюканов из клеточных стенок *M. graminicola* приводила к полной устойчивости к заболеванию при последующем заражении (Shetty et al., 2009).

Помимо глюканазы, в апопластной жидкости устойчивого сорта пшеницы накапливались также целый ряд гликопротеинов (типа экстенсина) и арабиногалактановых белков (Shetty et al., 2009). Возможно, эти белки наряду с каллозой принимают участие в укреплении клеточных стенок растений и/или в своего рода блокировании гиф мицелия фитопатогенного гриба, ограничивая доступность питательных веществ и распространение патогена в тканях растения.

Вклад в устойчивость пшеницы возможно вносят внеклеточные сериновые протеазы, поскольку у восприимчивого сорта заражение приводило к снижению протеазной активности, тогда как у устойчивого сорта происходило ее значительное увеличение (Seggarra et al., 2002).

Как отмечено выше, защитный отклик пшеницы на заражение *M. graminicola* начинает разворачиваться быстро, в течение считанных часов после заражения (Ray et al., 2003). Однако полное развитие реакций устойчивости требует значительно более длительного периода. Детальный анализ экспрессии генов у устойчивых сортов пшеницы Tadinia (содержит ген

## MYCOSPHAERELLA GRAMINICOLA

устойчивости *Stb4*) и W7984 (содержит ген устойчивости *Stb8*) и не имеющих известных генов устойчивости к септориозу восприимчивых сортов Yesora Rojo и Opata 85 выявил, что протекание реакций устойчивости растения охватывает период до 18-24 сут после заражения (Adhikaria et al., 2007). У этих сортов пшеницы были выявлены ранний и поздний пики экспрессии генов в устойчивых комбинациях. Четыре гена (хитиназы, фенилаланинаммонийлиазы, белка PR-1 и пероксидазы) начинали экспрессироваться с высокой интенсивностью на ранней фазе патологического процесса, через 3-24 ч после заражения, но их экспрессия не обнаруживалась на более поздних этапах. В то же время девять других генов (АТФазы, 6-оксидазы brassinостероидов, пептидилпролилизомеразы, пероксидазы 2, 40S белка рибосом, АДФ-глюкозопирофосфорилазы, предполагаемого ингибитора протеазы, метионинсульфоксидредуктазы и белка, подобного предшественнику РНКазы S) имели бимодальный характер экспрессии с ранним (в пределах 1-3 сут после заражения) и поздним (12-24 сут после заражения) пиками как минимум у одного из двух устойчивых сортов. Экспрессия этих генов у восприимчивых сортов происходила на низком уровне или отсутствовала вообще. Белковые продукты данных генов, как предполагается, задействованы в реакциях устойчивости в качестве антимикробных агентов, передатчиков сигналов или регуляторных элементов (Adhikaria et al., 2007).

Таким образом, несмотря на то, что реакции устойчивости пшеницы к патогену инициируются очень быстро, их полное протекание требует 18-24 сут; к этому времени у восприимчивых сортов происходит значительное увеличение роста гриба.

### *M. graminicola* «нетипичный» некротроф?

По стратегии паразитизма *M. graminicola* обычно относят к гембиотрофным патогенам (Parbery, 1996; Rohel et al., 2001). Это априорно означает, что на начальной бессимптомной фазе патологического процесса гриб растет биотрофно и успешно получает доступ к питательным веществам живых тканей. Далее патоген вызывает коллапс и обильную некротизацию тканей хозяина по типу некротрофов. Пока еще мало что известно относительно активности гриба в эти две фазы роста и развития, а также относительно причин, которые вызывают переключение от биотрофного к некротрофному стилю паразитирования.

Детальный анализ экспрессирующихся генов гриба и растения, а также содержания питательных веществ в апопласте пшеницы на разных этапах патологического процесса поставил под вопрос существование биотрофной фазы патогенеза (Keon et al., 2007). В течение бессимптомной фазы увеличения количества гриба в тканях практически не происходит; в апопласте пшеницы отсутствуют метаболиты, которые патоген мог бы использовать для питания. Возможно, в этот период гриб использует собственные запасные вещества, в частности липиды. Только с началом некротизации клеток растений начинается активный рост *M. graminicola*, сопровождаемый потерей целостности мембран хозяина и появлением в апопласте большого количества различных метаболитов, которые гриб может использовать для своих нужд (Keon et al., 2007). В это же время патоген начинает выделять гидролитические ферменты, за счет действия которых он дополнительно обеспечивается питательными веществами (Siah et al., 2010).

Ключевым вопросом, связанным с механизмами патогенеза *M. graminicola* на пшенице, является понимание причин, которые приводят к некротизации клеток листьев пшеницы при переходе гриба от бессимптомного к некротрофному способу паразитирования. Биотрофные патогены формируют тонко отрегулированные взаимодействия с растениями, добываясь получения питательных веществ из живых клеток хозяина. Устойчивость растений к биотрофам обычно связана с реакцией сверхчувствительности, которая является формой запрограммированной клеточной гибели – апоптоза (Greenberg, Yao, 2004).

Некротрофы же, как полагали, используют «грубую силу», убивая растительные клетки за счет выделения токсинов и/или гидролитических ферментов, которые просто дезорганизуют метаболизм хозяина, а затем разлагают мертвые ткани гидролитическими ферментами и таким образом получают питательные вещества для собственного роста и развития. Однако такая точка зрения на некротрофию оказалась чрезмерно упрощенной. Накапливающиеся данные свидетельствуют, что некротрофы действуют весьма тонко, вмешиваясь во внутриклеточные сигнальные пути хозяина и индуцируя сверхчувствительный отклик. Говоря другими словами, некротрофы индуцируют реакцию устойчивости у растения и используют ее для своей «выгоды» (Glazebrook, 2005; Van Kan, 2006); при этом выделяемые многими

некротрофами специфические и неспецифические фитотоксины являются не просто метаболическими ядами, а своего рода детерминантами несовместимости, индуцирующими реакцию сверхчувствительности у хозяев (Wolpert et al., 2002).

Реакция сверхчувствительности является результатом активации определенных сигнальных путей в клетке растения, в частности у растений активируются гомологи MAP-киназ AtMPK6 и AtMPK3 арабидопсиса (Rudd et al., 2008). Поразительно, но недавно было обнаружено, что в случае восприимчивости пшеницы к *M. graminicola*, при переключении гриба от биотрофной к некротрофной стратегии паразитизма, у растений активируется протеинкиназа ТаМРК3, гомолог AtMPK3 (Rudd et al., 2008). У устойчивой пшеницы данная киназа не активируется. Помимо этого, некротизация клеток пшеницы на поздних этапах патогенеза сопровождается накоплением АФК и по многим другим особенностям напоминает реакцию сверхчувствительности (Keon et al., 2007). Эти факты привели к предположению, что *M. graminicola* ведет себя как некротроф, индуцирующий у пшеницы сверхчувствительный отклик, который в данном случае не защищает растение, а, наоборот, делает его восприимчивым к патогену. Английские авторы (Hammond-Kosack, Rudd, 2008; Deller et al., 2010) разработали модель взаимодействий пшеница–*M. graminicola*, представленную на рис. 4.

В соответствии с этой моделью *M. graminicola* является в конечном итоге некротрофным патогеном, который, в отличие от остальных некротрофов, имеет длительный бессимптомный период, более 9 сут. В этот период накапливается очень незначительная биомасса гриба, как в случае совместимости (восприимчивость), так и в случае несовместимой реакции (устойчивость). Значительное усиление роста гриба происходит одновременно с реакцией сверхчувствительности и активацией ТаМРК3 в случае восприимчивых растений. Ни первое, ни второе событие не происходят у устойчивых растений, и в этом случае заметного увеличения массы патогена не наблюдается. Восприимчивость пшеницы является результатом «перехвата» грибом сигнальных путей растения, связанных с устойчивостью (включая окислительную вспышку), которые в норме эффективны по отношению к биотрофам. Ключевым итогом таких событий является потеря целостности мембран хозяина, что приводит к выходу в апопласт питательных веществ, кото-

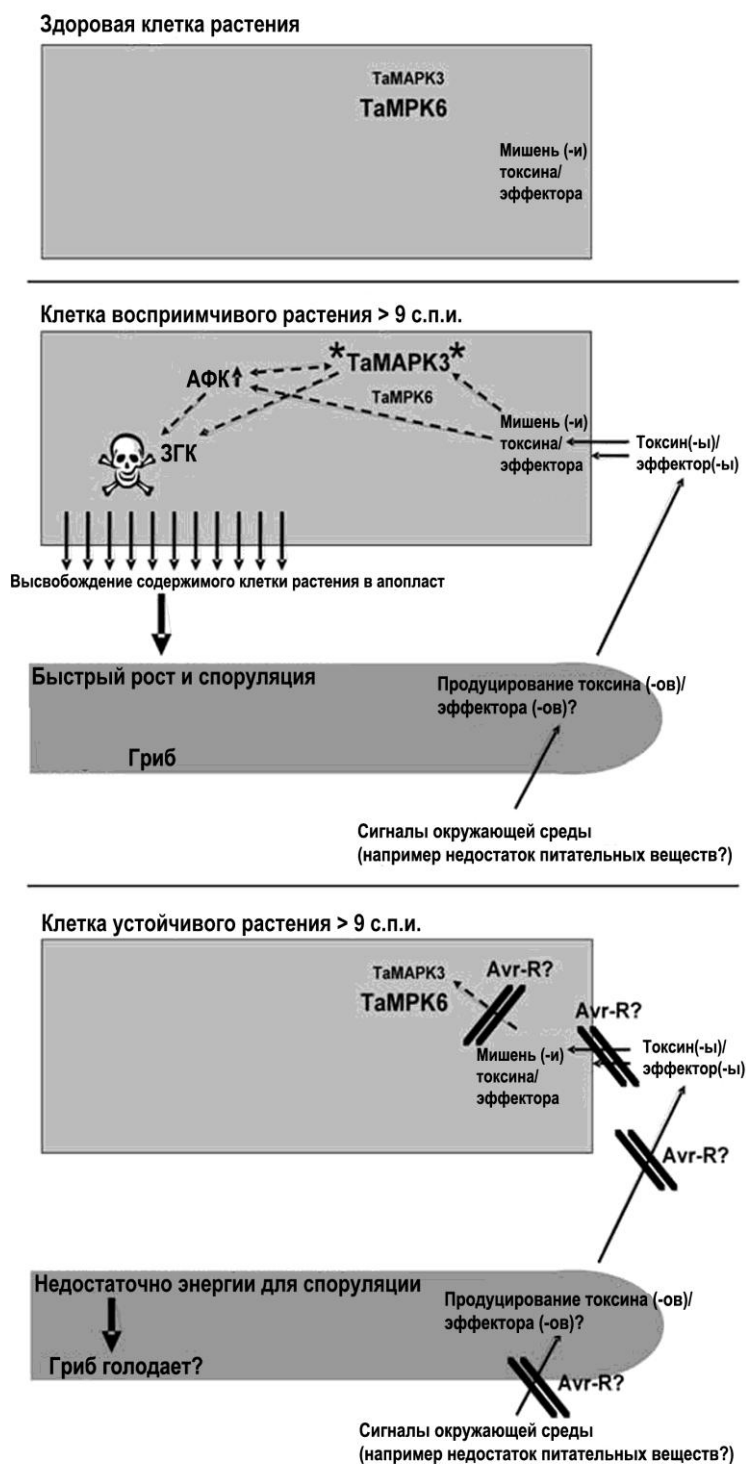
рые ранее были недостижимы для гриба. В случае устойчивости пшеницы происходит взаимодействие пока еще не идентифицированных белков устойчивости (R) и авирулентности (Avr), которое прямо или косвенно предотвращают все эти события.

Эта модель предполагает, что *M. graminicola* продуцирует токсины и/или эффекторы, которые индуцируют реакцию сверхчувствительности и активируют ТаМРК3 пшеницы, а также то, что клетки листьев пшеницы имеют молекулярную мишень или мишени для этих эффекторов.

Пока, однако, отсутствуют доказательства выделения фитотоксинов данным патогеном. Также пока не выявлены другие кандидаты на индукцию некрозов у пшеницы. При анализе полной последовательности генома гриба был выявлен ген *MgNLP*, кодирующий белок семейства NLP (necrosis and ethylene-inducing peptide 1 (Nep1)-like protein family (NLP)) (Motteram et al., 2009). Белки NLP продуцируются бактериями, оомицетами и грибами и вызывают некрозы у двудольных растений, запуская реакцию сверхчувствительности и ряд сигнальных путей, связанных с реакциями устойчивости (Pemberton, Salmond, 2004). Однако эти белки неактивны у однодольных растений, и, хотя ген *MgNLP* начинает экспрессироваться в конце бессимптомной фазы патогенеза, а белок *MgNLP* вызывает некрозы у *Arabidopsis*, он не проявляет никакой активности в отношении пшеницы, и мутанты *M. graminicola* с удаленным геном *MgNLP* не выявляли снижения вирулентности (Motteram et al., 2009).

В последнее время внимание исследователей привлекла группа «внешних» белков, которые выделяются патогенными грибами и закорены в клеточной мембране или интегрированы в клеточные стенки. Повышенное внимание вызывает отдельный класс этих белков, гены которых кодируют внутригенные повторы аминокислотных последовательностей, берущие происхождение от длинных tandemных повторов последовательностей нуклеотидов (Verstrepen et al., 2005; Leviansky et al., 2007). У грибов, патогенных для животных, эти белки модулируют иммунный отклик, способствуя заражению и колонизации хозяина (Nather, Munro, 2008). В геноме *M. graminicola* был выявлен ряд подобных генов, обозначенных *MgTRPs* (*M. graminicola Tandem Repeat Proteins*) (Rudd et al., 2010), 23 гена были проанализированы более детально. Почти все они экспрессируются *in planta*, и, что примечатель-

## MYCOSPHAERELLA GRAMINICOLA



**Рис. 4. Модель, иллюстрирующая события, которые происходят в листе пшеницы при восприимчивости и устойчивости к *Mycosphaerella graminicola*.**

В модели предполагается, что мишени для специфического токсина (-ов)/эффектора (-ов) гриба присутствуют в здоровой клетке растения, вместе с относительно большим количеством белка TaMPK6 по сравнению с уровнем белка TaMAPK3 (что показано различным размером букв). При восприимчивости к болезни, примерно через 9 суток после инокуляции (с.п.и.), наблюдаются обратные изменения в уровнях MAP-киназных белков. На этой стадии у гриба стимулируется продуцирование к настоящему времени неидентифицированного токсина (-ов) и/или эффектора (-ов), которые индуцируют посттрансляционную активацию TaMAPK3. Эти события проходят одновременно с активацией запрограммированной гибели клетки (ЗГК), которая также может индуцироваться генерацией активных форм кислорода (АФК). Результатом всего этого является потеря целостности мембран хозяина и высвобождение питательных веществ из погибающих клеток растения, что способствует росту и бесполому размножению гриба. Подобные отклики не происходят при устойчивости растений. Возможные сайты защитного действия соответствующих комбинаций белков Avr-R показаны в виде параллельных перекрестных линий. Результатом является отсутствие реакции клетки растения при устойчивости и ограничение количества питательных веществ, доступных грибу, что предотвращает его дальнейшую пролиферацию. (Использованы данные Hammond-Kosack, Rudd, 2008).

но, пик экспрессии приходится на конец бессимптомного этапа патогенеза и начало обширной некротизации тканей листьев пшеницы у восприимчивого сорта пшеницы. У устойчивого сорта экспрессия данных генов не наблюдается, за единственным исключением (Rudd et al., 2010). Хотя роль в патогенезе пока не установлена ни у одного из этих белков, представляется вполне возможным, что индукция некрозов растений связана с белками, кодируемыми генами *MgTRPs*.

### Заключение

Изучение патогенеза *M. graminicola* привело к значительному прогрессу в понимании взаимодействия патогена с пшеницей, однако информация о молекулярных и биохимических аспектах патологического процесса и механизмах устойчивости хозяина остается фрагментарной.

Предложенная английскими специалистами модель (рис. 4) правдоподобно объясняет причины некротизации клеток пшеницы, однако она требует дальнейших проверок и развития. В частности, в ней не объясняется тот факт, что различия между устойчивыми и восприимчивыми сортами пшеницы наблюдаются спустя считанные часы после заражения (Ray et al., 2003). Какие молекулы патогена воспринимают в это время белки устойчивости пшеницы? Что представляют собой эти белки? Учитывая особенности патологического процесса, можно предположить, что гены устойчивости пшеницы к *M. graminicola* кодируют белки с внуклеточными доменами, вероятно, регионом обогащенных лейцином повторов (о структуре белков устойчивости растений см. например Шамрай, 2003). Однако так это или нет, покажет только секвенирование соответствующих генов.

Особый интерес вызывает бессимптомный этап патогенеза. В этот период, несмотря на отсутствие значительного увеличения массы гриба, происходят важные события, в частности колонизируются подустьичные полости пшеницы, в которых начинают формироваться пикниды (рис. 3; Dupcan, Howard, 2000). По всей видимости, эта начальная колонизация подустьичных полостей происходит с использованием некоторого количества питательных веществ растения-хозяина, поскольку сомнительной представляется возможность роста гриба исключительно за счет питательных веществ спор. Несмотря на то, что *M. graminicola* легко образует пикниды при росте в чистых культурах, не показано, что она способна их формировать на уже отмерших листьях растений. Иначе говоря, в естественных условиях пикниды могут начинать формироваться только в живых тканях листьев. Таким образом, независимо от того, называть бессимптомный этап патогенеза *M. graminicola* биотрофным или нет, представляется вероятным, что он является важным подготовительным этапом для дальнейшей колонизации растения и формирования пикнид, а не просто некоторым периодом, в течение которого гриб не проявляет активности.

Продолжающиеся исследования различных аспектов роста, развития и патогенности *M. graminicola* в будущем должны привести к более глубокому пониманию особенностей патогена и патогенеза, которое необходимо как для развития фундаментальных представлений о взаимодействии фитопатогенных организмов с растениями, так и для практической разработ-

ки эффективных способов контроля возбудителя экономически важного заболевания – септориозной пятнистости листьев пшеницы (Palmer, Skinner, 2002).

## ЛИТЕРАТУРА

- Бушулян М.А. Вихідний матеріал для селекції озимої пшениці щодо стійкості до збудника септоріозу (*Septoria tritici* Rob. ex Desm.) в умовах півдня України: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. – Одеса, 2003. – 16 с.
- Коваленко С.М. Культуральні та морфологічні особливості *Septoria tritici* Desm. // Укр. бот. журн. – 1977. – Т. 34, № 1. – С. 51-54.
- Манько О.П., Глуценко В.И. Влияние условий культивирования на развитие септориоза пшеницы *Septoria tritici* Rob. et Desm. // Биологический вестник. – 1997. – Т. 1, № 2. – С. 100-105.
- Марютін Ф.М., Раваидех Зіад Баракат. Септоріоз на плямистість листя // Захист рослин. – 2002. – № 8. – С. 4-5.
- Санина А.А., Анциферова Л.В., Сунрун Л.М. *Septoria tritici* Rob. et Desm. — возбудитель пятнистости листьев пшеницы // Микология и фитопатология. – 1980. – Т. 20, № 4. – С. 300-306.
- Тетеревникова-Бабаян Д.Н. Грибы рода Септория в СССР. – Ереван, Изд-во АН АрмССР. – 1987. – 479 с.
- Шамрай С.Н. Гены устойчивости растений: молекулярная и генетическая организация, функция и эволюция // Журн. общей биологии. – 2003. – Т. 64, № 3. – С. 195-214.
- Adhikaria T.B., Balajib B., Breedena J. et al. Resistance of wheat to *Mycosphaerella graminicola* involves early and late peaks of gene expression // Physiol. Mol. Plant Pathol. – 2007. – V. 71, № 1-3. – P. 55-68.
- Ahmed H.U., Mundt C.C., Coakley S.M. Host-pathogen relationship of geographically diverse isolates of *Septoria tritici* and wheat cultivars // Plant Pathol. – 1995. – V. 44, № 5. – P. 838-847.
- Ahmed H.U., Mundt C.C., Hoffer M.E. et al. Selective influence of wheat cultivars on pathogenicity of *Mycosphaerella graminicola* (anamorph *Septoria tritici*) // Phytopathology. – 1996. – V. 86, № 5. – P. 454-458.
- Bathgate J. A., Loughman R. Ascospores are a source of inoculum of *Phaeosphaeria nodorum*, *P. avenaria* f. sp. *avenaria* and *Mycosphaerella graminicola* in Western Australia // Aust. Plant Pathol. – 2001. – V. 30, № 4. – P. 317-322.
- Boeger J.M., Chen R.S., McDonald B.A. Gene flow between geographic populations of *Mycosphaerella*

## MYCOSPHAERELLA GRAMINICOLA

- graminicola* (anamorph *Septoria tritici*) detected with restriction fragment length polymorphism markers // *Phytopathology*. – 1993. – V. 83, № 11. – P. 1148-1154.
- Brokenshire T. The role of graminaceous species in the epidemiology of *Septoria tritici* on wheat // *Plant Pathol.* – 1975a. – V. 24, № 1. – P. 33-38.
- Brokenshire T. Wheat debris as an inoculum source for seedling infection by *Septoria tritici* // *Plant Pathol.* – 1975b. – V. 24, № 4. – P. 202-207.
- Brokenshire T. Wheat seed infection by *Septoria tritici* // *Trans. Br. Mycol. Soc.* – 1975c. – V. 64. – P. 331-334.
- Brown J.S., Kellock A.W., Paddick R.G. Distribution and dissemination of *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) Schroeter in relation to the epidemiology of speckled leaf blotch of wheat // *Aust. J. Agric. Res.* – 1978. – V. 29, № 6. – P. 1139-1145.
- Chen R.S., McDonald B.A. Sexual reproduction plays a major role in the genetic structure of populations of the fungus *Mycosphaerella graminicola* // *Genetics*. – 1996. – V. 142, № 4. – P. 1119-1127.
- Chungu C., Gilbert J., Townley-Smith F. *Septoria tritici* blotch development as affected by temperature, duration of leaf wetness, inoculum concentration, and host // *Plant Dis.* – 2001. – V. 85, № 4. – P. 430-435.
- Cohen L., Eyal Z. The histology of processes associated with the infection of resistant and susceptible wheat cultivars with *Septoria tritici* // *Plant Pathol.* – 1993. – V. 42, № 5. – P. 737-743.
- Cordo C.A., Linde C.C., Zhan J. et al. Genotypic diversity of the wheat leaf blotch pathogen (*Septoria tritici*) in Buenos Aires province // *Bol. Soc. Argent. Bot.* – 2006. – V. 41, №3-4. – P. 293-305.
- Cousin A., Mehrabi R., Guilleroux M. et al. The MAP kinase-encoding gene *MgFus3* of the non-appressorium phytopathogen *Mycosphaerella graminicola* is required for penetration and *in vitro* pycnidia formation // *Mol. Plant Pathol.* – 2006. – V. 7, № 4. – P. 269-278.
- Cunfer B.M. *Stagonospora* and *Septoria* pathogens of cereals: the infection process // *Proceedings of the International Septoria Workshop, Mexico, DF (Mexico), 20-24 Sep 1999.* – CIMMYT, 1999. – P. 41-45.
- Cunfer B.M., Ueng P.P. Taxonomy and identification of *Septoria* and *Stagonospora* species on small grain cereals // *Ann. Rev. Phytopathol.* – 1999. – V. 37. – P. 267-284.
- Deller S., Hammond-Kosack K., Rudd J.J. The complex interactions between host immunity and non-biotrophic fungal pathogens of wheat leaves // *J. Plant Physiol.* – 2010. – V. 168, № 1. – P. 63-71.
- Dickinson M. *Molecular plant pathology.* – London, New York: BIOS Scientific Publishers, 2003. – 273 p.
- Dixon K.P., Xu J.R., Smirnov N. et al. Independent signaling pathways regulate cellular turgor during hyperosmotic stress and appressorium-mediated plant infection by *Magnaporthe grisea* // *Plant Cell.* – 1999. – V. 11, № 10. – P. 2045-2058.
- Douaiher M.-N., Nowak E., Dumortier V. et al. *Mycosphaerella graminicola* produces a range of cell wall-degrading enzyme activities *in vitro* that vary with the carbon source // *Plant Pathol.* – 2007a. – V. 56, № 1. – P. 71-79.
- Douaiher M.-N., Nowak E., Durand R. et al. Correlative analysis of *Mycosphaerella graminicola* pathogenicity and cell wall-degrading enzymes produced *in vitro*: the importance of xylanase and polygalacturonase // *Plant Pathol.* – 2007b. – V. 56, № 1. – P. 79-86.
- Duncan K.E., Howard R.J. Cytological analysis of wheat infection by the leaf blotch pathogen *Mycosphaerella graminicola* // *Mycol. Res.* – 2000. – V. 104, № 9. – P. 1074-1082.
- Eriksen L., Munk L. The occurrence of *Mycosphaerella graminicola* and its anamorph *Septoria tritici* in winter wheat during the growing season // *Eur. J. Plant Pathol.* – 2003. – V. 109, № 3. – P. 253-259.
- Eyal Z. The *Septoria tritici* and *Stagonospora nodorum* blotch diseases of wheat // *Eur. J. Plant Pathol.* – 1999. – V. 105, № 7. – P. 629-641.
- Eyal Z., Scharen A.L., Huffman M.D. et al. Global insights into virulence frequencies of *Mycosphaerella graminicola* // *Phytopathology*. – 1985. – V. 75, № 12. – P. 1456-1462.
- Eyal Z., Scharen A.L., Prescott J.M. et al. The *Septoria* diseases of wheat: Concepts and methods of disease management. – Mexico, D.F.: CIMMYT. – 1987. – 52 p.
- Glazebrook J. Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens // *Annu. Rev. Phytopathol.* – 2005. – V. 43. – P. 205-227.
- Goodwin S.B., Cavaletto J.R., Waalwijk C. et al. DNA fingerprint probe from *Mycosphaerella graminicola* identifies an active transposable element // *Phytopathology*. – 2001. – V. 91, № 12. – P. 1181-1188.
- Greenberg J.T., Yao N. The role and regulation of programmed cell death in plant-pathogen interactions // *Cell Microbiol.* – 2004. – V. 6, № 3. – P. 201-211.
- Halama P. The occurrence of *Mycosphaerella graminicola*, teleomorph of *Septoria tritici* in France // *Plant Pathol.* – 1996. – V. 45, № 1. – P. 135-138.



- Hammond-Kosack K.E., Jones J.D.G. Resistance gene-dependent plant defense responses // *Plant Cell*. – 1996. – V. 8, № 10. – P. 1773-1791.
- Hammond-Kosack K.E., Rudd J.J. Plant resistance signalling hijacked by a necrotrophic fungal pathogen // *Plant Signal. Behav.* – 2008. – V. 3, № 11. – P. 993-995.
- Harrower K. M. Studies on spore forms of *Septoria tritici* from New South Wales // *Aust. Plant Pathol. Soc. Newsletter*. – 1976. – V. 5, № 3. – P. 33-34.
- He P., Shan L., Sheen J. Elicitation and suppression of microbe-associated molecular pattern-triggered immunity in plant-microbe interactions // *Cell. Microbiol.* – 2007. – V. 9, № 6. – P. 1385-1396.
- Hess D.E., Shaner G. Effect of moisture and temperature on development of *Septoria tritici* blotch in wheat // *Phytopathology*. – 1987. – V. 77, № 2. – P. 215-219.
- Hoorne C., Lamari L., Gilbert J. et al. First report of *Mycosphaerella graminicola*, the sexual state of *Septoria tritici*, in Manitoba, Canada // *Can. J. Plant Pathol.* – 2002. – V. 24. – P. 445-449.
- Hunter T., Coker R.R., Royle D. J. The teleomorph stage, *Mycosphaerella graminicola*, in epidemics of *Septoria tritici* blotch on winter wheat in the UK // *Plant Pathol.* – 1999. – V. 48, № 1. – P. 51-57.
- Kema G.H.J., Annone J.G. In vitro production of pycnidia by *Septoria tritici* // *Neth. J. Plant Pathol.* – 1991. – V. 97, № 2. – P. 65-72.
- Kema G.H.J., DaZhao Yu, Rijkenberg F.H.J. et al. Histology of the pathogenesis of *Mycosphaerella graminicola* in wheat // *Phytopathology*. – 1996a. – V. 86, № 7. – P. 777-786.
- Kema G.H.J., Annone J.H., Sayoud R.S. et al. Genetic variation for virulence and resistance in the wheat-*Mycosphaerella graminicola* pathosystem. I. Interactions between pathogen isolates and host cultivars // *Phytopathology*. – 1996b. – V. 86, № 2. – P. 200-212.
- Kema G.H.J., Verstappen E.C.P., Todorova M. et al. Successful crosses and molecular tetrad and progeny analyses demonstrate heterothallism in *Mycosphaerella graminicola* // *Curr. Genet.* – 1996c. – V. 30, № 3. – P. 251-258.
- Keon J., Rudd J.J., Antoniw J. et al. Metabolic and stress adaptation by *Mycosphaerella graminicola* during sporulation in its host revealed through microarray transcription profiling // *Mol. Plant Pathol.* – 2005. – V. 6, № 5. – P. 527-540.
- Keon J., Antoniw J., Carzaniga R. et al. Transcriptional adaptation of *Mycosphaerella graminicola* to programmed cell death (PCD) of its susceptible wheat host // *Mol. Plant Microbe Interact.* – 2007. – V. 20, № 2. – P. 178-193.
- Kojima K., Takano Y., Yoshimi A. et al. Fungicide activity through activation of a fungal signaling pathway // *Mol. Microbiol.* – 2004. – V. 53, № 6. – P. 1785-1796.
- Levdansky E., Romano J., Shadkchan Y. et al. Coding tandem repeats generate diversity in *Aspegillus fumigatus* genes // *Eukaryot. Cell*. – 2007. – V. 6, № 8. – P. 1380-1391.
- Li L., Wright S.J., Krystofova S. et al. Heterotrimeric G protein signaling in filamentous fungi // *Annu. Rev. Microbiol.* – 2007. – V. 61. – P. 423-452.
- Linde C.C., Zhan J., McDonald B.A. Population structure of *Mycosphaerella graminicola*: from lesions to continents // *Phytopathology*. – 2002. – V. 92, № 9. – P. 946-955.
- Lovell D.J., Parker S.R., Hunter T. Influence of crop growth and structure on the risk of epidemics by *Mycosphaerella graminicola* (*Septoria tritici*) in winter wheat // *Plant Pathol.* – 1997. – V. 46, № 1. – P. 126-138.
- Lovell D.J., Hunter T., Powers S.J. et al. Effect of temperature on latent period of septoria leaf blotch on winter wheat under outdoor conditions // *Plant Pathol.* – 2004. – V. 53, № 2. – P. 170-181.
- Lumbsch H. T., Huhndorf S. M. (ed.). Outline of Ascomycota – 2007 // *Myconet*. – 2007. – V. 13. – P. 1-58.
- McDonald B.A., Martinez J.H. DNA restriction fragment length polymorphisms among *Mycosphaerella graminicola* (anamorph *Septoria tritici*) isolates collected from a single wheat field // *Phytopathology*. – 1990. – V. 80, № 12. – P. 1368-1373.
- McDonald B.A., Martinez J.H. Chromosome length polymorphisms in a *Septoria tritici* population // *Curr. Genet.* – 1991. – V. 16, № 4. – P. 265-271.
- McDonald B.A., Pettway R.E., Chen R.S. et al. The population genetics of *Septoria tritici* (teleomorph *Mycosphaerella graminicola*) // *Can. J. Bot.* – 1995. – V. 73 (S1). – P. 292-301.
- McDonald B.A., Mundt C.C., Chen R.S. The role of selection on the genetic structure of pathogen populations: Evidence from field experiments with *Mycosphaerella graminicola* on wheat // *Euphytica*. – 1996. – V. 92, № 1-2. – P. 73-80.
- Mehrabi R., Kema G.H.J. Protein kinase A subunits of the ascomycete pathogen *Mycosphaerella graminicola* regulate asexual fructification, filamentation, melanization and osmosensing // *Mol. Plant Pathol.* – 2006. – V. 7, № 6. – P. 565-577.
- Mehrabi R., Zwiars L.H., de Waard M.A. et al. MgHog1 regulates dimorphism and pathogenicity in the fungal wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola* //

## MYCOSPHAERELLA GRAMINICOLA

- Mol. Plant Microbe Interact. – 2006a. – V. 19, № 11. – P. 1261-1269.
- Mehrabi R., van der Lee T., Waalwijk C. et al. *MgSl2*, a cellular integrity map kinase gene of the fungal wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola*, is dispensable for penetration but essential for invasive growth // Mol. Plant Microbe Interact. – 2006b. – V. 19, № 4. – P. 389-398.
- Mehrabi R., Taga M., Kema G.H.J. Electrophoretic and cytological karyotyping of the foliar wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola* reveals many chromosomes with a large size range // Mycologia. – 2007. – V. 99, № 6. – P. 868-876.
- Mehrabi R., M'Barek S.B., van der Lee T. et al. *Ga* and *Gβ* proteins regulate the cyclic AMP pathway that is required for development and pathogenicity of the phytopathogen *Mycosphaerella graminicola* // Eukaryot. Cell. – 2009. – V. 8, № 7. – P. 1001-1013.
- Moriwaki A., Kubo E., Arase S. et al. Disruption of *SRMI*, a mitogen-activated protein kinase gene, affects sensitivity to osmotic and ultraviolet stressors in the phytopathogenic fungus *Bipolaris oryzae* // FEMS Microbiol. Lett. – 2006. – V. 257, № 2. – P. 253-261.
- Motteram J., Kufner I., Deller S. et al. Molecular characterization and functional analysis of *MgNLP*, the sole NPP1 domain-containing protein, from the fungal wheat leaf pathogen *Mycosphaerella graminicola* // Mol. Plant Microbe Interact. – 2009. – V. 22, № 7. – P. 790-799.
- Nadal M., García-Pedrajas M.D., Gold S.E. Dimorphism in fungal plant pathogens // FEMS Microbiol. Lett. – 2008. – V. 284, № 2. – P. 127-134.
- Nather K., Munro C.A. Generating cell surface diversity in *Candida albicans* and other fungal pathogens // FEMS Microbiol. Lett. – 2008. – V. 284, № 2. – P. 137-145.
- Palmer C.L., Skinner W. *Mycosphaerella graminicola*: latent infection, crop devastation and genomics // Mol. Plant Pathol. – 2002. – V. 3, № 2. – P. 63-70.
- Parbery D.G. Trophism and the ecology of fungi associated with plants // Biol. Rev. – 1996. – V. 71, № 3. – P. 473-527.
- Pemberton C.L., Salmond G.P.C. The *Nep1*-like proteins – a growing family of microbial elicitors of plant necrosis // Mol. Plant Pathol. – 2004. – V. 5, № 4. – P. 353-359.
- Pnini-Cohen S., Zilberstein A., Schuster S. et al. Elucidation of *Septoria tritici* × wheat interactions using GUS-expressing isolates // Phytopathology. – 2000. – V. 90, № 3. – P. 297-304.
- Ray S., Anderson J.M., Urmeev F.I. et al. Rapid induction of a protein disulfide isomerase and defense-related genes in wheat in response to the hemibiotrophic fungal pathogen *Mycosphaerella graminicola* // Plant Mol. Biol. – 2003. – V. 53, № 5. – P. 741-754.
- Razavi M., Hughes G.R. Molecular variability of *Mycosphaerella graminicola* as detected by RAPD markers // J. Phytopathol. – 2004. – V. 152, № 10. – P. 543-548.
- Rohel E.A., Payne A.C., Fraaije B.A. et al. Exploring infection of wheat and carbohydrate metabolism in *Mycosphaerella graminicola* transformants with differentially regulated green fluorescent protein expression // Mol. Plant Microbe Interact. – 2001. – V. 14, № 2. – P. 156-163.
- Rudd J.J., Keon J., Hammond-Kosack K.E. The wheat mitogen-activated protein kinases TaMPK3 and TaMPK6 are differentially regulated at multiple levels during compatible disease interactions with *Mycosphaerella graminicola* // Plant Physiol. – 2008. – V. 147, № 2. – P. 802-815.
- Rudd J.J., Antoniw J., Marshall R. et al. Identification and characterisation of *Mycosphaerella graminicola* secreted or surface-associated proteins with variable intragenic coding repeats // Fungal Genet. Biol. – 2010. – V. 47, № 1. – P. 19-32.
- Sanderson F. R. A *Mycosphaerella* species as the ascogenous state of *Septoria tritici* Rob. ex Desm. // N. Z. J. Bot. – 1972. – V. 10. – P. 707-709.
- Scharen A.L. Biology of the *Septoria/Stagonospora* pathogens: an overview // Proceedings of the International Septoria Workshop, Mexico, DF (Mexico), 20-24 Sep 1999. – CIMMYT, 1999. – P. 19-22.
- Schnieder F., Koch G., Jung C. et al. Genotypic diversity of the wheat leaf blotch pathogen *Mycosphaerella graminicola* (anamorph) *Septoria tritici* in Germany // Eur. J. Plant Pathol. – 2001. – V. 107, № 3. – P. 285-290.
- Schoch C., Shoemaker R.A., Seifert K.A. et al. A multi-gene phylogeny of the *Dothideomycetes* using four nuclear loci // Mycologia. – 2006. – V. 98, № 6. – P. 1043-1054.
- Seggarra C.I., Casalagué C.A., Pinedo M.L. et al. Changes in wheat leaf extracellular proteolytic activity after infection with *septoria tritici* // J. Phytopath. – 2002. – V. 150, № 3. – P. 105-111.
- Shaw M.W. Effects of temperature, leaf wetness and cultivar on the latent period of *Mycosphaerella graminicola* on winter wheat // Plant Pathol. – 1990. – V. 39. – P. 255-268.
- Shaw M.W. Interacting effects of interrupted humid periods and light on infection of wheat leaves by *Mycosphaerella graminicola* (*Septoria tritici*) // Plant Pathol. – 1991. – V. 40, № 4. – P. 595-607.

- Shaw M.W. Epidemiology of *Mycosphaerella graminicola* and *Phaeosphaeria nodorum*: an overview // Proceedings of the International Septoria Workshop, Mexico, DF (Mexico), 20-24 Sep. 1999. – CIMMYT, 1999. – P. 93-97.
- Shaw M.W., Royle D.J. Airborne inoculum as a major source of *Septoria tritici* (*Mycosphaerella graminicola*) infections in winter wheat crops in the UK // Plant Pathol. – 1989. – V. 38, № 1. – P. 35-43.
- Shaw M.W., Royle D.J. Factors determining the severity of epidemics of *Mycosphaerella graminicola* (*Septoria tritici*) on winter wheat in the UK // Plant Pathol. – 1993. – V. 42, № 5. – P. 882-899.
- Shetty N.P., Kristensen B.K., Newman M.-A. et al. Association of hydrogen peroxide with restriction of *Septoria tritici* in resistant wheat // Physiol. Mol. Plant Pathol. – 2003. – V. 62, № 6. – P. 333-346.
- Shetty N.P., Mehrabi R., Lütken H. et al. Role of hydrogen peroxide during the interaction between the hemibiotrophic fungal pathogen *Septoria tritici* and wheat // New Phytol. – 2007. – V. 174, № 3. – P. 637-647.
- Shetty N.P., Jorgensen H.J.L., Jensen J.D. et al. Roles of reactive oxygen species in interactions between plants and pathogens // Eur. J. Plant Pathol. – 2008. – V. 121, № 3. – P. 267-280.
- Shetty N.P., Jensen J.D., Knudsen A. et al. Effects of  $\beta$ -1,3-glucan from *Septoria tritici* on structural defence responses in wheat // J. Exp. Bot. – 2009. – V. 60, № 15. – P. 4287-4300.
- Shipton W.A., Boyd W.R.J., Rosielle A.A. et al. The common Septoria diseases of wheat // Bot. Rev. – 1971. – V. 37, № 2. – P. 231-262.
- Siah A., Deweer C., Duyme F. et al. Correlation of *in planta* endo-beta-1,4-xylanase activity with the necrotrophic phase of the hemibiotrophic fungus *Mycosphaerella graminicola* // Plant Pathol. – 2010. – V. 59, № 4. – P. 661-670.
- Stergiopoulos I., Zwiars L.-H., De Waard M.A. The ABC transporter MgAtr4 is a virulence factor of *Mycosphaerella graminicola* that affects colonization of substomatal cavities in wheat leaves // Mol. Plant Microbe Interact. – 2003. – V. 16, № 8. – P. 689-698.
- Stukenbrock E.H., Banke S., Javan-Nikkhah M. et al. Origin and domestication of the fungal wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola* via sympatric speciation // Mol. Biol. Evol. – 2007. – V. 24, № 2. – P. 398-411.
- Turgeon B.G., Yoder O.C. Proposed nomenclature for mating type genes of filamentous ascomycetes // Fung. Genet. Biol. – 2000. – V. 31, № 1. – P. 1-5.
- Van Ginkel M., Scharen A.L. Host-pathogen relationships of wheat and *Septoria tritici* // Phytopathology. – 1988. – V. 78, № 6. – P. 762-766.
- Van Kan J.A.L. Licensed to kill: the lifestyle of a necrotrophic plant pathogen // Trends Plant Sci. – 2006. – V. 11, № 5. – P. 247-253.
- Van Loon L.C., Van Strien E.A. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins // Physiol. Mol. Plant Pathol. – 1999. – V. 55, № 2. – P. 85-97.
- Van Loon L.C., Rep M., Pieterse C.M.J. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants // Annu. Rev. Phytopathol. – 2006. – V. 44. – P. 135-162.
- Verreet J.A., Hoffmann G.M., Portner J. Nachweis des Teleomorph *Mycosphaerella graminicola* (Fuckel) Schroeter (Anamorph: *Septoria tritici* Rob. apud Desm.) in der Bundesrepublik Deutschland // J. Phytopath. – 1990. – V. 130, № 2. – P. 105-113.
- Verstrepen K.J., Jansen A., Lewitter F. et al. Intragenic tandem repeats generate functional variability // Nature Genet. – 2005. – V. 37, № 9. – P. 986-990.
- Veljanen-Rollinson S.L.H., Marroni M.V., Butler R.C. et al. Latent periods of septoria tritici blotch on ten cultivars of wheat // N. Z. Plant Prot. – 2005. – V. 58. – P. 256-260.
- Waalwijk C., Mendes O., Verstappen E.C.P. et al. Isolation and characterization of the mating-type idiomorphs from the wheat septoria leaf blotch fungus *Mycosphaerella graminicola* // Fungal Genet. Biol. – 2002. – V. 35, № 3. – P. 277-286.
- Wainshilbaum S.J., Lipps P.E. Effect of temperature and growth stage of wheat on development of leaf and glume blotch caused by *Septoria tritici* and *S. nodorum* // Plant Dis. – 1991. – V. 75, № 10. – P. 993-998.
- Wittenberg A.H.J., van der Lee T.A.J., Ben M'Barek S. et al. Meiosis drives extraordinary genome plasticity in the haploid fungal plant pathogen *Mycosphaerella graminicola* // PLoS ONE. – 2009. – V. 4, № 6. – e5863 (doi:10.1371/journal.pone.0005863).
- Wolpert T.J., Dunkle L.D., Ciuffetti L.M. Host-selective toxins and avirulence determinants: What's in a name? // Annu. Rev. Phytopathol. – 2002. – V. 40. – P. 251-285.
- Xu J.R. MAP kinases in fungal pathogens // Fungal Genet. Biol. – 2000. – V. 31, № 3. – P. 137-152.
- Zadoks J.C. Two wheat septorias, two emerging diseases from the past // Proceedings of the 6<sup>th</sup> International Symposium on *Septoria* and *Stagonospora* Diseases of Cereals: Global insight into the *Septoria* and *Stagonospora* diseases of cereals. December 8-12, 2003. – Tunis, Tunisia, 2003. – P. 1-12.

## MYCOSPHAERELLA GRAMINICOLA

- Zhan J., Mundt C.C., McDonald B.A. Measuring immigration and sexual reproduction in field populations of *Mycosphaerella graminicola* // *Phytopathology*. – 1998. – V. 88, № 12. – P. 1330-1337.
- Zhan J., Kema G.H.J., Waalwijk C. et al. Distribution of mating type alleles in the wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola* over spatial scales from lesions to continents // *Fungal Genet. Biol.* – 2002. – V. 36. – P. 128-136.
- Zhan J., Pettway R.E., McDonald B.A. The global genetic structure of the wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola* is characterized by high nuclear diversity, low mitochondrial diversity, regular recombination, and gene flow // *Fungal Genet. Biol.* – 2003. – V. 38, № 3. – P. 286-297.
- Zhan J., Kema G.H.J., McDonald B.A. Evidence for natural selection in the mitochondrial genome of *Mycosphaerella graminicola* // *Phytopathology*. – 2004. – V. 94, № 3. – P. 261-267.
- Zhan J., Torriani S.F.F., McDonald B.A. Significant difference in pathogenicity between *MATI-1* and *MATI-2* isolates in the wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola* // *Fungal Genet. Biol.* – 2007. – V. 44, № 5. – P. 339-346.
- Zhao X., Mehrabi R., Xu J.R. Mitogen-activated protein kinase pathways and fungal pathogenesis // *Eukaryot. Cell.* – 2007. – V. 6, № 10. – P. 1701-1714.
- Zwiers L.H., De Waard M.A. Characterization of the ABC transporter genes *MgAtr1* and *MgAtr2* from the wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola* // *Fungal Genet. Biol.* – 2000. – V. 30, № 2. – P. 115-125.
- Zwiers L.H., Stergiopoulos I., Gielkens M.M.C. et al. ABC transporters of the wheat pathogen *Mycosphaerella graminicola* function as protectants against biotic and xenobiotic toxic compounds // *Mol. Gen. Genomics.* – 2003. – V. 269, № 4. – P. 499-507.

Поступила в редакцию  
28.02.2011 г.

## MYCOSPHAERELLA GRAMINICOLA: FEATURES OF PATHOGEN AND PATHOGENESIS

S. M. Shamrai

V.N. Karazin Kharkiv National University  
(Kharkiv, Ukraine)

Review contains current information about various aspects of growth, development and pathological processes, causes on the wheat by ascomycetous fungus *Mycosphaerella graminicola*. The fungus is model objects of research in plant immunology and the causative agent of septoria leaf blotch, one of the most damaging diseases of wheat, causing up to 50% reducing yields in countries with a sufficiently moist temperate climate. Pathogenesis of the disease unique and includes a long asymptomatic period and the subsequent rapid necrotization cells of wheat. Populations of *M. graminicola* have remarkably similar structure on a global scale, while at the same time there is extraordinarily high intrapopulation variability. Information about the molecular mechanisms of the infection process and the resistance of wheat is still fragmentary. Pathogenicity of the *M. graminicola* depends on the conservative signaling pathways, including mitogen-activated protein kinase, G-proteins and protein kinase A. The resistance of plants begins to appear early, 3 hours after infection, and is associated with the production of reactive oxygen species, synthesis of PR-proteins, deposition in cell walls of callose and the expression of many genes. Death of plant tissues at the later stage of pathogenesis probably result from the fungus triggering hypersensitivity response in susceptible varieties of plants.

**Key words:** *Mycosphaerella graminicola*, *Triticum*, populations, pathogenicity, resistance, hypersensitivity response, reactive oxygen species

**ШАМРАЙ**

**MYCOSPHAERELLA GRAMINICOLA:  
ОСОБЛИВОСТІ ПАТОГЕНА І ПАТОГЕНЕЗУ**

С. М. Шамрай

*Харківський національний університет ім. В.Н. Каразіна  
(Харків, Україна)*

В огляді наведені сучасні відомості з різних аспектів росту, розвитку і патологічного процесу, спричинюваного у рослин пшениці сумчастим грибом *Mycosphaerella graminicola*. Гриб являє собою модельний об'єкт досліджень у галузі імунології рослин і є збудником септоріозної плямистості листя, одного з найбільш шкідливих захворювань пшениці, що викликає до 50% втрат урожаю в країнах з досить вологим помірним кліматом. Патогенез захворювання унікальний і включає тривалий період без симптомів і наступну швидку некротизацію клітин листків пшениці. Популяції *M. graminicola* мають на диво подібну структуру в глобальному масштабі, в той же час спостерігається екстраординарно висока внутрішньопопуляційна мінливість. Інформація стосовно молекулярних механізмів патологічного процесу і стійкості рослин все ще фрагментарна. Патогенність *M. graminicola* залежить від консервативних внутрішньоклітинних шляхів передачі сигналів, що включають мітоген-активовані протеїнкінази, G-білки і протеїнкіназу А. Стійкість рослин починає виявлятися швидко, через 3 год після зараження, і пов'язана з продукуванням активних форм кисню, синтезом PR-білків, відкладенням в клітинних стінках калози і експресією багатьох генів. Загибель тканин рослин на пізніх етапах патогенезу, ймовірно, зумовлена індукцією грибом реакції надчутливості у сприйнятливих сортів рослин.

**Ключові слова:** *Mycosphaerella graminicola*, *Triticum*, популяції, патогенність, стійкість, реакція надчутливості, активні форми кисню