

УДК 582.001.4:5S2.28S.45

СОВРЕМЕННАЯ СИСТЕМА *TRICHODERMA/HYPocreA*

Ф.К. Алимова

Аннотация

В обзоре представлена история исследований *Trichoderma/Hypocrea*, проанализирована современная ситуация в ее систематике, особое внимание уделено новым методам идентификации и филогении. Большой интерес исследователей к *Trichoderma* связан с широким применением в практике. Несмотря на интенсивные исследования, с применением наряду с другими методами молекулярно-генетического анализа, в настоящее время не существует единой системы *Trichoderma/Hypocrea*.

Введение

Грибы – это обширная группа организмов, число видов которых по Хоуксворду [1] может достигнуть 1.5 миллиона, уступая только насекомым, а по биомассе, например в почве, преобладают над другими членами биоты и могут составить 90% от общей массы прокариот и беспозвоночных [2]. Согласно некоторым оценкам таксономистов-микологов, в настоящее время описано менее 10% всех представителей царства грибов [3].

Одним из наиболее изучаемых грибов в настоящее время является род *Trichoderma*. Возможно, что *Trichoderma* – это единственный род, каждый вид которого представлен в ГенБанке, по крайней мере, одним геном, а многие виды представлены последовательностью двух или более генов.

Причиной этого интереса является большая практическая и экологическая значимость рода. Виды *Trichoderma* являются продуцентами ферментов (целлюлаз, хитиназ, пектиназ, ксиланаз, серинзависимых протеиназ и др.), используемых в целлюлозно-бумажной и пищевой промышленности, в производстве моющих средств, в получении спирта, преобразовании отходов, содержащих целлюлозу в глюкозу [4–7], получении кормовых добавок [8–10] и текстильной промышленности [11]. На основе антибиотиков, токсинов, ферментов грибов этого рода получают препараты для биологического контроля болезней и стимуляции роста растений, получения трансгенных растений [12–19]. *Trichoderma* также используется для биологической очистки почвы и получения компостов [20–24]. Известны также и другие свойства *Trichoderma spp.* Так, выявлены виды *Trichoderma*, поражающие выращиваемые промышленным способом грибы и повреждающие строительные конструкции [25–28]. Они могут быть причиной аллергии и глубоких микозов у людей со сниженным иммунитетом [29–31]. Представителей рода *Trichoderma* можно найти практически во всех почвах. Их считают, по крайней мере частично, ответственными за эффект биологического контроля фитопатогенов в супрессивных почвах, на кото-

рых зерновые и деревья не подвергаются действию патогена и выделению в окружающую среду микотоксинов [32]. Обнаружена способность метаболитов *Trichoderma* подавлять жизнедеятельность насекомых [33].

В настоящее время перед микологами, изучающими *Trichoderma*, стоит ряд вопросов: по систематическому положению вида, адекватным методам идентификации, построению естественного филогенетического древа, географической распространенности, разнообразию и выявлению способности к антагонистической активности к фитопатогенам среди всех видов этого рода, наличию в природе новых видов, которые еще могут быть найдены и т. д. Для обобщения результатов и налаживания контактов между микологами, занимающимися *Trichoderma/Hypocrea*, были созданы в Интернете сайты основных групп изучающих этот род – в США Гарри Самюэлем (лаборатория микологии Министерства Сельского хозяйства США и Исследовательской службы сельского хозяйства США (USDA-ARS) [<http://nt.ars-grin.gov>] и в 2003 г. – Христианом Кубичеком (Институт химической инженерии. Технический университет в Вене, Австрия. Департамент по исследованию технологии гена и прикладной биотехнологии) [<http://www.isth.info/links>]. Х. Кубичеком с сотрудниками создана интернациональная подкомиссия по изучению *Trichoderma/Hypocrea*, входящая в состав интернациональной комиссии по таксономии грибов (International Commission for the Taxonomy of Fungi) и Commission of the Mycology Division of the International Union of Microbiological Societies. На сайте Г. Самюэля для исследователей доступен интерактивный ключ для идентификации *Trichoderma* по морфологическим и культуральным признакам, а на сайте Х. Кубичека – программы для идентификации видов по генетическим признакам.

2. Современное систематическое положение *Trichoderma/Hypocrea*

К настоящему моменту в литературе имеется описание более чем 200 видов *Hypocrea/Trichoderma*, и этот род все еще не считается родом, развивающимся в одном направлении. База данных СABI, которая объединяет названия грибов [<http://www.indexfungorum.org>], содержит информацию о 401 виде *Hypocrea spp.*, хотя некоторые из них могут быть синонимами других описанных видов или неправильно помещены в этот род (как, например *H. pallida*), но список может быть компенсирован другими неописанными видами. Изучение разных ниш в географических зонах позволило выделить множество дополнительных неописанных ранее видов [34–37].

Члены рода *Hypocrea* и его анаморфа *Trichoderma* являются типичными представителями влажных лесов всех типов [37]. Эти грибы легко определяются благодаря их яркой окраске. Большинство представительных видов рода *Hypomyces (Fr.) (Hypocreaceae)* паразитирует на культурных грибах и съедобных грибах. Виды *Hypocrea* и его анаморфа *Trichoderma Pers.* часто встречаются не только во влажных тропических и субтропических лесах, но и в аридных умеренных и северных зонах и даже в более экстремальных нишах, на крайнем севере и крайнем юге. Телеоморфы *Hypocrea* можно обнаружить на древесине, на мицелии других членов *Ascomycota*, на живых базидиомицетах, на съедобных грибах на разных стадиях гниения, реже встречаются на травяных субстратах. Типичные *Hypocrea* формируют морщинистую, ярко- или неокрашен-

ную плотную стромату, диаметр которой превышает 5 мм, хотя некоторые виды образуют строматы скорее палочковидные, овоидные в несколько сантиметров в размере. Род *Hypocrea* обычно характеризуется тем, что виды формируют перитеции, окруженные плотными строматами, которые состоят из псевдопаринхимы или уплотненных гифов. Виды *Hypocrea* образуют 8 асков с одной перетяжкой, находящихся в одной оболочке на ранних этапах развития, и образуют 16 спор в каждом аске. Обычно виды *Trichoderma* выделяют из почвы, хотя они часто спорулируют на древесине, шляпках культурных грибов, лесных грибах, где их можно определить с легкостью по массе конидий, окрашенных в зеленый цвет, реже в белый и желтый цвета. Они обнаружены в разных местообитаниях. Например, грибы можно обнаружить на влажных стенах зданий, как эндофиты в стволах деревьев влажного тропического леса [38]. *Trichoderma* составляет значительную часть биомассы грибов почвы [39].

Поскольку именно анаморфы имеют экологическое и экономическое значение, очень важно изучить биологию *Trichoderma* и *Hypocrea* одинаковым образом. Для практической интеграции «анаморфных грибов» в систему аско- и базидиомицетов в настоящее время рекомендуют использовать молекулярные методы [40, 41].

До сих пор нет единого мнения о положении рода *Trichoderma* в системе грибов: принадлежит ли этот род к сумчатым грибам и является только бесполой стадией развития рода *Hypocrea* или может быть отнесен к анаморфным грибам. Показано, что отдельные виды, определенные как *Trichoderma*, являются анаморфами видов *Hypocrea* [40, 41], другие относят их к митоспоровым (анаморфным) грибам.

Распространение в систематике грибов методов геносистематики и связанных с ними воззрений кладизма нанесло удар традиционному положению в системе группы анаморфных грибов. Некоторые авторы предлагают вообще не считать анаморфные виды видами, молекулярные филогенетики выступают за интеграцию анаморфных (митоспоровых) видов в систему телеоморфных (мейоспоровых) грибов. Как результат такого подхода дейтеромицеты отсутствуют в большинстве современных систем [42].

Однако анаморфные виды – реально существующая группа грибов. Число описанных видов по данным Хоуксворда составляет более 14000, распространено же в природе свыше 2500 родов [1]. Полная интеграция анаморфных видов в общую систему грибов – дело далекого будущего, классификация же группы для практических целей, например для идентификации, необходима сейчас [42]. На конференции по холоморфам [43] специалисты по дейтеромицетам выступили против полной ликвидации отдела *Deuteromycota* в связи с их объединением с холоморфными грибами именно потому, что для целей идентификации группы необходимы таксоны и названия [44].

По кодексу Международного Кода Ботанической Номенклатуры (ст. 59) название вида холоморфа основано на признаках телеоморфа. Однако по мере увеличения попыток связать анаморфы и телеоморфы *Ascomycota* с помощью молекулярно-генетических методов, в частности *Hypocrea* и *Trichoderma* при изучении таксономии *Hypocrea*, становится очевидным, что строма *Hypocrea* является консервативной структурой, что ограничивает применение данного

признака для классификации. В случае близких видов могут иметь место видимые различия в морфологии скорее анаморфов *Trichoderma*, чем в морфологии телеоморфов. Таксономическими различиями могут являться также показатели роста и «сиквенсы» ДНК.

Кодекс ботанической номенклатуры допускает для холоморфных видов использование двух названий: телеоморфы, если речь идет о холоморфе, и анаморфного вида – только для анаморфной стадии. Гамс [45] предлагает пользоваться для анаморфных видов с постоянно образующимися телеоморфами, особенно если анаморфа происходит из типового образца телеоморфы, триниминальными названиями [46], что более удобно и информативно. Например, *Trichoderma citrinoviride* – анаморфа *Hypocrea schweinitzii*. Настоящие анаморфные виды имеют только одно название, например *T. effusum*. В настоящее время для упорядочения анаморфных видов существует заведомо формальная система.

Самюэль [47] относит все известные виды *Trichoderma* к аскомицетам, и полное систематическое положение на основном древе живых организмов описывается им как клеточный организм *Eukaryota*; группа *Fungi/Mandazoa*; *Fungi*; *Ascomycota*; *Pezizomycotina*; *Sordariomycandae*; *Hypocreomycandidae*; *Hypocreales*; *mitosporic Hypocreales*. Половая стадия *Trichoderma* (анаморфа) представлена аскомицетом *Hypocrea* (телеоморфа).

По Самюэлю в отделе *Ascomycota* так же, как и у Эриксона, не представлен отдел *Mitosporic Fungi*. Самюэлем выделен в отдельную группу только подкласс *mitosporic Hypocreales* в составе *Hypocreales*.

С другой стороны, до настоящего времени на отдельных микологических сайтах в иерархии *Trichoderma* представлен в отделе *Mitosporic Fungi*, класса *Hyphomycetes* и подкласса *Hypocreomycetidae mitosporic*.

Система *Hypocrea* представлена в классификации аскомицетов, опубликованной О.Е. Эриксоном в *Myconet* 1–9 в 2005 г. в электронной версии [<http://www.umu.se>]. В связи с пересмотром положения отдельных групп грибов в системе эта классификация постоянно находится в работе. Предполагается, что в будущем возможны изменения в отношении большинства признанных классов, но особенно, в отношении *Dothideomycetes*, *Lecanoromycetes*, *Sordariomycetes* и большой группы грибов с неопределенной позицией.

Класс сордариомицетов (*Sordariomycetes*) включает в себя 3 подкласса сордариомицетида (подкласс *Sordariomycetidae*), ксилариомицетида (подкласс *Xylariomycetidae*) и гипокреамицетида (подкласс *Hypocreomycetidae*). Последний подкласс включает в себя 3 порядка, в том числе и порядок *Hypocreales*. По данным исследовательской группы Самюэля [37], порядок *Hypocreales* подразделен на пять подпорядков: *Hypocreaceae*, *Clavicipitaceae*, *Nectriaceae*, *Bionectriaceae* и *Niessliaceae*. По системе Эриксона, представленной на сайте *Myconet*, порядок *Hypocreales*, за счет включения *Ceratostomataceae* G. Winter 1885, содержит 6 подотделов. Описываемый нами род *Hypocrea* входит в состав подотдела *Hypocreaceae* De Not, 10844.

В последние годы были переопределены с помощью молекулярных и фенетических методов около 88 видов *Trichoderma* и *Hypocrea*, а 4 таксона, введенные Самюэлем [47], находятся на стадии филогенетического анализа. Среди

88 таксонов было показано наличие 14 анаморф – телеоморфных пар, в этих пределах подготовлены холорморфы, 49 были описаны как *Hypocrea*, остальные 25 описаны как анаморфные виды *Trichoderma*. Современная система *Trichoderma/Hypocrea* представлена в табл. 1, куда включены только таксоны, проверенные молекулярно-генетическими методами. Из системы изъяты виды, которые были переопределены: *T. inhamatum* (= *T. harzianum*); *T. fasciculatum* (= *T. strictipilis*), *T. flavofuscum* (= *T. virens*) и *T. croceum* (= *T. polysporum*). В табл. 1 в одной строке указаны только те виды телеоморфов и анаморфов, которые были обнаружены в природе.

Табл. 1

Современное положение *Trichoderma/Hypocrea* и распределение по филогенетическим секциям [36]

Секция*	Подсекция*	Анаморфы**	Телеоморфы**	
LONGIBRACHIATUM		<i>T. longibrachiatum</i>	<i>H. orientalis</i>	
		<i>T. citrinoviride</i>	<i>H. schweinitzii</i>	
		<i>T. reesei</i>	<i>H. jecorina</i>	
		<i>T. ghanense</i>		
		<i>T. pseudokoningii</i>	<i>H. pseudokoningii</i>	
		<i>T. saturnisporum</i>		
		<i>T. konilangbra</i>		
		<i>T. effusum</i>		
		<i>T. sinensis</i>		
		<i>T. sp. MA</i>		
			<i>H. andinensis</i>	
			<i>H. novazelandia</i>	
			<i>H. cerebriformis</i>	
			<i>H. poronoidea</i>	
	<i>H. peltata</i>			
TRICHODERMA			<i>H. pezizoides</i>	
			<i>H. avellanea</i>	
		<i>Rufa</i>	<i>T. viride</i>	<i>H. rufa</i>
			<i>T. atroviride</i>	<i>H. atroviridis</i>
			<i>T. koningii</i>	<i>H. koningii</i>
			<i>T. strigosum</i>	
			<i>T. ovalisporum</i>	
			<i>T. erinaceum</i>	
				<i>H. stilbohypoxyli</i>
		<i>Pachybasium "A"</i>	<i>T. hamatum</i>	
			<i>T. pubescens</i>	
			<i>T. asperellum</i>	
		<i>H. neorufa</i>		
		<i>H. flavoconidia</i>		
PACHYBASIUM "B"	<i>Pachybasioides</i>	<i>T. polysporum</i>	<i>H. pachybasioides</i>	
		<i>T. minutisporum</i>	<i>H. minutispora</i>	
		<i>T. piluliferum</i>	<i>H. pilulifera</i>	
			<i>H. parapilulifera</i>	
			<i>H. stellata</i>	
		<i>H. laciwombatensis</i>		
	<i>Hypocreanum</i>		<i>H. citrina</i>	
			<i>H. lactea</i>	
			<i>H. sulphurea</i>	
			<i>H. pulvinata</i>	

Секция*	Подсекция*	Анаморфы**	Телеоморфы**
	<i>Chlorospora</i>		<i>H. aureoviridis</i>
			<i>H. candida</i>
			<i>H. cremea</i>
			<i>H. surrotunda</i>
			<i>H. sinuosa</i>
			<i>H. chlorospora</i>
			<i>H. thelephoricola</i>
			<i>H. costaricensis</i>
			<i>H. thailandica</i>
		<i>H. virecentiflava</i>	
	<i>Lixii/catoptron</i>	<i>T. harzianum</i>	<i>H. lixii</i>
		<i>T. aggressivum</i>	
		<i>T. tomentosum</i>	
		<i>T. cerinum</i>	
		<i>T. velutinum</i>	
		<i>T. sp. DAOM 175928</i>	
			<i>H. tawa</i>
			<i>H. atrogelatinosa</i>
			<i>H. ceracea</i>
			<i>H. cinnamomea</i>
			<i>H. straminea</i>
	<i>Virens</i>	<i>T. virens</i>	<i>H. virens</i>
		<i>T. crassum</i>	<i>H. crassa</i>
	<i>Semiorbis</i>		<i>H. semiorbis</i>
			<i>H. hunua</i>
		<i>T. fertile</i>	
	<i>Strictipilis</i>	<i>T. oblongisporum</i>	
		<i>T. strictipilis</i>	<i>H. strictipilosa</i>
		<i>T. longipile</i>	
		<i>H. cuneispora</i>	
<i>Stromatica</i>		<i>H. aureoviridis</i>	
		<i>var. macrospora</i>	
	<i>T. stromaticum</i>		
	<i>T. rossicum</i>		
	<i>T. sp. PPRI 3559</i>		
<i>Ceramica</i>		<i>H. ceramica</i>	
		<i>H. estonica</i>	
		<i>H. lutea</i>	
<i>Psychrophila</i>	<i>T. brevicompactum</i>	<i>H. megalomagna</i>	
		<i>H. psychrophila</i>	
"Lone lineages":		<i>H. megacitrina</i>	
	<i>T. spirale</i>		
	<i>T. helicum</i>		
		<i>H. gelatinosa</i>	
		<i>H. chromosperma</i>	
		<i>H. sulawensis</i>	
	<i>H. nigrovirens</i>		
		<i>H. phyllostachidis</i>	

*Секции и подсекции в таблице представлены по номенклатуре Шавери [47].

**Телеоморфы и анаморфы указываются в одной строке только, если они были обнаружены в природе.

Таким образом, филогенетическое исследование 88 видов показало что *Trichoderma* и *Hypocrea* – это формы единого холломорфного рода. Внутри этого рода можно различить два раздела: одна область все еще содержит таксоны, относимые к секции *Longibrachiatum* [49], *T. effusum* и *T. sinensis* [50], *Trichoderma* sp. MA 3239 [51], *H. cerebriformis* и *H. poronoidea*. *H. patella* образует стабильную базальную ветвь, направленную к секции *Longibrachiatum*. В настоящий момент непонятно, следует ли *H. peltata* включать в секцию *Longibrachiatum* или сформировать сестринскую область. С целью упрощения сейчас *H. peltata* включают в секцию *Longibrachiatum*. Вторая секция формирует несколько определяемых субобластей: одна ведет к членам отдела *Trichoderma*, включающая “*Pachybasium A*” (*T. viride/H. rufa*, *T. koningii*, *T. atroviride*, *T. ovaliporum*, *H. neorufa*, *H. stilbohypoxyli*, *T. erinaceum*, *T. asperellum*, *T. hamatum*, *T. pubescens*, и *T. strigosum*) и которая содержит также *H. pezizoides*, *H. avellanea* [52], и *T. flavoconidia* [36]. Ответвление, ведущее к этой области, часто сопровождается, но не всегда строго подтверждается, двумя сестринскими областями: *Pachybasioides*-секция и *Hypocreanum*-секция. *Pachybasioides*-секция содержала *H. pachybasioides/T. polysporum* (= *T. croceum*), *H. pilulifera*, *H. parapilulifera*, *H. stellata*, *H. minutispora/T. minutisporum*, и *H. laciwombatensis* [36], в *Hypocreanum* секцию включили *H. citrina*, *H. lactea*, *H. sulphurea* и *H. pulvinata* [53].

Другая большая секция содержала ответвление, пока не подтвержденное генами или фрагментами генов [52, 53]. Эта слабо доказанная ветвь ведет к *H. aureoviridis/T. aureoviride* и группе *Hypocrea* spp., описанной недавно по очень сходным морфологическим и генетическим кластерам (*H. aureoviridis* var. *macrospora*, *H. candida*, *H. cremea*, *H. surrotunda*, *H. sinuosa*, *H. chlorospora*, *H. thelephoricola*, *H. costaricensis*, *H. thailandica* и *H. virecentiflava*). Кроме этой секции, несколько терминальных субсекций содержали тесно связанные виды, чьи филогенетические связи пока остаются неясными: *H. lixii/catoptron* (содержащие *H. lixii/T. harzianum*, *T. aggressivum*, *T. tomentosum*, *T. cerinum*, *T. velutinum*, *T. sp.* DAOM 172928, *H. tawa*, *H. atrogelatinosa*, *H. ceracea*, *H. cinnamomea*, *H. straminea* и *H. catoptron*); *H. virens* (*H. virens/T. virens*, *T. flavofuscum*, *T. crassum*); *H. semiorbis* (*H. semiorbis*, *T. oblongisporum*, *T. fertile*); *H. strictipilosa* (*H. strictipilosa/T. strictipile*, *H. aureoviridis* var. *macrospora*, *H. cuneispora*, *T. longipile*, *T. fasciculatum* (synonymized with *T. strictipile*); *H. ceramica* (*H. ceramica*, *H. estonica*); и *H. stromatica* (*H. stromatica/T. stromaticum*, *T. rossicum*, *T. sp.* PPRI 3559).

Присутствие видов секции *Hypocreanum* как субсекции в секции “*Pachybasium B*” требует некоторых комментариев. Самюэльс [9] выдвинул гипотезу о том, что анаморфные виды *Hypocrea* с неплотной строматой, имеющие бесцветные конидии на нерегулярных мутовчатых конидиофорах, которые Биссет [54] поместил в *Trichoderma* секции *Hypocreanum*, могут быть синанаморфами или половыми стадиями, и потому их нельзя помещать в *Trichoderma*. Так как анаморфы не были обнаружены в природе, Гамс и Биссет [45] исключили секцию *Hypocreanum* из ими же определенного отдела, *Trichoderma*. Однако филогенетические данные убедили в том, что соответствующие таксоны совершенно четко являются членами этого рода. Кюллниг-Градингер с соавторами [55]

доказывали, что способность образовывать *Trichoderma*-подобные анаморфы могла быть утеряна в процессе эволюции этих видов. Филогения, основанная на анализе сиквенсов 28S-rDNA, показала, что роды, имеющие *verticillium*-подобные анаморфы (*Aphysiostroma*, *Podocrea*, *Arachnocrea*) наблюдаются всегда в базальной позиции (основании филогенетического дерева) рода *Trichoderma*. Это свидетельствует о том, что от них произошел род *Trichoderma*. Рассматривается способность формировать анаморфы с *Trichoderma*-подобной морфологией как адаптивный признак в процессе перехода от обитания на грибах к сапротрофному существованию в почве и на гниющих остатках древесной формации. Эта способность была впоследствии утеряна в некоторых эволюционных линиях. Другие виды *Hypocrea* с *verticillium*-подобной морфологией, как, например, у *H. tawa* или *H. hunua*, произошли из других таксонов [55]. Это указывает на то, что потеря генов или их экспрессия потребовались для того, чтобы образовались *Trichoderma*-подобные анаморфы в эволюции этого рода.

По результатам филогенетического анализа три других вида (*H. lutea*/*H. melanomagna*/*T. brevicompactum*) также образуют единый кластер, но их связь с большой областью пока не ясна и зависит от используемых для анализа генов и видов.

Кроме этого существует большое число видов, для которых не известны ближайшие соседи и их филогенетическая позиция в пределах *Pachybasium* "B". Пока еще не определена позиция *H. psychrophila*/*H. megacitrina*. Неизвестно положение видов в областях секции *Hypocreanum*; *T. spirale*, которая филогенетически близка к *T. virens* и *T. harzianum*; *T. helicum* имеет слабую связь с *T. spirale*; и *H. gelatinosa*, *H. chromosperma*, *H. sulawensis*, *H. nigrovirens* и *H. phyllostachidis*, образующих одиночные изолированные линии вне секции *Pachybasium B* [36].

2. История изучения *Trichoderma/Hypocrea*

Род *Trichoderma* Pers.: Fr. был впервые описан Персоном более 200 лет назад как *Gasteromycetes* [56]. Только через 30 лет Элиасом Фраем [57] род *Hypocrea* был описан как *Sphaeria rufa* Pers.: Fr., вид с гиалиновыми аскоспорами. В настоящее время типичным видом рода считается *Hypocrea rufa* [Pers. Fr.]. Позднее братья Тюлянь [58] и Брефельд [59] доказали существование связи *T. viride* и *H. rufa*. Братья Тюлянь иллюстрировали *H. rufa* и *T. viride* как один вид, пририсовав гифы стромат *Hypocrea* к конидиофорам *Trichoderma*. Саккардо [60] описал род *Pachybasium*, включающий *T. hamatum* и *T. hamatum* var. *candidum* Sacc., виды с белыми конидиями (синоним *T. h. var. candidum* = *T. polysporum*). Брефельд выделил одну аскоспору *H. rufa* и получил культуру *T. viride*. Бисби [61] не удалось различить анаморф и телеоморф *H. rufa* от стадий *H. gelatinosa*, поэтому он считал, что *H. gelatinosa* «является только растущей формой или созревающей стадией *H. rufa*». На первых этапах изучения отношений между анаморфами и телеоморфами *Trichoderma* связывали не только с половой стадией *Hypocrea*, но и с некоторыми видами *Podostroma* и *Sarawakus*. Анаморф типового вида рода *Podostroma*, *P. alutaceum* [Pers.: Fr.] Atk., является анаморфом типа *verticillium* и не типичен для *Trichoderma*, хотя анаморфы некоторых не идентифицированных видов этого рода

типичны для анаморфов *Trichoderma*. Ни один из анаморфов не имел связи с типовым видом рода *Sarawakus*, *S. lycogaloides* (Berk. and Broome) Lloyd. Только в середине XX в. Самюэль и Россман [62] перенесли два вида из рода *Hypocrea* в *Sarawakus*, поскольку эти виды формировали 8 одноклеточных спор в каждой аске. Анаморфы этих видов были типичными для анаморфов *Trichoderma*. Кроме того, что они формировали одноклеточные аскоспоры, их морфология была не сопоставима с морфологией *S. lycogaloides*. За несколькими исключениями, такими, как *H. pallida*, *H. lutea* (Tode) Pandch и *H. sulphurea* (Schwein.) Sacc., анаморфы видов *Hypocrea* были по морфологии типичными для *Trichoderma*. Большинство видов *Hypocrea* было описано в XIX в. и начале XX в. при анализе коллекций, собранных путешественниками, миссионерами, патологами, посетившими экзотические места, и экспертами.

Первое, наиболее крупное исследование *Hypocrea* в XX в. было сделано микологом из Новой Зеландии – Динглей [62, 63]. Динглей идентифицировала все анаморфы *Hypocrea* как виды типа *T. viride* Pers.: Fr., несмотря на различия, очевидные для иллюстраторов. В дальнейшем это мнение было опровергнуто Рифаем [56].

Со времени первого описания в конце XVIII в. и до 1984 г. в род *Trichoderma* было включено не более 9 видов. В 1939 г. Бисби [61] характеризует лишь один вид – *T. viride*. До 1969 г., благодаря концепции, принятой Бисби, почти все виды *Trichoderma* назывались в литературе как “*T. viride*” (например, все продуценты целлюлозоразрушающих ферментов назывались *T. reesei*). Род *Trichoderma* состоял только из 1-го вида. Это привело к ошибочному утверждению, что «*T. viride* является промышленным продуцентом ферментов». В настоящее время показано, что *T. viride sensu stricto* является сравнительно редким видом, а основная часть видов, исследованная до 1969 г., идентифицировалась, вероятно, неверно. За 30 лет после исследований Бисби система *Trichoderma* была пересмотрена благодаря данным, полученным русскими микологами Пидопличко, Шкляр, Литвиновым, Крапивиной, Сизовой, Горленко, Шаровой, Сейкетовым, Егоровой и другими, пересмотревшими систему и увеличившими число видов до 5–6 [64]. К сожалению, в зарубежной литературе «русский» период в истории развития представлений о системе *Trichoderma* не был отражен. Считают, что первым микологом, сделавшим предположение о том, что *Trichoderma* представлена не одним, а большим количеством видов, является индийский миколог Рифай [56]. На сегодняшний день из небольшого количества видов в пределах этого таксона остался только вид, названный *T. viride*.

В 1969 г. Рифай [56] предложил таксономию 9 «видовых семейств». Им было сделано предположение, что большинство этих семейств, скорее всего, включают более чем один структурно неразличимый вид. Несмотря на несомненное преимущество перед таксономией «одного вида» Бисби (которая делала определение очень легким), описанная выше таксономия все же не в полной мере удовлетворяла микологов. Для идентификации рода требовалось, чтобы границы между видами были довольно эластичными. Но при таком условии не было уверенности в том, что исследователи, употребляя одно название вида, апеллируют к одному и тому же виду. В 1982 г. Сейкетов не соглашается с теми критериями, которые приводит Рифай, и в своей монографии,

опубликованной в России [65], приводит только 5 видов *Trichoderma*: *T. album* Preuss., *T. glaukum* Abbott., *T. koningii* Oudcm., *T. viride* Pers., *T. lignorum* (Tode.) Harz. В то же время Дои опубликовал флористическую монографию по *Hypocrea* и связанным с этим родом видам в Японии [66, 67], которая стала основной работой для микологов по *Hypocrea*. В монографии анаморфы многих видов *Hypocrea* были описаны и проиллюстрированы. Дои с сотрудниками описали множество новых видов *Hypocrea* и их анаморфов из коллекций Японии, Новой Гвинеи и Южной Африки [68]. С помощью классических и молекулярно-генетических методов было показано, что виды *Hypocrea* с анаморфами типа *Trichoderma*-, *pachybasium*-, *gliocladium*- или *verticillium*- не образуют монофилетические группы [69, 55]. Фенотип телеоморфов развился в результате эволюционной конвергенции, поэтому филогенетические исследования не подтвердили выводы Дои о таксономии рода *Hypocrea* [55].

Например, Самюэль [49] в своей монографии, посвященной *Hypocrea schweinitzii* (Fr.) Sacc. Complex, показал, что телеоморфы разных морфологически сходных видов имели отличающиеся друг от друга анаморфы. Таксономическими различиями также являются показатели роста и «сиквенсы» ДНК. Таким образом, в случае близких видов могут иметь место видимые различия в морфологии скорее анаморфов *Trichoderma*, чем в морфологии телеоморфов.

Биссет [70–73] провел ревизию предложенных Рифаем агрегатов-видов с использованием изменяющихся морфологических критериев, включив более широкий их диапазон, что позволило ему обнаружить изменения у ряда *Hypocrea* и включить виды, ранее относимые к *Gliocladium*. Изучая систему агрегатов-видов, предложенных ранее Рифаем, Биссет [70] выявил около 35 видов, а также установил разбиение рода на 5 секций: *Longibrachiatum*, *Pachybasium*, *Trichoderma*, *Saturnisporum* и *Hypocreanum*.

1. *Trichoderma* sect. *Trichoderma* – виды с правильно древовидно разветвленными, но не толстыми конидиеносцами и бутылевидными фиалидами: *T. viride* aggr. sensu Rifai [56], *T. koningii* aggr. sensu Rifai [56], *T. aureoviride* aggr. sensu Rifai [56] и *T. atroviride* Karsten [70, 71].

2. *Trichoderma* sect. *Pachybasium* – виды, имеющие конидиеносцы с широкой главной осью, с короткими вздутыми фиалидами и часто со стерильным окончанием конидиеносца: *T. harzianum* Rifai, *T. virens* (= *Gliocladium virens*), *T. flavofuscum* (Miller and al.) Bisset (= *G. flavofuscum* Miller and al.), *T. hamatum* (Bon.) Bainer, *T. polysporum* (Link: Fr.) Rifai, *T. piluliferum* Webster and Rifai, а также 11 новых видов, выделенных из *T. hamatum* aggr. sensu Rifai [56] на основании отличий в форме конидий и стерильных окончаний [71].

3. *Trichoderma* sect. *Longibrachiatum* – виды с нерегулярно ветвящимися конидиеносцами и фиалидами, чаще расположенными поодиночке: *T. pseudokoningii* Rifai, *T. longibrachiatum* Rifai, *T. citrinoviride* Bisset и *T. atroviride* Bisset. Этот вид автор впоследствии переименовал в *T. parceramosum* Bisset [72], поскольку видовой эпитет «atroviride» был ранее использован Карстеном для совсем другого вида этого рода [73].

4. *Trichoderma* sect. *Saturnisporum* – виды, имеющие орнаментацию конидий в виде бугорков или крыловидных выростов: *T. saturnisporum* Hamill и *T. ghanense* Doi, Y. Abe and J. Sugiy.

5. *Trichoderma sect. Hypocreanum*. Включены все анаморфы рода *Hypocrea* типа *Gliocladium*, *Verticillium*, *Clonostachys* или *Acremonium*.

Рифай [56] и Биссет [72] рассмотрели морфологические признаки, которые учитывались ими при характеристике и дифференциации видов *Trichoderma*. Оба автора обратили внимание на сложности, возникающие при определении морфологических видов *Trichoderma*. Самюэль [9] также занимался тщательным изучением морфологических признаков и отмечал их важность в определении видов *Trichoderma*. Морфологические признаки, учитываемые при характеристике и идентификации других родов *Hyphomycetes*, чаще всего не являются значимыми для дифференциации видов *Trichoderma*. Как правило, отклонения от упрощенной морфологии очень незначительны в случае с *Trichoderma*, к тому же термины, используемые для описания вариаций цвета или структуры, недостаточно точно отражают различия между видами.

Тем не менее, тщательные морфологические исследования – достаточное условие для идентификации видов и штаммов *Trichoderma*, по крайней мере, это послужило хорошим основанием для верной дифференциации таксонов с морфологической точки зрения и описания их в литературе.

Таким образом, к середине XX в. сложилась картина существенного расхождения в гипотезах системы *Trichoderma*: 35 видов по Биссету – в одном случае и лишь 9 по Рифай – в другом.

В середине 90-х гг. XX в. анализ последовательности ДНК был впервые применен к таксономии *Trichoderma*. ДНК-последовательность обеспечила необходимые, независимо полученные данные, которые позволили лучше понять ситуацию с видами *Trichoderma* и подтвердить систему Биссета – с существованием более 9 видов *Trichoderma*, хотя некоторые из его секций или групп согласно структурному принципу не монофилетичны. В действительности оказалось, что даже концепция видов Биссета не была до конца оформлена. Некоторые виды, выделенные им по структурному признаку, такие, как *T. viride*, *T. koningii*, были поделены на два или более вида согласно анализу ДНК-последовательности и эволюции их соответствующих фенотипов.

Если принять концепцию Биссета [72], предложившего включить все анаморфы *Hypocrea* в род *Trichoderma*, то четкое определение морфологии для рода *Trichoderma* будет весьма проблематичным. Причина в том, что структура разветвлений конидиофор весьма разнообразна и часто внешне напоминает структуру неродственных родов, например, как у *Verticillium* и *Gliocladium*. В большинстве случаев *Trichoderma* анаморфа *Hypocrea* может быть дифференцирована по типу разветвлений на неограниченном количестве уровней, что противопоставляется более правильному мутовчатому и бимувчатому разветвлению у *Verticillium* и по образованию терминальной кисточковидной системы пенициллятов (*penicillate*) на ответвлениях и более правильно расположенных в виде шипов фиалидов на относительно хорошо очерченной ножке у *Gliocladium*. Тем не менее, анаморф *Hypocrea lutea* (Tode: Fr.) Petch, (которая напоминает *Gliocladium viride* Matr.) и анаморф *H. gelatinosa*, например, часто имеют структуру кисточковидной конидиофоры, которая более характерна для рода *Gliocladium*. Сужающиеся фиалиды *Trichoderma* (*Gliocladium*) *virens* у конидиофор типа *Trichoderma* не могут служить достаточным аргументом для

исключения этого вида из *Trichoderma*. С помощью классических и молекулярно-генетических методов показано, что виды *Hypocrea* с анаморфами типа *Trichoderma*-, *pachybasium*-, *gliocladium*- или *verticillium* не образуют монофилетические группы [55, 69].

В настоящее время принято считать, что секция *Hypocreanum* полифилетична и, скорее всего, является неустойчивым сообществом. Принадлежность видов к группе *Hypocreanum* возможно установить лишь путем генетического анализа с помощью макромолекулярных исследований взаимосвязей их с телеоморфами. Данных только морфологического анализа видов, используемого Биссетом, недостаточно для отнесения к *Hypocreanum*.

В лабораториях Самюэlsa (G.J. Samuels – Beltsville, MD, USA), Бонера (T. Börner – Berlin, FRG) и Кубичека (Kubicek – Vienna, Austria) совместно проведена ревизия секции *Longibrachiatum*, предложенной в классификационной системе Биссета. Секция *Longibrachiatum* – небольшая часть таксона *Trichoderma* – филогенетически отстоит наиболее далеко по сравнению с другими секциями. Самюэль, Боннер и Кубичек объединили различные методические подходы: использование молекулярных маркеров (анализ сиквенсов ITS1 и 2, RAPD), физиологический (изоэнзимный) анализ и фенетические характеристики, и впервые включили в анализ исследование потенциальных телеоморфных форм *Trichoderma spp.* в этой секции [3, 9, 74]. В результате секция *Longibrachiatum* была признана как монофилетичная и содержала 10 таксонов, в пределах которой для 4 пар были доказаны телеоморф-анаморфные связи: *H. schweinitzii/T. citrinoviride*; *H. pseudokoningii/T. pseudokoningii*; *H. jecorina/T. reesei* и *H. orientalis/T. longibrachiatum*. Затем они выдвинули идею объединения секции *Saturnisporum*, которая включала только 2 вида – *T. saturnisporum* и *T. ghanense* [79], с секцией *Longibrachiatum*, и показали, что синонимом *T. ghanense* является *T. parceramosum*. Пока концепция секции *Longibrachiatum*, предложенная Биссетом [70], сохраняется, в основном, благодаря подтвержденной корреляцией между морфологическими и молекулярно-генетическими критериями в таксономии *Trichoderma*.

Киндерман [69] провел первый филогенетический анализ рода *Trichoderma* и показал, что самая большая секция – секция *Pachybasium* – является в действительности парафилетичной. Хотя использование фрагмента только одного гена является недостаточным стандартом в настоящее время, это исследование было подтверждено филогенетическим анализом других генов [52, 55]. В этом контексте заслуживает внимание номенклатурное положение вида *Pachybasium hamatum* (Bonord.) = *T. hamatum* в секции *Pachybasium*. Этот вид не является членом главного из двух секций *Pachybasium* секции *B* [69], но образует единый кластер вместе с *T. pubescens* и *T. strigosum* в секции в противоположность содержащей почти все виды, за исключением *T. aureoviride* из секции *Trichoderma*. Из-за недостатка в разнице морфологических признаков между секциями *A Pachybasium* и *B Pachybasium* [69] оставлено общее название секции – *Pachybasium* для обоих отделов секции, хотя уже сейчас ясно, что это не удовлетворяющая всех ситуация в классификации секции. *Pachybasium B* содержит все секции, описанные Биссетом [71], за исключением 3-х видов, описанных выше. Кроме того, интерпретация секции *Pachybasium B* также ослож-

няется сильной генетической вариабельностью некоторых его видов, например *T. harzianum*. Таким образом, эти виды, как анаморфы, так и телеоморфы, имеют большое значение в прикладных исследованиях, и поднимается вопрос об идентификации этой генетически разнородной группы [36, 51, 80, 81].

3. Перспективы развития системы рода *Trichoderma/Hypocrea*

Trichoderma вступила в эру таксономии (когда идентификация проводилась с использованием анализа ДНК-последовательностей) с небольшим количеством видов, каждый из которых был представлен верно идентифицированными культурами, и, по крайней мере, для одного гена каждого вида была задана последовательность. Таким образом, незначительна вероятность того, что новые виды – это описанные ранее. По крайней мере, таксономисты *Trichoderma* не будут обвиняться патологами в изменении названий. Анализ ДНК-последовательностей позволил выявить неправильно идентифицированные виды: многие отчеты в литературе основаны на неверных определениях. В то время как в литературе данный факт ведет к некоторой путанице, конечный результат – это тщательно определенные виды. Например, *T. aureoviride* часто упоминается в связи с биологическим контролем и в экологической литературе. Тем не менее, было установлено, что, несмотря на большое количество описаний, данный вид можно обнаружить лишь в северной Европе (Великобритания и Нидерланды) и лишь в культурах, выделенных из сумчатых грибов *Hypocrea aureoviridis*. Другой пример с *T. viride* известен как вид *Trichoderma*, который по форме и структуре конидий (шарообразные и бородавчатые) легко идентифицируется. При изучении культуры, идентифицируемой как *T. viride*, найдена более или менее очевидная взаимосвязь между ДНК-последовательностями и типом бородавок на конидиях в зависимости от штамма. Была отделена *T. asperellum* от *T. viride*. Вид *Trichoderma stromaticum*, используемый в борьбе с фитопатогеном *Crinipellis perniciosus*, вызывающим заболевания какао-бобов в Южной Америке, является основным компонентом коммерческого продукта TRICHOVAB. Этот вид *Trichoderma* сначала был определен в литературе как *T. viride*, а позднее как *T. polysporum*. С помощью сравнительного изучения структуры и анализа ДНК последовательности в лаборатории Самюэля было выявлено, что этот вид является новым видом. Сегодня *T. polysporum* применяется в восточной Бразилии, в районах распространения заболевания какао-бобов. Наиболее часто описываемая *Trichoderma*, используемая для биологической защиты растений от фитопатогенов, – это *T. harzianum*. Тем не менее, данный вид посчитали причиной эпидемии зеленой плесени у грибов, выращиваемых в Северной Америке и Европе для продажи. Катастрофическим последствием того, что *T. harzianum* могла быть патогеном такой важной с экономической точки зрения культуры как грибы, стала бы недопустимость применения этого вида для биологического контроля в сельском хозяйстве. Самюэлю, однако, удалось доказать путем сравнительного изучения структуры и особенностей культуры *T. harzianum* и грибного паразита с применением анализа ДНК-последовательности, что паразит шампиньонов лишь структурно, но не филогенетически сходен с новым видом *Trichoderma* – *T. aggressivum*. С большой вероятностью грибного паразита можно отличить от *T. harzianum* по существенно

сниженной способности расти при 35°C. Современный морфологический вид *T. koningii* является также полифилетическим и включает не менее 4-х филогенетических видов.

Контроль, осуществляемый супрессивными компостами, частично приписывается некоторым более совершенным видам *Trichoderma*. Но вид, найденный в этих ареалах, обычно описывается как один из обычных почвенных видов, как *T. harzianum* или *T. hamatum*. Правильно ли были определены вышеупомянутые виды – это важный вопрос. Однако можно предположить, что эти обычные виды могут существовать на данных почвах. Недавно Биссет и его коллеги [35, 50] описали несколько новых видов *Trichoderma*, найденных в России, на почвах восточной и южной Азии. Однако потенциал биорегулирования данных видов не был оценен.

Впечатляет количество новых видов, обнаруженных другими учеными в почвах Азии [81, 82]. Отчеты о видах *Trichoderma* в почвах поступают со всего мира [47, 83, 84]. Приходится лишь удивляться такому большому количеству новых (или неверно идентифицированных) видов, выявляемых в ходе обычного поиска грибов, ответственных за биологический контроль на почвах. Нами выделено на территории Республики Татарстан свыше 300 изолятов *Trichoderma*. Выделенные виды по культурально-морфологическим критериям были идентифицированы как *T. viride*, *T. spiale*, *T. saturnisporum*, *T. oblongisporum*, *T. longibrachiatum*, *T. koningii*, *T. atroviride*, *T. asperellum*, *T. harzianum*. Среди них выявлены виды с высокой антагонистической активностью к фитопатогенам, что позволило использовать их для биологического контроля заболеваний овощных, зерновых, декоративных культур и лесных насаждений в Республике Татарстан.

В России исследования *Trichoderma* представлены в основном только в области практической деятельности, экологии и географического распространения. А.В. Александровой [34, 64] изучено географическое распространение видов рода *Trichoderma* в отдельных регионах России и предложен ключ для идентификации. В качестве основного диагностического признака предложено использовать строение конидий и макроконидий в сочетании с другими признаками и описание роста колонии на среде Чапека. А.В. Александровой выделено и описано 22 вида грибов рода *Trichoderma*. При описании обнаруженные виды были распределены по секциям, предложенным Биссетом. Булатом [85, 86] впервые в России были получены результаты по UP-PCR анализу *Trichoderma* при сравнительном анализе *Trichoderma* и *Gliocladium* и исследовании комплекса *Trichoderma viride/atroviride/koningii* методом UP-PCR cross-blot гибридизации. Т.И. Громовых описаны виды *Trichoderma*, распространенные в Сибири. В группе X. Кубичека с использованием макромолекулярного анализа было показано, что один из изолятов, выделенных Т.И. Громовых, относится к *T. asperellum* [35].

Другой источник новых видов *Trichoderma* – это сам филогенетический ДНК-анализ. Как было упомянуто выше, филогенетический анализ структурного вида *T. viride* позволил выявить содержание в нем двух или более новых видов, включая вид *T. asperellum*, используемый сейчас для получения биопрепаратов. Подобно этому *T. koningii* обладает общей структурой *Trichoderma* из

секции *Trichoderma*, присущей, по крайней мере, еще четырем видам, из которых три не описаны. Если бы не анализ ДНК-последовательности, все они были бы представлены как соответствующие морфологической концепции *T. koningii*. В свете анализа последовательности *T. koningii* в строгом смысле может описываться также через отношение длины к ширине его конидий и скорость роста. Методом RAPD PCR нами также было показано, что виды, относимые по морфологическим критериям к *T. koningii*, по данным генетического анализа различаются. Виды, выделенные нами из могильников на территории п. Мурзиха Республики Татарстан (РТ), были отнесены к *T. longibrachiatum* с помощью молекулярно-генетического анализа.

Исследователи рассматривают вероятность того, что филогенетически однородные группы могут быть предсказуемы по биологической активности.

Кубичек с сотрудниками [36] обнаружили, что родственный с *T. reesei* (промышленный стандарт при производстве целлюлазы) вид *T. longibrachiatum* способен к синтезу целлюлаз в более высокой концентрации, чем виды, входящие в *T. reesei/longibrachiatum* группу. Члены этой группы могут также расти и спорносить при температуре 40°C, выделяются из организма людей с нарушениями в иммунной системе, что требует соблюдения осторожности при использовании *T. longibrachiatum* в биологическом контроле с учетом того факта, что при применении или приготовлении биопрепарата существует риск вдыхания спор. Нами также были выделены из почв РТ виды, отнесенные по морфологическим, культуральным и молекулярно-генетическим признакам к *T. longibrachiatum*, ксиланазная и целлюлазная активность которых превышала ферментативную активность *T. reesei* (промышленный аналог, используемый в России для производства цилловиридина). Учитывая эти предварительные результаты наблюдений, можно предсказать некоторую биологическую активность, основанную на филогенетических отношениях.

Виды *Trichoderma* осуществляют эффективный биологический контроль заболеваний растений, вызываемых грибами-фитопатогенами, и снижают инфекционный фон в почвах, восстанавливая, таким образом, ее супрессивность. Механизм действия основан на синтезе ферментов гидролаз, антибиотиков и других типов воздействия. Один из основных типов микопаразитизма основан на синтезе широкого ряда вторичных метаболитов, таких, как летучие соединения (например, этилен, водородные соли цианистой кислоты, спирты, альдегиды и кетоны с длиной цепи, вплоть до C4) и нелетучие метаболиты, включая антибиотики с белковой структурой (такие, как пептоиболы – класс белков с линейной структурой и 5–20 остатками). Известно синергическое действие ферментов гидролаз и антибиотиков, когда деградация клеточных стенок фитопатогенов сопровождается ингибированием скорости роста гриба. Другим известным механизмом действия *Trichoderma* является конкуренция за питательные вещества (например за железо) за счет выделения сидерофоров (короткие пептиды). Наличие способности к синтезу сидерофоров показано для некоторых видов *Trichoderma*, но они, к сожалению, не были охарактеризованы. Характеристика трех сидерофоров имеется только для *T. virens*: моногидроксимат (цис- и транс-фузаринин), дипептид транс-фузаринина и триммер дисдепептида-копраген. С помощью макромолекулярных методов были сдела-

ны попытки изучить гены, ответственные за образование сидерофоров и пептоболов у разных видов *Trichoderma*. Однако эти исследования пока не увенчались успехом.

Для решения систематического положения используется комплекс методов: морфологический, фенетический с использованием системы “Biolog” (фенетический метод, основанный на определении количества ассимилированного углерода с использованием BIOLOG MicroPlates™) (Biolog, Hayward CA), исследование кинетических параметров по скорости роста на специфических средах при разных температурах, изоферментный анализ и молекулярно-генетический. Каждый метод на современном этапе развития системы *Trichoderma/Hypocrea* внес значительный вклад в построение системы.

Поскольку виды *Trichoderma spp.*, очевидно, трудно делимы, использование только биологических признаков приводит к неправильным результатам при определении генеалогической конкордантности филогенетических видов, и молекулярно-генетический метод является очень привлекательным способом для того, чтобы опровергнуть или дополнить морфологический подход к идентификации вида. Однако этот метод все еще редко применяется к *Trichoderma/Hypocrea* [40].

Информация о геноме особенно важна для поиска новых генов, интересных для биотехнологии. Определение точных таксономических групп является ключевым фактором идентификации штаммов *Trichoderma*, что позволит развивать новые технологии, основанные на генетическом разнообразии этого рода.

Аудик и Клавери [87] были первыми исследователями, применившими термин «цифровой» (“digital”) для изучения экспрессии гена путем случайного выбора последовательностей в популяциях к ДНК, объединенных по принципу условий, стадии развития, органоспецифичности или тканеспецифичности, и представленных в компьютерных базах данных. В широком смысле термин «цифровая геномика» следует понимать как выборку данных среди «сиквенсов», собранных в базах данных в результате независимых классических специальных экспериментов.

Анализ компьютерных данных цифровой геномики *Trichoderma* показал, что:

а) грибы рода *Trichoderma* активно используются и являются объектом активного исследования. По сравнению с *Trichoderma* только некоторые грибы также часто цитируются в PubMed. Из 15 грибов, представленных в *Fungal International Initiative (FII)*, только 9 видов цитируются в литературе чаще, чем *T. reesei* и *T. harzianum*. Несмотря на огромное число работ в области геномики, в компьютерных базах данных представлено ограниченное количество «сиквенсов». Большинство работ по *Trichoderma* посвящено коммерческому использованию или физиологии и биохимии видов рода;

б) анализ представленных в работах последовательностей ДНК показал, что таксономическое исследование рода *Trichoderma* является активной областью науки. Показано, что 1016 последовательностей из 1319 последовательностей *Trichoderma* относятся к внутренним транскрибируемым последовательностям ITS. Кроме того, определены 64 последовательности гена *chit 42* и 32 последовательности гена *Tef1*, используемые в таксономических исследовани-

ях. Род *Trichoderma* является многокомпонентным и сложным, что затрудняет понимание биологии видов и влияет на коммерческое использование. Поэтому молекулярная таксономия рода *Trichoderma* изучается чаще, чем таксономия других родов грибов. В ГенБанке к 2005 г. представлено 48818 последовательностей *Trichoderma*.

Другая область таксономии рода *Trichoderma* связана со способностью этих грибов гидролизовать полимеры. Антагонистическая активность *Trichoderma* обеспечивается несколькими генами, кодирующими внеклеточные гидролазы, в том числе эндохитиназы, b-N-ацетилгексоаминидазы, протеазы, хитин-1,4-b-хитобиозидазы, эндо- и экзо-b-1,3-глюканазы, липазы, ксиланазы, маннаазы, пектиназы, пектин лиазы, амилазы, фосфолипазы, РНКазы, ДНКазы и т. д. Хитинолитические и глюканолитические ферменты катализируют гидролиз клеточных стенок фитопатогенов, поскольку разрушают полимеры, не встречающиеся в растительных клетках. Каждый класс гидролаз состоит из нескольких ферментов, различающихся по активности. Гены гидролаз идентифицированы и клонированы [6, 88].

Несмотря на то, что регуляторные гены трудно выбрать из случайной выборки, нельзя ни признать, что интерес к ним возрастает. Почти все отчеты, касающиеся грибов, используемых в биологическом контроле заболеваний, вызываемых другими грибами, относят *Trichoderma* чаще всего к одному из трех видов: *T. harzianum*, *T. virens* и *T. viride*.

Кубичек с сотрудниками [36] сравнили последовательности ДНК у штаммов, используемых для биологического контроля растений, идентифицируемых как *T. harzianum*. Половина из 8 исследованных ими штаммов была повторно переопределена. Таким образом, по морфологическим особенностям определение и распознавание видов представляются проблематичными. Положительная сторона такого недостатка диагностических признаков – это то, что описано очень мало видов.

Для того чтобы решить главную цель систематики грибов, разрабатывается таксономическая система аскомицетов, отражающая их биологию (например жизненные циклы), и выявляются взаимоотношения анаморфов и телеоморфов. Комбинация фенотипического и молекулярно-генетического анализов успешно применяется для понимания связей в пределах *Hypocrea/Trichoderma*. Впервые связь между анаморфом и телеоморфом с помощью анализа ДНК была установлена Кюлцем и др. [74]. Авторы показали, что промышленные бесполое грибы *Trichoderma reesei* E.G. Simmons являлись анаморфом *Hypocrea jecorina* Berk. and Broome. Самюэльс [3] в монографии, посвященной видовому комплексу *H. schweinitzii*, доказал связь между *H. pseudokoningii* и *T. pseudokoningii*, между *H. schweinitzii* и *T. citrinoviride*, между *H. orientale* и *T. cf. longibrachiatum*. На основании анализа генов 18S и 28S рРНК для представителей двух подотделов *Hypocreaceae* и *Clavicipitaceae*, разделяемых по типу развития перитециев и морфологии аскоспор, показано, что они образуют монофилетичную группу [46].

Для установления правильных филогенетических позиций, не противоречащих другим, требуется анализ древ, полученных на основании использования различных несвязанных генов. Кюллниг-Градингер [55] использовала че-

тыре различных локуса: ITS1 и 2, митохондриальной DNA, короткого пятого интрона гена *tef1 α* и фрагмент большого экзона гена эндохитиназы *ech42* для того, чтобы выявить полную филогению рода. Однако прямое сопоставление областей было невозможно для большинства видов по причине недостаточного филогенетического значения используемых генов. Шавери [52] использовала ITS1 и 2, большой интрон *tef1*, короткие фрагменты актина (*act1*) и экзон гена калмадулина (*cal1*). Эти гены были секвенированы у *H. lixii*/*T. harzianum* и идентифицированы у 7 филогенетических линий и сохранялись в большинстве древ. Но изоляты в пределах этих линий невозможно было различить морфологически, поэтому они не были признаны видами.

Таким образом, оптимальная комбинация генов, которая позволила бы применить концепцию GCPSR (генетическая концепция филогенетического разделения с использованием последовательностей ДНК) для всего рода *Trichoderma*, все еще отсутствует. Идея GCPSR концепции заключалась в том, что исследуются несколько (не менее 5) несцепленных генов и сравниваются деревья, полученные для каждого гена, в результате чего можно определить филогенетическое положение реальных видов *Trichoderma*, которое будет конкурентным для всех построенных деревьев или, по крайней мере, для их большинства. Однако применение этой концепции сильно затруднено у грибов по ряду причин:

1. Детальный анализ варибельности доступных в ГенБанке локусов показал, что при идентификации и построении филогенетических древ в редком случае используются локусы большого интрона (i) *tef1* и последнего большого экзона (ii) *gpb2* гена, последнего большого экзона гена эндохитиназы (iii) *ech42* и (iv), последовательности ITS1 и ITS2, которые позволяют построить более реальную филогению.

2. Серьезным недостатком использования только ITS1 и ITS2 является то, что они обеспечивают недостаточное филогенетическое разрешение некоторых областей, особенно для секции *Pachybasium B* [52, 55]. Аналогичные недостатки были обнаружены и относительно отдельного использования других локусов. Исследователи *Trichoderma* пришли к выводу о необходимости использования известных локусов в комплексе или поиска новых филогенетических маркеров. Возможно, более корректным будет выявление значимых для классификации последовательностей, для чего необходимо разрабатывать принципиально новые подходы и методы [Н.И. Акберова, неопубликованные данные].

3. В ГенБанке еще не представлена полная последовательность генома *Trichoderma*, и это тоже затрудняет выявление важных для классификации последовательностей.

4. Следующим важным аспектом использования GCPSR концепции является формирование правильного филогенетического подхода. Большинство авторов все еще использует парсимонный подход для анализа последовательностей, который не позволяет проводить моделирование эволюции и рождает проблемы при анализе очень близких или очень далеких таксонов [36].

Более правильным было бы применение методов максимального правдоподобия, но они требуют продолжительного машинного времени, из-за чего практически не используются для филогенетических построений у триходер-

мы. В последнее время разработаны подходы с использованием Bayesian-статистики, преимущество которых – сравнимое с парсимонными методами машинное время, но при этом они основаны на стандартных статистических процедурах для оценки значимости, включающих процедуру Монте-Карло (для Марковских цепей), и в результате получается единственное оптимальное дерево. Применение такого подхода дает наиболее согласованные с морфологической классификацией дерева [36].

При использовании данных по последовательностям более надежные результаты можно получить, используя программу ДНК-баркод (DNA-barcoding) или данные филогенетического анализа отдельных несцепленных фрагментов ДНК с помощью известного уровня интер- и интраспецифической вариабельности (филогенетических маркеров). Система ДНК-баркод была разработана в лаборатории Кубичека (Австрия) для быстрой идентификации на основе различий определенных ITS1 и ITS2 нуклеотидных последовательностей [75]. Метод использует дискриминационный подход использования ITS1 и 2. Этот метод показал, что можно идентифицировать 70 из 77 исследованных видов *Trichoderma* и *Hypocrea*. Однако некоторые таксоны не удалось разделить по причине идентичности ITS1 и 2. Например, *T. crassum* и *T. longipile*, *T. tomentosum* и *T. cerinum*, не определяемые по баркоду, легко различимы по морфологии [52, 71]. Хотя последние 2 вида тяжело различить и морфологически. Филогенетический анализ показал, что последние 2 вида являются результатом современной аллопатрической специализации. *T. cerinum* обнаруживают только в Евразии, тогда как *T. tomentosum* – только в Северной и Южной Америке [76].

Таким образом, важно знание географического происхождения изолята с последовательностями *T. tomentosum*/*T. cerinum*, что позволит разделить эти 2 изолята. В противном случае, для разделения двух изолятов нужно использовать дополнительную информацию о происхождении фенотипа.

В основе большинства подходов молекулярной идентификации лежит использование процедуры множественного выравнивания. Чаще всего для сравнения применяют программу BLAST, но не всегда исследователи получают убедительные результаты. Возможно, это связано с ошибками в последовательностях, представленных в Генбанке. В Генбанке в настоящее время имеется около 40% ошибочных сиквенсов для *Hypocrea/Trichoderma*. Пока нет данных по полной классификации сиквенсов видов, поэтому очень тяжело оценивать результат, полученный с помощью программы BLAST. Другая причина – некорректное использование программы BLAST. Авторы часто идентифицируют виды, основываясь на наилучшем соответствии в BLAST (низкий E-value) и не считаясь с множественной выравниваемостью. В итоге для решения этих проблем в лаборатории Кубичека для *Hypocrea/Trichoderma* была разработана программа TrichoBLAST [77]. Программа основана на критическом анализе сиквенсов, использует сходные инструменты исследований, которые уже позволили дать характеристику описанных в настоящее время 88 основных видов рода *Trichoderma/Hypocrea*. Программа также содержит почти укомплектованную систему из 5 наиболее часто используемых филогенетических маркеров: 1) ITS1 и 2; 2) 2 интрона (*teflint4*(large), *teflint5*(short)); 3) 1 экзон *tefl1* экзона 6(large)гена, кодирующего фактор трансляции элонгации, 4) фактор 1-alfa;

5) участки экзона между 5 и 7 консервативными эукариотическими аминокислотами второй субъединицы гена РНК полимеразы (*trb2_exon*). Программа TrichoBLAST доступна и располагается на сайте ICTF [IUBS\IUMS International Commission on the Taxonomy of Fungi] Интернациональной подкомиссии по *Trichoderma* и *Hypocrea* [ISTH:www.isth.info]. При недостаточности TrichoBLAST при исследовании предлагается использовать представленную на том же сайте программу TrichoMARK.

Морфологический подход и интерактивный ключ для идентификации вновь выделенных изолятов, разработанные группой Самуэля [47, 52], требуют многих повторностей и становятся довольно сложными при работе с большим количеством образцов. В нашей исследовательской группе Д.С. Тарасовым с соавторами [90] был разработан новый формат описания морфологических признаков. Предпринята попытка построения новой систематики рода *Trichoderma* по формализованным морфологическим и фенотипическим признакам. Иерархическая систематическая модель при использовании в практических целях обладает рядом преимуществ: ее использование ускоряет процесс идентификации изолятов и уменьшает число ошибок. Другими словами, при идентификации изолята в разработанной системе можно по минимальному числу признаков получить максимум информации об исследуемом изоляте, что имеет большое практическое значение. Ранее для моделирования эволюции самовоспроизводящихся систем использовались различные методы, включая исследование эволюции компьютерных программ и клеточных автоматов. Однако все эти методы имеют значительные ограничения, не позволяющие исследовать проблему эволюционных скачков. В ходе работы Д.С. Тарасовым была предложена специальная модель на основе кинематических клеточных автоматов, предназначенная для моделирования самоорганизации и эволюции естественных и искусственных систем. С помощью компьютерного моделирования были проверены различные существующие гипотезы, касающиеся условий и механизмов самоорганизации и эволюции. В процессе моделирования удалось наблюдать как самоорганизацию, так эволюцию системы с появлением новых характеристик. Эта программа была использована нами, наряду с морфологическими, культуральными и молекулярно-генетическими, для построения филогенетического древа изолятов, выделенных на территории Республики Татарстан.

Заключение

В настоящее время различные исследователи чаще всего используют фактически только морфологические методы для идентификации *Trichoderma*, и появляющиеся сообщения об идентифицированных видах *Trichoderma* должны восприниматься с некоторой долей скептицизма. Около 50% всех видов *Trichoderma spp.*, хранящихся в коллекциях культур под названиями, которые они получили при помощи морфологического анализа, неправильны вследствие ошибок, возникающих при морфологическом подходе. Несмотря на то, что виды *Trichoderma* могут идентифицироваться с помощью микроскопических, фенетических и культуральных методов, а также по изоэнзимному спектру, нуж-

но признать, что наиболее надежный способ – это определение ДНК-последовательности.

Геном *Trichoderma* представляет собой привлекательное и богатое поле исследования, которое приведет к расшифровке механизмов, представляющих основной интерес в биологии. Особенно интересна сложность биологических взаимодействий, которые данные грибы реализуют при контакте с растениями, животными и микроорганизмами. Кроме того, грибы *Trichoderma* представляют все еще нетронутый источник генов и их продуктов, определяющих развитие новой биотехнологии, целью которой является контроль вредителей, увеличение производства продуктов питания и повышение их качества, очистка промышленных и природных загрязненных зон и оборот вторичных материалов, полученных из отходов. Обзор патентов показал, что виды *Trichoderma* чаще других представлены в них не только по сравнению с другими грибами, но и по сравнению с промышленными микроорганизмами. Все возможные подходы, в том числе структурная и функциональная геномика, обеспечивают получение важной информации и полезных продуктов. Установлено, что полезность информации о геноме *Trichoderma* (размер которого составляет 40 Mb) полностью проявится, когда закончатся первые научные проекты по секвенированию, и положение этих грибов среди других будет определено. Более того, трудно найти такое разнообразие микроорганизмов, как грибы рода *Trichoderma*, способных проявлять так много биологически полезных свойств в различных условиях. Установлено значительное количество последовательностей, кодирующих ферменты таких видов, как *T. resei*. Сравнение их со штаммами *T. harzianum*, используемыми в биологическом контроле, и патогенными *T. aggressivum* позволит повысить эффективность использования данных грибов.

Trichoderma представляет собой прекрасный объект для проекта по функциональной геномике для идентификации и использования генов, экспрессирующихся в процессе взаимодействия с растениями и фитопатогенами, при культивировании в условиях, индуцирующих или подавляющих продукцию промышленных ферментов или биомассы, при утилизации полифенолов, углеводов, пестицидов и других поллютантов, метаболизируемых данными грибами в качестве субстратов. Более того, путем выделения белков методом двумерного электрофореза можно выявить протеом *Trichoderma* при атаке патогена. Гены, определяющие синтез вторичных метаболитов, представляют особый интерес. Разработаны новые средства для изучения транскриптома и совмещения с протеомом для лучшего понимания функционирования генома [78]. Методы, разработанные для *T. resei*, можно применить для изучения других видов *Trichoderma*. Несомненно, в будущем будут проведены генетические исследования видов рода *Trichoderma* для увеличения использования полезных свойств этих грибов в индустрии для развития науки.

Применение генетических методов для изучения сложных механизмов, позволяющих грибам *Trichoderma* продуцировать большие количества трансгенных белков, контролировать патогены и воздействовать на метаболизм и физиологию растений, проблемы, связанные с таксономическим определением разных видов и штаммов внутри рода все еще находятся в зародышевом состоянии. К настоящему времени получено немного результатов, несмотря на

потребность в таких данных, точно обозначенных во многих структурных и функциональных генетических проектах, выполнение которых привело ко многим инновациям. С помощью методов, использованных для изучения биоконтроля и усиления роста растений, в результате применения штаммов *Trichoderma* установлено, что сотни отдельных генов участвуют в регуляции процессов микопаразитизма, антибиоза, в обеспечении конкуренции за субстраты и пространство. Множество генов обеспечивает толерантность к стрессу путем усиления роста корней и растений, индукцию резистентности растений и кодирует систему инактивации ферментов патогенов. Некоторые гены идентифицированы, патентованы и используются как трансгены для увеличения резистентности растений, но большинство генов никак не используется в биотехнологии.

На сегодняшний день по состоянию современной информации, *Trichoderma* размещают среди грибных родов, наиболее изученных таксономически. Несмотря на то, что недавно идентифицировали и филогенетически подтвердили 88 видов, их эволюция и филогенетические отношения все еще трудно решаются. Возможно на ситуацию влияет отсутствие известных предков (как в ситуации с многими другими грибами) или же высокое селекционное давление в ходе эволюции на эти таксоны, что привело к дихотомическому разветвленному дереву [36].

По мнению же Витебро [88] в отношении *Trichoderma*, несмотря на то, что грибы этого рода имеют биотехнологическое значение, геном изучен недостаточно по сравнению с другими организмами. Такая ситуация, по его мнению, создалась из-за значительной дивергентности видов и отсутствия оптимизированной системы для их исследования, а также из-за большого количества и разнообразия генов, экспрессия которых происходит при разных условиях среды. Становится ясно, что следует использовать не только фенотип *Trichoderma* и биоконтрольную активность, но всю генетическую систему данных грибов. Благодаря современным методам исследования, информация о геноме грибов *Trichoderma* представлена в базе данных. Анализ ДНК-последовательности позволил нам увидеть взаимосвязь видов через формацию филогенетического древа. Учитывая эти предварительные результаты наблюдений, можно предсказать некоторую биологическую активность, основанную на филогенетических отношениях. Темпы раскрытия филогенеза *Trichoderma* значительны. Исходя из филогенетической системы взглядов, разумным представляется выяснить, имеют ли филогенетическую основу некоторые виды с высокой биологической активностью, такой, как синтез хитиназ или способность к прямому паразитизму на других грибах. К сожалению, в данном направлении не было сделано сколько-нибудь существенных попыток.

Новые виды *Trichoderma* будут найдены по мере изучения новых областей, к тому же филогенетическая теория видов становится все более востребованной, что закономерно, так как все большее число людей пользуется ДНК-последовательностью, а также базой данных ГенБанка и новыми программами. Исследование эндофитных грибов с позиций перспектив биологического контроля, особенно наряду с изучением районов с большим разнообразием взаимодействий хозяев и патогенов, гарантирует выявление новых или более эффективных биорегулирующих агентов и не только среди представителей рода

Trichoderma. Изучение взаимодействия между растением-хозяином и его эндофитами, особенно на молекулярном уровне, конечно же, дает возможность по-новому взглянуть на устойчивость растений к заболеваниям, вызываемых грибами-фитопатогенами [34].

Для всех исследованных видов *Trichoderma*, несомненно, в будущем будет доказана принадлежность к роду *Hypocrea*, а не к анаморфным грибам. Однако современные исследования системы *Fungi* показали, что невозможно идентифицировать виды *Hypocrea* до тех пор, пока не будет установлен анаморф *Trichoderma* [49, 52, 86].

Таким образом, перспективы использования *Trichoderma* могут быть впечатляющими.

Выражаю благодарность за поддержку при выполнении работы А.Н. Фатаховой, Н.И. Акберовой, Н.И. Аскаровой, Д.С. Тарасову, заведующей кафедрой микробиологии О.Н. Ильинской, Н.Г. Захаровой и другим сотрудникам кафедры микробиологии, Р. Тухбатовой, А. Халлилуллиной, Д.М. Абузьяровой.

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке Фонда НИОКР Республики Татарстан (проект № 03-3.7-250/2004(Ф)).

Summary

F.K. Alimova. Modern Systems of Trichoderma/Hypocrea.

This review is dedicated to the modern status of the Fungi holomorfa *Trichoderma/Hypocrea* system. *Trichoderma* is the most studied species in the beginning of the 21 century. There is a great interest generated by the colossal practical and ecological significance of that genus. Using the molecular genetic analysis methods, majority of the types of the species were identified to belong to the *Hypocrea* genus as anamorphic forms. However, at the present time there is no one single system for *Trichoderma*. This review included the history of the *Trichoderma/Hypocrea* studies, analysis of the modern genus system and new methods used in identification and building of the phylogenetic trees.

Литература

1. *Hawksworth D.L., Kirk P.M., Sutton B.C., Pegler D.N.* (eds.) *Ainsworth and bisby's dictionary of the fungi*, 8th edn. – Wallingford: CAB International, 1995.
2. *Дьяков Ю.Т.* II Биология // Соровский образовательный журнал. – 1997. – № 3. – С. 38–45.
3. *Samuels G.J.* *Trichoderma* in biocontrol: a Taxonomist reports // Journals. BNI. Bni25 1. Gennews. htm. – 2004.
4. *Kubicek C.P., Harman G.E.* *Trichoderma and Gliocladium*, basic biology, taxonomy and genetics. – London: Taylor and Francis, 1998. – V. 1. – P. 278.
5. *Harman G.E., Howell C.R., Viterbo A., Chand I., Lorito M.* *Trichoderma* species – opportunistic, avirulent plant symbionts // Nat. Rev. Microbiol. – 2004. – V. 2, No 1. – P. 43–56.
6. *Franco P.F., Ferreira H.M., Filho E.X.* Production and characterization of hemicellulase activities from *Trichoderma harzianum* Strain T4 // Biotechnol Appl Biochem. – 2004. – V. 6. – P. 32–40.

7. Xiong H., von Weymarn N., Turunen O., Leisola M., Pastinen O. Xylanase production by *Trichoderma reesei* Rut C-30 grown on L-arabinose-rich plant hydrolysates — 2005. — Bioresource Technology. — P. 96.
8. Таунулатов Ж. Грибы рода *Trichoderma Pers.: Fr.* и их использование при переработке отходов растениеводства // Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — М.: МГУ, 1987. — 45 с.
9. Samuels G.J., Lodge D.J. Three species of *Hypocrea* with stipitate stromata and *Trichoderma* anamorphs // Mycologia. — 1996. — V. 88. — P. 302–315.
10. Скворцов Е.В., Алимова Ф.К., Соснина Н.А., Миронов В.Ф. Культивирование гриба *Trichoderma* на растительном сырье // Химия и компьютерное моделирование. — 2002. — № 7. — С. 57–60.
11. Abd El-Rahim W.M., Moawad H., Khalafallah M. Microflora involved in textile dye waste removal // J. Basic Microbiol. — 2003. — V. 43, No 3. — P. 167–174.
12. Сидорова И.И. Биологические методы борьбы с фитопатогенными грибами // Итоги науки и техники. Сер. Защита раст. — М.: ВИНТИ, 1980. — Т. 2. — С. 116–157.
13. Алимова Ф.К., Захарова Н.Г. Влияние микромицетов рода *Trichoderma* на микробиоз тепличного грунта. — 1990. — Деп. в ВИНТИ 03.05.1990а, № 2794-B90.
14. Алимова Ф.К., Захарова Н.Г. Местные штаммы *Trichoderma* — антагонисты возбудителей заболеваний *Cucumis sativus*. — 1990. — Деп. в ВИНТИ 03.05.1990б, № 2685-B90.
15. Громовых Т.И., Гукасян В.М., Голованова Т.И., Шмарловская С.В. *Trichoderma harzianum Rifai* aggr. как фактор повышения устойчивости томатов к возбудителям корневой гнили // Микология и фитопатология. — 1998. — Т. 32, Вып. 2. — С. 73–78.
16. Harman G.E., Howell C.R., Viterbo A., Ch& I, Lorito M. *Trichoderma* species — opportunistic, avirulent plant symbionts // Nat. Rev. Microbiol. — 2004. — V. 2, No 1. — P. 43–56.
17. Гринько Н.Н. Экологические аспекты регулирования популяций фитопатогенных микромицетов овощных культур в закрытом грунте // Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. — М.: МГУ, 2001. — 37 с.
18. Georgakopoulos D.G., Fiddaman P., Leifert C., Malathrakis N.E. Biological control of cucumber and sugar beet damping-off caused by *Pythium ultimum* with bacterial and fungal antagonists // J. Appl Microbiol. — 2002. — V. 92, No 6. — P. 1078–1086.
19. Alimova F.K., Zakharova N.G., Mako Ghulam Asghar, Fattakhova A.N., Garusov A.V. The study the quarantine control and the methods of disinfection of tomato and cucumber seeds in different regions of Russian Federation // Pakistan J. of scientific and industrial reseach. — 2002. — P. 38–45.
20. Harman G.E., Lorito M., Di Piandro A., Hayes C.K., Scala F., Kubicek C.P. Combinations of fungal cell degrading enzyme and fungal cell membrane affecting compound // US Patent 6,512,166. — Issued Jan. 28, 2003.
21. Кучмина Е.Ю., Алимова Ф.К., Киямова С.Н., Иванченко О.Б. Влияние *Trichoderma harzianum* на токсические и мутагенные свойства почвы // Тез. докл. Всеросс. конф. «Сельскохозяйственная микробиология в XIX – XXI веках». — С.-Пб., 2001. — С. 30–31.
22. Алимова Ф.К., Аскарлова А.Н., Киямова С.Н., Габидуллина Л.Р. Генетическая изменчивость *Trichoderma harzianum* в почвах, контаминированных тяжелыми металлами. Систематика грибов и филогенетическая терминология // Тез. докл. 1-го съезда микологов России. Современная микология в России. — М.: 2002. — С. 161.

23. Cortarrera L, Trillas-Gay M, Steinberg C, Allabouvandte C. Use of sewage compost and *T. asperellum* isolate to supresse Fusarium wilt of tomato // Soil biologyandbiochemistry. – 2002. – P. 467–476.
24. Gaber Z., Heba A. Bio-active composts from rice straw enriched with rock phosphate and their effect on the phosphorous nutrition and microbial community in rhizosphere of cowpea // Bioresource Technology. – 2005. – № 96. – P. 929–935.
25. Castle A., Speranzini D., Rghei N., Aim G., Rinker D. Morphological and molecular-identification of *Trichoderma* isolates on North-American mushroom farms // Ap. Lied and Environmental Microbiology. – 1998. – V. 64, No 1. – P. 133–137.
26. Muthumeenakshi S., Brown A.E., Mills P.R. Genandic comparison of the aggressive weed mold strains of *Trichoderma-harzianum* from mushroom compost in North-America and the British-Isles // Mycological Research. – 1998. – V. 102, No. APR. – P. 385–390.
27. Kildes J., Würtz H., Nielsen K., Kruse P.K., Wilkins U., Thrane S., Gravesen P.A., Nielsen T. Schneider dandermination of fungal spore release from wand building materials // Indoor Air. – 2003. – V. 13, No 2. – P. 148.
28. Samuels G.J., Dodd S.L., Gams W., Castlebury L.A., Petrini O. *Trichoderma* species associated with the green mold epidemic of commercially grown *Agaricus bisporus* // Mycologia. – 2002. – V. 94. – P. 146–170.
29. Kredics L., Antal Z., Doczi I., Manczinger L., Kevei F., Nagy E. Clinical importance of the genus *Trichoderma* // A review Acta Microbiol Immunol Hung. – 2003. – V. 50, No 2–3. – P. 105–117.
30. Kredics L. Phylogenandic positions of clinical isolates within the filamentous fungal genus *Trichoderma* // J. of Thrombosis and Haemostasis. – 2003. – V. 1, Suppl., July 12–18. – Abstr. from XIX Int. Congress. – № abstr. 1780.
31. Munoz G., Nakarisandala T., Agosin E., Penttila M. Hydrophobin gene *Srhl*, expressed during sporulation of the biocontrol agent *Trichoderma-harzianum* // Current Genandics. – 1997. – V. 32, No 3. – P. 225–230.
32. Lees-Haley P.R. Toxic mold and mycotoxins in neurotoxicity cases: *Stachybotrys*, *Fusarium*, *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium*, *Alternaria*, *Trichothecenes* // Psychol Rep. – 2003. – V. 93, No 2. – P. 561–584.
33. Geandha I., Paily P., Padmanaban V., Balaraman K. Oviposition response of the mosquito, *Culex quinquefasciatus* to the secondary metabolite(s) of the fungus, *Trichoderma viride* // Mem. Inst. Oswaldo Cruz. – 2003. – V. 198, No 2. – P. 30–40.
34. Александрова А.В., Великанов Л.Л. Первая находка *Trichoderma satumisporum* в России // Микол. и фитопатол. – 1999. – Т. 33, Вып. 5. – С. 304–306.
35. Bisset J., Szakacs G., Nolan C.A., Druzhinina I.S., Kullnig-Gradinge C.M., Kubicek C.P. Seven new taxa of *Trichoderma* from Asia // Can. J. Bot. – 2003. – No 81. – P. 570–586.
36. Druzhinina I., Kubicek C.P. Species concepts and biodiversity in *Trichoderma* and *Hypocrea*: from aggregate species to species clusters // J. Zhejiang Univ SCI. – 2005. – V. 6B, No 2. – P. 100–112.
37. Druzhinina I., Chaverri P., Fallah P., Kubicek C.P., Samuels G.J. *Hypocrea flavocoidia*, a new species with yellow conidia from Costa Rica // Stud. Mycol. – 2004. – No 50. – P. 401–407.
38. Rossmann A.Y., Samuels G.J., Rogerson C.T., Lowen R. Genera of *Bionectriaceae*, *Hypocreaceae* and *Nectriaceae* (*Hypocreales*, *Ascomycandes*) // Studies in Mycolog. – 1999. – No 42. – P. 1–248.
39. Evans H.C., Holmes K.A., Thomas S.E. Endophytes and mycoparasites associated with an indigenous forest tree, *Theobroma gileri*, in Ecuador and a preliminary assessment of

- their potential as biocontrol agents of cocoa diseases // *Mycological Progress*. – 2003. – V. 2. – P. 149–160.
40. Nelson E.E. Occurrence of *Trichoderma* in a Douglas-fir soil // *Mycologia*. – 1982. – No 74. – P. 280–284.
41. Taylor J.W., Jacobson D.J., Kroken S., Kasuga T., Geiser D.M., Hibbandt D.S., Fisher M.C. Phylogenetic species recognition and species concepts in fungi // *Fungal Genet. Biol.* – 2002. – No 31. – P. 21–32.
42. Samuels G.J. *Trichoderma ovalisporum*: a new endophytic species with potential to control frosty pod rot of cocoa // *Mycol. Prog.* – 2004. – V. 3, No 3. – P. 257–263.
43. Сидорова И.И. Макросистема грибов: методология и изменения последнего десятилетия // Новое в систематике и номенклатуре грибов / Под ред. Ю.Т. Дьякова, Ю.В. Сергеева. – М.: Изд-во «Национальная академия микологии. Медицина для всех», 2003. – С. 3–15.
44. Reynolds D.R., Taylor J.W. The fungal holomorph: mitotic, meiotic and pleomorphic speciation in fungal systematics // *Egham. Int. Mycological Symp.* – 1993. – P. 120.
45. Gams W., Hoekstra E.S., Aptroot A. *CBS Course of Mycology*. 4th ed. – Baarn: Centraalbureau voor Schimmelcultures, The Netherlands, 1998. – P. 250.
46. Gams W., Bissett J. Morphology and identification of *Trichoderma* // *Trichoderma and Gliocladium*. V. 1. Basic biology, taxonomy and genetics / Eds. C.P. Kubicek, G.E. Harman. – London: Taylor and Francis, 1998. – P. 3–34.
47. Rehner S.A., Samuels G.J. Molecular systematics of the *Hypocreales*: a teleomorph gene phylogeny and the status of their anamorphs // *Can. J. of Botany*. – 1995. – V. 73, No 1. – P. 816–823.
48. Chaverri P., Samuels G.J. *Hypocrea/Trichoderma* (*Ascomycota*, *Hypocreales*, *Hypocreaceae*): Species with green ascospores // *Stud. Mycol.* – 2004. – V. 48. – P. 1–116.
49. Samuels G.J., Petrini O., Kuhls K., Lieckfeldt E., Kubicek C.P. The *Hypocrea schweinitzii* complex and *Trichoderma* sect. *Longibrachiatum* // *Studies in Mycology*. – 1998. – No 41. – P. 1–54.
50. Bissett J., Szakacs G., Nolan C.A., Druzhinina I., Kulling-Gradinger C.M., Kubicek C.P. Seven new Taxa of *Trichoderma* from Asia // *Can. J. Bot.* – 2003. – No 81. – P. 570–586.
51. Wuczskowski M., Druzhinina I., Gherbawy Y., Klug B., Prillinger H.J., Kubicek C.P. Taxon pattern and genetic diversity of *Trichoderma* in a mid-European, primeval floodplain-forest // *Microbiol. Res.* – 2003. – No 158. – P. 125–134.
52. Chaverri P., Castlebury L.A., Overton B.E., Samuels G.J. *Hypocrea/Trichoderma*: species with conidiophore elongations and green conidia // *Mycologia*. – 2003. – No 95. – P. 1100–1140.
53. Chaverri P., Candoussau F., Samuels G.J. *Hypocrea phyllostachydis* and its *Trichoderma* anamorph, a new bambusicolous species from France // *Mycol. Progr.* – 2004. – No 3. – P. 29–35.
54. Bissett J. A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric classification // *Can. J. Bot.* – 1991. – No 69. – P. 2357–2372.
55. Kulling-Gradinger C.M., Szakacs G., Kubicek C. Phylogeny and evolution of the genus *Trichoderma* a multisensory approach // *Mycol. Res.* – 2002. – No 106. – P. 757–767.
56. Rifai M.A. A revision of the genus *Trichoderma* // *Mycol. Pap.* – 1969. – No 116. – P. 1–116.
57. Fries E.M. *Systema mycologicum* Lund. – 1821. – V. 1. – P. 520.

58. *Tulasne L., Tulasne R.* De quelques Sphéries fungicoles, à propos d'un mémoire de M. Antoine de Bary sur les *Nyctalis*(1). – Annales des Sciences Naturelles, Botanique, 1860. – V. 4, No 13. – P. 5–19.
59. *Brefeld O.* Untersuchungen aus dem Gesamtgebiete der Mykologie. – Heinrich Schönningh, Münster, Germany, 1891. – 200 p.
60. *Saccardo P.A.* Fungi Algeruensis, Tahitensis et Gallici // Rev. Mycol. – 1885. – V. 7. – P. 158–161.
61. *Bisby G.R.* *Trichoderma viride* Pers. ex Fr. and notes on *Hypocrea* // Trans. Brit. Mycol. Soc. – 1939. – V. 23, No 2. – P. 149–168.
62. *Dingley J.M.* The *Hypocreales* of New Zealand. III: The genus *Hypocrea* // Transactions and Proceedings of the Royal Society of New Zealand. – 1952. – No 79. – P. 323–337.
63. *Dingley J.M.* Life history studies in the genus *Hypocrea* Fr. // Transactions and Proceedings of the Royal Society of New Zealand. – 1957. – No 84. – P. 689–693.
64. *Александрова А.А., Великанов Л.Л., Сидоров И.И.* Исторический обзор и современная система рода *Trichoderma* // Микология и фитопатология. – 2004. – Т. 38, Вып. 1. – С. 3–20.
65. *Сейкетов Г.Ш.* Грибы рода *Trichoderma* и их использование в практике. – Алма-Ата: Наука, 1982. – 248 с.
66. *Doi Y.* Revision of the *Hypocreales* with cultural observations. IV. The genus *Hypocrea* and its allies in Japan (1). General part // Bullandin of the National Science Museum Tokyo. – 1969. – No 12. – P. 693–724.
67. *Doi Y.* Revision of the *Hypocreales* with cultural observations. IV. The genus *Hypocrea* and its allies in Japan (2). Enumeration of the species // Bullandin of the National Science Museum Tokyo. – 1972. – No 15. – P. 649–751.
68. *Doi Y., Yamatoya K.* *Hypocrea pallida* and its allies (*Hypocreaceae*) // Memoirs of the New York Botanical Garden. – 1989. – No 49. – P. 233–242.
69. *Kindermann J., El-Ayouti Y., Samuels G.J., Kubicek C.P.* Phylogeny of the genus *Trichoderma* based on sequence analysis of the internal transcribed spacer region 1 of the rDNA cluster // Fungal Genetics and Biology. – 1989. – No 24. – P. 298–309.
70. *Bisset J.* A revision of the genus *Trichoderma*. I. Sect. *Longibrachiatum* sect. nov. // Can. J. Bot. – 1984. – No 62. – P. 924–931.
71. *Bisset J.* A revision of the genus *Trichoderma*. III. Sect. *Pachybasium* // Can. J. Bot. – 1991b. – No 69. – P. 2373–2417.
72. *Bisset J.* A revision of the genus *Trichoderma*. IV. Additional notes on section *Longibrachiatum* // Can. J. Bot. – 1991c. – No 69. – P. 2418–2420.
73. *Bisset J.* *Trichoderma atrovirid* // Can. J. Bot. – 1992. – No 70. – P. 639–641.
74. *Kuhls K., Lieckfeldt E., Samuels G.J., Kovacs W., Meyer W., Pandrini O., Gams W., Bornner T., Kubicek C.P.* Molecular evidence that the asexual industrial fungus *Trichoderma reesei* is a clonal derivative of the ascomycete *Hypocrea jecorina* // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. – 1996. – V. 93, No 15. – P. 7755–7760.
75. *Druzhinina I., Koptchinsk A., Komon M., Bisset J., Szakacs G., Kubicek C.P.* A DNA-barcode for strain identification in *Trichoderma* // J. Zhejiang Univ SCI. – 2005. – V. 6B, No 2. – P. 100–112.
76. *Kraus G., Druzhinina I., Bisset J., Prillinger H.J., Szakacs G., Koptchinski A., Gams W., Kubicek C.P.* *Trichoderma brevicompactum* sp. nov. // Mycologia. – 2004. – No 96. – P. 1057–1071.

77. *Kopchinskiy A., Komon M., Kubicek C.P., Druzhinina I.* TrichoBLAST: A multilocus database for *Trichoderma* and *Hypocrea* identifications // *Mycol. Res.* – 2005. – V. 109, No 6. – P. 657–660.
78. *Grinyer J., McKay M., Herbert B., Nevalainen H.* Fungal proteomics: mapping the mitochondrial proteins of a *Trichoderma harzianum* strain applied for biological control // *Curr Genand.* – 2004. – V. 45, No 3. – P. 170–175.
79. *Doi Y., Abe Y., Sugiyama J.* *Trichoderma* sect *Satumisporum*, sect. nov. and *Trichoderma ghanense*, sp. nov. // *Bull. Natl. Sci. Mus. Tokyo. Ser. B (Bot.)*. – 1987. – V. 13. – P. 1–9.
80. *Kullnig C.C., Szakacs G., Kubicek C.P.* Molecular identification of *Trichoderma* species from Russia, Siberia and the Himalaya // *Mycol. Res.* – 2000. – V. 104. – P. 1117–1125.
81. *Kubicek C.P., Bisset J., Druzhinina I., Kullnig-Gradinger C.M., Szakacs G.* Genandic and mandabolic diversity of *Trichoderma*: a case study on South East Asian isolates // *Fungal Genand. Biol.* – 2003. – No 38. – P. 310–319.
82. *Kullnig C.M., Szakacs G., Kubicek C.P.* Molecular identification of *Trichoderma* species from Russia, Siberia and the Himalaya // *Mycol. Res.* – 2000. – No 104. – P. 1117–1125.
83. *Алимова Ф.К., Захарова Н.Г., Егоров С.Ю., Лещинская И.Б., Литвинова Л.И.* Кинетика *Trichoderma harzianum* Rifai Г-432 в тепличном грунте // *Микология и фитопатология*. – 1996. – Т. 30, Вып. 3. – С. 48–54.
84. *Wuczskowski M., Druzhinina I., Gherbawy Y., Klug B., Prillinger H.J., Kubicek C.P.* Taxon pattern & gen&ic diversity of *Trichoderma* in a mid-European, primeval floodplain-forest // *Microbiol. Res.* – 2003. – No 158. – P. 125–134.
85. *Bulat S.A., Lubeck M., Mironenko N.V., Jensen D.F., Lubeck P.S.* UP-PCR analysis ITS1 ribotyping of *Trichoderma* and *Gliocladium* fungi // *Mycol Res.* – 1998. – No 102. – P. 933–943.
86. *Lübeck M., Bulat S., Alekhina I., Lieckfeldt E.* Delineation of species within the *Trichoderma viride/atroviride/koningii* complex by UP-PCR cross-blot hybridization Short Communication // *Fems Microbiology Landters.* – 2004. – V. 237, No 2. – P. 255–260.
87. *Audic S., Claverie J.M.* The significans of digital gene expression profiles // *Genome res.* – 1997. – No 10. – P. 986–995.
88. *Vitebro A., Montero M., Ramot O., Friesem D., Chand I.* Exprwssion regulaton of endo-xitinase chit36 from *Trichoderma asperellum* (*T. arzianum* T – 203) // *CurrGenand.* – 2002. – No 42. – P. 114–122.
89. *Liu P.G., Wang X.H., Yu F.Q., Zheng H.D., Chen J.* The *Hypocreaceae* of China. VI. A new species of the genus *Hypocrea* // *Mycotaxon.* – 2003. – No 136. – P. 277–282.
90. *Тарасов Д.С., Тухбатова Р.И.* Язык представления описания морфологии грибов на примере *Trichoderma* // *Сб. материалов 9-й межд. школы-конф. молодых ученых, аспирантов и студентов.* – Пушкино, 2005. – С. 331.

Поступила в редакцию
19.07.05

Алимова Фариды Кашифовна – кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии Казанского государственного университета.

E-mail: falim@ksu.ru