

**Полярные липидный вирулентного мицелия *Stagonospora cirsii*, патогена  
бодяка полевого****Научный руководитель – Фролова Галина Михайловна*****Рубижан Алла Владимировна****Студент (бакалавр)*Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург,  
Россия*E-mail: mishchenko.allochka@bk.ru*

Мицелий микромицета *Stagonospora cirsii* Davis - возбудителя пятнистости листьев бодяка полевого (*Cirsium arvense*), является основой потенциального микогербицида против трудноискоренимого сорного растения [1]. Одним из биохимических параметров, позволяющих оценить жизнеспособность и агрессивность инфекционного материала, могут служить липиды - компоненты клеточных мембран, важные регуляторы клеточных процессов метаболизма и патогенности грибов [5]. Данная работа посвящена исследованию состава полярных липидов мицелия *S. cirsii* в зависимости от возраста, поскольку данный параметр влияет на вирулентность мицелия в отношении растения-хозяина.

В качестве объекта исследования использовали мицелий *S. cirsii* (штамм ВИЗР 1.41 из рабочей коллекции чистых культур ВИЗР), различающийся фазой роста и различной степенью агрессивности. Экстракцию липидов проводили методом Николса [3]; выделение сфинголипидов - методом фракционирования на силикагеле (картридж Диапак, Россия) в градиенте хлористый метилен : метанол [2]. и методом омыления. Состав фосфолипидов (ФЛ) и гликоэффинголипидов (ГСЛ) анализировали методами 2D ТСХ и ВЭТСХ в режиме градиентного элюирования (Samag AMD 2, Швейцария). Идентификацию ГСЛ осуществляли с помощью специфических реагентов (резорцин/серная кислота; молибдатный реактив) и методом ВЭТСХ-МС [4].

Обнаружено, что значительные изменения, коррелирующие с вирулентностью мицелия *S. cirsii*, выявлены во фракции полярных липидов. Для активно растущего мицелия, проявляющего высокую степень агрессивности, характерен равный уровень доминирующих ФЛ - фосфатидилхолина (ФХ) и фосфатидилэтаноламина (ФЭ). В поздней стационарной фазе роста в мицелии гриба, потерявшего 50% активности, наблюдалось снижение доли ФЭ. Выявлено два основных типа ГСЛ: неполярный гликоцерамид (ГлЦер) и полярный гликоэффинголипид (ГФСЛ), подвижность которого совпадала с подвижностью ФХ. По данным ESI-MS ГлЦер, идентифицированный со стандартным образцом цереброзидов (Lagodan, Швеция), содержал два различных молекулярных вида. В активном мицелии доминировал молекулярный вид с  $[M+Na]^+$   $m/z$  776 (77%), снижение активности мицелия сопровождалось увеличением молекулярного вида  $[M+Na]^+$   $m/z$  792 (68%). Полярный ГФСЛ, имел молекулярный ион  $[M+H]^+$   $m/z$  963, и, по-видимому, являлся гликоинозитолфосфоцерамидом. Его максимальное содержание наблюдалось в фазе активного роста и заметно снижалось в поздней стадии развития мицелия.

Таким образом, соотношение ФХ/ФЭ, которое характеризует жизнеспособность клетки, а также соотношение ГлЦер/ГФСЛ, играющих определенную роль во взаимодействиях патоген - хозяин, можно рассматривать в качестве биохимических параметров вирулентности мицелия *S. cirsii*.

Исследование выполнено при поддержке РНФ (проект № 16-16-00085).

[1]. Берестецкий А.О., Сокорнова С.В., Кашина С.А. Штамм гриба *Stagonospora cirsi* Davis, обладающий гербицидной активностью против бодяка полевого. А.с. 2515899 (РФ) С1. ГНУ ВНИИ защиты растений (РФ). Заявл. 2013121777/10, 07.05.2013. Оpubл. 20.05.14. Бюл. № 14.

[2]. Barreto-Bergter E., Guilherme L. Sasaki, Lauro M. de Souza1. Structural analysis of fungal cerebrosides // *Frontiersin Microbiology*. 2011. V 2. N 239. P. 1-11.

[3]. Nichols B.W. Separation of the lipids of photosynthetic tissues: improvements in analysis by thin-layer chromatography // *Biochem. Biophys. Acta*. 1963. V. 70. P. 417-425.

[4]. Meisen I., M. Mormann, J. Müthing. Thin-layer chromatography, overlay technique and mass spectrometry: A versatile triad advancing glycosphingolipidomics // *Biochimica et Biophysica Acta*. 2011. V.1811. P. 875-896.

[5]. Rella A., Farnoud A.M., Del Poeta M. Plasma membrane lipids and their role in fungal virulence // *Progress in Lipid Research*. 2016. V. 61. P. 63-72.

### Источники и литература

- 1) Берестецкий А.О., Сокорнова С.В., Кашина С.А. Штамм гриба *Stagonospora cirsi* Davis, обладающий гербицидной активностью против бодяка полевого. А.с. 2515899 (РФ) С1. ГНУ ВНИИ защиты растений (РФ). Заявл. 2013121777/10, 07.05.2013. Оpubл. 20.05.14. Бюл. № 14.
- 2) Barreto-Bergter E., Guilherme L. Sasaki, Lauro M. de Souza1. Structural analysis of fungal cerebrosides // *Frontiersin Microbiology*. 2011. V 2. N 239. P. 1-11.
- 3) Nichols B.W. Separation of the lipids of photosynthetic tissues: improvements in analysis by thin-layer chromatography // *Biochem. Biophys. Acta*. 1963. V. 70. P. 417-425.
- 4) Meisen I., M. Mormann, J. Müthing. Thin-layer chromatography, overlay technique and mass spectrometry: A versatile triad advancing glycosphingolipidomics // *Biochimica et Biophysica Acta*. 2011. V.1811. P. 875-896.
- 5) Rella A., Farnoud A.M., Del Poeta M. Plasma membrane lipids and their role in fungal virulence // *Progress in Lipid Research*. 2016. V. 61. P. 63-72.